



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**ÓLEO DE SEMENTE MORINGA E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM
SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIBIÓTICOS MELHORADORES DE
DESEMPENHO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**

OTONNI FILIPI ALVES E SILVA ELIAS

RECIFE - PE

DEZEMBRO - 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**ÓLEO DE SEMENTE MORINGA E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM
SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIBIÓTICOS MELHORADORES DE
DESEMPENHO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**

OTONNI FILIPI ALVES E SILVA ELIAS
ZOOTECNISTA

RECIFE – PE
DEZEMBRO – 2021

OTONNI FILIPI ALVES E SILVA ELIAS

**ÓLEO DE SEMENTE MORINGA E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM
SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIBIÓTICOS MELHORADORES DE
DESEMPENHO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Comitê de orientação:

Prof.º Dr. Wilson Moreira Dutra Junior - Orientador

Prof.ª Dr.ª Mônica Calixto Ribeiro de Holanda– Coorientadora

Prof.º Dr. Marco Aurélio Carneiro de Holanda – Coorientador

RECIFE – PE

DEZEMBRO – 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

E42

ELIAS, OTONNI FILIPI ALVES E SILVA

Óleo de semente moringa e ácidos orgânicos em substituição aos antibióticos melhoradores de desempenho em dietas para leitões recém-desmamados: Aditivos alternativos para suínos / OTONNI FILIPI ALVES E SILVA ELIAS. - 2021. 105 f. : il.

Orientador: WILSON MOREIRA DUTRA JUNIOR.

Coorientador: MONICA CALIXTO RIBEIRO DE HOLANDA.

Inclui referências.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife, 2022.

1. bactérias. 2. compostos bioativos. 3. diarreia. 4. Moringa oleifera. 5. suínos. I. JUNIOR, WILSON MOREIRA DUTRA, orient. II. HOLANDA, MONICA CALIXTO RIBEIRO DE, coorient. III. Título

CDD 636

OTONNI FILIPI ALVES E SILVA ELIAS

**ÓLEO DE SEMENTE MORINGA E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM
SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIBIÓTICOS MELHORADORES DE
DESEMPENHO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**

Tese defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 28 de dezembro de 2021.

Comissão Examinadora:

Prof.º Dr. Wilson Moreira Dutra Junior
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Presidente

Prof.º Dr. Leonardo Augusto Fonseca
Universidade Federal de Sergipe - UFS

Prof.º Dr. Claudio Parro de Oliveira
Universidade Federal da Paraíba - UFPB

Prof.ª Dr.ª Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Prof.ª Dr.ª Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

RECIFE – PE

DEZEMBRO – 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

OTONNI FILIPI ALVES E SILVA ELIAS – nasceu em Afogados da Ingazeira – PE, no dia 20 de março de 1990, filho de José Elias Sobrinho e Maria Áurea Alves Silva Elias. Concluiu o Ensino Fundamental em 2004, na Escola Prof.^a Carlota Breckenfeld, no município de Tabira-PE. Iniciou em 2005 o Ensino Médio concomitante ao curso de Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Belo Jardim, atual IFPE – Campus Belo Jardim -PE. Em março de 2009 iniciou a graduação em Zootecnia, na primeira turma do curso da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada – PE, recebendo o título de Bacharel em Zootecnia em agosto de 2014, mesmo ano em que concluiu o curso técnico em Administração, Pela Universidade de Pernambuco, na modalidade à distância. Em março de 2015 ingressou no Mestrado acadêmico em Zootecnia, na área de Nutrição de Não-Ruminantes, pelo Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, obtendo o título de Mestre em fevereiro de 2017. Em agosto do mesmo ano iniciou o Doutorado em Zootecnia pelo programa de Pós-graduação em Zootecnia, na Universidade Federal Rural de Pernambuco, na área de Nutrição de Não-Ruminantes.

“Toda a nossa ciência comparada a realidade é primitiva, inocente e, portanto, é o que temos de mais valioso”

- Albert Einstein

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, elas são uma abertura para achar as que estão certas.”

- Carl Sagan

Aos meus pais,
José Elias (*in memoriam*) e Maria Áurea.
Aos meus irmãos,
Pedro, Élice e Vinícius,
pela admiração e amor que tenho por vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido a graça da vida, a divina saúde, força, sabedoria, persistência e pela família com que me presenteou.

À minha mãe, Maria Áurea, que sempre foi a base de tudo, um exemplo de determinação e coragem. Em todos os momentos de nossas vidas, incentivou e apoiou nossas jornadas.

Aos meus irmãos, pelo carinho, afeto e pela união, sempre com diálogos de incentivo.

À minha noiva, Maria Rosyane, pelo amor, carinho, companheirismo, compreensão e apoio.

Ao meu orientador, Prof.º Dr. Wilson M. Dutra Junior, pelas orientações, oportunidades e por todo o apoio.

Aos meus coorientadores, Prof.º Dr. Marco Aurélio C. de Holanda e Prof.ª Dr.ª Mônica Calixto R. de Holanda, pelas orientações, sugestões e apoio.

Ao Prof.º Dr. Francisco de Assis Leite de Souza, por todo o apoio nas análises laboratoriais, pelos ensinamentos e sugestões.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela disponibilidade das instalações e laboratórios.

Ao Laboratório de histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, nas pessoas de Edna Barros e Bruno Paiva, por toda ajuda e orientações nas atividades laboratoriais.

À Prof.ª Dr.ª Mércia Barros e à Doutoranda Saruanna Milena, e ao laboratório de microbiologia do Departamento de Medicina Veterinária, pelo auxílio nas pesquisas e realização dos ensaios laboratoriais.

Ao Laboratório de Doenças Metabólicas dos Ruminantes do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, nas pessoas do Professor Pierre Soares e de Daniel Nunes, pelo auxílio nas análises laboratoriais.

Aos Professores Prof.º Cláudio Parro, Prof.ª Maria do Carmo, Prof.ª Tayara Soares e Prof.ª Mônica, pelas orientações e sugestões na pesquisa.

Ao Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Produção Animal – BLOPA – e às professoras Helena Emília, Karoline e Juliete, pelas orientações e auxílio na realização das análises.

Aos amigos e amigas Gabriela, Marina, Luiz, João, Salmo, Andrea, Mateus, Caiu, Rodrigo, Fábio, Tomás, Erick, Antônio e Agni, e a todos os outros que não consegui citar, por toda ajuda e apoio na realização dos ensaios de campo e laboratoriais. A vocês, meu muito obrigado.

Aos amigos Marcos Elias e Elisama Torres, pelas orientações para a realização das coletas e análises dos materiais.

Aos professores da UFPE, Prof.^a Patrícia Paiva, Prof.^o Thiago Napoleão, Prof.^o Dr. Luiz Soares, Dr.^a Magda Rhayanny e ao Prof.^o Dr. Jorge, pelo auxílio nas análises laboratoriais.

À Empresa Químtia pela colaboração com a pesquisa, nas pessoas de Júlia Barros e Juliana pelo apoio.

A todos os colegas de turma, que contribuíram para o meu aprendizado.

Aos funcionários da UFRPE, que estiveram dispostos a ajudar de alguma forma, em especial à Dona Fátima Sampaio.

Ao funcionário Sr. Pedro, que sempre me ajudou sem medir esforços na realização de toda pesquisa.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas Capítulo 2	x
Lista de Tabelas Capítulo 3	xi
Lista de Figuras	xiii
Resumo Geral	xiv
Abstract.....	xvi
Considerações iniciais	16
CAPÍTULO 1 - A FASE PÓS-DESMAME NOS SUÍNOS, A RESISTÊNCIA BACTERIANA, A PROIBIÇÃO DO USO DE ANTIBIÓTICOS COMO MELHORADORES DE DESEMPENHO E SUAS ALTERNATIVAS, O MODO DE AÇÃO DOS FITOQUÍMICOS E A MORINGA	18
A fase pós-desmame nos leitões.....	19
A resistência bacteriana e a proibição dos AMDs	21
Histórico sobre a proibição dos AMDs	22
Efeito da descontinuidade do uso de AMDs.....	23
Alternativas ao uso de AMDs.....	25
Extratos vegetais	25
Óleos essenciais	27
Ácidos orgânicos.....	30
Modo de ação antimicrobiana dos óleos essenciais	32
A moringa.....	34
Composição bromatológica da moringa	36
Componentes bioativos do óleo de sementes de moringa	38
Referências	40
CAPÍTULO 2 - CARACTERÍSTICAS DO ÓLEO DE SEMENTES DE MORINGA E SUA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	48
Resumo	49
Abstract.....	50
Introdução	51
Material e métodos	52
Resultados e discussão	55
Conclusões.....	61
Referências	62
CAPÍTULO 3 – ÓLEO DE MORINGA E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIBIÓTICOS EM DIETAS PARA LEITÕES SOBRE O DESEMPENHO, ÍNDICE DE ESCORE FECAL, PERFIL BIOQUÍMICO E IMUNOLÓGICO E HISTOPATOLOGIA DE ÓRGÃOS	65
Resumo	66
Abstract.....	67
Introdução	68
Material e métodos	70
Resultados e discussão	76
Conclusões.....	96
Agradecimentos	96
Referências	97

LISTA DE TABELAS**Capítulo 2**

Tabela 1. Condições cromatográficas para identificação do perfil químico por CCD.....	52
Tabela 2. Perfil de ácidos graxos do óleo de sementes de moringa.	56
Tabela 3. Identificação do perfil químico por CCD e doseamento de fitosteróis no óleo de moringa.....	58
Tabela 4. Atividade antimicrobiana do óleo de sementes de moringa e antibióticos.....	60

LISTA DE TABELAS

Capítulo 3

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional calculada das dietas experimentais para leitões na fase pré-inicial.....	71
Tabela 2. Composição centesimal e nutricional calculada das dietas experimentais para leitões na fase inicial.....	72
Tabela 3. Composição centesimal e nutricional calculada das dietas experimentais para leitões na fase de crescimento.....	73
Tabela 4. Escore de lesões de acordo com o grau de intensidade e a distribuição.....	76
Tabela 5. Condição de escore fecal de leitões recém-desmamados recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho	77
Tabela 6. Desempenho produtivo de leitões recém-desmamados recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho. ..	80
Tabela 7. Peso absoluto da carcaça e cortes de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.	83
Tabela 8. Rendimento de carcaça e cortes de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.....	84
Tabela 9. Características de carcaça de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.	85
Tabela 10. Peso absoluto de órgãos de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.	86
Tabela 11. Rendimento de órgãos de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.	87
Tabela 12. Perfil bioquímico sérico de leitões no final da fase pré-inicial recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.	88
Tabela 13. Perfil bioquímico sérico de leitões no final da fase de crescimento recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.	90
Tabela 14. Imunoglobulinas em leitões em diferentes fases do crescimento recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.....	92

Tabela 15. Frequência relativa (%) e absoluta de alterações em células hepáticas de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.....	93
Tabela 16. Medianas da distribuição de alterações em células hepáticas de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.....	95
Tabela 17. Medianas da intensidade de alterações em células hepáticas de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.....	96

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Uso de antibióticos na produção animal na Dinamarca	24
Figura 2. Estrutura dos compostos aromáticos	27
Figura 3. Estruturas de monoterpenos e sesquiterpenos	28
Figura 4 (A). Árvore de <i>Moringa oleífera</i>	35
Figura 4 (B). Árvore de <i>Moringa oleífera</i>	35
Figura 5 (A). Folhas e flores de <i>Moringa oleífera</i>	36
Figura 5 (B). Vagens de <i>Moringa oleífera</i>	36
Figura 6. Sementes de <i>Moringa oleífera</i>	37

Capítulo 2

Figura 1. Cromatoplaça referente à análise dos terpenos e esteroides.....	57
Figura 2. Óleo de sementes de <i>Moringa oleífera</i> e antibióticos contra <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	61

Capítulo 3

Figura 1 (A). Infiltrado linfo-histioplasmocitário	94
Figura 1 (B). Leucocitose sinusoidal	94
Figura 1 (C). Fibrose de cápsula.....	94
Figura 1 (D). Fibrose portal	94

ÓLEO DE SEMENTE MORINGA E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIBIÓTICOS MELHORADORES DE DESEMPENHO EM DIETAS PARA LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS

RESUMO GERAL

O primeiro capítulo descreve os desafios enfrentados na fase pós-desmame dos leitões, as causas que levaram às proibições do uso de antibióticos como melhoradores de desempenho na produção animal e suas possíveis alternativas de substituição, assim como o modo de ação de alguns fitoquímicos e o potencial da moringa como alternativa natural. O segundo capítulo descreve os resultados para o ensaio antibiograma *in vitro* com a utilização do óleo de sementes de moringa, o perfil de ácidos graxos e componentes bioativos do óleo. O terceiro capítulo é composto pelos resultados de desempenho, índice de diarreia, rendimento de carcaça e das partes, bem como o rendimento dos órgãos, perfil bioquímico sérico e imunológico dos leitões no final da fase pré-inicial e no final da fase de crescimento, bem como análises histopatológicas do fígado. O óleo de sementes de moringa foi extraído por prensagem a frio mediante prensa hidráulica de 30 toneladas de capacidade, com auxílio de um extrator. O ensaio antibiograma foi realizado pelo método disco-difusão. A identificação de compostos bioativos foi realizada por meio de cromatografia de camada delgada, com a utilização do diclorometano para separação das frações. O doseamento dos componentes fitoquímicos foi realizado por leitura em espectrofotômetro e com a utilização de metanol e clorofórmio como solventes. O perfil de ácidos graxos foi determinado por intermédio de cromatógrafo com detector de ionização de chama. O teor de energia do óleo foi determinado por bomba calorimétrica. O óleo de moringa não apresentou ação antimicrobiana contra cepas de bactérias gram-negativas *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e gram-positivas *S. aureus*. Os ensaios de dosagens de compostos bioativos do óleo detectaram fitosteróis, sendo o β -sistosterol o principal componente fitoquímico encontrado. O perfil de ácidos graxos apresentou 83,65% de ácido oleico; no entanto, o índice de ácidos graxos poli-insaturados foi baixo (0,196%). O teor de energia bruta do óleo foi 9.948 kcal kg⁻¹. No ensaio de desempenho foram utilizados 48 leitões machos castrados de linhagem comercial proveniente do cruzamento de fêmeas MO25C Embrapa (Landrace x Large White x Moura) com machos MS115 Embrapa (Pietrain x Large White x Duroc) com média de 25 dias de vida e peso médio inicial de 9,65±0,07 kg. O delineamento foi em blocos ao acaso, com quatro tratamentos, seis repetições e dois animais por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos de uma dieta referência à base de milho e farelo de soja como sendo o controle negativo (CN), uma dieta referência + 0,04 ou 0,3 de antibióticos como controle positivo (CP), uma dieta referência + 0,5% de um blend de ácidos orgânicos (Nuviacid®) como a dieta teste 1 (AO) e uma dieta referência + 0,5 ou 1% de óleo de sementes de moringa como sendo a dieta teste 2 (OM). O período experimental foi de oito semanas e ao término do ensaio os leitões possuíam 82 dias de idade. O desempenho não foi afetado pelos diferentes aditivos. Os ácidos orgânicos e antibióticos reduziram o índice de diarreia quando comparado ao CN e OM. O rendimento de carcaça não foi alterado pelos tratamentos, mas o rendimento dos cortes teve efeito significativo para barriga + costela (p<0,05), carré (p<0,1) e copa + pescoço (p<0,1), sendo maiores para o AO, CN e OM, respectivamente. O peso absoluto dos órgãos não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, exceto o peso dos rins que foi maior para o CN em relação ao OM. Para o rendimento de órgãos o pâncreas apresentou aumento (p<0,1) para o tratamento OM. A espessura de toucinho, por outro lado, foi maior (p<0,05) para AO quando comparado ao CN e OM. O óleo de moringa não reduz incidência de diarreia. Os ácidos orgânicos, óleo de moringa e antibióticos podem causar alterações hepáticas.

Palavras-chave: Bactérias; Compostos bioativos; Diarreia; *Moringa oleífera*.

MORINGA SEED OIL AND ORGANIC ACIDS AS A REPLACEMENT FOR ANTIBIOTICS IN DIETS FOR WEAN PIGLETS

OVERVIEW

The first chapter describes the challenges faced in the post-weaning phase of piglets, the causes that led to the prohibition of the use of antibiotics as performances enhancers in animal production and their possible replacement alternatives, as well as the mode of action of some phytochemicals and the potential of moringa as a natural alternative. The second chapter describes the results for the *in vitro* antibiogram assay using moringa seed oil, the fatty acid profile and bioactive components of the oil. The third chapter is composed of the results of performance, diarrhea index, carcass and parts yield, as well as organ yield, serum biochemical and immunological profile of piglets at the end of the pre-initial phase and at the end of the growth phase, as well as the result of histopathological analysis of the kidney and liver. The moringa seed oil was extracted by cold pressing through a hydraulic press with a capacity of 30 tons, with the aid of an extractor. The antibiogram assay was performed using the disk-diffusion method. The identification of bioactive compounds was performed by thin layer chromatography, using dichloromethane to separate the fractions. The determination of phytochemical components was performed by reading in a spectrophotometer and using methanol and chloroform as solvents. The fatty acid profile was determined using a chromatograph with a flame ionization detector. The energy content of the oil was determined by bomb calorimetry. Moringa oil showed no antimicrobial action against strains of gram-negative bacteria *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and gram-positive *S. aureus*. The assays of dosages of bioactive compounds of the oil detected phytosterols, being the β -sistosterol the main phytochemical component found. The fatty acid profile showed 83.65% oleic acid, however the polyunsaturated fatty acid content was low (0.196%). The crude energy content of the oil was 9,948 kcal kg⁻¹. In the performance test, 48 castrated male piglets of commercial strain from the crossing of MO25C Embrapa females (Landrace x Large White x Moura) with MS115 Embrapa males (Pietrain x Large White x Duroc) with an average of 25 days of life and average weight were used. initial weight of 9.65±0.07 kg. The design was in randomized blocks, with four treatments, six replications and two animals per experimental unit. The treatments consisted of a reference diet based on corn and soybean meal as the negative control (NC), a reference diet + 0,04 or 0,3% of antibiotics as a positive control (CP), a reference diet + 0,5% of a blend of organic acids (Nuviacid®) as test diet 1 (OA) and a reference diet + 0,5 or 1% ppm moringa seed oil as test diet 2 (OM). The experimental period lasted eight weeks and at the end of the trial the piglets were 82 days old. The performance was not affected by the different additives in the diet. Organic acids and antibiotics reduced the diarrhea rate when compared to CN and OM. The carcass yield was not altered by the treatments, but the cut yield had a significant effect for belly + rib (p<0.05), carré (p<0.1) and crown + neck (p<0.1), being higher for AO, CN and OM, respectively. The absolute weight of the organs did not present a significant difference between the treatments, except for the weight of the kidneys, which was higher for the NC in relation to the OM. For organ yield, the pancreas showed an increase (p<0.1) for the OM treatment. Backfat thickness on the other hand was higher (p<0.05) for AO when compared to CN and OM. Moringa oil does not reduce incidence of diarrhea. Organic acids, moringa oil and antibiotics can cause liver damage.

Keywords: Bacteria; Bioactive compounds; Diarrhea; *Moringa oleífera*.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A fase pós-desmame é uma das mais desafiadoras na suinocultura. Os manejos sanitário e nutricional são imprescindíveis para a obtenção do sucesso na produção, uma vez que problemas de desempenho nesta fase pode levar a prejuízos nos índices produtivos por todas as fases subsequentes. No entanto, esses cuidados por si só não são suficientes para atender às exigências dos leitões, visto que diversos outros problemas podem comprometer a sanidade dos animais devido ao estresse. A separação da mãe, a mudança da dieta que passa de líquida de alta digestibilidade para rações sólidas, mudança de ambiente, estresse causados por eventos sociais como a mistura de diferentes leitegadas, perda da imunidade passiva advinda do leite materno e ambiência são as principais portas de entrada para patógenos. A *E. coli* é um dos principais agentes causadores de diarreia na fase pós-desmame em leitões. Com isso, torna-se necessária a utilização de aditivos melhoradores de desempenho, a fim de controlar a ocorrência de microrganismos patogênicos e melhorar a digestibilidade dos nutrientes da dieta.

Os antibióticos são utilizados na suinocultura com esse fim há décadas; no entanto, o surgimento de bactérias patogênicas resistentes a esses fármacos se tornou um problema sanitário na medicina humana. Com isso, torna-se necessária a busca por alternativas que possam substituir os antimicrobianos como melhoradores de desempenho. Diversas pesquisas têm sido realizadas para esse fim. Os probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, óleos essenciais e extratos herbais têm demonstrado resultados satisfatórios. Nesse contexto, a moringa torna-se uma alternativa importante, pois apresenta fitoquímicos com potenciais efeitos benéficos na saúde animal e humana.

Os principais compostos bioativos da moringa podem ser encontrados nas folhas, flores e sementes, sendo eles da classe dos terpenos. O óleo de sementes de moringa possui em sua composição o β -sistosterol, um esteroide sintetizado a partir do triterpeno. Esse composto pode apresentar ação antimicrobiana, antifúngica, antidiarreica e anticarcinogênica.

Por outro lado, os ácidos orgânicos podem atuar na redução do pH gástrico auxiliando a secreção de enzimas digestivas e melhorando a digestão proteica. No intestino, a redução do pH pelos ácidos orgânicos aumenta a produção de bicarbonato, que, por sua vez, estimula a produção e secreção enzimática das lipases e proteases pancreáticas, age também na promoção de colonização de bactérias benéficas, reduzindo a proliferação de agentes patogênicos, além de ser uma fonte direta de energia para os enterócitos, melhorando, assim, a eficiência alimentar e reduzindo a incidência de diarreia.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a ação antimicrobiana do óleo de sementes de moringa e a utilização desse óleo e de ácidos orgânicos na dieta de leitões desmamados sobre os índices produtivos, índice de escore fecal, rendimento de carcaça e órgãos, perfil bioquímico sérico e imunológico e histopatologia de órgãos.

CAPÍTULO 1

A fase pós-desmame nos suínos, a resistência bacteriana e a proibição do uso de antibióticos como melhoradores de desempenho e suas alternativas, modo de ação dos fitoquímicos e a moringa

FASE PÓS-DESMAME EM LEITÕES

Os desafios que a fase pós-desmame trazem à suinocultura são mundialmente conhecidos, principalmente na suinocultura moderna em que o melhoramento genético seleciona matrizes capazes de produzir leitegadas maiores, além dos sistemas intensivos que permitem a realização dos desmames precoce. Esses fatores agravam a necessidade de cuidados com os leitões ao desmame, pois o peso ao nascer e o peso ao desmame estão diretamente relacionados à capacidade de apresentar melhores resultados no desempenho ao longo das fases subsequentes (COLLINS *et al.*, 2017).

O desmame consiste na separação dos leitões de suas mães, e esse processo é acompanhado de diversos fatores estressantes do ponto de vista psicológico, fisiológico, físico e social. A separação da mãe, manuseios no transporte para outras instalações, mudanças na alimentação, que passa do leite para rações sólidas, estresse na formação de novas hierarquias, convivências com leitegadas diferentes e mudança de ambiente são alguns dos fatores que causam estresses nos leitões, além de maior exposição a patógenos e antígenos dietéticos ou ambientais (CAMPBELL *et al.*, 2013). Esses fatores estressantes podem ocasionar redução no consumo de ração e, conseqüentemente, disfunções fisiológicas, o que abre barreiras para a entrada de microrganismos patogênicos, e estão relacionados ao aumento de infecções e doenças entéricas nos leitões, levando a quadros de desnutrição e redução no ganho de peso, e, conseqüentemente, prejuízos econômicos.

Além disso, o trato gastrointestinal apresenta diversas funções, além de digestão e absorção de nutrientes e eletrólitos estarem associados à manutenção do equilíbrio dos fluidos corporais, secreção de enzimas digestivas, mucina, imunoglobulinas e vários outros componentes, servindo também ao hospedeiro como barreira contra patógenos e antígenos prejudiciais (CAMPBELL *et al.*, 2013). No entanto, essas funções podem ser prejudicadas nos leitões recém-desmamados por apresentarem imaturidade do trato gastrointestinal.

O desmame está associado à indução da disfunção mitocondrial, condições de estresse oxidativo e menor resposta inflamatória, que afetam mais severamente leitões menores (NOVAIS *et al.*, 2021). Os mecanismos de defesa intestinal variam desde a manutenção de altas concentrações de antioxidantes até a regulação de enzimas antioxidantes e a indução de apoptose (JOHN *et al.*, 2011). Nesse contexto, o estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio e sua neutralização por antioxidantes (NOVAIS *et al.*, 2021), o que pode estar relacionado a menor resposta imunológica em leitões após o desmame.

De acordo com Pluske *et al.* (1997), é sabido que há mudanças na estrutura e função do epitélio intestinal em leitões após o desmame. Essas mudanças podem ocorrer devido a uma baixa taxa de renovação celular ou alta taxa de perda celular, ainda segundo esses autores. No entanto, a menor altura de vilosidades parece estar mais diretamente ligada a uma maior taxa de perda celular, o que pode estar associado ao aumento da produção de células de cripta e, portanto, ao aumento da profundidade desta, ocasionado principalmente por desafio microbiano e componentes antigênicos de alimentos (PLUSKE *et al.*, 1997).

O epitélio intestinal forma uma barreira entre a circulação sanguínea e o ambiente externo do lúmen intestinal, e tem um papel fundamental na preservação do meio, permitindo a absorção e secreção de nutrientes em uma função controlada, mas normalmente restringe quase completamente a passagem de moléculas prejudiciais, como antígenos, bactérias, vírus ou outros patógenos (JOHN *et al.*, 2011). O transporte paracelular de endotoxina ocorre por meio da dissociação de complexos de proteínas das junções oclusivas, resultando no comprometimento da integridade da barreira intestinal, o que pode ser resultado de doença entérica, inflamação ou estresse ambiental e metabólico (MANI *et al.*, 2012).

A *Escherichia coli* enterotoxigênica pode se tornar a principal responsável pelo aumento na taxa de morbidade, mortalidade e perdas econômicas na produção (SANTANA *et al.*, 2015). De acordo com Yang *et al.* (2014), leitões desafiados com *E. coli* apresentam menor altura de vilosidades, maior profundidade de cripta e relação vilo:cripta reduzida no duodeno e jejuno, além de redução na expressão de mRNA da zona de oclusão e ocludina, e expressão de proteínas no jejuno. No entanto, segundo tais autores, esses efeitos deletérios causados por *E. coli* podem ser atenuados pela suplementação com *Lactobacillus plantarum*. Respostas semelhantes foram descritas por Pan *et al.* (2017) que também observaram piora da função da barreira intestinal em leitões desafiados com *E. coli*; no entanto, observaram mitigação desses efeitos com a suplementação com lactobacilos, o qual melhorou o status imunológicos dos leitões pelo aumento na produção de imunoglobulinas, além de observarem melhora na digestibilidade dos nutrientes e no desempenho.

Com o aumento da conscientização da população quanto ao consumo consciente de produtos livres de resíduos e com a expansão de proibições quanto ao uso de antibióticos como melhoradores de desempenho na produção animal, tem se tornado cada vez mais evidente a necessidade de busca por alternativas que possam substituir os antibióticos no combate aos efeitos deletérios de agentes patogênicos em leitões após o desmame, a fim de reduzir os riscos de infecção, e, conseqüentemente, perdas na produtividade e econômicas.

A RESISTÊNCIA BACTERIANA E A PROIBIÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS MELHORADORES DE DESEMPENHO (AMDs)

As bactérias possuem grande capacidade genética de adaptação o que lhes permite responder a muitas ameaças ambientais, incluindo a presença de antibióticos que podem comprometer sua existência (MUNITA; ARIAS, 2016).

A resistência bacteriana é reconhecida como umas das ameaças mais graves à saúde humana no século XXI (LIU *et al.*, 2016). Pode surgir mediante mecanismos genéticos, como a transferência horizontal dos genes resistentes, pela recombinação de DNA e por mutação (DAVIS, 1997; DZIDIC *et al.*, 2008; MUNITA; ARIAS, 2016), como também por meio de mecanismos bioquímicos, como a inativação do antimicrobiano, modificação do local alvo do antimicrobiano e bombas de efluxo e permeabilidade da membrana externa da parede celular bacteriana (DZIDIC *et al.*, 2008; MUNITA; ARIAS, 2016). Esses fatores não são estáticos; de acordo com Martinez e Baquero (2000), podem evoluir com a pressão seletiva dos antimicrobianos, quando utilizados em tratamentos de infecções. Quando ocorre mutação de resistência, o antimicrobiano elimina as populações susceptíveis e as bactérias resistentes predominam (MUNITA; ARIAS, 2016).

Apesar dos mecanismos de resistência envolverem mudanças, como a codificação ou alteração na estrutura do DNA cromossômico, pode haver também mudanças nos genes contidos em plasmídeos, que codificam enzimas que inativam os antibióticos ou diminuem a permeabilidade das células (BAPTISTA, 2013). Em 2016 foi relatado o primeiro caso de mecanismo de resistência à colistina mediado por plasmídeo, denominado de MCR-1, que codifica a enzima fosfoetanolamina transferase, conferindo resistência à bactéria *E. coli* contra a colistina, que envolve a modificação do lipídio A, resultando na redução da afinidade da polimixina (LIU *et al.*, 2016). Ainda de acordo com esses autores, a descoberta da resistência à colistina mediada por plasmídeo deu-se pelo fato dessa resistência, às polimixinas apresentarem dificuldade de serem geradas em cepas de *E. coli* por mutação cromossômica.

Após a publicação da sequência nucleotídica do MCR-1, diversos grupos de pesquisa rastream suas sequências de DNA; com isso, iniciou-se uma série de relatos da detecção dos genes MCR-1 em diferentes países nos cinco continentes (SCHWARZ; JOHNSON, 2016), inclusive no Brasil (FERNANDES *et al.*, 2016).

A disseminação global de genes resistentes a antimicrobianos está associada a um aumento nas taxas de hospitalização e mortalidade de pacientes infectados com esses microrganismos, constituindo um sério problema para saúde humana e animal (MAYOR,

2018). Com isso, devido ao aumento dos AMDs ou fins terapêuticos na produção animal, há o interesse global referente ao consumo de baixos níveis de resíduos de antimicrobianos em alimentos e os efeitos destes na saúde humana (FRANCO *et al.*, 2010).

Histórico sobre a proibição dos AMDs

A Suécia foi o primeiro país a banir o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho (AMDs), em 1986. Essa proibição pode ser vista como a continuação de uma longa tradição de controle organizado de doenças infecciosas na produção animal desse país (WIERUP, 2001).

Bates *et al.* (1993) relataram o aparecimento de *Enterococcus* resistentes a um antibiótico glicopeptídico na Inglaterra, a vancomicina. Apesar de os glicopeptídeos não terem sido aprovados para o uso em tratamento de infecções em animais (DIBNER; RICHARDS, 2005), isso levou à realização de um levantamento da resistência antimicrobiana à avoparcina em aviários (AARESTRUP, 1995).

Segundo Dibner e Richards (2005), nenhuma relação foi feita entre a resistência de bactérias em alimentos de origem animal e infecções em humanos. No entanto, a Dinamarca proibiu o uso da avoparcina em 1995, e a Alemanha, em 1996, com a justificativa de que poderiam produzir resistência a glicopeptídeos usados na medicina humana (CASTANON, 2007). A partir dessas medidas, desencadeou-se uma série de proibições ao uso de AMDs. A comissão da União Europeia proibiu a avoparcina em todos os seus estados membros em 1997 (DIBNER; RICHARDS, 2005). A Dinamarca passou a proibir também a virginamicina em 1998; no mesmo ano, os produtores de gado, aves e suínos, voluntariamente, passaram a não mais usar nenhum AMD (OMS, 2017), e a Finlândia proibiu o uso de espiramicina por ser um agente usado na medicina humana (CASTANON, 2007).

Outros AMDs foram banidos pela Comissão da União Europeia em 1999, por pertencerem à mesma classe de antimicrobianos usados para tratamentos em humanos (tilosina, espiramicina, bacitracina e virginamicina), ou foram considerados de alto risco de toxicidade (olaquinox e carbadox) (DIBNER; RICHARDS, 2005). Em 2003, o Parlamento e o Conselho da União Europeia publicaram a regulamentação 1831/2003/EC que trata do uso de aditivos na nutrição animal, com a proibição dos últimos quatro antimicrobianos ainda utilizados nos países da União Europeia (REGULATION 1821/2003/EC). Essa proibição foi a fase final da estratégia de eliminação progressiva dos AMDs na União Europeia, e incluiu a saída da monesina sódica, salinomicina sódica, avilamicina e flavofosfolipol do mercado para fins não terapêuticos, e entrou em vigor em 1º de janeiro de 2006 (REGULATION 1831/2003/EC).

Segundo Franceschina *et al.* (2019), os Estados Unidos da América estão diminuindo drasticamente o uso de antimicrobianos e já houve, no Brasil, algumas proibições pelo MAPA, como a fabricação e o uso do carbadox em suínos e o uso de espiramicina, eritromicina, anfenicóis, tetraciclina, beta-lactâmicos, quinolonas e sulfonamida sistêmica. Devido à descoberta do MCR-1 (LIU *et al.*, 2016), o Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) proibiu o uso do sulfato de colistina em todo o território nacional, como promotor de crescimento, pela Instrução Normativa nº 45 de 22 de novembro de 2016 (BRASIL, 2016). Em 2020, o MAPA, por meio da Secretaria de Defesa Agropecuária, publicou a Instrução Normativa nº 1 de 13 de janeiro de 2020, que trata da proibição, importação, fabricação, comercialização e uso de aditivos melhoradores de desempenho que contenham os antimicrobianos tilosina, lincomicina e tiamulina, classificados como importantes na medicina humana (MAPA, IN nº 1/2020).

Efeito da descontinuidade do uso de AMDs

Alguns estudos foram realizados a fim de avaliar os efeitos da proibição do uso de AMDs. Segundo Wegener (2003), o uso de antimicrobianos com finalidade terapêutica aumentou à medida que o uso como melhorador de desempenho foi cessado por completo (Figura 1), devido à necessidade de tratamento de doenças entéricas em leitões desmamados, ou como medida profilática.

Segundo Casewell *et al.* (2003), o aumento nas vendas de antimicrobianos para fins terapêuticos foi de 383 toneladas em 1999 para 437 toneladas em 2000, influenciado principalmente pelo aumento nas vendas de tetraciclina (36 toneladas), trimetoprima/sulfonamidas (12 toneladas) e macrólídeos (12 toneladas).

Wegener (2003) relacionou a diminuição do uso de AMDs com a diminuição da existência de bactérias resistentes. A proibição do uso de avoparcina como promotor de crescimento foi seguida, imediatamente, por uma diminuição da ocorrência de *Enterococcus faecium* resistentes (AARESTRUP *et al.*, 2001). Ainda segundo esses autores, os isolados bacterianos resistentes à vancomicina diminuíram de 72,7 para 5,8% entre os anos de 1995 e 2000, provavelmente devido à redução na pressão seletiva para características de resistência. *Enterococcus* resistentes a glicopeptídeos em suínos possuem genes que codificam resistência a macrólídeos, ligados geneticamente, após a diminuição do uso de tilosina (macrólídeo) entre 1998 e 1999, a resistentes a avoparcina (glicopeptídeo) diminuiu para 6,0% em 2000 (AARESTRUP, 2000).

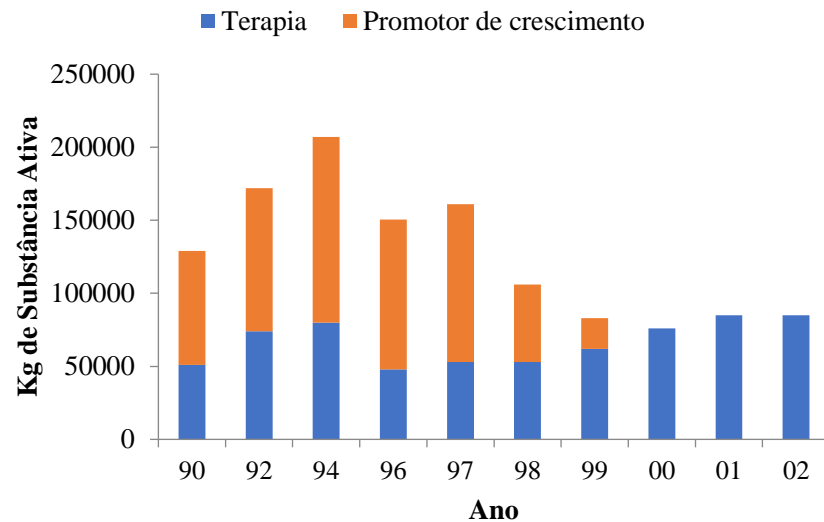


Figura 1. Uso de antimicrobianos na produção animal na Dinamarca. Adaptado de Wegener, 2003.

A exposição a doses subterapêuticas não só pode aumentar a taxa de crescimento de bactérias resistentes, como também, em alguns casos, estimula a produção de espécies reativas de oxigênio, podendo contribuir para um aumento na taxa de mutação e surgimento de bactérias multirresistentes (KOHANSKI *et al.*, 2010; GULLBERG *et al.*, 2011).

Apesar da drástica diminuição na utilização de AMDs, a produção animal, na Dinamarca, se manteve ou aumentou no período de 1995 a 1999. Além disso, houve aumento na produtividade de granjas suínas dinamarquesas, em longo prazo, evidenciando que essa atividade não foi afetada com as mudanças no uso dos antimicrobianos (AARESTRUP *et al.*, 2001; AARESTRUP *et al.*, 2010).

Porém, há controvérsias quanto aos benefícios da remoção dos AMDs. A teoria de transmissão cruzada da resistência aos antimicrobianos, por meio das cadeias alimentares, não é universalmente aceita (CHATTOPADHYAY, 2014). Além disso, após a proibição do uso profilático desses agentes antimicrobianos houve aumento na incidência de doenças nos animais, como diarreia, aumento na taxa de mortalidade e diminuição da taxa de crescimento, podendo aumentar em dois dias para os animais alcançarem os 30 kg de peso vivo (WIERUP, 2001).

Vigre *et al.* (2007) observaram aumento na prescrição de antimicrobianos para tratamentos de diarreia, artrite e pneumonia em suínos, após a proibição desses agentes como aditivos alimentares; porém, após alguns anos, a prescrição para tratamento de diarreia estabilizou. De acordo com Laxminarayan *et al.* (2015), alguns estudos sugerem que a redução

na eficiência produtiva, associada à eliminação do uso de AMDs pode ser mínima em sistemas de criação que possuem práticas de higiene, produção e alimentação otimizados. Além disso, implementação de práticas de manejo e biossegurança podem compensar a retirada do uso desses agentes antimicrobianos (AARESTRUP *et al.*, 2001; AARESTRUP, 2010). No entanto, alternativas aos AMDs se tornam indispensáveis nos sistemas de produção atuais, visto que os índices produtivos na suinocultura moderna têm exigido cada vez mais tecnologias que melhorem a saúde intestinal e o aproveitamento dos nutrientes das dietas, uma vez que os custos com alimentação representam cerca de 80% dos custos totais de produção.

ALTERNATIVAS AO USO DE AMDs

Extratos vegetais

As propriedades antissépticas das plantas medicinais e de seus extratos são observadas desde a Antiguidade, e são objetos de estudo, na tentativa de caracterizar suas propriedades em laboratórios desde 1900 (COSTA *et al.*, 2007). Porém, com a produção das drogas sintéticas, esses extratos herbais foram esquecidos durante o século 20, voltando a ser produto de estudo, recentemente, em decorrência do surgimento de dúvidas em relação à segurança dessas drogas, em especial os antimicrobianos (SURYANARAYANA; DURGA, 2018).

O termo “extrato” é genérico, e é considerado o produto obtido por tratamento de uma matéria-prima natural com um ou vários solventes, podendo a solução obtida ser resfriada e filtrada e os solventes podem ser total ou parcialmente removidos (Norma Internacional de Padronização (ISO/TC54), ISO 9235:2013).

Por possuírem componentes biologicamente ativos, as plantas apresentam efeitos benéficos multifuncionais. Esses são, principalmente, metabólitos secundários, como os terpenóides, fenóis, glicosídeos e alcalóides (HUYGHEBAERT *et al.*, 2011). Podem estar presentes nas sementes, caule, folhas, raízes, flores, frutos e cascas das plantas e variam de acordo com o solo, método de colheita, processamento, entre outros fatores.

Prasad *et al.* (2014) observaram atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos de acetona e acetato de etila das folhas da moringa (*Moringa oleífera*) sobre *Staphylococcus aureus*, com valores de concentração mínima inibitória (CMI) de 0,003 e 0,096 mg/mL, respectivamente. Os extratos de etanol e água, da moringa, também apresentaram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *E. coli* e *Salmonella enteritidis* (VIEIRA *et al.*, 2010). Os extratos de moringa e chá-da-índia (*Camellia sinensis*) apresentam

variação da CMI de 20 a 30 mg/mL sobre cepas de bactérias multirresistentes de *E. coli* e *S. aureus* (OTHMAN; AHMED, 2017).

Hanczakowska e Swiatkiewicz (2012) estudaram a suplementação da dieta de leitões com ácidos orgânicos e extratos herbais e concluíram que para o extrato de ervas (*Melissa officinalis*, *Salvia officinalis*, *Urtica dioica* e *Echinacea purpúrea*) os leitões foram significativamente mais pesados, obtiveram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar; além disso, apresentaram maior digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, fibra bruta e energia. Esses resultados se devem ao fato de apresentarem maior altura e largura dos vilos da mucosa intestinal, melhorando a digestibilidade dos nutrientes. Esses efeitos parecem ser devidos as propriedades probióticas ou antimicrobianas dos extratos. Segundo Stropfová e Lauková (2009), o extrato de sálvia e de orégano possui capacidade de inibir o crescimento de *Enterococcus sp.*

De acordo com Suryanarayana e Durga (2018), o modo de ação dos princípios ativos das plantas inclui a melhoria da secreção de enzimas endógenas, estimulação do apetite, melhoria da digestibilidade e absorção dos nutrientes, e promove a proliferação de bactérias benéficas no intestino, como *Lactobacillus sp.*

Costa *et al.* (2007), estudando o efeito do mix de extratos de orégano + cravo em comparação a antimicrobianos sintéticos, observaram desempenho de leitões muito semelhante entre os tratamentos. No entanto, adicionados na dieta separadamente apresentaram desempenho inferior à mistura do orégano + cravo, evidenciando haver sinergismo entre os extratos. Santana *et al.* (2015) também não observaram efeito significativo no desempenho de leitões suplementados com AMDs e uma mistura de 5% de extratos vegetais, dos quais 2% *Glycyrrhiza glabra* (Raiz doce/alcaçuz), 1.5% *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e 1.5% *Peumus boldus* (boldo); 32% de butirato de sódio e 3% de nucleotídeos preparados a partir de hidrólise de levedura de *Saccharomyces cerevisiae* e um carreador (60%). Esses autores também não observaram diferença significativa no pH do conteúdo da digesta, morfometria dos órgãos e histologia do epitélio intestinal. O controle sanitário, as diferentes partes da planta e as concentrações dos componentes principais podem influenciar o desempenho dos animais (AO *et al.*, 2011), assim como os protocolos de extração, a composição das dietas, o nível de suplementação dos produtos em estudo e o possível sinergismo ou antagonismo entre os aditivos (SANTANA *et al.*, 2015).

Utiyama *et al.* (2006) não observaram efeito significativo na incidência de diarreia em leitões desmamados que receberam extrato vegetal (alho, cravo, canela, pimenta, tomilho, cinamaldeído e eugenol), probiótico, prebiótico e AMD na dieta. Porém, o consumo de ração

foi inferior para os animais que receberam a dieta com extrato vegetal. Os autores relacionaram este fato ao efeito pungente do extrato, que, de acordo com o fabricante, o encapsulamento libera o conteúdo ao entrar em contato com a saliva, o que pode ter provocado uma reação de inibição do consumo. Gois *et al.* (2016) também relataram o possível fato de o óleo essencial de pimenta vermelha brasileira afetar a palatabilidade e causar aversão do sabor dos alimentos aos suínos.

Óleos essenciais

Os óleos essenciais pertencem ao grupo de extratos vegetais e diferenciam-se desses pelo modo de extração. De acordo com a Norma Internacional de Padronização, ((ISO/TC54), ISO 9235:2013) os óleos essenciais são produtos obtidos a partir de uma matéria-prima natural de origem vegetal por destilação a vapor, por processos mecânicos do epicarpo de frutas cítricas ou por destilação a seco após separação da fase aquosa, se houver, por processos físicos.

São compostos aromáticos voláteis e que podem ser extraídos de raízes, caules, folhas, flores e frutos das plantas (YAN *et al.*, 2010). São constituídos principalmente de mono e sesquiterpenos e fenilpropanoides, metabólitos que conferem características organolépticas dos óleos (BIZZO *et al.*, 2009). Sua composição química pode variar entre as espécies e partes de um mesmo vegetal (MIRANDA *et al.*, 2016).

A composição dos óleos essenciais são em grande parte de hidrocarbonetos, dos quais alguns podem ser oxigenados e pertencem aos grupos dos aldeídos, álcoois, fenóis, cetonas, ésteres, óxidos e epóxidos, ésteres metílicos, e hidrocarbonetos terpenos (HAMMER; CARSON, 2010; FELIPE; BICAS, 2017). Possuem duas classes principais de compostos, os fenilpropenos (ex.: cinamaldeído e eugenol) e terpenos (ex.: carvacrol e timol) (OMONIJO *et al.*, 2018).

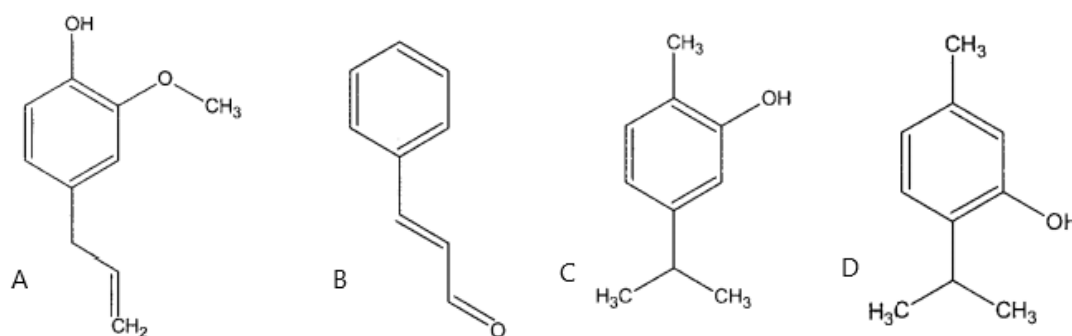


Figura 2. Estruturas dos compostos aromáticos, eugenol (A), trans-cinamaldeído (B), carvacrol (C) e timol (D) (GILL; HOLLEY, 2004).

Os fenilpropenos (Figura 1, A;B) consistem em um anel aromático de 6 – carbonos e uma cadeia lateral de 3 – carbonos (KRISHAN; NARANG, 2014). São sintetizados a partir do aminoácido fenilalanina. Os terpenos (Figura 1, C;D) são subdivididos em estruturas de 5 – carbonos que formam unidades conhecidas como isoprenos e podem ser hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterterpenos (C25), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (DEWICK, 2003).

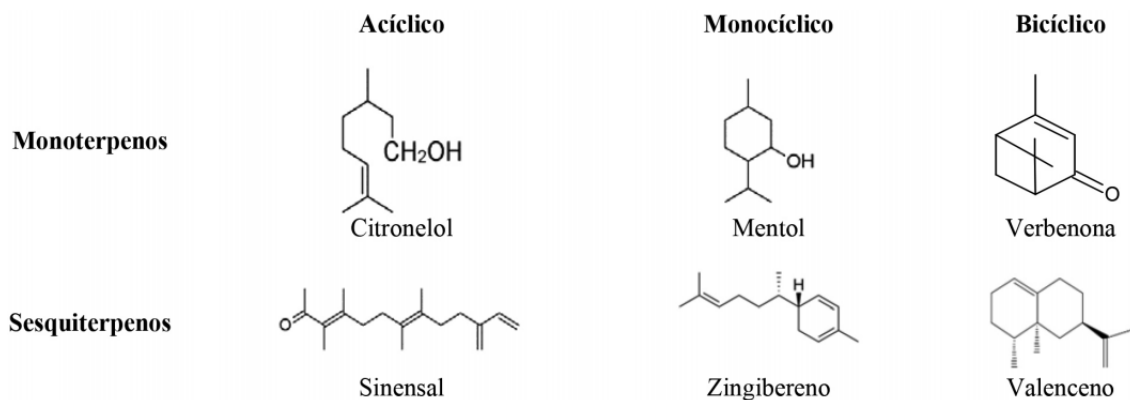


Figura 3. Exemplos de monoterpenos e sesquiterpenos, acíclicos, monocíclicos e bicíclicos (FELIPE; BICAS, 2017).

Segundo Hammer e Carson (2010), os álcoois terpenos dos óleos essenciais possuem atividade antimicrobiana mais ativa, atribuída à porção álcool que aumenta a solubilidade desses componentes tanto em meio aquoso quanto em membranas microbianas.

Andrade *et al.* (2012) estudaram a composição dos óleos essenciais de Capim-citronela (*Cymbopogon nardus*), Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e Gengibre (*Zingiber officinale*). Os principais componentes encontrados foram monoterpenos acíclicos, citronelal (47,12%), para o capim-citronela; fenilpropanóides (E)-cinamaldeído (77,72%), para a canela; e monoterpenos oxigenados, geranial (25,06%) e neral (16,47%) e o monoterpene bicíclico, canfeno (4,30%) para o gengibre. Os autores observaram efeito inibitório sobre bactérias gram-negativas e gram-positivas, bem como efeito antioxidante dos óleos em estudo.

Branco *et al.* (2011) estudaram o efeito da utilização de diferentes níveis de uma mistura composta de óleos essenciais – o *Tecnaroma herbal* (aniz, aniz estrelado, tomilho, orégano, alho, eucalipto e ginepro) sobre a digestibilidade dos nutrientes e desempenho de leitões desmamados em comparação ao AMDs. Os autores observaram que o nível de 0,04% do óleo foi melhor para o consumo de ração em comparação ao AMD. Os níveis de 0,04 e 0,06%

proporcionaram maior ganho de peso dos animais e o nível de 0,06% melhorou a conversão alimentar. Foi observado que o nível de 0,04% apresentou melhor digestibilidade da energia bruta em comparação ao tratamento com AMDs.

Li *et al.* (2012) também observaram maior ganho de peso, consumo de ração e melhor conversão alimentar de leitões suplementados com óleo essencial. Os resultados encontrados por Branco *et al.* (2011) diferem daqueles observados por Costa *et al.* (2007), Oetting *et al.* (2006) e Utiyama *et al.* (2006), que obtiveram melhores desempenhos para os tratamentos que receberam AMDs. Essas diferenças, segundo os autores, podem ser pelo fato de que os extratos vegetais, estudados pelos autores supracitados, devam ser aplicados em níveis mais elevados nas dietas ou em combinação com outros diferentes extratos, no intuito de que seus componentes se complementem entre si ou apresentem efeito sinérgico.

Os melhores resultados de desempenho para os animais que receberam os tratamentos com óleos essenciais podem ser devido à influência do estímulo positivo para a atividade enzimática, produção de saliva e suco gástrico, o que pode melhorar a digestibilidade dos nutrientes (MELLOR, 2000; SURYANARAYANA; DURGA, 2018), assim como pode ter ocorrido também o efeito antimicrobiano, que, segundo Branco *et al.* (2011), é o principal modo de ação dos óleos essenciais. Além disso, Gois *et al.* (2016) observaram maior densidade da vilosidade da mucosa intestinal no duodeno de leitões suplementados com 500 mg/kg de pimenta vermelha brasileira, quando comparado ao antimicrobiano clorohidroxiquinolina.

Henn *et al.* (2010) observaram, *in vitro*, ação bacteriostática do óleo essencial de orégano contra todos os microrganismos estudados e ação bactericida contra quatro deles. Para *Salmonella typhimurium* e *Clostridium perfringens*, a concentração letal mínima foi a mesma que a inibição mínima. Apesar disso, os autores não observaram melhora na digestibilidade e absorção dos nutrientes das dietas, como também não houve efeito sobre a incidência de diarreia, provavelmente devido à dose aplicada no estudo. Li *et al.* (2012) observaram menor contagem de *E. coli* nas fezes e diminuição da incidência de diarreia em leitões suplementados com óleos essenciais em comparação ao controle.

Menten (2002) relata que o efeito antimicrobiano pode estar relacionado, principalmente, com a alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana, agindo como bactericida ou bacteriostático, e, deste modo, promovendo efeito interativo com a fisiologia animal, na diminuição da competição dos nutrientes, na proteção da mucosa intestinal contra as toxinas bacterianas ou no controle de doenças subclínicas. De acordo com Windisch *et al.* (2007), o modo de ação dos óleos essenciais hidrofóbicos surge da

capacidade de invadir a membrana celular bacteriana, rompendo as estruturas e causando vazamentos de íons.

Yan *et al.* (2010) também observaram efeito da mistura de óleos essenciais (tomilho, alecrim e extratos de orégano) sobre o desempenho de suínos. Na fase inicial de zero a seis semanas, os animais que receberam o óleo essencial apresentaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar. No período completo, de zero a 16 semanas, os animais do tratamento que receberam óleos essenciais apresentaram maior ganho de peso médio diário.

Os óleos essenciais também apresentam efeito imunestimulante em leitões desmamados (LI *et al.*, 2012). Segundo estes autores, a suplementação com óleo essencial (timol e cinamaldeído) melhorou o estado imunológico dos leitões após o desmame, indicado pelo aumento da taxa de proliferação de linfócitos, taxa de fagocitose, além dos níveis séricos de IgG, IgA, IgM, e componentes de complemento C3 e C4. De acordo com Yan *et al.* (2010), esse efeito pode estar relacionado à ação antimicrobiana do óleo, uma vez que o desenvolvimento e a maturação do sistema imunológico depende da composição e desenvolvimento da microbiota intestinal.

Ácidos orgânicos

Caracterizados como ácidos fracos e de cadeia curta, os ácidos orgânicos são amplamente encontrados na natureza como componentes de tecidos vegetal e animal, assim como são obtidos pela fermentação de carboidratos, como ocorre comumente no intestino grosso (COSTA *et al.* 2013). Possuem propriedades multifuncionais que podem alterar diferentes parâmetros de desempenho nos animais (BOAS *et al.*, 2016). Dependendo do nível de inclusão nas dietas, podem apresentar ação bactericida ou bacteriostático (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

Os principais ácidos orgânicos estudados como aditivo alimentar são os ácidos butírico, láctico, fórmico, cítrico, acético e propiônico. No entanto, o ácido butírico se destaca como fonte preferencial de energia para as células intestinais, estimulando o crescimento e integridade da mucosa (MACHINSKY *et al.*, 2010).

Os ácidos orgânicos e seus sais também possuem a capacidade de diminuir o pH gástrico, resultando em aumento no tempo de retenção do alimento no estômago e favorecendo a atividade de enzimas proteolíticas (COSTA *et al.*, 2013). Podem também diminuir o pH das dietas (GRECO *et al.*, 2018) reduzindo a capacidade tampão e inibindo a proliferação e colonização de microrganismos indesejáveis nas matérias-primas, rações e trato gastrointestinal dos animais (COSTA *et al.*, 2011).

O baixo pH pode induzir o aumento na secreção da pepsina, melhorando a utilização da proteína, como também aumenta a digestibilidade dos nutrientes pelas alterações na altura e profundidade das vilosidades no intestino delgado de leitões jovens (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). De acordo com De Busser *et al.* (2011), o período pós-desmame é acompanhado por uma produção insuficiente de ácido gástrico e enzimas pancreáticas que limita a capacidade digestiva e de absorção do trato gastrointestinal.

Tsiloyiannis *et al.* (2001) estudaram o efeito de seis ácidos orgânicos (propiónico, láctico, fórmico, málico, cítrico e fumárico) sobre a eficácia no controle da síndrome da diarreia pós-desmame causada por cepas de *E. coli* enterotoxigênica. Todos os tratamentos com ácidos orgânicos apresentaram incidência e gravidade da diarreia reduzidas e não diferiram do tratamento com AMD, além de apresentar desempenho significativamente melhor que o tratamento controle. Os autores concluíram que os ácidos orgânicos são capazes de controlar diarreia; umas das explicações pode ser a possível diminuição do pH intestinal, impedindo a proliferação de agentes contaminantes, principalmente cepas de *E. coli* enterotoxigênica.

De acordo com Suiryarayna e Ramana (2015), os ácidos orgânicos melhoram o desempenho animal por reduzir a competição dos nutrientes entre os microrganismos e o hospedeiro, reduzindo as infecções bacterianas subclínicas e a resposta imune intestinal, assim como a produção de toxinas bacterianas.

De Busser *et al.* (2011), testaram a alteração do pH da água potável de leitões sobre a excreção de *E. coli*. O pH da água (pH 8) foi diminuído para 4, 5 e 6, utilizando uma mistura de ácidos orgânicos (láctico, propiónico, acético e fórmico). Os autores observaram que com o pH 4 houve menor excreção de *E. coli*, porém, também houve diminuição do consumo de água. Os autores observaram também diferença significativa na contagem total de *E. coli* entre os tratamentos com pH 4 e 8, indicando que o pH 4 apresentou menor carga fecal de coliformes no intestino. Segundo Costa *et al.* (2013) a ação bacteriostática primária, dos ácidos orgânicos, contra muitas espécies bacterianas ocorre pela redução do pH. Além disso, esses ácidos quando na forma não dissociada, podem difundir-se livremente através da membrana plasmática microbiana e atingir o citoplasma, destruindo suas funções vitais (RIEMENSPERGER *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2013), incluindo *Salmonella sp*, *E. coli*, *Clostridia sp*, *Listeria sp*. e alguns coliformes (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015).

Machinsky *et al.* (2010) observaram maior digestibilidade aparente da proteína bruta com a utilização do ácido butírico na dieta. Provavelmente devido à capacidade dos ácidos em diminuir o pH, como já mencionado por outros autores, com isso, havendo melhor atuação das enzimas proteolíticas. Mazzoni *et al.* (2008) observaram maior número de células parietais por

glândula gástrica, com a adição de butirato de sódio, que após o desmame também aumentou o número de células enteroendócrinas e tendeu a aumentar a expressão do mRNA para a gastrina e a densidade da mucosa gástrica. Observaram ainda que o butirato de sódio aumentou a secreção de somatostatina, o que pode ser explicado pelo fato desse hormônio agir como mensageiro de feedback negativo para a secreção de ácido clorídrico.

Ahmed *et al.* (2014) observaram que o ácido cítrico diminui o consumo de ração, porém o ganho de peso não foi afetado. Kil *et al.* (2011) relataram que o ácido cítrico possui sabor amargo, fato que pode ser uma característica limitante do consumo. O ácido cítrico aumenta o ganho de peso e diminui o consumo de ração, melhorando a conversão alimentar (KIL *et al.*, 2011).

MODO DE AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Uma grande variedade de óleos essenciais possui propriedades antibacterianas e, em muitos casos, essa atividade se deve à presença de componentes ativos secundários, principalmente atribuíveis a isoprenos como monoterpenos, sesquiterpenos e álcoois (TAGHIZADEH *et al.*, 2018). Sabe-se que essa atividade antimicrobiana dos óleos essenciais depende de seu caráter hidrofílico ou lipofílico (KALEMBA; KUNICKA, 2003). Considera-se que o modo de ação dos óleos essenciais hidrofóbicos surge da capacidade de invadir a membrana celular bacteriana, rompendo as estruturas e causando vazamentos de íons (WINDISCH *et al.*, 2008). Os terpenoides podem servir como um exemplo de agentes lipossolúveis que afetam as atividades das enzimas catalisadas por membranas (KALEMBA; KUNICKA, 2003).

A atividade bactericida do carvacrol pode estar relacionada com a ruptura da integridade da membrana, uma vez que o carvacrol é um composto lipofílico que se dissolve preferencialmente neste compartimento celular (CUI *et al.*, 2019; ULTEE *et al.*, 1999). Segundo Ultee *et al.* (1999), espera-se que a ruptura da membrana citoplasmática tenha um grande impacto no sistema de transdução de energia, uma vez que a adição de 1 mM de carvacrol diminuiu a quantidade intracelular de adenosina trifosfato (ATP) para próximo de zero em 14 minutos, o que pode estar relacionada a uma menor síntese de ATP.

Foi observado por Ultee *et al.* (2002) que o componente antimicrobiano carvacrol acumula-se preferencialmente nas fases hidrofóbicas da membrana celular bacteriana, onde ocorre a dissolução deste componente e, como resultado, as interações entre os constituintes

lipídicos e as proteínas são afetadas. O carvacrol pode ocupar mais espaço do que há entre as cadeias de ácidos graxos, ocasionando expansão da membrana e resultando em alterações conformacionais da bicamada fosfolipídica, podendo ocorrer fluidização dos lipídeos de membrana (ULTEE *et al.*, 2002). Esses autores propuseram que o carvacrol age como transportador transmembrana de cátions monovalentes, trocando seu próton hidroxil por outro íon, como o potássio, por exemplo.

Esses resultados foram confirmados por Cui *et al.* (2019) que estudaram o mecanismo de ação do óleo essencial de orégano sobre a integridade da parede celular de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. Os autores observaram que a condutividade aumentou de 0,514 para 0,779 mS/cm, evidenciando destruição da membrana e vazamento de pequenas moléculas como Na⁺ e K⁺. Observaram também que a concentração de proteínas e a atividade da enzima fosfatase alcalina (PKA) reduziram em 37,38 e 17,71%, respectivamente. Com isso, há evidências de que o óleo essencial de orégano destrói a estrutura da membrana, causando vazamento de conteúdo e inibindo a atividade enzimática intracelular, afetando, assim, o metabolismo fisiológico normal (CUI *et al.*, 2019). Ainda segundo esses autores, o óleo essencial de orégano inibe a atividade da glicólise do mesmo modo que o ácido malônico, um inibidor típico da via, como também inibe o ciclo do ácido tricarboxílico e suas principais enzimas, afetando os metabólitos da via.

O eugenol causa depressão dos níveis celulares de ATP em bactérias *Listeria monocytogenes*, mas o mesmo resultado não foi observado quando adicionado glicose, diferentemente do CCCP (Carbonilcianeto m-clorofenil-hidrazona), que diminuiu o nível de ATP mesmo na presença prévia de glicose (GILL; HOLLEY, 2004). Esses autores também observaram que não houve aumento extracelular de ATP, o que não sustenta a hipótese de ruptura da membrana celular, proposta por Ultee *et al.* (2002) e Cui *et al.* (2019). Deste modo, parece que o mecanismo de ação do eugenol se diferencia do modo como age o carvacrol. O modo de ação dos agentes antimicrobianos também depende do tipo de microrganismos e está principalmente relacionado à sua estrutura da parede celular e ao arranjo da membrana externa (KALEMBA; KUNICKA, 2003). Deste modo, Gill e Holley (2004) sugerem que o eugenol aja inibindo a utilização de glicose, provavelmente pela inibição de uma enzima envolvida na glicólise, pois o bloqueio do ciclo do ácido cítrico ou da respiração ainda permitiria à célula continuar gerando ATP por fermentação. Essa hipótese foi confirmada por Cui *et al.* (2018), que avaliaram o modo de ação do óleo de cravo, que tem como principal componente o eugenol, e observaram redução na atividade da enzima β -galactosidase em 28,83%, responsável por hidrolisar a galactose em lactose e glicose, gerando energia e fontes de carbono (WATSON;

CHIU, 2016). Os óleos de cravo são capazes de inibir a atividade das enzimas Ca^{2+} , K^+ , Na^+ e Mg^{2+} -ATPases, depreciando o conteúdo de ATP da célula bacteriana, indicando inibição do metabolismo energético (CUI *et al.*, 2018).

O óleo essencial de canela (*Cinnamomum verum*), o qual tem como principal componente o cinamaldeído (73,35%), mostrou uma forte atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (BOUHDID *et al.*, 2010). De acordo com esses autores, o óleo de canela induz alterações na membrana bacteriana, o que levou à perda da permeabilidade seletiva da membrana e, portanto, à inibição da atividade respiratória, e à perda de outras atividades enzimáticas essenciais, assim como o vazamento de K^+ intracelular. Cada óleo essencial contém diferentes componentes bioativos ou diferentes concentrações, podendo, dessa forma, apresentar mecanismos de ação antibacteriano diversos.

O modo de ação dos compostos bioativos da moringa ainda não foram evidenciados; no entanto, os compostos químicos dos óleos essenciais das folhas e sementes de *Moringa oleífera* apresentam principalmente hidrocarbonetos, ácidos graxos, álcoois, ésteres e fenóis (AJA *et al.*, 2014). Esses autores observaram 4,25% de fitol nos óleos essenciais de folhas de moringa. Esse composto pertence ao grupo de álcoois diterpênicos acíclicos. Segundo Aly *et al.* (2016), o extrato do óleo de sementes de moringa contém vários compostos bioativos e pode ser recomendado como composto de importância fitofarmacêutica. Um exemplo é o γ -sistosterol, que é antidiabético, antiangiogênico, anticarcinogênico, antimicrobiano, anti-inflamatório, antidiarreico e antiviral (ALY *et al.*, 2016). Os principais componentes esteróis encontrados no óleo de sementes de moringa foi β -sistosterol, campesterol, estigmasterol e avenasterol (ÖZCAN, 2018), sendo o primeiro sintetizado a partir de álcoois triterpenos.

A MORINGA

Moringa oleífera

A moringa pertence à família Moringaceae e espécie *Moringa oleífera* (PALIWAL *et al.* (2011). Esta planta é uma das 13 espécies conhecidas do gênero e a mais difundida em diversos países (GHAZALI; MOHAMMED, 2011; LEONE *et al.*, 2016). Tem origem das regiões montanhosas do Himalaia no noroeste do Paquistão, ao norte da Índia e agora nativa de muitos países da África, Arábia, Sudeste asiático, Pacífico, Ilhas do Caribe e Américas do Sul e do Norte (GHAZALI; MOHAMMED, 2011; SAA *et al.*, 2019). A moringa é uma planta arbórea que pode atingir de 3 a 5 metros de altura no primeiro ano após o semeio (NRC, 2006).

De acordo com Ghazali e Mohammed (2011), a árvore pode atingir 12 metros de altura (Figura 4), possui tronco curto e reto com casca branca e madeira macia e esponjosa, com galhos delgados e frágeis. As folhas (Figura 5.A) tripinadas com cerca de 20 a 50 cm de comprimento são compostas por folhetos elípticos verde a verde escuro, com 1 a 2 cm e crescem principalmente nas pontas dos galhos (PALIWAL *et al.*, 2011). As vagens (Figura 5.B) verdes ou marrons, dependendo do estágio de maturação, medem cerca de 60 cm e possuem sementes (Figura 6) triangulares com núcleo cercado por uma casca de madeira (GHAZALI; MOHAMMED, 2011).



Figura 4. (A) Árvore de *Moringa oleifera*; (B) Árvore de *Moringa oleifera*.

Esta árvore tem um rápido crescimento, além de possuir alto valor nutritivo e medicinal; é cultivada para alimentação humana, utilizada como remédios, corantes, forragens, purificação da água e todas a suas partes são comestíveis, e há muito tempo é consumida por humanos (PALIWAL *et al.*, 2011).

A moringa é uma planta de alta adaptabilidade em diferentes climas. Possui ciclo perene, rápido crescimento e é tolerante a seca (SINGH *et al.*, 2019). Adaptam-se a altas umidades, altas temperaturas e altitude de 1200m não interfere no seu crescimento, porém, pode ser prejudicado em temperaturas abaixo de 5° C negativos (NRC, 2006).

Tem crescimento em variadas condições de solo, desde o arenoso ao argiloso, podendo ser plantada para produção intensiva de forragem, e pode chegar a produzir de três a 24

toneladas de sementes por ha/ano (MANJU *et al.*, 2018; NDUBUAKU *et al.*, 2014). Possui raízes tuberosas e longas que crescem muito profundamente no solo para absorver água e sais minerais do subsolo, permitindo sua sobrevivência em estações secas (NDUBUAKU *et al.*, 2014). De acordo com Özcan (2018), a *Moringa oleífera* é um das espécies mais importantes economicamente para áreas tropicais secas e é amplamente cultivada em diferentes países.



Figura 5. (A) Flores de *Moringa oleífera*; (B) Vagem de *Moringa oleífera*.

COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DA MORINGA

As sementes (Figura 5), folhas e flores são os constituintes da planta mais ricos nutricionalmente, em teores de lipídios, proteínas e energia. De acordo com Igwilo *et al.* (2017), o teor de proteína bruta apresenta em média 28,02, 27,60 e 25,99% para sementes, folhas e flores, respectivamente, seguido por raízes (5,02%) e hastes (3,59%).

As sementes e folhas também possuem maiores teores de lipídios, 33,78 e 20,0%, respectivamente (IGWILO *et al.*, 2017). Os resultados obtidos por Yameogo *et al.* (2011) para o conteúdo de proteínas e lipídios das folhas foram 27,2 e 17,1%. Porém, os maiores teores de proteínas e lipídios parece estar presente nas sementes. Anhwange *et al.* (2004) e Liang *et al.* (2019) observaram maiores teores de proteínas 40,19 e 40,34% e lipídios 41,58 e 39,12%, respectivamente. Manju *et al.* (2018) observaram que a farinha de sementes apresentou teor de 43,26% de proteína bruta. Esses valores de proteínas encontrados na moringa aproximam-se dos níveis de proteína bruta de outras fontes proteicas utilizadas na alimentação animal,

inclusive do farelo de soja 45%. Os farelos de algodão, canola, amendoim e soja possuem 42,0; 44,5; 49,2 e 52,0% de proteína bruta, respectivamente (QUEIROZ *et al.*, 2010).



Figura 6. Sementes de Moringa oleífera com e sem pericarpo.

Mune *et al.* (2016) observaram a presença de todos os aminoácidos essenciais nas farinhas de sementes e folhas, com maior teor para leucina e valina e menor para metionina e cisteína. Porém, a farinha de folhas apresentou maior conteúdo total de aminoácido em comparação à farinha de sementes, que foi de 42,76 g/16 g N e 35,7 g/16 g N, respectivamente.

As sementes e folhas apresentam os seguintes valores de energia bruta 5311,8 e 4261,2 kcal/kg, seguido por flores (3912 kcal/kg), raízes (3840,5 kcal/kg) e hastes (3800,5 kcal/kg), de acordo com Igwilo *et al.* (2017). Quando comparados com ingredientes energéticos, como o milho (4009 kcal/kg), sorgo (4017 kcal/kg), farelo de trigo (3945 kcal/kg) (MELLO *et al.*, 2009) e milheto (402,4 kcal/100g) (RODRIGUES *et al.*, 2001), as semente e folhas de moringa apresentam maiores valores de energia bruta.

Os teores de carboidratos observados por Igwilo *et al.* (2017) são maiores para hastes e raízes, 87,44 e 76,75%, respectivamente, seguido por flores (50,57%), folhas (33,93%) e sementes (28,77%). Por outro lado, foi observado por Oladeji *et al.* (2017) o valor de 50,25% de carboidratos na farinha de folhas, e Mune *et al.* (2016) observaram que a farinha de sementes apresentou 49,15% de carboidratos.

O conteúdo das folhas apresenta um total de 17 ácidos graxos, desses, 43,31% de saturados, 4,48% de insaturados e 52,21% de poli-insaturados, de acordo com Moyo *et al.* (2011), sendo o ácido heneicosanóico (14,41%) e palmítico (11,79%) os principais do grupo dos ácidos graxos saturados, e o α -linolênico (44,57%) e linoleico (7,44%) como principais insaturados. Segundo Barakat e Ghazal (2016), o óleo das sementes de moringa apresentaram de 15,0 a 22,83% de ácidos graxo saturados, e 77,14 a 84,98% de ácidos graxos insaturados, em diferentes regiões do Egito. Ainda de acordo com esses autores, o ácido oleico foi o que

apresentou maior conteúdo, com um percentual médio de 75,46%. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Ogunkina *et al.* (2014), que obtiveram os valores de 80,7 e 79,9% de ácidos graxos insaturados e 17,2 e 18,3% de saturados, do óleo de sementes de moringa presadas a frio ou extraído por solvente (hexano), respectivamente.

De acordo com Igwilo *et al.* (2017), a moringa também é rica em minerais, apresentando médias entre 104,06 e 514,8 mg 100g⁻¹ de sódio (Na), 1,38 a 13,45 mg 100g⁻¹ de cálcio (Ca), 3,02 a 20,81 mg 100g⁻¹ de potássio (K), nas diferentes partes da planta. Barakat e Ghazal (2016) observaram na torta de sementes os seguintes percentuais de macrominerais, 1,35 a 1,47% de Na, 1,05 a 1,28% de K, 0,25 a 0,47% de Ca, 0,71 a 0,75% de P, e 0,064 a 0,078% de Mg, em diferentes regiões do Egito. Como fonte de vitamina, as folhas fornecem maior número de vitaminas hidrossolúveis, nas seguintes proporções em mg/100g, Ácido Ascórbico (773,30), Tiamina (18,47), Riboflavina (14,82), Piridoxina (57,29) e Niacina (50,35) (IGWILO *et al.*, 2017).

Dessa forma, é evidente o potencial da moringa como fonte de nutrientes para dietas humana e animal. Suas sementes são ricas em óleos, proteínas e minerais, e podem ser usadas como alimento, na medicina, na fabricação de cosméticos e como purificador de água, além de possuir boas perspectivas de pesquisas (LIANG *et al.*, 2019). Do mesmo modo, as folhas são ricas em nutrientes e têm potencial para serem utilizadas como aditivo alimentar com múltiplas finalidades, incluindo fonte de proteínas, ácidos graxos, minerais e vitaminas (MOYO *et al.*, 2011).

COMPONENTES BIOATIVOS DO ÓLEO DE SEMENTES DE MORINGA

Os vegetais de maneira geral possuem compostos considerados não nutrientes ou compostos secundários, que atuam de forma protetora, e podem ser benéficos para a saúde animal. O óleo de sementes de moringa possui muitos componentes bioativos, principalmente esteróis e tocoferóis, diretamente relacionados à capacidade antioxidante do óleo.

Os esteróis de fontes vegetais são capazes de reduzir o LDL-colesterol sérico (RAS *et al.*, 2014). O principal componente esterol presente no óleo de sementes de moringa é o β -Sitosterol, seguido de estigmasterol, campesterol e Δ^5 -Avenasterol. De acordo com Ras (2014), o β -Sitosterol está envolvido no metabolismo do colesterol, reduzindo os níveis séricos de LDL e, conseqüentemente, o risco de doenças cardíacas nas artérias coronárias. Além disso, Aly *et al.* (2016) também observaram como principal componente do óleo de sementes de moringa o γ -sitosterol. Segundo esses autores, esse esterol pode apresentar funções como antidiabético,

anti-angiogênico, anticarcinogênico, antimicrobiano, anti-inflamatório, antidiarreico e antiviral.

O óleo essencial das sementes de moringa contém outros compostos, como os hidrocarbonetos, octadecano, eicosano, docosano, tetracosano, octacosano e nonacosano, nas proporções 13,1; 5,2; 32,7; 24,0 e 19,1%, respectivamente (BARRETO *et al.*, 2009). Hidrocarbonetos podem ser oxigenados e pertencerem ao grupo dos aldeídos, álcoois, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos e terpenóides, os quais possuem atividade antimicrobiana (HAMMER; CARSON, 2010; FELIPE; BICAS, 2017).

Os flavonoides glicosídicos foram encontrados no extrato de sementes de moringa, o isotiocianato 4-(α -L-ramnopiranosiloxi) benzil, N-4-(α -L-ramnopiranosiloxi) carbamato de metila, e 4-(β -D-glucopiranosil-1 \rightarrow 4- α -L-ramnopiranosiloxi) benzil tiocarboxamida, com alta atividade antimicrobiana; o último apresentou maior eficácia (99,2 a 100%) na inibição do patógenos *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* (OLUDURO *et al.*, 2010).

De acordo com Ogbunugafor *et al.* (2011), os altos teores de compostos fenólicos e flavonoides totais, 40,17 mg GAE g⁻¹ e 18,24 mg RE g⁻¹, respectivamente, no óleo de sementes de moringa agregam valor no potencial nutritivo e na melhoria da saúde. Segundo esses autores, além de aumentar a perspectiva econômica de saúde do óleo, os flavonoides agem como antioxidantes, por meio de eliminação dos radicais livres, ou quelante, inibindo doenças cardíacas e câncer.

REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, F. M. Occurrence of Glycopeptide Resistance among *Enterococcus faecium* Isolated from Conventional and Ecological Poultry Farms. **Microbial Drug Resistance**. v.1, n.3, p.255-257, 1995.
- _____. Characterization of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* (GRE), from broilers and pigs in Denmark: genetic evidence that persistence of GRE in pig herds is associated with coselection by resistance to macrolides. **Journal of Clinical Microbiol.** 38:2774–2777, 2000.
- _____. *et al.* Effect of Abolishment of the Use of Antimicrobial Agents for Growth Promotion on Occurrence of Antimicrobial Resistance in Fecal Enterococci from Food Animals in Denmark. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**. v.45, n.7, p.2054-2059, 2001.
- _____. *et al.* Changes in the use of antimicrobials and the effects on productivity of swine farms in Denmark. **American Journal of Veterinary Research**. v.71, n.7, p.726-733, 2010.
- AHMED, S. T. *et al.* Comparison of single and blend acidifiers as alternative to antibiotics on growth performance, fecal microflora, and humoral immunity in weaned piglets. **Asian Australasian Journal of Animal Science**. v.27, n.1, p.93-100, 2014.
- AJA, P. M. *et al.* Chemical constituents of *Moringa oleifera* leaves and seeds from Abakaliki, Nigeria. **American Journal Phytomedicine and Clinical Therapeutics**, 2014.
- ALY, A. A.; MARAEI, R. W.; ALI, H. G. M. Fatty Acids Profile and Chemical Composition of Egyptian *Moringa oleifera* Seed Oils. **JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, [s. l.], v. 93, n. 3, p. 397–404, 2016.
- ANDRADE, M. A. *et al.* Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agrônômica**. v. 43, n. 2, p. 399–408, abr-jun, 2012.
- ANHWANGE, B. A.; AJIBOLA, V. O.; ONIYE, S. J. Chemical Studies of the Seeds of *Moringa oleifera* (Lam) and *Detarium microcarpum* (Guill and Sperr). **Journal of Biological Sciences**. v.4, n.6, p.711-715, 2004.
- AO, X. *et al.* Effects of *Saururus chinensis* extract supplementation on growth performance, meat quality and slurry noxious gas emission in finishing pigs. **Livestock Science**. v.138, p.187-192, 2011.
- BAPTISTA, M. J. F. M. **Mecanismo de Resistência aos Antibióticos**. Lisboa: ULHT (Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologia), 2013. 41p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências e Tecnologia da Saúde, 2013.
- BARAKAT, H.; GHAZAL, G. A. Physicochemical Properties of *Moringa oleifera* Seeds and Their Edible Oil Cultivated at Different Regions in Egypt. **Food and Nutrition Sciences**, [s. l.], v. 07, n. 06, p. 472–484, 2016.
- BARRETO, M. B. *et al.* Constituintes químicos voláteis e não-voláteis de *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 4, p. 893–897, 2009.

- BATES, J.; JORDENS, Z.; SELKON, J. B. Evidence for an animal origin of vancomycin-resistant enterococci. Public Health Laboratory, John Radcliffe Hospital, Headington, Oxford OX3 9DU, United Kingdom. **The Lancet**. v.342, p.490-491, 1993.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**. v.32, n.3, p.588-594, 2009.
- BOAS, A. D. C. V. *et al.* Organic acids in diets of weaned piglets: Performance, digestibility and economical viability. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 68, n. 4, p. 1015–1022, 2016.
- BOUHDID, S. *et al.* Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, n. 4, p. 1139–1149, out. 2010.
- BRANCO, P. A. C. *et al.* Efeito de óleos essenciais como promotores de crescimento em leitões recém-desmamados. **Archivos de Zootecnia**. v. 60, n. 231, P. 699 - 706, 2011.
- CAMPBELL, J. M.; CRENSHAW, J. D.; POLO, J. The biological stress of early weaned piglets. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 2–5, 2013.
- CASEWELL, M. *et al.* The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v.52, p.159-161, 2003.
- CASTANON, J. I. R. History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. **Poultry Science**. v.86, p.2466–2471, 2007.
- CHATTOPADHYAY, M. K. Use of antibiotics as feed additives: a burning question. **Frontiers in Microbiology**. v.5, n.334, p1-4, 2014.
- COLLINS, C. L. *et al.* Post-weaning and whole-of-life performance of pigs is determined by live weight at weaning and the complexity of the diet fed after weaning. **Animal Nutrition**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 372–379, 2017.
- COSTA, L. B.; TSE, M. L. P.; MIYADA, V. S. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.36, n.3, p.589–595, 2007.
- COSTA, L. B. *et al.* Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões desmamados. **Archive of Zootecnia**. v.60, n.231, p.687-698, 2011.
- CUI, H. *et al.* Antibacterial mechanism of oregano essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 139, 2019.
- CUI, H. *et al.* Antimicrobial mechanism of clove oil on *Listeria monocytogenes*. **Food Control**. v. 94, p. 140 - 146, 2018.

DAVIS, J. E. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In: **Simposium on Antibiotic resistance: Origins, evolution, selection and spread. Ciba Foundation**, London, July 16-18, 1996.

DE BUSSER, E. V. *et al.* Effect of administration of organic acids in drinking water on faecal shedding of *E. coli*, performance parameters and health in nursery pigs. **Veterinary Journal**, [s. l.], v. 188, n. 2, p. 184–188, 2011.

DEWICK, P. M. The Mevalonate and Deoxyxylulose Phosphate Pathways: Terpenoids and Steroids. In: **Medicinal Natural Products**. 2002.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J.D. Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action. **Poultry Science**. v.84, p.634-643, 2005.

DZIDIC, S.; SUSKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. **Food Technology and Biotechnology**. v.46, n.1, p.11–21, 2008.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**. v. 39, n. 2, p. 120-130, Maio, 2017.

FERNANDES, M. R. *et al.* Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene. **Euro Surveillance**. v.21, n.17, pii=30214. 2016.

FRANCESCHINA, C. S. *et al.* A colistina como promotor de crescimento na suinocultura: impactos da saúde pública. **Nutritime**. v.16, n.1, p.8393-8399, 2019.

FRANCO, R. M. *et al.* Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.1, p.31-36, 2010.

GHAZALI, H. M.; MOHAMMED, A. S. Moringa (*Moringa oleifera*) Seed Oil: Composition, Nutritional Aspects, and Health Attributes. In: **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. [s.l.] : Elsevier Inc. p. 787–793, 2011.

GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 10, p. 5750–5755, out. 2004.

GOIS, F. D. *et al.* Effect of Brazilian red pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil on performance, diarrhea and gut health of weanling pigs. **Livestock Science**. v.183, p.24-27, 2016.

GRECCO, H. A. T. *et al.* Evaluation of growth performance and gastro-intestinal parameters on the response of weaned piglets to dietary organics acids. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v.90, n.1, p.401-414, 2018.

GULLBERG, E. *et al.* Selection of Resistant Bacteria at Very Low Antibiotic Concentrations. **Plos Pathogens**. v.7, n.7, e1002158, 2011.

- HAMMER, K. A.; CARSON, C. F. Antibacterial and Antifungal Activities of Essential Oils. In: **Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents**. [s.l.] John Wiley and Sons,. p. 255–306, 2010.
- HANCZAKOWSKA, E.; SWIATKIEWICZ, M. Effect of herbal extracts on piglet performance and small intestinal epithelial villi. **Czech Journal of Animal Science**. v.57, n,9, p.420-429, 2012.
- HENN, J. D.; BERTOL, T. M.; MOURA, N. F. *et al.* Oregano essential oil as food additive for piglets: antimicrobial and antioxidant potential. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1761–1767, 2010.
- HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. V. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**. v.187, p.182-188, 2011.
- IGWILO, I. O.. Comparative studies on the nutrient composition and anti-nutritional factors in different parts of *Moringa oleifera* plant found in awka, nigeria. **The Bioscientist**. v. 5, n. 1, p. 1–12, 2017.
- INTERNATIONAL STANDARD. Aromatic natural raw materials - Vocabulary. Second Edition. ISO 9235/2013 (E/F).
- JOHN, L. J.; FROMM, M.; SCHULZKE, J. D. Epithelial barriers in intestinal inflammation. **Antioxidants and Redox Signaling**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 1255–1270, 2011.
- KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. **Current Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 10, p. 813–829, 2003.
- KIL, D. Y.; KWON, W. B.; KIM, B. G. Dietary acidifiers in weanling pig diets: a review. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**. v.24, p.231-247, 2011.
- KOHANSK, M. A.; DEPRISTO, M. A.; COLLINS, J. J. Sublethal Antibiotic Treatment Leads to Multidrug Resistance via Radical-Induced Mutagenesis. **Molecular Cell**. v.37, n.3, p.311-320, 2010.
- KRISHAN, G.; NARANG, A. Use of essential oils in poultry nutrition: A new approach. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**. v. 1, n. 4, p. 156-162, 1 dez. 2014.
- LAXMINARAYAN, R.; VAN BOECKEL, T.; TEILLAN, A. The Economic Costs of Withdrawing Antimicrobial Growth Promoters from the Livestock Sector. OECD Food, Agriculture and Fisheries Papers. **OECD Publishing**. n.78, 2015.
- LEONE, A. *et al.* Moringa oleifera seeds and oil: Characteristics and uses for human health. **International Journal of Molecular Sciences**. v.17, n.2141, p.1-14, 2016.
- LIANG, L. *et al.* Nutritional compositions of Indian Moringa oleifera seed and antioxidant activity of its polypeptides. **Food Science and Nutrition**. v. 7, n. 5, p. 1754–1760, 2019.

- LI, P. *et al.* Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 11, p. 1617–1626, nov. 2012.
- LIU, Y-Y. *et al.* Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **The Lancet Infectious Diseases**. v.16, p.161-168, 2016.
- MACHINSKY, T. G. *et al.* Digestibilidade de nutrientes e balanço de Ca e P em suínos recebendo dietas com ácido butírico, fitase e diferentes níveis de cálcio. **Ciência Rural**. v.40, n.11, p.2350-2355, 2010.
- MANI, V. *et al.* Growth and development symposium: Endotoxin, inflammation, and intestinal function in livestock. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 90, n. 5, p. 1452–1465, 2012.
- MANJU, C. S. *et al.* Proximate analysis and chemical composition of *Moringa oleifera* seeds and its in broiler diet. **International Journal of Chemical Studies**. v.6, n.4, p.563-566, 2018.
- MAZZONI, M. *et al.* Supplemental Sodium Butyrate Stimulates Different Gastric Cells in weaned Pigs. **The Journal of Nutrition**. v.138, p.1426-143, 2008.
- MELLO, H. H. C. *et al.* Valores de energia metabolizável de alguns alimentos obtidos com aves de diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 5, p. 863–868, 2009.
- MELLOR, S. Herbs and spices promote health and growth. **Pig Progress**, v. 16, n. 4, 2000.
- MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos na produção de aves: probióticos e prebióticos. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38. **Anais...** Sociedade Brasileira de Zootecnia. Piracicaba. p. 141-157, 2001.
- MIRANDA, C. A. S. F. *et al.* Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**. v.47, n.1, p.213-220, jan/mar, 2016.
- MOYO, B. *et al.* Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **African Journal of Biotechnology**. v. 10, n.60, p.12925-12933, 2011.
- MUNITA J. M.; ARIAS, C. A. Mechanism of Antibiotic Resistance. **Microbiology Spectrum**. 4(2):VMBF-0016-2015.
- MUNE, M. A. *et al.* A comparison on the nutritional quality of proteins from *Moringa oleifera* leaves and seeds. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 4–11, 2016.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Lost Crops of Africa: Volume II: Vegetables. **Crops**, [s. l.], 2006.
- NDUBUAKU, U. M.; NDUBUAKU, T. C. N.; NDUBUAKU, N. E. Yield Characteristics of *Moringa oleifera* Across Different Ecologies in Nigeria as an Index of Its Adaptation to Climate Change. **Sustainable Agriculture Research**. v.3, n.1, p.95-100, 2014.

NOVAIS, A. K. *et al.* Weaning differentially affects mitochondrial function, oxidative stress, inflammation and apoptosis in normal and low birth weight piglets. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 16, n. 2 February 2021, p. 1–21, 2021.

OETTING, L.L. *et al.* Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém desmamados. **Revista Brasileira Zootecnia**. v.35, n.4, p.1389 – 1397, 2006.

OGBUNUGAFOR, H. A. *et al.* Physico-chemical and antioxidant properties of Moringa oleifera seed oil. **Pakistan Journal of Nutrition**. v.10, n.5, p.409-414, 2011.

OGUNSINA, B. S. *et al.* Quality characteristics and stability of Moringa oleifera seed oil of Indian origin. **Journal of Food Science and Technology**. v.51, n.3, p.503-510, 2014

OLADEJI, O. A. *et al.* Studies on Chemical Constituents and Nutrients Bioavailability in Moringa oleifera Leaf and Seed. **Journal of Scientific Research and Reports**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 2017.

OLUDURO, O. A. *et al.* Characterization and Antimicrobial Activity of 4-(β -d-Glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl thiocarboxamide; a Novel Bioactive Compound from Moringa oleifera Seed Extract. **Folia Microbiologica**, v. 55, n. 5, p. 422–426, 2010.

OMONIJO, F. A. *et al.* Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**. v. 4, P. 126-136, 2017.

OMS. In: **Guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals**. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

OTHMAN, A. S.; AHMED, N. A. Antibacterial Effect of the Ethanol Leaves Extract of *Moringa oleifera* and *Camellia sinensis* against Multi Drug Resistant Bacteria. **International Journal Pharmacology**. v.13, n.2, p.156-165, 2017.

ÖZCAN, M. M. Moringa spp: Composition and bioactive properties. **South African Journal of Botany**. p.1-7, 2018.

PALIWAL, R.; SHARMA, V.; PRACHETA. A Review on Horse Radish Tree (*Moringa oleifera*): A Multipurpose Tree with High Economic and Commercial Importance. **Asian Journal of Biotechnology**. v.3, n.4, p.317-328, 2011.

PAN, L. *et al.* Probiotic supplementation protects weaned pigs against enterotoxigenic *Escherichia coli* k88 challenge and improves performance similar to antibiotics. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 95, n. 6, p. 2627–2639, 2017.

PRASAD, M. *et al.* *In vitro* Evaluation of Antibacterial Propertis of *Moringa oleifera*, *Dalbergia sissoo* and *Alstonia scholaris*. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**. v.4, n.15, p.54-62, 2014.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: A review. **Livestock Production Science**, [s. l.], v. 51, n. 1–3, p. 215–236, 1997.

QUEIROZ, M. A. A. *et al.* Características físico-químicas de fontes proteicas e suas interações sobre a degradação ruminal e a taxa de passagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1587–1594, 2010.

RAS, R. T. Phytosterols and blood lipid risk factors for cardiovascular disease. **Phytosterols and blood lipid risk factors for cardiovascular disease**, Wageningen. 2014.

_____.; GELEIJNSE, J. M.; TRAUTWEIN, E. A. LDL-cholesterol-lowering effect of plant sterols and stanols across different dose ranges: A meta-analysis of randomised controlled studies. **British Journal of Nutrition**. v.112, n.2, p.214-219, 2014.

REGULATION (EC) No 1831/2003 Of the European Parliament and of the Council. On additives for use in animal nutrition. **Official Journal of the European Union**. L 268/29. 18.10.2003

RIEMENSPERGER, A. V. *et al.* The effect of an organic acid blend, cinnamaldehyde and a permeabilising substance on the inhibition of bacterial growth *in vitro* and growth performance of weaning pigs. **Veterinarija ir Zootechnika**. v.60, n.82, p.59-66, 2012.

RODRIGUES, P. B. *et al.* Valores Energéticos da Soja e Subprodutos da Soja, Determinados com Frangos de Corte e Galos Adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 31, n. 4, p. 1771–1782, 2001.

SAA, R. W. *et al.* Treatments and uses of Moringa oleifera seeds in human nutrition: A review. **Food Science and Nutrition**. v. 7, p.1911-1919, 2019.

SANTANA, M. B. *et al.* Alternatives to antibiotic growth promoters for weanling pigs. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.45, n.6, p.1093-1098, 2015.

SCHWARZ, S.; JOHNSON, A. P. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v.71, p.2066–2070, 2016.

SINGH, L.; TI, J.; SINGH, J.: Medicinal and Nutritional Values of Drumstick Tree (Moringa oleifera - A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s. l.], v. 8, n. 05, p. 1965–1974, 2019.

STROMPFOVÁ, V.; LAUKOVÁ, A. Enterococci from Piglets – Probiotic Properties and Responsiveness to Natural Antibacterial Substances. **Folia Microbiologica**. v.54, n.6, p.538-544, 2009.

SURYANARAYANA, M. V. A. N.; DURGA, S. Role of Phytogenic Feed Additives in Swine Production- A Review. **International Journal of Environment, Agriculture na Biotechnology**. v.3, n.3, p.1071-1078, 2018.

_____.; RAMANA, J. V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1–11, 2015.

- TAGHIZADEH, S. F. *et al.* Chemical composition, antibacterial, antioxidant and cytotoxic evaluation of the essential oil from pistachio (*Pistacia khinjuk*) hull. **Microbial Pathogenesis**, v. 124, p. 76–81, 2018.
- TSILOYIANNIS, V. K. *et al.* The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhoea. **Research in Veterinary Science**, [s. l.], v. 70, n. 3, p. 287–293, 2001.
- ULTEE, A.; BENNIK, M. H. J.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 68, n. 4, p. 1561-1568, 2002.
- ULTEE, A.; KETS, E. P. W.; SMID, E. J. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 65, n. 10, p. 4606-4610, 1999.
- UTIYAMA, C. E. *et al.* Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, n.6, p.2359-2367, 2006.
- VIEIRA, G. H. F. *et al.* Antibacterial Effect (*in vitro*) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria. **Revista do Instituto de Medicina Tropical, São Paulo**. v.52, n.3, p.129-132, 2010.
- VIGRE, H. *et al.* The effect of discontinued use of antimicrobial growth promoters on the risk of therapeutic antibiotic treatment in Danish farrow-to-finish pig farms. **Epidemiology and Infection**. v.136, n.1, p.92-107, 2007.
- WATSON, A. L.; CHIU, N. H. L. Fluorometric cell-based assay for β -galactosidase activity in probiotic gram-positive bacterial cells — *Lactobacillus helveticus*. **Journal of Microbiological Methods**. v. 128, p. 58-60, 2016.
- WEGENER, H. C. Ending the Use of Antimicrobial Growth Promoters Is Making a Difference. **ASM News**. v.69, n.9, p.443-448, 2003.
- WEIRUP, M. The Swedish Experience of the 1986 Year Ban of Antimicrobial Growth Promoters, with Special Reference to Animal Health, Disease Prevention, Productivity, and Usage of Antimicrobials. **Microbial Drug Resistance**. V.7, n.2, p.183-190, 2001.
- WINDISCH, W. *et al.* Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**. v.86, p.140-149, 2008.
- YAMÉOGO, C. W. *et al.* Determination of Chemical Composition and Nutritional Values of *Moringa oleifera* Leaves. **Pakistan Journal of Nutrition**. v.10, n.3, p.264-268, 2011.
- YAN, L. *et al.* Influence of essential oil supplementation and diets with different nutrient densities on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, meat quality and fecal noxious gas content in grower finisher pigs. **Livestock Science**. v. 128, n. 1–3, p. 115–122, 2010.

YANG, K. M. *et al.* Effect of *Lactobacillus plantarum* on diarrhea and intestinal barrier function of young piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 92, n. 4, p. 1496–1503, 2014.

CAPÍTULO 2

Características do óleo de sementes de moringa e sua atividade antimicrobiana

CARACTERÍSTICAS DO ÓLEO DE SEMENTES DE MORINGA E SUA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

RESUMO

Objetivou-se avaliar a composição de ácidos graxos, compostos bioativos, fatores antinutricionais e atividade antimicrobiana do óleo de moringa (OM). O óleo foi extraído das sementes da moringa por prensagem a frio. A identificação de componentes bioativos do óleo foi realizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Para o doseamento dos fitoquímicos identificados no óleo foi utilizado espectrofotômetro. O perfil de ácidos graxos foi determinado pelo cromatógrafo Ciola & Gregory Master, com detector de ionização de chamas. O ensaio de inibição da atividade hidrolítica da tripsina ou da quimotripsina foi realizado em placa de microtitulação, com diferentes volumes óleo de sementes de moringa (2, 5 e 10 μL), sendo realizados os controles do substrato (ausência da enzima e amostra), da amostra (1: ausência da enzima; 2: ausência da enzima e substrato) e enzima 100% (ausência da amostra). Um ensaio antibiograma foi realizado para avaliar a atividade do óleo de sementes de moringa contra bactérias gram-negativas, *S. tiphymurium*, *S. enteritidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e gram-positivas *S. aureus*, por meio do método de disco-difusão. Como controle positivo foram utilizados os antibióticos amoxicilina, cloranfenicol, tetraciclina, ampicilina, estreptomicina e ciprofloxacina. O óleo de sementes de moringa foi testado em diferentes concentrações, 100, 97,5, 95, 90 e 50% v/v diluído em dimetilsulfóxido (DMSO). Como controle negativo foi utilizado o DMSO a 100%. O experimento foi desenvolvido no laboratório de microbiologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Foi identificado no óleo fitosteróis (esteróis/terpenos), e o doseamento apresentou 0,015 g 100 g⁻¹, destes, 93% foi identificado como β -sistosterol. O perfil de ácidos graxos apresentou como principal componente o ácido oleico (83,65%); no entanto, a composição de ácidos graxos poli-insaturados foi baixa (0,169%). Não foi detectado, no óleo, os fatores antinutricionais inibidores de proteases e hemaglutinantes (lectina). O óleo de sementes de moringa não apresentou atividade antimicrobiana contra as cepas em estudo. A cepa de *K. pneumoniae* apresentou multirresistência a todos os antibióticos utilizados.

Palavras-chave: Antibióticos; Bactérias; Compostos bioativos; *Moringa oleífera*.

CHARACTERISTICS OF MORINGA SEED OIL AND ITS ANTIMICROBIAL ACTIVITY

ABSTRACT

The aim was to evaluate the fatty acid composition, bioactive compounds, antinutritional factors and antimicrobial activity of moringa seed oil (MO). The oil was extracted from moringa seeds by cold pressing. The identification of bioactive components of the oil was performed using Thin Layer Chromatography (TCD). A spectrophotometer was used to determine the phytochemicals identified in the oil. The fatty acid profile was determined using the Ciola & Gregory Master chromatograph, with flame ionization detector. The assay of inhibition of the hydrolytic activity of trypsin or chymotrypsin was carried out in a microtiter plate, with different volumes of moringa seed oil (2; 5 and 10 μL) and the substrate controls were performed (absence of enzyme and sample), sample (1: absence of enzyme; 2: absence of enzyme and substrate) and 100% enzyme (absence of sample). An antibiogram assay was performed to evaluate the activity of moringa seed oil against gram-negative bacteria, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and gram-positive *S. aureus*, using the disc diffusion method. As a positive control, antibiotics were used amoxicillin, chloramphenicol, tetracycline, ampicillin, streptomycin and ciprofloxacin. Moringa seed oil was tested at different concentrations, 100; 97.5; 95; 90 and 50% v/v diluted in dimethyl sulfoxide (DMSO). As a negative control, 100% DMSO was used. The experiment was carried out in the microbiology laboratory of the Department of Veterinary Medicine of the Universidade Federal Rural de Pernambuco. Phytosterols (sterols/terpenes) were identified in the oil, and the assay showed 0.015 g 100 g⁻¹, of which 93% was identified as β -sistosterol. The fatty acid profile presented oleic acid as the main component (83.65%), however, the composition of polyunsaturated fatty acids was low (0.169%). It was not detected, in the oil, the anti-nutritional factors that inhibit proteases and hemagglutinates (lectin). Moringa seed oil showed no antimicrobial activity against the strains under study. The strain of *K. pneumoniae* showed multi-resistance to all antibiotics used.

Keywords: Antibiotics; Bacteria; Bioactive compounds; *Moringa oleifera*.

INTRODUÇÃO

Os antibióticos têm sido utilizados na produção animal como um aliado dos produtores na melhoria dos índices de desempenho, agindo principalmente na redução de infecções subclínicas e da diarreia nos animais. No entanto, a principal falha dos antibióticos é o desenvolvimento de resistência por parte das bactérias ou até mesmo em todos os organismos (TACCONELLI *et al.*, 2017). O surgimento de bactérias resistentes a antibióticos foi relatado por Starr e Reynolds (1951), sendo a causa para tal resistência ser relacionada, pelos pesquisadores, com o uso indiscriminado dos antibióticos melhoradores de desempenho (AMDs). Castanon (2007) afirma que o uso mais amplo e em longo prazo pode contribuir para o surgimento de bactérias resistentes a medicamentos usados em tratamentos de infecções.

Assim, muitos pesquisadores têm buscado alternativas de substituir os AMDs sintéticos por substâncias naturais, como os fitoterápicos, óleos essenciais e extratos herbais. Neste contexto, a moringa é uma alternativa de grande interesse, posto que é uma das 13 espécies monogênicas pertencentes a família *Moringaceae* (GHAZALI; MOHAMMED, 2011; LEONE *et al.*, 2016; SAA *et al.*, 2019) e a mais cultivada (BICHI, 2013). Nativa da Índia, é cultivada em todo subcontinente, por suas flores e folhas comestíveis e suas vagens muito populares na culinária (KUMAR *et al.*, 2014). É considerada pela comunidade científica global como tendo a maior proporção de proteínas de qualquer planta (NDUBUAKU *et al.*, 2014).

Com conhecida riqueza nutricional, a moringa apresenta componentes fitoquímicos essenciais nas folhas, vagens e sementes (GOPALAKRISHNAN *et al.*, 2016), como proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais (IGWILO *et al.*, 2017). Além de fonte nutritiva, possui também compostos secundários que agem como antimicrobianos, antioxidantes, anticarcinogênica, fungicida entre outras propriedades fitogênicas (CHUANG *et al.*, 2007; MAKONNEN *et al.*, 1997; MARRUFO *et al.*, 2013; ÖZCAN, 2018).

De acordo com Dinesha *et al.* (2018), o óleo de moringa apresenta atividade antimicrobiana e antioxidante, devido aos compostos fenólicos, esteróis, flavonoides, carotenoides e tocoferóis encontrados. No entanto, segundo esses autores, o óleo pode apresentar também compostos antinutricionais, como tanino, saponinas e fitato.

Diante disso, objetivou-se avaliar as características do óleo de sementes de moringa, como perfil de ácidos graxos, compostos bioativos, fatores antinutricionais e sua atividade antimicrobiana.

MATERIAL E MÉTODOS

Processamento do óleo de moringa

As sementes de moringa foram coletadas na Estação Experimental para Pequenos Animais do Carpina-PE, entre os meses de janeiro de 2018 a dezembro de 2019. Após a coleta, as sementes foram retiradas de suas vagens, e, logo em seguida, descascadas com o auxílio de um moinho tipo martelo, para quebrar as cascas e, com a utilização de uma peneira, foi realizada a separação entre as sementes e cascas. Após esse processo, as sementes foram armazenadas a vácuo e resfriadas em câmara fria até a extração do óleo, que foi feita por meio de uma prensa hidráulica de 30 toneladas de capacidade, com um extrator de aço inoxidável acoplado. Quantidades de aproximadamente 200g de sementes eram adicionadas ao extrator acoplado à prensa e, em seguida, acionada a força de compressão, aproximadamente até 20 toneladas. Logo após pesou-se a quantidade de óleo produzido para se obter o rendimento de óleo por 100g de sementes.

Compostos bioativos do óleo de moringa

Cerca de 2 mL do óleo de moringa foi submetido à partição com 2 mL de diclorometano. Em seguida, a fração diclorometano foi submetida à análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Todos os padrões foram preparados na concentração de 0,5 mg/mL em metanol P.A. em eppendorf.

Tabela 1 – Condições cromatográficas para identificação do perfil químico por CCD.

Classe de metabólito	Sistema	Padrão	Revelador
Derivados Cinâmicos	(90:5:5)	Ácido cafeico	AlCl ₃
Flavonoides	(90:5:5)	Quercetina	AlCl ₃
Taninos hidrolisáveis	(90:5:5)	Ácido gálico	FeCl ₃
Taninos Condensados	(90:5:5)	Catequina	Vanilina Clorídrica + Δ
Cumarinas	(50:50:50)	Cumarina	KOH
Terpenos/Esteroides	(90:10)	β-sitosterol	Liebermann-Burchard + Δ
Saponinas	(16:10:2,5)	Escina	Liebermann-Burchard + Δ
Antracênicos	(20:30:15:0,5)	Senosídeo B	HNO ₃ + Δ + KOH
Açúcares	(100:11:11:26)	Glicose	Timol + H ₂ SO ₄ + Δ
Alcalóides	(70:20:10)	Piperina	Dragendorff

AlCl₃: Cloreto de alumínio a 5% em metanol; FeCl₃: Cloreto férrico; Δ: Aquecimento; KOH: hidróxido de potássio; HNO₃: Ácido nítrico; H₂SO₄: Ácido sulfúrico. 90:5:5 = Acetato de etila, ácido fórmico e água; 50:50:50 = Tolueno, eter etílico e ácido acético glacial (saturação); 90:10 = Tolueno, acetato de etila; 100:11:11:26 = Acetato de etila, ácido acético glacial, ácido fórmico e água; 16:10:2,5 = Clorofórmio, metanol e água; 20:30:15:0,5 = Acetato de etila, álcool n-butílico, água e ácido acético glacial; 70:20:10 = Tolueno, acetato de etila, dietilamina. Fonte: Laboratório de Farmacognosia-NUDATEF, 2021.

A amostra e os padrões foram aplicados de forma manual em placas cromatográficas de sílica gel 60 - F₂₅₄ (Macherey-Nagel[®], Alemanha). As placas foram desenvolvidas em cubas após saturação com a fase móvel (Tabela 4). A cuba foi saturada durante 15 minutos à temperatura ambiente. As bandas foram aplicadas com largura de 0,5 cm e com uma distância entre elas, e das bordas das placas de 0,5 cm. O tamanho da largura e do comprimento das placas cromatográficas foi de 10 cm. As amostras foram aplicadas a 0,5 cm da origem e com término 0,5 cm do final da placa. Após a eluição, as placas foram secas à temperatura ambiente, e observadas sob luz ultravioleta de 254 e 365 nm e luz visível, tendo sido, em seguida, digitalizadas. Na sequência foram reveladas com reagentes específicos para cada metabólito. As bandas obtidas foram comparadas às bandas dos padrões correspondentes. A aplicação nas placas sempre seguiu a ordem: fração-extrato-padrão.

Doseamento de fitosteróis no óleo de moringa

A amostra foi particionada com metanol e o sobrenadante submetido à evaporação; em seguida, a amostra foi novamente suspensa em clorofórmio. Uma alíquota de 1 mL foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, no qual foram adicionados 2 mL do reagente Liebermann-Burchard, e o volume foi ajustado com clorofórmio, que foi utilizado como solução de compensação. A leitura da absorbância foi realizada cinco minutos após adição do reagente em espectrofotômetro UV-Vis (ARAÚJO *et al.*, 2013). O teor de fitosteróis obtido foi igual a $0,015 \pm 0,0001$ g% (0,93%) expresso como β -sistosterol.

Determinação da atividade de inibidores das proteases tripsina e quimotripsina

Ensaio de inibição da atividade hidrolítica da tripsina ou da quimotripsina foi realizado em placa de microtitulação. Alíquota da enzima (5 μ L a 0,1 mg/mL em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0 contendo CaCl₂ 0,02 M), será adicionada a poço da microplaca contendo 5 μ L do substrato para tripsina N- α -benzoil-DL-arginina- ρ -nitroanilida (BAPNA) ou do substrato para quimotripsina N-succinil-fenilnil- ρ -nitroanilida (SucPheNAN) e diferentes volumes óleo de sementes de moringa (2, 5 e 10 μ L). O volume de cada poço foi ajustado para 200 μ L com tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0, contendo NaCl 0,15 M e Triton X-100. Foram realizados controles do substrato (ausência da enzima e amostra), da amostra (1: ausência da enzima; 2: ausência da enzima e substrato) e enzima 100% (ausência da amostra). A absorbância a 405 nm foi determinada antes e após incubação do teste a 37°C por 30 min. A inibição foi avaliada pela redução da absorbância.

Determinação da atividade hemaglutinante

A presença de lectinas foi avaliada mediante ensaio de atividade hemaglutinante em placas de microtitulação, de acordo com Paiva e Coelho (1992). Alíquota de 50 µL da amostra foi serialmente diluída em NaCl 0,15 M antes da adição de 50 µL de suspensão (2,5% v/v) de eritrócitos tratados com glutaraldeído. Uma unidade de atividade hemaglutinante (título⁻¹) corresponde ao inverso da maior diluição da amostra que promoveu total hemaglutinação.

Perfil de ácidos graxos e energia do óleo de moringa

O perfil de ácidos graxos foi analisado pelo cromatógrafo Ciola & Gregory Master, com detector de ionização de chamas. A temperatura do injetor e do detector de ionização de chamas foi de 200°C. A temperatura do forno iniciou-se aos 120°C, mantendo-se por dois minutos e aumentando 20°C a cada minuto até atingir a temperatura de 180°C, onde se manteve constante. Injetor split 1:10 com vazão de hidrogênio de 2 ml por minuto. Coluna Caborwox de 60 m, diâmetro interno de 1 mm, e fase estacionário com espessura de 0,54 µm. A metodologia de esterificação foi realizada de acordo com Hartman e Lago (1973). A energia bruta do óleo foi determinada por bomba calorimétrica.

Ensaio antibiograma

O método de difusão em disco, de acordo Patel e Mohan (2018), foi utilizado para analisar a atividade antibacteriana do óleo de sementes de moringa sobre as cepas gram-positivas *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, e as gram-negativas *Salmonella tiphymurium* ATCC 14028, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603. As cepas bacterianas foram provenientes do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Todas as cepas testadas são cepas de referência ATCC (American Type Culture Collection).

O óleo de sementes foi previamente diluído (v:v) em dimetilsulfóxido (DMSO) em 0, 2,5, 5, 10 e 50%. Foi utilizado como controle negativo o DMSO a 100% e controles positivos os antibióticos cloranfenicol, amoxicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, estreptomicina e ampicilina. Foram utilizadas placas de petri e discos estéreis. Sete µl do óleo de moringa puro e diluído, assim como o DMSO a 100% foi adicionado aos discos.

As cepas foram cultivadas em meio ágar Mueller-Hinton e incubadas a 37°C por 24h. Foi utilizado um inóculo de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, comparado com 0,5 de turbidez da escalada de McFarland (PERILLA *et al.*, 2003). Após a incubação, todas as placas foram examinadas e a zona de inibição, considerando o diâmetro do disco, foi medida como uma propriedade da atividade antimicrobiana. O ensaio foi realizado em triplicata e os resultados encontrados foram apresentados como médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rendimento do óleo de moringa

O método de extração utilizado no presente estudo conferiu ao óleo de sementes de moringa um rendimento de $24,51\% \pm 1,465$. Valores semelhantes foram obtidos por Lalas e Tsaknis (2002) e Tsaknis *et al.* (1999). No entanto, esses autores obtiveram maior rendimento do óleo quando utilizaram outros métodos de extração, como os solventes n-hexano ($35,7\% \pm 2,4$ e $38,3\% \pm 3,1$) e clorofórmio + etanol ($31,2\% \pm 2$ e $41,4\% \pm 4,9$). O éter de petróleo também parece obter maior eficiência na extração do óleo de moringa (28,6%) (BHUTADA *et al.*, 2016).

De acordo com Bhutada *et al.* (2015), o método de extração envolvendo solventes não polares e temperaturas mais elevadas se mostrou mais eficiente na extração do óleo. O aumento da temperatura do solvente também promove maior rendimento do óleo, provavelmente devido ao aumento da solubilidade e difusividade, melhorando a transferência de massas (BHUTADA *et al.*, 2015).

Perfil de ácidos graxos

Foram identificados 10 ácidos graxos no óleo de sementes de moringa Tabela 2, representados com percentual. O perfil de ácidos graxos no óleo de moringa obtidos no presente estudo estão de acordo com os resultados encontrados na literatura (ALY *et al.*, 2016; BARAKAT; GHAZAL, 2016; BHUTADA *et al.*, 2016). Entre os ácidos graxos insaturados, a maior proporção foi observada para o ácido oleico, enquanto os ácidos graxos saturados apresentaram maior proporção o palmítico, esteárico e araquidônico.

Os ácidos graxos poli-insaturados encontrados no óleo de moringa foram muito baixos, diferente dos resultados obtidos por Aly *et al.* (2016), que observaram 10,24% de ácido linoleico. Esses autores realizaram a extração por meio do solvente éter de petróleo, evidenciando, assim, as alterações na composição do óleo de acordo com o método de extração,

bem como a origem de cultivo e estágio de maturação das sementes também pode influenciar na sua composição.

Tabela 2. Perfil de ácidos graxos do óleo de sementes de moringa.

Componente	Percentual (%)
Ácido Láurico (C12:0)	0,7373
Ácido Mirístico (C14:0)	0,5157
Ácido Palmítico (C16:0)	6,3535
Ácido Palmitoleico (C16:1)	1,1225
Ácido Esteárico (C18:0)	3,4717
Ácido Oleico (C18:1)	83,651
Ácido Linoleico (C18:2)	0,0833
Ácido Linolênico (C18:3)	0,0857
Ácido Araquidônico (C20:0)	2,4308
Ácido Behêmico (C22:0)	1,5477
SFA	15,057
USFA	84,943
MUFA	84,774
PUFA	0,1690
USFA/SFA	5,641

SFA – ácidos graxos saturados; USFA – ácidos graxos insaturados; MUFA – ácidos graxos monoinsaturados; PUFA – ácidos graxos poli-insaturados.

Zambiazi *et al.* (2007) investigaram a composição de ácidos graxos de 20 óleos vegetais, dentre eles o óleo de côco, oliva, palma, soja, canola e girassol, e observaram que os ácidos palmítico e esteárico apresentaram maiores teores, com exceção do óleo de palmiste e côco. No entanto, o ácido esteárico, apesar de apresentar cadeia saturada, não eleva as concentrações do colesterol LDL (*low density lipoprotein*), e em alguns casos pode até reduzir, quando comparado a outros ácidos graxos saturados, como o palmítico, láurico ou mirístico (HUNTER *et al.*, 2010). Isso é devido, provavelmente, à rápida conversão de ácido esteárico em oleico (BONANOME; GRUNDY, 1988).

Assim, há evidências de que o ácido oleico reduz as concentrações plasmáticas de LDL e não provoca oxidação da LDL, quando comparado a gorduras saturadas (REAVEN *et al.*, 1994), além de induzir menor síntese endógena de colesterol, em relação aos ácidos graxos poli-insaturados (JONES *et al.*, 1994). Além disso, de acordo com (SANTANA *et al.*, 2010), a elevada proporção de ácido oleico tem reflexo direto e muito positivo em sua estabilidade à oxidação, facilitando, assim, o seu transporte e armazenamento.

Por outro lado, os ácidos graxos poli-insaturados linoleico e linolênico apresentaram-se muito baixos; esses dois ácidos graxos são essenciais devido a não haver nas células de mamíferos a capacidade de inserção de uma dupla ligação antes da cadeia 9 dos ácidos graxos (LOTTENBERG, 2009). Essas características de alta concentração de monoinsaturados e baixa

de poli-insaturados do óleo de semente de moringa são semelhantes às características do óleo de oliva e canola (ZAMBIAZI *et al.*, 2007), sendo este considerado um dos óleos comestíveis comercializados mais importantes e mais utilizados do mundo (SCHERER; BÖCKEL, 2018).

Compostos bioativos

Os vegetais de maneira geral possuem compostos considerados não nutrientes, ou compostos secundários, que atuam de forma protetora, e podem ser benéficos para a saúde animal. De acordo com a literatura, o óleo de sementes de moringa possui muitos componentes bioativos, principalmente esteróis e tocoferóis, compostos diretamente relacionados à capacidade antioxidante do óleo.

Na Figura 1 é possível observar a placa referente ao resultado para o fitosterol identificado. O padrão está representado pela letra A e a amostra pela letra B. A amostra do óleo é arrastada pela fase móvel sobre a fase estacionária à medida que a placa cromatográfica é eluída. Neste momento, os diferentes componentes do óleo são separados de acordo com suas propriedades de solubilidade e adsorção. Desta forma, cada mancha que surge na placa corresponde a um componente presente no óleo. É possível observar a mancha correspondente ao componente fitosterol presente no óleo de moringa.



Figura 1 – Cromatoplaça referente a análise dos terpenos e esteroides. (Fonte: Laboratório de Farmacognosia-NUDATEF, 2021).

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados para análise de fitoquímicos do óleo de sementes de moringa, tendo sido identificado apenas terpenos/esteroides. Na análise de quantificação desses fitosteróis foi obtido 0,015 g 100 g⁻¹ de amostra do óleo, destes, 93% foram

identificados com β -sistosterol. O extrato não apresentou boa solubilidade em metanol ou etanol, solventes utilizados para realização do ensaio.

Tabela 3 – Identificação do perfil químico por CCD e doseamento de fitosteróis no óleo de moringa.

Classe de metabólito	Identificação	Doseamento (g/100g)
Derivados Cinâmicos	-	-
Flavonoides	-	-
Taninos hidrolisáveis	-	-
Taninos Condensados	-	-
Cumarinas	-	-
Terpenos/Esteroides	+	0,015
Saponinas	-	-
Antracênicos	-	-
Açúcares	-	-
Alcaloides	-	-

Os resultados de composição fitoquímica do óleo de moringa diferiu dos achados por Dinesha *et al.* (2018), que identificaram flavonoides, fenóis, tocoferóis. Além disso, esses autores obtiveram maiores proporções de esteróis totais que variaram de 0,083 g a 0,098 g 100 g⁻¹, de acordo com o método de extração, que foi realizado pelos solventes n-hexano e metanol e por CO₂ supercrítico. Aly *et al.* (2016) identificaram 50 componentes bioativos presentes no óleo de sementes de moringa e, para eles, o composto que apresentou maior proporção foi o γ -sistosterol.

Outros estudos analisando o óleo de sementes de moringa também obtiveram em sua composição de fitoquímicos a predominância de esteróis. Faisal *et al.* (2018) observaram 55,83, 17,74 e 16,62% de β -sistosterol, stigmasterol e campesterol, respectivamente, do total de esteróis encontrados no óleo de moringa extraído por solvente. Tais compostos podem apresentar diversas funções como antimicrobiana, antioxidante, antidiarreica e anticarcinogênica (ALY *et al.*, 2016; ÖZCAN, 2018).

Compostos antinutricionais

O óleo de sementes de moringa não apresentou atividade hemaglutinante (lectinas) ou inibidores de proteases no presente estudo. No entanto, é relatada na literatura a presença de lectinas no extrato aquoso (FREITAS *et al.*, 2016) ou inibidores de tripsina nas diferentes frações das sementes de moringa (LEÓN-LOPEZ *et al.*, 2020).

As lectinas de sementes de moringa apresentam efeitos anti-inflamatório, inseticida, bactericida e biocoagulante natural para tratamento de águas turvas (MOURA *et al.*, 2015; ARAÚJO *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 2011; COELHO *et al.*, 2009).

No entanto, as proteínas lectínicas aglutinam os glóbulos vermelhos e podem ser encontradas em altos níveis em grãos, legumes, laticínios e plantas da família das beladonas, podendo ser o principal fator tóxico antinutricional que limita o uso de leguminosas (PARCA *et al.*, 2018). De acordo com Van Damme (2014), as lectinas atuam como fatores antinutricionais pela capacidade de ligação com açúcares e glicoconjugados, induzindo à aglutinação eritrocitária. Além disso, o consumo de energia pelas lectinas pode levar a alterações de alguns órgãos nos animais, podendo ocasionar em hiperplasia e hipertrofia do pâncreas e intestino, devido à redução da digestibilidade e à absorção de nutrientes (SEENA; SRIDHAR, 2004; POMPEU *et al.*, 2015).

De acordo com León-López *et al.* (2020), os inibidores de tripsina foram detectados nas diferentes frações da semente de moringa, como núcleo, asas e casca, porém em pequenas quantidades, que variou de 1,1 a 5,9 TIU/mg. No entanto, esses autores observaram maiores teores de outros fatores antinutricionais nas sementes de moringa, como fitato, taninos e saponinas, corroborando resultados obtidos por Dinesha *et al.* (2018) para o óleo de sementes de moringa, extraídos por diferentes métodos.

Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do óleo de sementes de moringa está apresentada na Tabela 4. O óleo não apresentou efeito antibiótico contra as cepas utilizadas nesse estudo.

Assim como o rendimento, o perfil de ácidos graxos e compostos bioativos do óleo de sementes de moringa, o método de extração parece exercer influência sobre a atividade antimicrobiana do óleo. Isso pode ser devido a menor eficiência do método de extração por prensagem a frio, que provavelmente permite haver perdas dos compostos bioativos do óleo.

A extração do óleo de sementes de moringa pelo método CO² supercrítico envolve pressão e temperatura, e, além de apresentar maior eficiência aumentou a proporção de todos os compostos bioativos e a atividade antimicrobiana do óleo, que foi de 9,54 mm para *E. coli* e 8,66 mm para *S. aureus*, além de apresentar ação antifúngica contra *Mucor* sp. e *Aspergillus* sp. de 12,56 e 12,23 mm respectivamente (DINESHA *et al.* (2018).

Tabela 4. Atividade antimicrobiana do óleo de sementes de moringa e antibióticos.

Princípio	<i>S.</i>	<i>S.</i>	<i>E.</i>	<i>K.</i>	<i>S.</i>	<i>S.</i>
	<i>typhimurium</i>	<i>enteritidis</i>	<i>coli</i>	<i>pneumoniae</i>	<i>aureus</i>	<i>aureus</i>
Diâmetro da zona de inibição (mm)						
Cloranfenicol 30 mcg	30	32	30	0	26	26
Amoxicilina 10 mcg	27	31	25	0	19	31,6
Tetraciclina 30 mg	-	-	32	0	32	34
Ciprofloxacina 5 mcg	-	-	38	1	26	30
Estreptomicina 10 mcg	-	-	16	15	15	16
Ampicilina 10 mcg	-	-	20	0	25	42
OM 100%	0	0	0	0	0	0
OM 97,5%	0	0	0	0	0	0
OM 95%	0	0	0	0	0	0
OM 90%	0	0	0	0	0	0
OM 50%	0	0	0	0	0	0
DMSO 100%	0	0	0	0	0	0

*OM – Óleo de sementes de moringa; DMSO – Dimetilsulfóxido.

Na Figura 2 estão apresentadas as placas com os discos para os diferentes níveis de óleo de moringa e antibióticos contra bactérias *S. typhimurium* e *E. coli*.

Patel e Mohan (2018) estudaram diferentes métodos de extração de óleos de todas as partes da planta da moringa e avaliaram seus efeitos antimicrobianos. Folhas, caule, flores, frutos e sementes, extraídos por água destilada, acetato de etila, metanol e n-hexano apresentaram efeitos antimicrobianos e antifúngico. No entanto, o extrato de frutos maduros através da extração por acetato de etila mostrou-se mais eficaz na atividade antimicrobiana, apresentando zona de inibição de 22 mm contra *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* (16 mm), *Enterococcus faecalis* (15 mm) e *Salmonella typhimurium* (15 mm). Sabe-se que o fruto envolve a presença do pericarpo, o qual foi removido para a extração do óleo no presente estudo, o que pode ser outro fator a modificar o efeito antimicrobiano e a composição fitoquímica do óleo de sementes de moringa.

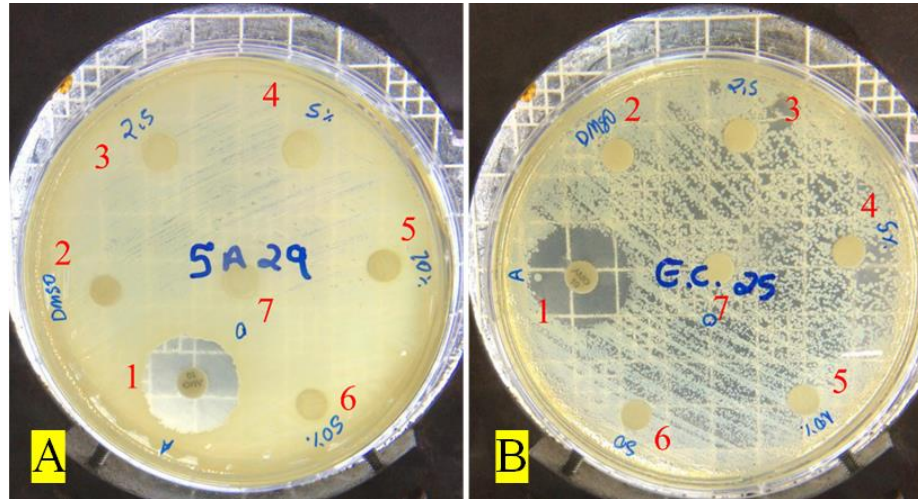


Figura 2. (A) Óleo de sementes de moringa contra *S. aureus*; (B) Óleo de sementes de moringa contra *S. aureus*. 1 – Antibiótico amoxicilina; 2 – DMSO 100%; 3 – Óleo de moringa 97,5%, 4 – óleo de moringa 95%; 5 – óleo de moringa 90%; 6 – óleo de moringa 50%; 7 – óleo de moringa 100%.

O dimetilsulfóxido é um solvente polar aprótico que tem capacidade de dissolver diversas substâncias químicas orgânicas e inorgânicas. Segundo Okeke *et al.* (2001), o DMSO é um composto altamente ativo na membrana com possíveis efeitos em uma série de mecanismos de ação antimicrobiana, podendo facilitar o acesso dos compostos bioativos dos extratos e óleos a membrana das células bacterianas. No entanto, no presente estudo, a diluição do óleo de moringa em DMSO não mostrou nenhum efeito. De acordo com os resultados obtidos por Okeke *et al.* (2001), a diluição do extrato etanoico e aquoso de *Landolphia owerrience* em DMSO ocasionou redução da atividade antimicrobiana dos extratos.

CONCLUSÕES

O óleo de sementes de moringa apresenta um bom perfil de ácidos graxos, com prevalência do ácido oleico, além de não apresentar compostos antinutricionais. No entanto, a extração por prensagem a frio não confere ao óleo conteúdo de compostos bioativos capazes de promover características antimicrobianas, não sendo eficazes contra cepas de bactérias *S. aureus*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *E. coli* e *K pneumoniae*.

REFERÊNCIAS

- ALY, A. A.; MARAEI, R. W.; ALI, H. G. M. Fatty Acids Profile and Chemical Composition of Egyptian *Moringa oleifera* Seed Oils. **JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, [s. l.], v. 93, n. 3, p. 397–404, 2016.
- ARAÚJO, L. C. C. *et al.* Evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities of extracts and lectins from *Moringa oleifera* seeds. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 12, p. 1–15, 2013.
- BARAKAT, H.; GHAZAL, G. A. Physicochemical Properties of *Moringa oleifera* Seeds and Their Edible Oil Cultivated at Different Regions in Egypt. **Food and Nutrition Sciences**, [s. l.], v. 07, n. 06, p. 472–484, 2016.
- BHUTADA, P. R. *et al.* Solvent assisted extraction of oil from *Moringa oleifera* Lam. seeds. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 82, p. 74–80, 2016.
- BICHI, M. H. A Review of the Applications of *Moringa oleifera* Seeds Extract in Water Treatment. **Civil and Environmental Research**, [s. l.], 2013.
- BONANOME, A.; GRUNDY, S. M. Effect of Dietary Stearic Acid on Plasma Cholesterol and Lipoprotein Levels. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], 1988.
- CHUANG, P. H. *et al.* Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. **Bioresource Technology**, [s. l.], 2007.
- COELHO, J. S. *et al.* Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. **Chemosphere**, [s. l.], v. 77, n. 7, p. 934–938, 2009.
- DINESHA, B. L. *et al.* Effect of extraction methods on physicochemical, nutritional, antinutritional, antioxidant and antimicrobial activity of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) seed kernel oil. **Journal of Applied and Natural Science**. v. 10, n. 1, p. 287–295, 2018.
- FAISAL, M. I. *et al.* Seed and oil yield potential and oil quality of vegetatively propagated *moringa* landraces of Punjab, Pakistan. **International Journal of Agriculture and Biology**, [s. l.], 2018.
- FERREIRA, R. S. *et al.* Coagulant and antibacterial activities of the water-soluble seed lectin from *Moringa oleifera*. **Letters in Applied Microbiology**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 186–192, 2011.
- FREITAS, J. H. E. S. *et al.* Evaluation of using aluminum sulfate and water-soluble *Moringa oleifera* seed lectin to reduce turbidity and toxicity of polluted stream water. **Chemosphere**, [s. l.], v. 163, p. 133–141, 2016.
- GHAZALI, H. M.; MOHAMMED, A. S. *Moringa* (*Moringa oleifera*) Seed Oil: Composition, Nutritional Aspects, and Health Attributes. In: **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2011. p. 787–793.
- GOPALAKRISHNAN, L.; DORIYA, K.; KUMAR, D. S. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. **Food Science and Human Wellness**, [s. l.], 2016.

HARTMAN, L.; LAGO, C. A.: Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab.Pract.**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 475–476, 1973.

HUNTER, J. E. *et al.* Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: A systematic review. **American Journal of Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 91, n. 1, p. 46–63, 2010.

IGWILO, I. O. Comparative Studies.... **The Bioscientist**, [s. l.], v. 5, n. January, p. 1–12, 2017.

KUMAR, A. R. *et al.* Scientific seed production techniques in Moringa. **Agricultural Reviews**, [s. l.], 2014.

LALAS, S.; TSAKNIS, J. Characterization of Moringa oleifera seed oil variety “Periyakulam 1”. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 65–77, 2002.

LEONE, A. *et al.* **Moringa oleifera seeds and oil: Characteristics and uses for human health**, MDPI AG, 2016.

LÉON-LÓPEZ, L. *et al.* Chemical proximate composition, antinutritional factors content, and antioxidant capacity of anatomical seed fractions of Moringa oleifera. **Acta Universitaria, Multidisciplinary Scientific Journal**. v.30, e2892, 2020.

LOTTENBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s. l.], v. 53, n. 5, p. 595–607, 2009.

NDUBUAKU, U. M.; NDUBUAKU, T. C. N.; NDUBUAKU, N. E.: Yield Characteristics of Moringa oleifera Across Different Ecologies in Nigeria as an Index of Its Adaptation to Climate Change. **Sustainable Agriculture Research**. v.3, n.1, p.95 - 100, 2014.

MAKONNEN, E.; HUNDE, A.; DAMECHA, G. Hypoglycaemic effect of Moringa stenopetala aqueous extract in rabbits. **Phytotherapy Research**, [s. l.], 1997.

MARRUFO, T. *et al.* Chemical composition and biological activity of the essential oil from leaves of Moringa oleifera Lam. cultivated in Mozambique. **Molecules**, [s. l.], v. 18, n. 9, p. 10989–11000, 2013.

MOURA, M. C. *et al.* Water-soluble Moringa oleifera lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 119, n. 3, p. 666–676, 2015.

OKEKE, M. I. *et al.* Evaluation of extracts of the root of Landolphia owerrience for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 78, n. 2–3, p. 119–127, 2001.

ÖZCAN, M. M. Moringa spp: Composition and bioactive properties. **South African Journal of Botany**. DOI: 10.1016/j.sajb.2018.11.017. 2018.

PAIVA, P.M.G.; COELHO, L.C.B.B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from Cratylia mollis Mart. (camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 113-118, 1992.

PARCA, F.; KOCA, Y. O.; UNAY, A. Nutritional and Antinutritional Factors of Some Pulses Seed and Their Effects on Human Health. **International Journal of Secondary Metabolite**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 331–342, 2018.

PATEL, N.; MOHAN, J. S. S. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Moringa oleifera* Lam. crude extracts against selected bacterial and fungal strains. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**. v.10, n.2, p.68-79, 2018.

PERILLA, M. J. *et al.* Manual for the laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens of public health importance in the developing world. *Haemophilus influenzae* *Neisseria meningitidis* *Streptococcus pneumoniae* *Neisseria gonorrhoeae* Salm. **Atlanta Georgia United States Centers for Disease Control and Prevention [CDC] National Center for Infectious Diseases**, [s. l.], p. 1–62, 2003.

POMPEU, D. G. *et al.* Purification, partial characterization and antimicrobial activity of lection from *Chenopodium Quinoa* seeds. **Food Science and Technology**. v.35, n4, p.696-703, 2015.

SAA, R. W. *et al.* **Treatments and uses of Moringa oleifera seeds in human nutrition: A review**, 2019.

SANTANA, C. R. *et al.* Caracterização Físico-química da Moringa (*Moringa oleifera* Lam). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 55–60, 2010.

SCHERER, R.; BÖCKEL, W. J. Avaliação dos teores de ácidos graxos. **Revista Destaques Acadêmicos**, [s. l.], n. 1, p. 87020, 2018.

SEENA, S.; SRIFHAR, K. R.: Nutrient composition and biological evaluation of na unconventional legume, *Canavalia cathartica* of mangroves. **International Journal of Food Sciences and Nutriotion**. v.55, n.8, p.615-625, 2004.

SHEN, Y. B. *et al.* Effects of increasing tryptophan intake on growth and physiological changes in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 90, n. 7, p. 2264–2275, 2012.

STARR, M. P; REYNOLDS, D. M.: Streptomycin Resistance of Coliform Bacteria from Turkeys Fed Streptomycin. **American Journal of Public Health**. v.41, n. p. 1375 - 1380, 1951.

TACCONELLI, E. *et al.* Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 318–327, 2018.

TSAKNIS, J. *et al.* Characterization of *Moringa oleifera* variety mbololo seed oil of Kenya. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 47, n. 11, p. 4495–4499, 1999.

VAN DAMME, E. J. M. **Chapter 1 History of Plant Lectin Research**. [s. l.], v. 1200, p. 3–13, 2014.

ZAMBIAZI, R. U. I. C. *et al.* Fatty Acid Composition of Vegetable Oils and Fats. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 111–120, 2007.

CAPÍTULO 3

Óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição aos antibióticos para leitões sobre o desempenho, índice de escore fecal, perfil bioquímico e imunológico e histopatologia de órgãos

**ÓLEO DE MORINGA E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM SUBSTITUIÇÃO AOS
ANTIBIÓTICOS PARA LEITÕES SOBRE O DESEMPENHO, ÍNDICE DE ESCORE
FECAL, PERFIL BIOQUÍMICO E IMUNOLÓGICO E HISTOPATOLOGIA DE
ÓRGÃOS**

RESUMO

Objetivou-se avaliar a utilização do óleo de sementes de moringa e ácidos orgânicos na alimentação de leitões recém-desmamados em substituição aos antimicrobianos sintéticos, sobre o desempenho, rendimento de carcaça e órgãos e escore de condição fecal. Um ensaio de desempenho foi desenvolvido no laboratório de pesquisa com suínos do departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. O delineamento foi em blocos casualizados com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos consistiam em um controle negativo (CN), constituído de uma dieta referência à base de milho e farelo de soja, um controle positivo (CP), dieta referência + 0,04 ou 0,3% de antibióticos, e duas dietas testes, uma com ácidos orgânicos (AO), dieta referência + 0,5% de um blend de ácidos orgânicos Nuviacid®, e o óleo de moringa (OM), dieta referência + 0,5 ou 1% de óleo de sementes de moringa (OM). Foram utilizados 48 leitões recém-desmamados com peso médio inicial de $9,695 \pm 0,07$. O ensaio durou oito semanas e foram avaliados condição de escore fecal, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Além de perfil bioquímico sérico e imunológico. Após oito semanas de experimento, nove animais por tratamento foram abatidos para avaliação das características de carcaça, rendimento de órgãos e histopatologia do fígado. Os tratamentos OM e CN apresentaram maior índice de diarreia ($P < 0,05$) quando comparados ao CP e AO, pelo teste de Qui-quadrado. Não foi observado efeito significativo dos tratamentos sob o desempenho nas diferentes fases de produção. Não houve efeito dos aditivos no rendimento e no peso absoluto de carcaça. No entanto, os cortes paleta e barriga + costela apresentaram efeito significativo, sendo maiores para o CP e AO, respectivamente. O peso absoluto dos órgãos não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, exceto o peso dos rins que foi maior para o CN em relação ao OM. Para o rendimento de órgãos o pâncreas apresentou aumento para o tratamento OM em relação ao AO. A espessura de toucinho foi maior para AO quando comparado ao OM. Os índices de imunoglobulinas G foram maiores para os tratamentos AO e OM, no final da fase pré-inicial. A histopatologia do fígado apresentou alterações para todos os tratamentos contendo aditivos. A utilização de ácidos orgânicos nas dietas de leitões recém-desmamados reduz a incidência de diarreia nas fases pré-inicial e inicial e não altera o desempenho. Além disso, pode melhorar o status imune dos leitões nas fases iniciais.

Palavras-chave: Ácidos orgânicos; Diarreia; Fitoquímicos; Órgãos.

**MORINGA OIL AND ORGANIC ACIDS AS A REPLACEMENT TO ANTIBIOTICS
FOR PIGLETS ON PERFORMANCE, FECAL SCORE INDEX, BIOCHEMICAL
AND IMMUNOLOGICAL PROFILE AND ORGAN HISTOPATHOLOGY**

ABSTRACT

The objective was to evaluate the use of moringa seed oil and organic acids in the feeding of newly weaned piglets to replace synthetic antimicrobials, on performance, carcass and organ yield and fecal condition score. A performance test was carried out in the swine research laboratory of the Animal Science department of the Universidade Federal Rural de Pernambuco. The design was in randomized blocks with four treatments and six replications. The treatments consisted of a negative control (NC), consisting of a reference diet based on corn and soybean meal, a positive control (PC), reference diet + 0.04 or 0.3% of antibiotics, and two test diets, one with organic acids (OA), reference diet + 0.5% of a Nuviacid® organic acid blend, and moringa oil (OM), reference diet + 0.5 or 1% moringa seed oil (OM). Forty-eight recently weaned piglets with an average initial weight of 9.695 ± 0.07 were used. The trial lasted eight weeks and the condition of fecal score, weight gain, feed consumption and feed conversion were evaluated. In addition to serum and immunological biochemical profile. After eight weeks of experiment nine animals per treatment were slaughtered for evaluation of carcass characteristics, organ yield and liver histopathology. The treatments OM and CN had a higher rate of diarrhea ($P < 0.05$) when compared to CP and AO by the chi-square test. There was no significant effect of treatments on performance in different stages of production. There was no effect of additives on yield and absolute carcass weight. However, the shoulder and belly + rib cuts had a significant effect, being higher for CP and AO, respectively. The absolute weight of the organs showed no significant difference between the treatments, except for the weight of the kidneys, which was higher for the NC in relation to the OM. For organ yield, the pancreas showed an increase for the OM treatment in relation to the AO. Backfat thickness was higher for AO when compared to OM. The levels of immunoglobulin G were higher for treatments AO and OM, at the end of the pre-initial phase. Liver histopathology showed changes for all treatments containing additives. The use of organic acids in the diets of newly weaned piglets reduces the incidence of diarrhea in the pre-initial and initial phases and does not affect performance. In addition, it can improve the immune status of piglets in the early stages.

Keywords: Diarrhea; Organic acids; Organs; Phytochemicals.

INTRODUÇÃO

A produção brasileira de suínos tem aumentado significativamente nos últimos anos, sobretudo, devido à crescente demanda pelos produtos cárneos, ora causado pelos índices de exportação, ora pelo aumento no consumo per capita. Na última década, o Brasil teve um aumento na produção de carne suína de 1,199 milhão de toneladas, e no consumo de 1,9 kg/hab./ano (ABPA, 2021). Os antibióticos promotores de crescimento têm sido um dos aliados dos produtores na melhoria dos índices de produtividade dos plantéis e na redução da incidência de diarreia, principalmente na fase pós-desmame, na qual ocorre a transição da alimentação a base de leite para alimentação sólida, podendo ocasionar alteração do ambiente intestinal e da fisiologia digestiva, sendo necessário o uso de diferentes aditivos alimentares para obter ao máximo a utilização dos nutrientes da dieta (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). Além disso, há uma maior predisposição a problemas entéricos, por diversos fatores estressores, e a *Escherichia coli* pode se tornar a principal responsável pelo aumento na taxa de morbidade, mortalidade e perdas econômicas na produção (SANTANA *et al.*, 2015).

Entretanto, devido ao surgimento de bactérias resistentes e ao aumento das proibições de utilização de antibióticos melhoradores de desempenho (AMD) tem havido crescente interesse em estudar alternativas naturais, a fim de substituir os agentes sintéticos sem causar danos à saúde humana e animal, e, principalmente, que não concorra à seleção de genes microbianos resistentes. Atualmente, os produtos naturais são uma das principais fontes de novas moléculas de substituição aos medicamentos (BALOUIRI *et al.*, 2016). Um desses produtos naturais são os óleos essenciais, que podem ser uma alternativa aos antimicrobianos sintéticos. São componentes hidrofóbicos de compostos aromáticos voláteis, presentes em várias partes da planta, como galhos, flores, folhas, cascas, sementes e raízes (YAN *et al.*, 2010). Esses são, geralmente, metabólitos secundários das plantas, e servem a vários propósitos fisiológicos, como proteção contra pragas e microrganismos, atração de insetos e pássaros polinizadores, e fornecem fotoproteção à planta e alelopatia (WEI; SHIBAMOTO, 2010). Porém, a qualidade e as propriedades farmacológicas dos óleos podem ser afetadas pelas variações do clima, parte da planta, épocas de colheita, regiões de cultivo e técnicas de extração (BAKKALI *et al.*, 2008).

A *Moringa oleífera* é uma das 13 espécies monogênicas pertencentes à família *Moringaceae* (GHAZALI; MOHAMMED, 2011; LEONE *et al.*, 2016; SAA *et al.*, 2019) e a mais cultivada (BICHI, 2013). Nativa da Índia, é cultivada em todo subcontinente, por suas flores e folhas comestíveis e suas vagens muito populares na culinária (KUMAR *et al.*, 2014).

Com conhecida riqueza nutricional, a moringa apresenta componentes fitoquímicos essenciais nas folhas, vagens e sementes (GOPALAKRISHNAN *et al.*, 2016), como proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais (IGWILO *et al.*, 2017).

O óleo de sementes de moringa, além de fonte nutritiva, possui também compostos secundários que agem como antimicrobianos, antioxidantes, anticarcinogênica, fungicida entre outras propriedades fitogênicas (MARRUFO *et al.*, 2013; DINESHA *et al.*, 2018; ÖZCAN, 2018). Entretanto, alguns componentes secundários presentes no óleo das sementes podem agir também como fatores antinutricionais, podendo acarretar efeitos danosos à saúde, quando ingeridos em altas quantidades, além de interferir na digestibilidade, absorção e utilização dos nutrientes da dieta (SANTOS, 2006). Alguns desses componentes são fitatos, saponinas, taninos, oxalatos, alcalóides e glicosídeos cianogênicos (MBAH *et al.*, 2012; STEVENS *et al.*, 2016; OLADEJI *et al.*, 2017; IGWILO *et al.*, 2017; DINESHA *et al.*, 2018).

Da mesma forma, os ácidos orgânicos também são uma excelente fonte alternativa de substituição dos AMDs. São caracterizados como ácidos fracos e de cadeia curta, amplamente encontrados na natureza como componentes de tecidos vegetal e animal, assim como são obtidos pela fermentação de carboidratos, como ocorre comumente no intestino grosso (COSTA *et al.* 2013). Possuem propriedades multifuncionais que podem alterar diferentes parâmetros de desempenho nos animais (BOAS *et al.*, 2016). Dependendo do nível de inclusão nas dietas, podem apresentar ação bactericida ou bacteriostático (SUIRYANRAYNA; RAMANA, 2015). Os principais ácidos orgânicos estudados como aditivo alimentar são os ácidos butírico, láctico, fórmico, cítrico, acético e propiônico. Os ácidos orgânicos e seus sais também possuem a capacidade de diminuir o pH gástrico, resultando em aumento no tempo de retenção do alimento no estômago e favorecendo a atividade de enzimas proteolíticas (COSTA *et al.*, 2013).

Neste contexto, objetivou-se avaliar o uso do óleo de sementes de moringa e dos ácidos orgânicos como alternativa aos antibióticos sintéticos na alimentação de leitões recém-desmamados sobre o desempenho, índice de diarreia, características de carcaça e rendimento de órgãos.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética sobre o uso de animais em experimento (CEUA/UFRPE) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob a licença de número 6272191120, em 19 de novembro de 2020.

Processamento do óleo de moringa

As sementes de moringa foram coletadas na Estação Experimental para Pequenos Animais do Carpina-PE, entre os meses de janeiro de 2018 a dezembro de 2019. Após a coleta, as sementes foram retiradas de suas vagens e, logo em seguida, descascadas com o auxílio de um moinho tipo martelo para quebrar as cascas, e com a utilização de uma peneira foi realizado a separação dos núcleos. Após esse processo, as sementes foram embaladas a vácuo e armazenadas em câmara fria até a extração do óleo, feito por meio de uma prensa hidráulica de 30 toneladas de capacidade, com o auxílio de um extrator acoplado, formado por um anel de aço inoxidável e um êmbolo que transita pelo interior do anel, contraindo as sementes contra a base, forçando a extração do óleo. Quantidades de aproximadamente 200g de sementes eram adicionadas ao extrator acoplado à prensa e, em seguida, acionada a força de compressão que, em média, era de 20 toneladas.

Animais, delineamento e tratamentos

Os leitões foram adquiridos da Granja AP Carneiro Suinocultura, localizada no município de Vitória do Santo Antão. O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em Recife. Os animais foram alojados em baias medindo 1,20m x 3,10m, construídas em alvenaria, com pé direito de 2,10m, com cobertura de telhas cerâmica e piso de concreto. Cada baia foi equipada com bebedouros automáticos tipo chupeta e comedouros em alvenaria tipo calha. Foi instalado termo-higrômetros em diferentes locais do galpão para o controle diário de temperatura e umidade relativa do ar. A temperatura e a umidade relativa do ar variaram de 23,8 a 31,4 °C e 62,3 a 90,5%, respectivamente.

O delineamento foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos e seis repetições, sendo o fator de blocagem o peso inicial. Foram alojados dois animais por unidade experimental, totalizando 48 leitões, machos castrados com peso médio inicial de $9,695 \pm 0,07$. A linhagem comercial utilizada foi proveniente do cruzamento de fêmeas MO25C Embrapa (Landrace x Large White x Moura) com machos MS115 Embrapa (Pietrain x Large White x

Duroc). Os tratamentos consistiram em uma dieta controle negativo, sem inclusão de qualquer promotor de crescimento (CN); uma dieta controle positivo, contendo antibiótico melhorador de desempenho (CP); uma dieta teste contendo ácidos orgânicos, controle + 0,5% de Nuviacid® (AO); e uma dieta teste com óleo de sementes de moringa, controle + 1% de óleo de moringa na fase pré-inicial (25 a 46 dias de idade) e controle + 0,5% de óleo de moringa nas fases inicial (46 a 67 dias de idade) e crescimento (67 a 82 dias de idade).

As dietas foram formuladas para atender às exigências nutricionais descritas por Rostagno *et al.* (2017), conforme apresentadas nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Composição centesimal e nutricional calculada das dietas experimentais para leitões na fase pré-inicial

Ingredientes	Composição centesimal			
	CN	CP	AO	OM
Milho grão	54,720	54,640	54,159	54,846
Farelo de Soja	34,429	34,446	34,540	34,409
Óleo de soja	5,555	5,582	5,511	4,453
Fosfato bicálcico	2,263	2,264	2,265	2,263
Calcário	0,989	0,989	0,988	0,989
L-Lisina HCL	0,639	0,639	0,637	0,640
Sal comum	0,463	0,463	0,463	0,463
L-Treonina	0,341	0,341	0,341	0,341
¹ Premix	0,300	0,300	0,300	0,300
DL-Metionina	0,243	0,243	0,243	0,243
L-triptofano	0,053	0,053	0,053	0,053
Bacitracina	-	0,040	-	-
Óleo de moringa	-	-	-	1,000
² Ácidos Orgânicos	-	-	0,500	-
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrientes	Composição calculada %			
EM Mcal/kg	3,400	3,400	3,400	3,400
Proteína bruta	21,42	21,42	21,42	21,42
Lisina dig.	1,451	1,451	1,451	1,451
Met+cist. dig.	0,813	0,813	0,813	0,813
Metionina	0,530	0,530	0,530	0,530
Treonina dig.	0,972	0,972	0,972	0,972
Triptofano dig.	0,276	0,276	0,276	0,276
Fósforo disponível	0,528	0,528	0,528	0,528
Cálcio	1,068	1,068	1,068	1,068
Potássio	0,797	0,797	0,797	0,797
Sódio	0,224	0,224	0,224	0,224

CN= Controle Negativo; CP= Controle Positivo; AO= Ácidos Orgânicos; OM= Óleo de moringa. ¹Premix Nuvisuper Teste UFRPE; ²Ácidos orgânico Nuviacid®.

O tratamento contendo antibióticos foi realizado seguindo protocolos de granjas comerciais com as orientações de responsável técnico Médico Veterinário. Foi iniciada uma dieta contendo 400g por tonelada do antibiótico bacitracina de zinco, por 20 dias. Após tal

período, esse antibiótico foi substituído por Florfenicol (3kg/ton), por mais 20 dias, que foi então substituído por Enrofloxacin (400g/ton), até cinco dias antes do abate.

Tabela 2. Composição centesimal e nutricional calculada das dietas experimentais para leitões na fase inicial

Ingredientes	Composição centesimal			
	CN	CP	AO	OM
Milho grão	69,468	68,837	68,904	69,528
Farelo de Soja	25,070	25,191	25,178	25,054
Óleo de soja	1,494	1,703	1,450	0,947
Fosfato bicálcico	1,565	1,568	1,567	1,566
Calcário	0,792	0,791	0,791	0,793
L-Lisina HCL	0,471	0,469	0,469	0,472
Sal comum	0,406	0,406	0,406	0,406
L-Treonina	0,185	0,185	0,185	0,185
¹ Premix	0,300	0,300	0,300	0,300
DL-Metionina	0,123	0,124	0,124	0,123
L-triptofano	0,036	0,036	0,036	0,036
Valina	0,090	0,090	0,090	0,090
Florfenicol	-	0,300	-	-
Óleo de moringa	-	-	-	0,500
² Ácidos Orgânicos	-	-	0,500	-
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrientes	Composição calculada %			
Energia Met. Mcal/kg	3,250	3,250	3,250	3,250
Proteína bruta	18,06	18,06	18,06	18,06
Lisina digestível	1,120	1,120	1,120	1,120
Met+cist. dig.	0,638	0,638	0,638	0,638
Metionina	0,380	0,380	0,380	0,380
Treonina dig.	0,728	0,728	0,728	0,728
Triptofano dig.	0,213	0,213	0,213	0,213
Valina	0,773	0,773	0,773	0,773
Cálcio	0,794	0,794	0,794	0,794
Fósforo disponível	0,393	0,393	0,393	0,393
Sódio	0,199	0,199	0,199	0,199

CN= Controle Negativo; CP= Controle Positivo; AO= Ácidos Orgânicos; OM= Óleo de moringa. ¹Premix Nuvisuper Teste UFRPE; ²Ácidos orgânico Nuviacid®.

O óleo de moringa foi adicionado na dieta ao nível de 1% na fase pré-inicial, sendo feito um ajuste para as fases posteriores e adicionando 0,5% de óleo de moringa na dieta teste OM.

A mistura premix utilizada na pesquisa foi o Nuvisuper®, da fabricante Quimtia, fabricada exclusivamente para atender à demanda da presente pesquisa, produzida sem a adição de antibióticos. Possui os seguintes níveis de garantia por kg do produto: vit. A, 1.200.000 UI; vit. K3 208 mg; vit. B12 6.000 mcg; ferro 8.100 mg; iodo 99,2 mg; metionina 39,5 g; biotina 30 mg; Vit. D3 220.000 UI; Vit. B2 800 mg; niacina 3.600 mg; manganês 5.100 99 mg; zinco 20 g; Vit. B1 150 mg; Vit. E 6.000 UI; Vit. B6 400 mg; pantotênico de cálcio 2.200 mg; cobre 1600 mg; selênio 116 mg; ácido fólico 200 mg.

Tabela 3. Composição centesimal e nutricional calculada das dietas experimentais para leitões na fase de crescimento I

Ingredientes	Composição centesimal			
	CN	CP	AO	OM
Milho grão	78,026	77,940	77,457	78,085
Farelo de Soja	17,306	17,324	17,417	17,298
Óleo de soja	0,987	1,015	0,949	0,436
Fosfato bicálcico	1,236	1,236	1,237	1,236
Calcário	0,702	0,702	0,700	0,702
L-Lisina HCL	0,489	0,489	0,487	0,489
Sal comum	0,378	0,378	0,378	0,378
L-Treonina	0,175	0,175	0,175	0,175
¹ Premix	0,300	0,300	0,300	0,300
DL-Metionina	0,111	0,111	0,111	0,111
L-triptofano	0,058	0,058	0,057	0,058
Valina	0,232	0,232	0,232	0,232
Enrofloxacina	-	0,040	-	-
Óleo de moringa	-	-	-	0,500
² Ácidos Orgânicos	-	-	0,500	-
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrientes	Composição calculada %			
Energia Met. Mcal/kg	3,250	3,250	3,250	3,250
Proteína bruta	15,28	15,28	15,28	15,28
Lisina digestível	0,960	0,960	0,960	0,960
Met+cist. Digestível	0,566	0,566	0,566	0,566
Metionina	0,335	0,336	0,335	0,335
Treonina dig.	0,624	0,624	0,624	0,624
Triptofano dig.	0,192	0,192	0,192	0,192
Valina dig.	0,773	0,773	0,773	0,773
Fósforo disponível	0,324	0,324	0,324	0,324
Cálcio	0,655	0,655	0,655	0,655
Sódio	0,185	0,185	0,185	0,185

*CN= Controle Negativo; CP= Controle Positivo; AO= Ácidos Orgânicos; OM= Óleo de moringa.¹Premix Nuvisuper Teste UFRPE; ²Ácidos orgânico Nuviacid®.

O blend de ácidos orgânicos utilizados na pesquisa foi o Nuviacid®, também da fabricante Químtia. Possui em sua composição ácido fórmico, benzoico, propiônico e acético, com os seguintes níveis de garantia: ácido acético 100g; ácido fórmico 170 g; formiato de amônio 170 g; mono e diglicerídeos de ac. Graxos 80g.

Condição de escore fecal

As fezes dos leitões foram avaliadas diariamente, no mesmo horário, às 09h00, pelo mesmo observador. O escore fecal foi determinado pela análise visual, de acordo com as condições físicas das fezes e classificadas em três estágios, 1 = fezes moles (diarreia), 2 = fezes pastosas (normal) e 3 = fezes sólidas (normal), de acordo com Nepomuceno *et al.* (2016).

Foram observadas as fezes no piso e na região corporal de cada animal, como nádegas, cauda e jarretes. As baias foram higienizadas diariamente após as observações. Foram

analisados 48 animais diariamente por 56 dias, totalizando 2688 observações. Foi considerado diarreia fezes com escore 1, sendo as demais classificações consideradas fezes normais.

Desempenho

O desempenho animal foi avaliado mediante pesagem da ração fornecida e das sobras diariamente para obter o consumo de ração diário (CRD), que foi considerado a média da parcela. Os animais foram pesados semanalmente para obter o ganho de peso diário (GPD). A conversão alimentar (CA) foi obtida pela divisão do consumo de ração pelo ganho de peso, como descrito pela fórmula: $CA = (CRD)/(GPD)$

Abate, rendimento de carcaça, cortes e órgãos

Após oito semanas de experimento foi realizado o abate de nove animais por tratamento, os quais passaram por um período de 12h em jejum, tendo sido logo após transportados até o Frigorífico Bandeira LTDA., frigorífico comercial localizado no município de Paulista. Os animais foram alojados em baias de descanso até o momento do abate.

A insensibilização foi feita por meio de eletronarcose e, em seguida, foi feita a sangria, tendo sido realizada a pesagem antes do abate para se obter o peso vivo. Logo após o abate e evisceração foram pesadas as carcaças quentes para obtenção do rendimento de carcaça. Os órgãos foram separados logo em seguida e pesados para a obtenção do rendimento do coração, pulmão, estômago cheio e vazio, intestinos cheios e vazios, vesícula cheia e vazia, pâncreas, língua e esôfago, rins, baço e fígado. Após o abate, as carcaças foram armazenadas em câmara fria por 24h, a uma temperatura de 2°C a 4°C, aproximadamente, para a ocorrência do *rigor mortis*. Após esse período foram realizadas medições na carcaça, como comprimento de carcaça, comprimento de perna, circunferência de perna e espessura de toucinho, em centímetros; logo em seguida, foram feitos os cortes da carcaça em partes como paleta, pernil, costela, lombo, carré, copa, filezinho, cabeça, pés e cauda, tendo sido pesados para obtenção dos rendimentos. Os rendimentos de carcaça, cortes e órgãos foram determinados pela divisão do peso absoluto de cada peça pelo peso vivo do animal e multiplicado por 100.

Análises bioquímica e imunológica séricas

Para a realização das análises bioquímicas e de imunoglobulinas do soro e plasma sanguíneos foram realizadas duas coletas de sangue. A primeira coleta foi realizada ao final da fase pré-inicial, por meio do sinus orbital, utilizando agulhas de 40x10 mm, quando os animais apresentavam idade média de 46 dias de vida, peso médio de 18,41 kg, e o tratamento com óleo

de moringa recebeu 1% de óleo na dieta. A segunda coleta foi realizada ao abate, no momento da sangria, quando os animais apresentavam idade média de 82 dias de vida e peso médio de 53,37 kg. Foram utilizados tubos vacutainer com ativador de coágulo (sílica) jateado para a separação do soro, e tubos com o inativador de coagulação heparina de lítio para a separação do plasma. Após as coletas, as amostras de sangue foram imediatamente centrifugadas para a obtenção do sobrenadante. Logo em seguida, as amostras de soro e plasma foram congeladas até as análises.

As análises bioquímicas foram realizadas em analisador semiautomático Prietest Touch 250 com a utilização de kits bioquímicos da marca Labtest. As análises de transaminases e triglicerídeos foram analisadas por meio de kits da marca In vitro®. O colesterol total e o HDL foram testados com a utilização de kits da marca Bioclin® – Quibasa. Para as análises de imunoglobulinas foi utilizado um analisador automático Labmax 240 com kits comerciais da marca Labtest®.

Análises histopatológica de órgãos

Após oito semanas recebendo dietas teste, nove suínos por tratamento foram abatidos, com idade média de 82 dias e peso corporal médio de $53,37 \pm 1,37$ kg. Após evisceração e pesagem de todos os órgãos, foram coletadas três amostras do fígado, aproximadamente 3 cm cada. Imediatamente foram fixados por imersão em solução formol tamponado (10%) em frascos plásticos estéreis. Após 48h de fixação, as amostras foram transferidas para etanol 70%. Então, foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanizados em xilol, impregnados com parafina líquida em estufa a 60°C e logo após incluídos em parafina. Os blocos foram cortados por um micrótomo ajustado para 4 µm. Os cortes foram corados por Hematoxilina Eosina (H.E.), seguindo protocolo do Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE. A captura das imagens foi realizada com o auxílio do programa LAZ EZ versão 4.1.0 e utilizando um microscópio óptico Leica® DM500 acoplado à câmera e conectado a um computador. As alterações histopatológicas observadas no fígado foram analisadas quanto ao grau de intensidade e distribuição, com base nos escores apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Escore de lesões de acordo com o grau de intensidade e a distribuição

Categoria	Escore	Significado
Intensidade	0	Normal
	1	Leve
	2	Moderado
	3	Acentuado
Distribuição	0	Normal
	1	Focal
	2	Focalmente extenso
	3	Multifocal
	4	Multifocal a coalescente
	5	Difuso

Fonte: Silva *et al.* (2021)

Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de homoscedasticidade, normalidade e análise de variância pelo programa R versão 1.2.5001 (2009-2019). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey aos níveis de 5 e 10%. Os dados de escore fecal foram submetidos ao teste de Qui-quadrado e representado como frequência. As variáveis de carcaça, órgãos e parâmetros bioquímicos séricos foram submetidas à análise de covariância, sendo considerado como covariável o peso inicial. As análises das variáveis histopatológicas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diarreia

Os resultados do escore de condição fecal apresentaram efeito dos tratamentos para as diferentes idades (Tabela 5). Os leitões na fase pré-inicial (25 a 46 dias) apresentaram fezes diarreicas para todos os tratamentos.

O óleo de moringa (OM) e o controle negativo (CN) apresentaram os maiores ($p < 0,01$) índices. Por outro lado, os tratamentos com antibióticos (CP) e ácidos orgânicos (AO) reduziram os índices de diarreia, apresentando valores de frequência semelhantes entre si. Na fase inicial, a utilização de antibióticos reduziu significativamente a incidência de diarreia, seguido do tratamento AO que por sua vez não diferiu do CN, mas apresentou incidência de diarreia menor que o OM.

Tabela 5. Condição de escore fecal de leitões recém-desmamados recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.

Idade ¹	CN	CP	AO	OM	P-valor
Diarreia (%)					
25 a 46 dias	26,98 a	18,25 b	19,84 b	34,13 a	<0,001
25 a 67 dias	20,35 ab	9,50 c	15,12 b	25,19 a	<0,001
25 a 82 dias	17,50 a	8,83 c	13,00 b	22,00 a	<0,001

Análise estatística: Qui-quadrado; ¹Idade dos leitões em dias.

Durante o período inicial de experimentação houve o surgimento de desafio devido às mudanças de ambiente, de alimentação e do estresse causado pelo desmame, ocasionando altos índices de diarreia nos leitões. O óleo de moringa não reduziu os índices de diarreia, apesar de possuir componentes secundários que podem apresentar efeito antimicrobiano. Dentre eles destaca-se o γ -sitosterol, que além de efeito antimicrobiano, pode ter funções antidiarreica, antiviral, anti-inflamatória e anticarcinogênica (ALY *et al.*, 2016).

Oluduro *et al.* (2010) encontraram os seguintes flavonoides glicosídicos no extrato de sementes de moringa: Isotiocianato 4-(α -L-ramnopiranosiloxi) benzil; N-4-(α -L-ramnopiranosiloxi) carbamato de metila e 4-(β -D-glucopiranosil-1 \rightarrow 4- α -L-ramnopiranosiloxi) benzil tiocarboxamida. De acordo com esses autores, esses compostos apresentam alta atividade antimicrobiana, sendo o último com maior eficácia (99,2 a 100%) na inibição dos patógenos *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*.

Resultados semelhantes foram descritos por Viapiana (2019), que observou aumento dos índices de diarreia com o aumento dos níveis de farinha da folha de moringa na dieta de leitões desmamados. Salienta-se que a atividade antimicrobiana, *in vitro*, encontrada para o óleo de sementes de moringa descritos por Dinesha *et al.* (2018) pode sofrer mudanças quando testadas *in vivo*, isso porque fatores biológicos podem alterar os resultados esperados devido às mudanças endógenas causadas pela digestão e absorção dos nutrientes onde os compostos bioativos encontram-se complexados. Além disso, o óleo de sementes de moringa utilizado neste estudo trata-se de um óleo bruto, composto basicamente por ácidos graxos; isso faz com que os óleos essenciais, compostos aromáticos ou fitoquímicos, como o β -sitosterol, sejam diluídos, tornando sua concentração muito baixa, o que pode levar a não demonstração dos efeitos esperados.

Reforçando os achados no presente estudo, o óleo essencial de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius Raddi*) não apresentou melhoria no índice de escore fecal em leitões de 21 a 56 dias de idade, em comparação ao controle negativo e controle positivo (antibióticos) (GOIS *et al.*, 2017), assim como os óleos essenciais de orégano e alecrim também não

apresentaram capacidade de prevenir a diarreia neonatal em leitões entre 1 e 3 dias de vida, na dosagem de 1 mL kg^{-1} , de acordo com Luchese *et al.* (2011). Por outro lado, Henn *et al.* (2010) observaram atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de orégano, incluindo *E. coli* e *S. aureus*. Diante disso, Cui *et al.* (2019) sugeriram que o modo de ação do óleo essencial de orégano pode estar relacionado à integridade da parede celular bacteriana, uma vez que ele tem a capacidade de destruir a estrutura da membrana, causando vazamento de conteúdo e inibindo a atividade enzimática intracelular, afetando, assim, o metabolismo fisiológico normal.

A fase pós-desmame é a fase mais crítica de produção de suínos, na qual ocorre o somatório de diversos fatores estressores que podem causar efeitos deletérios na saúde intestinal e, conseqüentemente, no desempenho animal. Esses efeitos podem se prolongar por todas as outras fases de produção, dentre eles estão a separação da mãe, a mudança de ambiente e de dieta, a qual passa de líquida de alta digestibilidade para sólida farelada, além da perda de fonte de imunidade passiva proveniente do leite materno.

A utilização de antibióticos como melhoradores de desempenho tem como objetivo reduzir a carga de microrganismos potencialmente patogênicos, a fim de amenizar os riscos de doenças entéricas. No presente estudo, o uso de antibióticos e ácidos orgânicos reduziu o índice de diarreia de 25 a 46 (pré-inicial) e de 25 a 67 (inicial) dias de idade, em comparação aos tratamentos com óleo de moringa (OM) e controle negativo (CN).

De acordo com Lekagul *et al.* (2020), a amoxicilina e tiamulina foram os antibióticos mais comumente utilizados para uso em todos os estágios de criação de suínos, com dosagens entre 300 e 400 ppm e 150 a 200 ppm, respectivamente, podendo ser fornecido durante quatro a seis semanas. Por outro lado, por consequência de seu uso comumente disseminado em todo o mundo, além de ser um princípio ativo utilizado também em tratamentos para humanos, a amoxicilina é um dos antibióticos que mais encontra resistência pelos microrganismos, motivo que levou à sua proibição como aditivo alimentar. As bactérias entéricas *E. coli* e *Salmonella sp.* apresentaram altos índices de resistência, de 69,5 e 67,7% respectivamente. Dos isolados encontrados na Europa, esses percentuais de isolados resistentes apresentaram concentrações mínimas inibitórias (MIC) $\geq 64\mu\text{g/ml}$ (MARION; SIEGWART, 2015). Diante disso, podemos inferir que, mesmo reduzido em comparação ao OM e CN, a observação de altos índices de diarreia para o tratamento CP contendo antibióticos na fase pré-inicial pode estar relacionada a uma possível resistência aos antibióticos. A *E. coli* é uma das principais bactérias patogênicas relacionadas a diarreias pós-desmame, elevando as taxas de morbidade e mortalidade nas fases iniciais de vida dos leitões.

Na fase inicial (25 a 67 dias), o CP apresentou significativa redução nos índices de diarreia de 47,9%, em comparação à fase anterior (25 a 46 dias); no entanto, no crescimento I, observou-se redução de apenas 7,05% para o mesmo tratamento. Os achados para diarreia na fase final de experimentação para o tratamento CP podem estar relacionados ao surgimento de resistência bacteriana para os antibióticos utilizados. O uso prolongado de antimicrobianos, em dosagens subterapêuticas, pode ocasionar o surgimento de bactérias patogênicas resistentes aos antibióticos. Isso pode ser devido a mecanismos genéticos, como a transferência horizontal dos genes resistentes, pela recombinação de DNA e por mutação (DAVIS, 1997; DZIDIC *et al.*, 2008; MUNITA; ARIAS, 2016). De acordo com Munita e Arias (2016), a mutação de resistência leva o antimicrobiano a eliminar as populações susceptíveis, o que faz com que as cepas resistentes predominem. Além disso, antibióticos de amplo espectro podem ocasionar em desarranjo na microbiota intestinal, reduzindo a população de bactérias benéficas e causando diarreia nos animais. Por outro lado, as características da dieta também podem levar a um desarranjo da microbiota intestinal, principalmente aos animais mais jovens, por se tratarem de ingredientes predominantemente de origem vegetal.

O tratamento com ácidos orgânicos (AO) na fase pré-inicial apresentou resultados semelhantes ao CP para o escore fecal, enfatizando o potencial desses aditivos em melhorar o ambiente gastrointestinal, reduzindo a diarreia. O blend de ácidos orgânicos utilizados, o Nuviacid®, possui em sua composição ácido fórmico, benzoico, propiônico e acético. Xu *et al.* (2017) observaram que os ácidos orgânicos (50% benzoico) reduziram os índices de diarreia em leitões dos 14 aos 21 dias após o desmame, quando comparado ao controle negativo. Resultados semelhantes foram descritos por Diao *et al.* (2015), que observaram que o ácido benzoico combinado ao óleo essencial tymol reduziu o índice de diarreia em leitões de 30 para 7,67%.

No entanto, Papatsiros *et al.* (2011) observaram que apesar do ácido benzoico reduzir os índices de diarreia quando comparado ao controle, os melhores resultados foram achados para o tratamento contendo uma combinação de Probióticos + Ácidos benzoico. Os ácidos orgânicos agem modulando a microbiota intestinal, pela redução do pH, promovendo o aumento de população de bactérias benéficas, melhorando a integridade e a proliferação das células epiteliais (TSILOYIANNIS *et al.*, 2001; ABDELQADER; AL-FATAFTAH, 2016). No entanto, Yang *et al.* (2018) não observaram efeito nos índices de diarreia quando suplementaram dietas de leitões desmamados com mistura de ácidos orgânicos e óleos essenciais (cinamaldeído 15%, timol 5%, ácido cítrico 10%, ácido sórbico 10%, ácido málico

6.5%, e ácido fumárico, 13.5%), comparados ao controle negativo e controle positivo, provavelmente devido à ausência de desafio, de acordo com os autores.

Desempenho

Estão apresentados na Tabela 6 os resultados de desempenho produtivo de leitões suplementados com óleo de sementes de moringa e ácidos orgânicos em substituição aos antibióticos melhoradores de desempenho.

Tabela 6. Desempenho produtivo de leitões recém-desmamados recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

25 a 46 dias¹							
VARIÁVEL	CN	CP	AO	OM	CV%	P-valor	EPM
Peso inicial	9,6	9,7	9,7	9,6	4,60	0,524	0,892
Peso final	18,30	19,46	18,16	17,72	8,55	0,301	5,003
CRD	0,670	0,667	0,655	0,594	16,84	0,512	0,180
GPD	0,420	0,461	0,401	0,400	16,31	0,405	0,028
CA	1,599	1,528	1,692	1,609	16,33	0,802	0,151
25 a 67 dias¹							
Peso final	32,191	36,091	33,333	32,291	4,17	0,111	6,844
CRD**	0,957	1,039	0,997	0,891	17,94	0,369	0,227
GPD	0,567	0,628	0,570	0,558	13,29	0,406	0,033
CA	1,694	1,763	1,805	1,774	9,78	0,726	0,120
25 a 82 dias¹							
Peso final	46,546	45,057	44,376	42,813	13,95	0,535	2,010
CRD	1,160	1,167	1,250	1,100	14,20	0,501	0,225
GPD	0,642	0,648	0,608	0,618	8,39	0,623	0,029
CA	1,812	1,795	2,004	1,810	14,52	0,444	0,055

¹Idade dos leitões em dias; CN=controle negativo; CP=controle positivo; AO=ácidos orgânicos; OM=óleo de sementes de moringa; CV=coeficiente de variação; EPM=erro padrão médio; CRD=consumo de ração diário; GPD=ganho de peso diário; CA=conversão alimentar.

Não foi observado efeito significativo dos tratamentos para as variáveis em estudo, apesar de haver diferença significativa nos índices de diarreia. Diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo, a não manifestação de efeitos significativos no desempenho de suínos, alimentados com dietas contendo antibióticos e outros aditivos fitogênicos, foi descrita na literatura e atribuída a ausência de desafio (GOIS *et al.*, 2017; SINHORIN *et al.*, 2017).

No presente estudo ficou evidenciada a manifestação de desafio pelos altos índices de diarreia nos leitões; com isso, observam-se diferenças numéricas importantes para o tratamento CP, em que foram observados valores de peso final, ganho médio diário e consumo de ração acima das médias dos demais tratamentos para a fase pré-inicial e inicial, apesar de não significativos.

Os tipos de ácidos orgânicos utilizados também demonstram forte diferença nos efeitos que podem ser causados no desempenho em relação aos tratamentos controle. Longas *et al.* (2018) avaliaram a suplementação de dietas de leitões desmamados com dois diferentes blends de ácidos orgânicos, AO1 (ácido fórmico, acético e propiônico) semelhante ao blend utilizado no presente estudo, e AO2 (ácido butírico e sórbico), e observaram que o tratamento AO2 melhorou o ganho de peso e a conversão alimentar em todos os períodos experimentais, enquanto o AO1 melhorou apenas a conversão alimentar. Além disso, os autores observaram também que o AO2 melhorou a digestibilidade total aparente da fibra, carboidratos e do fósforo, de 0 a 14 dias após o desmame.

O óleo de sementes de moringa utilizado neste estudo pode apresentar um sabor amargo, adstringente, característica essa que pode causar certa rejeição ao alimento, influenciando diretamente no consumo de ração pelos animais que receberam dietas suplementadas com esse óleo. Todavia, não foi observada redução significativa no consumo de ração para os animais que consumiram dietas contendo óleo de sementes de moringa. Vale ressaltar a importância de determinação da energia metabolizável do óleo de sementes de moringa para suínos, uma vez que esse apresenta maior teor de energia bruta (9.948 kcal/kg) quando comparado ao óleo de soja (9.521 Kcal/kg), (9.333 Kcal/kg), de acordo com Costa Júnior (2018) e Araújo (2017), respectivamente, o que pode aumentar significativamente a densidade energética da dieta, podendo, assim, reduzir o seu consumo.

São escassos na literatura estudos com a utilização do óleo de sementes de moringa na alimentação animal. Ebeid *et al.* (2019) avaliaram a utilização do óleo de sementes de moringa, extraído por prensagem a frio na alimentação de ruminantes. Esses autores relataram aumento na produção de leite e melhora na conversão alimentar de ovelhas suplementadas com 1% de óleo de sementes de moringa na dieta. Além disso, os autores observaram melhora na digestibilidade da matéria orgânica, extrato etéreo e da fibra da dieta, o que atribuíram aos compostos bioativos do óleo de moringa, os quais podem modular a microbiota ruminal, melhorando a digestibilidade e o fornecimento de energia para o animal.

Contudo, é possível observar melhor eficiência do uso de aditivos alternativos aos antimicrobianos quando atuando de forma sinérgica. Yang *et al.* (2018) relataram que houve melhora no ganho de peso e peso final de leitões desmamados quando suplementados com mistura de ácidos orgânicos e óleos essenciais (cinamaldeído 15%, timol 5%, ácido cítrico 10%, ácido sórbico 10%, ácido málico 6.5%, e ácido fumárico, 13.5%) quando comparado ao controle, e não diferiram do tratamento com antibióticos.

Embora tenham-se obtidos resultados promissores no presente estudo, quando observamos o período experimental total (25 a 82 dias), a retirada dos antibióticos como aditivo alimentar para suínos ainda é inconclusiva, uma vez que as alternativas estudadas mostram resultados discrepantes. Contudo, Tutida *et al.* (2021) estudaram os efeitos dos probióticos, pré-bióticos, óleos essenciais, ácidos orgânicos e antibióticos, e não observaram efeito significativo no desempenho de suínos nas fases de crescimento e terminação. Os autores afirmam que nessas fases podem ser retirados os antibióticos das dietas, porém, um controle mais rigoroso deve ser empregado quanto aos possíveis riscos de doenças e as condições de ambiência onde os animais serão criados.

Peso e rendimento de carcaça

Estão apresentados nas Tabelas 7 e 8 os pesos absolutos e relativos de carcaça e dos cortes de suínos. Não foi observado efeito significativo dos tratamentos em relação às variáveis.

O peso absoluto foi utilizado para determinar os rendimentos da carcaça e dos cortes, a fim de investigar um possível efeito dos tratamentos sobre essas variáveis. Embora não haja diferença significativa, é possível observar um menor peso da carcaça para o tratamento com óleo de moringa (OM). Possivelmente, o maior índice de diarreia observado para esse tratamento, acompanhado de um menor peso vivo final nas diferentes fases de desempenho, tenha acarretado menor peso ao abate e, conseqüentemente, menor peso da carcaça, apesar desses resultados não serem significativos.

Os achados no presente estudo estão de acordo com Janacua-Vidales *et al.* (2019), que avaliaram a inclusão de diferentes níveis de óleo essencial de orégano na dieta de suínos nas fases de crescimento e terminação e não observaram efeito dos tratamentos para peso corporal ao abate e peso da carcaça fria. No entanto, esses autores obtiveram maior rendimento de carcaça para todos os níveis (1; 2 e 3%) de óleo essencial (62,2% carvacrol) quando comparado ao controle, e apesar de ser atribuído aos possíveis efeitos do carvacrol no desempenho animal, os autores não observaram diferença no ganho de peso.

Muitas pesquisas têm destacado o potencial dos óleos essenciais e extratos herbais na alimentação de aves e suínos, como melhoradores de desempenho; no entanto, poucos estudos têm avaliado o efeito desses fitoquímicos sobre as características de carcaça em suínos. O óleo essencial de orégano ou alho não apresentou efeito sobre as características de carcaça em frangos de corte, estudados por Kirkpinar *et al.* (2014), corroborando Ri *et al.* (2017), que também não observaram diferença para o orégano em pó sobre essas variáveis.

Tabela 7. Peso absoluto da carcaça e cortes de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

Variável	CN	CP	AO	OM	CV%	P-valor	EPM
	Peso kg						
Peso corporal	54,52	53,13	54,23	51,60	8,50	0,750	2,082
Peso CQ	39,95	39,20	39,80	37,25	7,50	0,722	1,861
Peso CF	39,15	38,86	38,49	36,54	8,73	0,735	1,801
Pernil	5,394	5,410	5,251	5,133	14,95	0,867	0,263
Paleta	3,925	3,978	3,816	3,760	13,25	0,790	0,161
Carré	3,337	3,060	3,166	2,810	17,49	0,223	0,177
Barriga+ Costela	3,163	3,048	3,469	3,093	17,74	0,387	0,186
Lombo	1,209	1,193	1,320	1,143	19,52	0,425	0,078
Copa + pescoço	0,841	0,941	0,969	0,980	17,32	0,332	0,058
File	0,307	0,298	0,272	0,283	19,19	0,577	0,019

CQ – Carcaça quente; CF – carcaça fria; CN - Controle negativo; CP - Controle positivo; AO - Ácidos orgânicos; OM - Óleo de moringa; CV - Coeficiente de variação; EPM - Erro padrão médio.

Avaliando a inclusão de diferentes níveis (0, 7, 14 e 21%) de feno de moringa na alimentação de suínos na fase de terminação, Lima (2016) observou que o peso ao abate, peso e rendimento da carcaça quente e peso da carcaça fria reduziu à medida que aumentou os níveis de feno de moringa na dieta. Porém, diferentemente do presente estudo, o feno da moringa pode ter apresentado esse efeito pelo alto teor de fibra, levando a uma menor disponibilidade dos nutrientes da dieta e, conseqüentemente, menor deposição de proteínas nos músculos.

É sabido que o rendimento de carcaça está diretamente relacionado ao desempenho animal, que, por sua vez, pode variar de acordo com a genética, sexo, manejo e nutrição. No entanto, a manifestação de efeitos sobre o rendimento dos cortes da carcaça com a utilização de fitoquímicos em suínos e aves e sua relação com o desempenho ainda é controverso, uma vez que trabalhos tem demonstrado efeitos dos tratamentos em uma dessas variáveis enquanto não observaram nenhuma diferença em outra (JANACUA-VIDALES *et al.*, 2019; RI *et al.*, 2017). Os rendimentos de carcaça e dos cortes estão apresentados na Tabela 7. Apenas as partes costela + barriga ($p < 0,05$), copa + pescoço e carré ($p < 0,1$) apresentaram efeito significativo.

O CP apresentou numericamente maior peso vivo final nas fases pré-inicial e inicial. Um melhor desempenho nas fases iniciais de experimentação, para esse tratamento, embora não significativo, pode ter contribuído para uma maior deposição de carne magra na carcaça, uma vez que o pernil também se apresentou numericamente maior rendimento em relação aos demais tratamentos. No estudo de Janacua-Vidales *et al.* (2019), o rendimento de paleta reduziu significativamente com o aumento dos níveis de óleo essencial de orégano na dieta de suínos, esse fato é acompanhado de um menor peso ao abate para esses animais, reforçando os achados no presente estudo.

Tabela 8. Rendimento de carcaça e cortes de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

Variável	CN	CP	AO	OM	CV%	P-valor	EPM
	Rendimento %						
RCQ	73,25	73,51	73,38	72,28	2,83	0,834	1,041
RCF	71,76	72,15	71,62	70,80	3,62	0,793	0,875
Pernil	27,94	28,19	27,38	28,29	4,55	0,434	0,212
Paleta	20,42	20,80	19,94	20,81	4,20	0,113	0,144
Carré	17,20 a	16,03 ab	16,36 ab	15,49 b	9,39	0,082	0,255
Barriga+ Costela*	16,41 ab	16,02 b	18,10 a	17,07 ab	8,53	0,002	0,240
Lombo	6,22	6,33	6,83	6,15	12,37	0,226	0,132
Copa + pescoço	4,38 b	4,97 ab	5,08 ab	5,37 a	17,16	0,068	0,142
Filé	1,57	1,56	1,41	1,55	11,24	0,167	0,028

*Diferem entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); **Diferem entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,1$); RCQ – Rendimento de carcaça quente; RCF – Rendimento de carcaça fria; CN - controle negativo; CP - Controle positivo; AO - Ácidos orgânicos; OM - Óleo de moringa; CV - Coeficiente de variação; EPM - Erro padrão médio.

Por outro lado, o rendimento de costela foi maior ($p < 0,05$) para o tratamento AO em relação ao CP e CN, não diferindo também do tratamento OM. O maior rendimento de costela + barriga para o tratamento AO pode ser atribuído a maior espessura de toucinho observados. Lima (2016) não observou diferença dos níveis de feno de moringa no rendimento de costela + barriga, assim como também não encontrou efeito para a espessura de toucinho. Ainda de acordo com Lima (2016), apesar de não apresentar efeito significativo, o rendimento de copa foi numericamente maior para o tratamento com maior nível de feno de moringa (21%), o qual apresentou piora no desempenho e menor peso ao abate. Serafim (2016), avaliando o efeito do peso ao abate sobre o rendimento de carcaça e dos cortes, observou maior rendimento de copa + pescoço para suínos abatidos mais leves. Resultados semelhantes foram encontrados no presente estudo, em que o tratamento OM obteve menor peso de carcaça em 6,75% em relação ao CN, e apresentou maior rendimento de copa + pescoço.

As medidas de carcaça foram influenciadas pelos tratamentos (Tabela 9). O comprimento de perna foi maior para o CN em relação ao AO e OM. Por outro lado, o tratamento AO apresentou maior espessura de toucinho quando em comparação aos tratamentos CN e OM.

Tabela 9. Características de carcaça de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

VARIÁVEL	CN	CP	AO	OM	CV%	P-valor	EPM
CCar (cm)	81,47	79,88	81,52	80,66	5,64	0,798	1,330
CPerna (cm)	32,45 a	31,52 ab	30,76 ab	30,20 b	5,11	0,023	0,548
CirPernil (cm)	55,60	55,02	55,10	53,87	4,01	0,705	1,070
ET (mm)	12,91 ab	14,040 ab	16,31 a	12,40 b	12,06	0,019	0,117

*Diferem entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); CCar – Comprimento de carcaça; CPerna – Comprimento de perna; CirPernil – circunferência de pernil; ET – Espessura de toucinho.

Observou-se na fase de crescimento, numericamente, um importante aumento no consumo de ração para o tratamento ácidos orgânicos (AO), que foi de 13,43% em relação ao CN, o que não refletiu no ganho de peso, aumentando também sua conversão alimentar. Esse fenômeno pode ter relação com o aumento na espessura de toucinho, uma vez que os animais não conseguiram converter a dieta em ganho de massa magra, e isso tenha levado ao um acúmulo de gordura subcutânea.

Resultados semelhantes foram descritos por Muniyappan *et al.* (2021), que observaram aumento linear da espessura de toucinho com o aumento dos níveis de ácidos orgânicos na dieta de suínos. No entanto, esses autores não obtiveram melhora na digestibilidade dos nutrientes. De acordo com o Partanen e Mroz (1999), o poder de acidificação do pH é reduzido na seguinte ordem: ácido tartárico > ácido cítrico > ácido málico > ácido fumárico > ácidos láctico e fórmico > ácido acético > ácido propiônico. Ainda de acordo com esses autores, os altos níveis de proteína e minerais nas dietas podem aumentar o poder tampão e reduzir o efeito acidificante dos ácidos orgânicos.

Desta forma, Costa *et al.* (2013) afirmam que quando a capacidade tampão da dieta é alta, a eficiência dos ácidos orgânicos em melhorar a digestibilidade dos aminoácidos é reduzida, necessitando de níveis elevados para expressar seu efeito. Sabe-se que a ação dos ácidos orgânicos se inicia no estômago, com a redução do pH, maior retenção da digesta e, conseqüentemente, maior digestão das proteínas.

No entanto, é possível que o tratamento com ácidos orgânicos não tenha melhorado a digestibilidade das proteínas nas fases iniciais, por conter altos níveis desse nutriente e minerais nas dietas. Além disso, o efeito dos ácidos orgânicos sobre o desempenho dos leitões parece ser mais pronunciado nas primeira três a quatro semanas após o desmame, enquanto ainda há imaturidade dos sistemas imunológico e digestivo (GIESTING *et al.*, 1991), havendo, desse modo, deposição de tecido adiposo na carcaça, uma vez que os ácidos orgânicos podem ser fonte direta de energia para o intestino de suínos. De acordo com Giesting e Easter (1985), os

ácidos orgânicos são intermediários do ácido tricarbóxico, auxiliando, assim, a prevenção da degradação dos tecidos e da lipólise.

Peso e rendimento de órgãos

Os pesos absoluto e relativo dos órgãos estão apresentados nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10. Peso absoluto de órgãos de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

Variável	CN	CP	AO	OM	CV%	P-valor	EPM
	Peso kg						
Intestino cheio	4,152	4,254	4,495	4,336	19,91	0,862	0,143
Intestino vazio	3,125	3,258	3,150	3,194	12,76	0,938	0,067
Fígado	1,161	1,117	1,166	1,034	11,44	0,311	0,021
Esôfago+língua	0,735	0,728	0,811	0,688	18,63	0,257	0,023
Estômago cheio	0,690	0,617	0,625	0,571	22,29	0,310	0,023
Pulmão	0,601	0,561	0,528	0,525	22,87	0,160	0,021
Estômago vazio	0,442	0,449	0,453	0,451	14,19	0,824	0,011
Rim	0,250 a	0,231 ab	0,244 ab	0,217 b	13,92	0,038	0,005
Coração	0,241	0,227	0,242	0,229	17,24	0,912	0,006
Pâncreas	0,103	0,093	0,094	0,104	21,61	0,773	0,005
Baço	0,104	0,115	0,106	0,097	23,23	0,342	0,004
Vesícula cheia	0,048	0,070	0,064	0,052	39,03	0,424	0,003
Vesícula vazia	0,008	0,007	0,007	0,007	9,28	0,118	0,001

*Diferem entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); CN = controle negativo; CP - Controle positivo; AO - Ácidos orgânicos; OM - Óleo de moringa; CV - Coeficiente de variação; EPM - Erro padrão médio.

Foi observada diferença significativa devido aos tratamentos sobre os pesos absolutos apenas para o rim (Tabela 10). O CN e AO obtiveram maiores pesos absolutos do rim em comparação ao tratamento com óleo de moringa (OM), não diferindo do CP.

Um aumento ($p < 0,1$) no rendimento de pâncreas para o tratamento óleo de moringa (OM) em relação ao controle positivo (CP) e ácidos orgânicos (AO) pode estar relacionado a uma maior necessidade de secreção de enzimas digestíveis.

De acordo com Dinesha *et al.* (2018), o óleo de sementes de moringa possui os fatores antinutricionais ácido fítico (3,09 a 11,49%), tanino (6,13 a 9,12%) e saponina (0,23 a 0,35%), que podem variar de acordo com o método de extração do óleo. No entanto, esses autores não avaliaram o método de extração por prensagem a frio, como o que foi realizado no presente estudo. Além disso, nas sementes de moringa também é possível encontrar alcalóides, oxalatos e glicosídeos cianogênicos (IGWILO, 2017; MBAH *et al.*, 2012; OLADEJI *et al.*, 2017; STEVENS *et al.*, 2016).

Tabela 11. Rendimento de órgãos de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

Variável	CN	CP	AO	OM	CV%	P-valor	EPM
Rendimento %							
Intestino cheio	7,782	7,998	8,163	8,367	10,22	0,721	0,517
Intestino vazio	5,849	6,222	5,565	6,348	5,04	0,219	0,446
Esôfago+língua	1,349	1,349	1,513	1,415	10,91	0,329	0,090
Estômago cheio	1,274	1,262	1,105	1,068	16,85	0,283	0,127
Estômago vazio	0,798	0,867	0,820	0,903	8,35	0,219	0,062
Rins	0,460	0,432	0,449	0,432	6,33	0,367	0,018
Coração	0,436	0,422	0,436	0,441	5,67	0,662	0,013
Baço	0,193	0,211	0,192	0,198	15,03	0,728	0,018
Vesícula cheia	0,088	0,122	0,116	0,101	29,41	0,367	0,017
Vesícula vazia	0,014	0,012	0,013	0,014	14,32	0,369	0,001
Fígado	2,175	2,095	2,068	2,021	4,76	0,156	0,109
Pâncreas*	0,197ab	0,183ab	0,173b	0,221 ^a	20,51	0,098	0,012
Pulmão	1,127	1,023	0,975	1,036	17,44	0,618	0,100

*Diferem entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); **Diferem entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,1$); CN = controle negativo; CP - Controle positivo; AO - Ácidos orgânicos; OM - Óleo de moringa; CV - Coeficiente de variação; EPM - Erro padrão médio.

Apesar desses fatores antinutricionais apresentarem índices relativamente baixos, o somatório do efeito de cada um deles ou até mesmo a sinergia entre esses compostos pode levar a uma deficiência na digestibilidade dos nutrientes. O ácido fítico é o fator antinutricional que aparece em maior proporção no óleo de moringa. Woyengo *et al.* (2012) obtiveram redução no desempenho de leitões quando utilizaram dietas contendo 2% de ácido fítico. De acordo com esses autores, essa redução do desempenho em suínos pode ser devido ao aumento nas perdas endógenas de nutrientes por causa do ácido fítico, resultando em maiores requerimentos de energia para manutenção e, dessa forma, reduzindo a disponibilidade de energia e nutrientes para a deposição nos tecidos.

O fitato pode formar complexos mineral-nutriente, reduzindo a atividade enzimática e, conseqüentemente, a digestibilidade dos nutrientes e minerais, o que pode levar a uma maior necessidade de secreção enzimática, e provavelmente causa hipertrofia dos órgãos secretores, nesse caso, o pâncreas. Lindemann *et al.* (1986), estudando o efeito da idade em leitões após o desmame sobre a atividade enzimática, encontraram uma alometria fisiológica positiva entre os órgãos e a secreção enzimática. De acordo com os autores, os aumentos nas atividades das enzimas ocorreram devido ao aumento no peso dos tecidos (pâncreas e estômago) e ao aumento na atividade enzimática por grama de tecido.

Liu *et al.* (2009) estudaram o efeito do ácido fítico na digestão proteolítica de frangos e verificaram que houve redução da atividade da pepsina e tripsina. Além disso, Cowieson *et al.* (2008) observaram que o aumento do nível de ácido fítico (0,85 para 1,14%) ocasionou maior

fluxo de aminoácidos no trato gastrointestinal em frangos, confirmando a perda desses nutrientes e do nitrogênio causado pelo fitato. Por outro lado, Aderibigbe *et al.* (2021), utilizando um inibidor de tripsina em dietas para frangos de corte, descreveram aumento nas perdas endógenas de aminoácidos em média 32,3%, em que triptofano (52,2%), arginina (45,9%) e lisina (42,4%). No entanto não encontraram aumento nas secreções pancreáticas ou aumento no peso e rendimento do pâncreas. Segundo esses autores, esse efeito é esperado pela falta de proteína dietética suficiente para estimular a secreção pancreática constantemente devido à inibição dessas enzimas pelo fator de inibição de tripsina.

Perfil bioquímico sérico

O perfil bioquímico sérico de leitões no final da fase pré-inicial e no final da fase de crescimento estão apresentadas nas Tabelas 12 e 13, respectivamente. Para avaliação do metabolismo proteico foram dosadas proteínas totais, albumina, ácido úrico, ureia e creatinina.

O metabolismo lipídico foi avaliado pelas dosagens de colesterol total, triglicerídeos, HDL, LDL e VLDL. As enzimas AST e ALT foram quantificadas para avaliação das condições hepáticas dos animais. Os minerais cálcio e fósforo foram analisados para avaliação do metabolismo mineral e condições renais para excreção.

Tabela 12. Perfil bioquímico sérico de leitões no final da fase pré-inicial recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

VARIÁVEIS	CN	CP	AO	OM	p-valor	EPM
PT (g/dL)	7,798	6,956	6,540	7,768	0,657	0,446
ALB (g/dL)**	3,797 ab	4,617 ^a	4,480 ab	3,545 b	0,087	0,186
AU (mg/dL)	0,453	0,485	0,451	0,469	0,489	0,012
Ureia (mg/dL)	22,414	31,382	27,807	27,998	0,361	1,901
CRE (mg/dL)	0,865	0,853	0,875	0,878	0,992	0,031
Cálcio (mg/dL)	11,563	11,572	12,091	11,497	0,726	0,208
Fósforo (mg/dL)*	10,370 ab	8,490 b	9,205 ab	10,732 a	0,004	0,253
CT (mg/dL)	62,446	63,793	64,479	64,524	0,924	1,820
TG (mg/dL)	41,239	30,405	37,539	36,837	0,366	2,040
HDL (mg/dL)	28,294	32,388	30,595	31,235	0,443	0,919
LDL (mg/dL)	25,944	23,904	26,736	26,520	0,924	1,540
VLDL (mg/dL)	8,247	6,076	7,507	7,367	0,363	0,408
AST (UI/L)	23,234	23,518	24,149	20,500	0,557	1,010
ALT (UI/L)*	17,461 b	24,853 ab	27,835 a	19,252 ab	0,024	1,390
FA (UI/L)	161,503	149,547	151,220	151,069	0,725	4,040

*Difere entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); **Difere entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,1$); CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; AO – ácidos orgânicos; OM – óleo de moringa; PT – proteínas totais; ALB – albumina; AU – ácido úrico; CRE – creatinina; CT – Colesterol total; TG – triglicerídeos; HDL – lipoproteínas de alta densidade; LDL – lipoproteínas de baixa densidade; VLDL – lipoproteínas de muito baixa densidade; AST – aspartato aminotransferase; ALT – alanina aminotransferase; FA- fosfatase alcalina.

Dos parâmetros bioquímicos séricos analisados no final da fase pré-inicial houve diferença significativa para o fósforo e para a enzima ALT ($p < 0,5$). A albumina apresentou diferença ($p < 0,1$) de aumento para o controle positivo (CP) em relação ao tratamento óleo de moringa (OM).

Apesar de se apresentar dentro dos padrões de referência (COOPER *et al.*, 2014; PERRI, 2015), os níveis de fósforo foram maiores para os tratamentos CN e OM, o que pode ser relacionado a uma menor eficiência renal na filtração e excreção desse mineral (GONZÁLEZ *et al.*, 2017). Avaliando diferentes níveis de feno de moringa na dieta de leitões, Viapiana (2019) também observou aumento dos níveis séricos de fósforo com a elevação nos níveis de moringa na dieta.

ALT e AST são enzimas produzidas no fígado, porém estão presentes também em outros tecidos e são quantificadas para a identificação lesões teciduais, uma vez que a lesão celular pode ocasionar vazamento dessas enzimas para o sangue. No entanto, a ALT é produzida principalmente no fígado e pequenas quantidades podem ser encontradas no coração, músculos e rins (UNIGWE *et al.*, 2018). Essas enzimas aumentam à medida que doenças afetam as células hepáticas, sendo a ALT mais específica do fígado (JOHNSTON, 1999). Os resultados bioquímicos para ALT estão de acordo com as análises histopatológicas do fígado, uma vez que foi identificado menor frequência relativa de hepatite nos animais que receberam dietas CN.

A albumina, além de ser um marcador mais sensível para avaliação do metabolismo proteico (GONZÁLES *et al.*, 2000), pode estar ligada a diferentes constituintes do plasma, dentre eles a bilirrubina (BEZERRA *et al.*, 2016). De acordo com Barreiros *et al.* (2006), a atividade antioxidante da bilirrubina acontece principalmente quando ligada à albumina, sendo este complexo considerado um antioxidante dos fluidos extra celulares e com grande reatividade a radicais livres. Neste sentido, o menor valor de albumina para o tratamento OM ao final da fase pré-inicial pode então estar relacionado a uma menor necessidade de resposta ao estresse oxidativo em comparação aos demais tratamentos.

Por outro lado, o teor de proteína influencia a estimulação do sistema antioxidante nos suínos; à medida que aumenta o teor de proteína das dietas, aumenta-se a resposta ao estresse oxidativo pela interação albumina-bilirrubina (BEZERRA *et al.*, 2016). Nesse contexto, a diarreia em leitões pode levar a menor aproveitamento dos nutrientes da dieta; além disso, o óleo de moringa possui fatores antinutricionais como o ácido fítico (DINESHA *et al.*, 2018), que está relacionado à formação de complexos mineral-nutriente, ocasionando menor atividade

enzimática e conseqüentemente perdas endógenas de proteínas (COWIESON *et al.*, 2008), o que pode levar também a menor resposta ao estresse oxidativo em leitões.

Apesar do efeito dos suplementos sobre os parâmetros sanguíneos, todas as variáveis discutidas apresentam-se dentro dos valores de referência, para a albumina é de 19 a 51 g/L, para o fósforo é de 6,97 a 10,66 mg/dL, e ALT pode variar de 0 a 81,62 (FRIENDSHIP *et al.*, 1984; PRIKOSZOVITS *et al.*, 1995; MAKINDE *et al.*, 1996; KANEKO *et al.*, 1997; NÉVOA, *et al.*, 2013).

No final da fase de crescimento foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) para colesterol total, fosfatase alcalina ($p < 0,05$) e para ureia ($p < 0,1$). A redução no colesterol total observado no tratamento OM para o final da fase de crescimento pode ser atribuída ao alto teor de ácidos graxos insaturados encontrados no óleo, desses, 83,65% como ácido oleico. Esse ácido graxo está relacionado a menor síntese endógena de colesterol, além de reduzir as concentrações plasmáticas de LDL (JONES *et al.*, 1994; REAVEN *et al.*, 1994). Além disso, a taxa de reações de oxidação dos óleos está diretamente relacionada ao número de duplas ligações, o que torna o ácido oleico mais estável que os demais ácidos graxos poli-insaturados (BASUNY; AL-MARZOUQ, 2016). É possível observar também um aumento no nível de HDL seguidos de redução nos níveis de LDL e VLDL séricos dos animais suplementados com óleo de moringa; no entanto, esses resultados não foram significativos.

Tabela 13. Perfil bioquímico sérico de leitões no final da fase de crescimento recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.

VARIÁVEIS	CN	CP	AO	OM	p-valor	EPM
PT (g/dL)	8,495	9,794	7,679	9,490	0,755	0,735
ALB (g/dL)	3,516	3,837	3,730	3,772	0,750	0,151
AU (mg/dL)	0,521	0,513	0,487	0,523	0,304	0,014
Ureia (mg/dL)**	32,57 ab	29,21 b	40,08 a	29,61ab	0,077	1,670
CRE (mg/dL)	1,237	1,285	1,112	1,125	0,465	0,044
Cálcio (mg/dL)	10,444	10,313	9,083	10,247	0,213	0,255
Fósforo (mg/dL)	11,088	11,832	10,423	11,536	0,573	0,438
CT (mg/dL)*	77,81 ab	88,94 a	73,51 ab	68,56 b	0,056	3,220
TG (mg/dL)	38,207	40,264	35,688	30,084	0,531	2,660
HDL (mg/dL)	27,220	26,283	24,384	32,141	0,177	1,320
LDL (mg/dL)	41,280	49,949	41,953	32,167	0,177	2,920
VLDL (mg/dL)	7,641	8,052	7,137	6,016	0,531	0,532
AST (UI/L)	39,220	41,846	34,086	40,243	0,619	2,360
ALT (UI/L)	23,464	26,539	25,106	21,801	0,628	1,440
FA (UI/L)*	144,53 a	114,38 ab	148,27 a	97,31 b	0,015	6,880

*Difere entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); **Difere entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,1$); CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; AO – ácidos orgânicos; OM – óleo de moringa; PT – proteínas totais; ALB – albumina; AU – ácido úrico; CRE – creatinina; CT – Colesterol total; TG – triglicerídeos; HDL – lipoproteínas de alta densidade; LDL – lipoproteínas de baixa densidade; VLDL – lipoproteínas de muito baixa densidade; AST – aspartato aminotransferase; ALT – alanina aminotransferase; FA- fosfatase alcalina.

A fosfatase alcalina possui alta (0,66) correlação com processos antioxidantes em suínos, de maneira que animais mais jovens tendem a apresentar maiores valores de dessa enzima, enquanto animais em fase de crescimento e terminação apresentam menores níveis séricos, isso porque animais mais velhos parecem apresentar maior estabilidade oxidativa, o que leva a uma menor necessidade de resposta antioxidante (ZAITSEV *et al.*, 2021). Sob essa perspectiva, o óleo de sementes de moringa pode apresentar atividade antioxidante (DINESHA *et al.*, 2018), o que provavelmente pode induzir a maior estabilidade a reações de peroxidações lipídicas, principalmente se observados os parâmetros de metabolismo lipídicos encontrados no presente estudo.

Além disso, Yousef *et al.* (2018) avaliaram a capacidade hepatoprotetora do extrato de folhas de moringa e concluíra que o extrato é capaz de proteger células hepáticas contra danos induzidos por metanfetamina em ratos, confirmados pela redução nos níveis das enzimas hepáticas fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e gama-glutamil transferase. Por outro lado, Viapiana, (2019) não observou efeito significativo no nível sérico da fosfatase alcalina com o aumento nos níveis de suplementação dietética com feno de folhas de moringa para suínos.

O tratamento com suplementação de ácidos orgânicos (AO) apresentou aumento ($p < 0,1$) nos níveis de ureia séricos. Maiores níveis de ureia no sangue podem ser proporcionais à menor digestão das proteínas e absorção de aminoácidos, levando a um aumento na fermentação microbiana de compostos nitrogenados no intestino grosso (STENSLAND *et al.*, 2015). Isso porque o catabolismo de aminoácidos pelos microrganismos entéricos tem como produto a amônia (NH_3), a qual é convertida em ureia no fígado (KIM *et al.*, 2008).

Os ácidos orgânicos agem reduzindo o pH estomacal, estimulando a secreção de enzimas proteolíticas, melhorando a digestão das proteínas. No intestino, a redução do pH pelos ácidos orgânicos estimula a secreção de bicarbonato e conseqüentemente a liberação de hormônios pancreáticos e enzimas digestivas; com isso, ocorre melhora da ação enzimática, favorecendo a colonização por micróbios benéficos. No entanto, como foi observado no presente estudo, maiores níveis de ureia podem estar relacionados a menor digestão e absorção de proteínas e, conseqüentemente, menor eficiência de utilização do nitrogênio, ou uma maior degradação de proteínas (SHEN *et al.*, 2012).

Contudo é de fundamental importância a observância de fatores relacionados à idade dos animais, que podem reagir metabolicamente de forma distinta aos aditivos utilizados nas dietas.

Imunoglobulinas

Estão apresentados na Tabela 14 as imunoglobulinas séricas de leitões no final da fase pré-inicial e no final da fase de crescimento. A atividade bioquímica das bactérias entéricas produz um amplo leque de substâncias, muitas das quais são extremamente tóxicas, requerendo, por parte do hospedeiro, uma constante desintoxicação (SILVA *et al.*, 2010).

As imunoglobulinas A (IgA) não sofreram alterações em relação aos aditivos da dieta nas diferentes fases. No entanto, na fase pré-inicial, é possível observar aumento significativo das imunoglobulinas G para o tratamento AO em relação aos controles positivo e negativo, e não diferindo do tratamento OM. De acordo com Curtis e Bourne (1973), as imunoglobulinas A e M oferecem aos leitões imunidade transitória no lúmen intestinal, enquanto as imunoglobulinas G parecem estar associadas a uma ativação imunológica sistêmica e mais prolongada.

Tabela 14. Imunoglobulinas em leitões em diferentes fases do crescimento recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.

VARIÁVEL	CN	CP	AO	OM	p-valor	EPM
Final da fase pré-inicial						
IGA mg/dL	9,414	10,317	10,605	9,415	0,902	0,653
IGG mg/dL	376,173 b	369,746 b	482,783 a	413,811 ab	0,030	17,200
Final da fase de crescimento						
IGA mg/dL	8,646	9,363	10,028	11,066	0,160	0,393

Letras diferem entre colunas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; AO – ácidos orgânicos; OM – óleo de moringa; IGA – imunoglobulinas A; IGG – Imunoglobulinas G.

Li *et al.* (2012) observaram melhora no status imune de leitões desmamados suplementados com óleo essencial (timol e cinamaldeído), indicado pelo aumento das taxas de proliferação de linfócitos e fagocitose, assim como imunoglobulinas IgG, IgA e IgM e componentes de complemento C3 e C4.

A suplementação dietética com blend de ácidos orgânicos para porcas lactantes e seus respectivos leitões aumentou o status imune dos animais, tanto na fase de lactação quando ao desmame; os níveis de IgG séricos foram aumentados linearmente com o aumento dos níveis de suplementação com ácidos orgânicos (DEVI *et al.*, 2016). De acordo com esses autores, a melhoria da resposta imune nos leitões e nas matrizes foram acompanhadas de maiores contagens de *Lactobacillus* e menor contagem de *E. coli*.

O feno de folhas de moringa parece melhorar a imunidade dos leitões após o desmame, quando suplementadas até o nível de 0,5% que apresentou níveis de IgG de 331,92 mg/dL, contra o controle que foi de 306,4mg/dL (VIAPIANA, 2019). Isso porque os níveis de 1 e 1,5% na dieta reduziram IgG para 217 e 264 mg/dL, respectivamente. A combinação entre ácidos

orgânicos e óleos essenciais também demonstraram melhora na resposta imune em leitões desmamados como relatado por Yang *et al.* (2019).

Com isso, os maiores índices de imunoglobulinas G observados para os tratamentos AO e OM pode ser atribuída a uma melhor capacidade de resposta imune aos animais; isso pode estar atribuído aos altos índices de diarreia observados na fase pré-inicial, gerando resposta imunológica a longo prazo.

Histopatologia de órgãos

Nas Tabelas 15, 16 e 17 estão, respectivamente, os resultados para a frequência de lesões hepáticas e as medianas para distribuição e intensidade das lesões observadas.

O Controle Negativo apresentou menor frequência de hepatite (33,33%) e foi significativamente menor em relação à distribuição e intensidade das alterações. Esses resultados estão de acordo com os achados para parâmetros bioquímicos séricos, uma vez que se observou menor nível de ALT para esse grupo.

Tabela 15. Frequência relativa (%) e absoluta de alterações em células hepáticas de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho.

Alteração	CN n = 9	CP n = 8	AO n = 9	OM n = 9
Região capsular				
fibrose	44,44 (4/9)	25,0 (2/8)	11,11 (1/9)	33,33 (3/9)
Região portal				
Colangite	88,88 (8/9)	100,0 (8/8)	66,67 (6/9)	100,0 (9/9)
Fibrose	77,78 (7/9)	75,0 (6/8)	88,89 (8/9)	66,67 (6/9)
Hepatócitos				
Hepatite	33,33 (3/9)	100,0 (8/8)	88,89 (8/9)	100,0 (9/9)
Necrose	11,11 (1/9)	25,0 (2/8)	11,11 (1/9)	22,22 (2/9)
Telangiectasia	0,0 (0/9)	0,0 (0/9)	0,0 (0/9)	11,11 (1/9)
Região centro-lobular				
Hiperemia	11,11 (1/9)	0,0 (0/8)	0,0 (0/9)	11,11 (1/9)
Hiperemia aleatória	44,44 (4/9)	75,0 (6/8)	33,33 (3/9)	55,56 (5/9)

CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; AO – ácidos orgânicos; OM – óleo de moringa.

No presente estudo, as alterações hepáticas como causas de inflamações nas células hepáticas foram predominantemente associadas a infiltrados linfo-histioplasmocitário e leucocitose sinusoidal de distribuição multifocal e intensidade leve, como apresentado na Figura 1.

As alterações relacionadas a colangite apresentaram-se menor frequência para o grupo suplementado com ácidos orgânicos; no entanto, não foram significativas a distribuição e a intensidade das alterações, sendo multifocal e de leve intensidade. Nesse caso, foram observadas alterações como hemorragias, infiltrados inflamatório linfoplasmocitário e proliferação de ductos.

O fígado é o principal órgão auxiliar do trato gastrointestinal, responsável pelo metabolismo de nutrientes e desintoxicação por substâncias, sejam elas fitoquímicas ou sintéticas como os antibióticos.

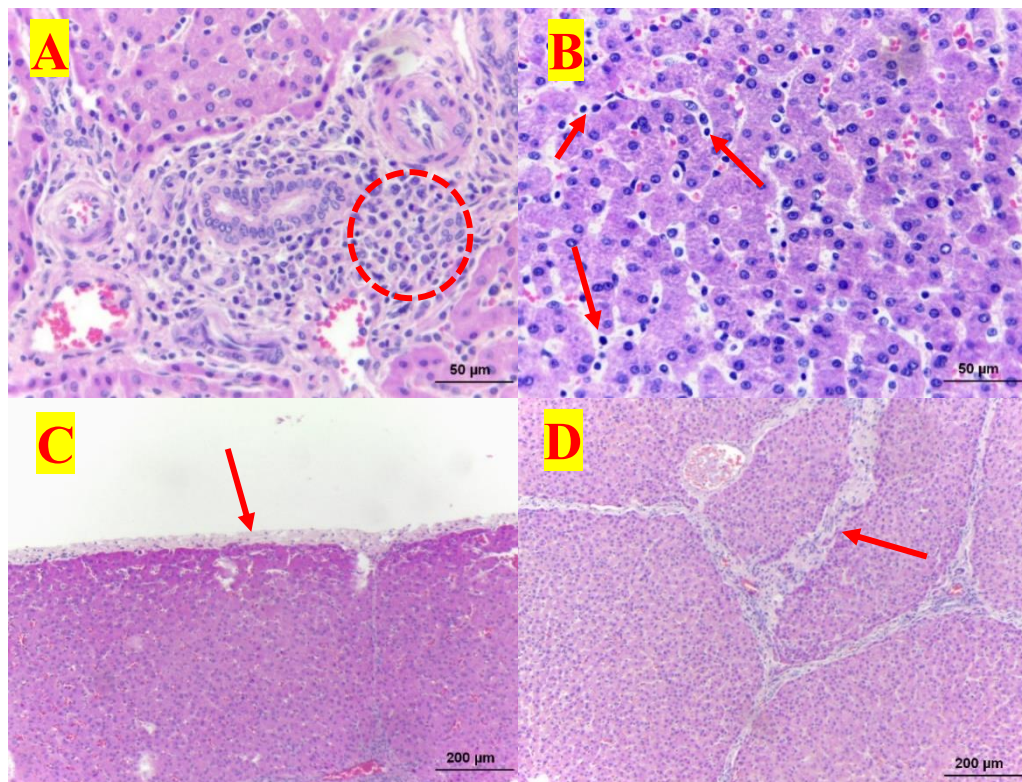


Figura 1: (A) Infiltrado linfo-histioplasmocitário; (B) Leucocitose sinusoidal. (C) Fibrose de capsula; (D) Fibrose portal.

Resultados semelhantes foram obtidos por Kibiwott (2018), que observou alterações hepáticas quando avaliou efeito da farinha de folhas de moringa em suínos. Os níveis de 6 e 12% apresentaram perda de arquitetura lobular caracterizado por degeneração hepática descrita como danificação celular no contorno dos lóbulos, picnose nuclear nos hepatócitos, infiltrados leucocitários e congestão sinusoidal. Esses achados foram associados, pelo autor, ao acúmulo de compostos presentes nas folhas da moringa, como taninos, flavonoides e compostos fenólicos, que pode causar danos com o aumento do nível de suplementação e com o tempo de exposição dos animais a esses compostos.

No presente estudo, esses resultados se estendem aos animais suplementados com ácidos orgânicos e antibióticos. Não é conhecida a razão pela qual os ácidos orgânicos possam prejudicar a integridade das células hepáticas. No entanto, os antibióticos, quando fornecidos por longos períodos podem sobrecarregar as células hepáticas, causando desde icterícia, hepatotoxicidade aguda e conseqüentemente mau funcionamento hepático, em humanos e animais (SINGH *et al.*, 2016). Além disso, antibióticos como a tiamulina, quando associadas a medicamentos ionóforos, como a montesina e salinomicina, podem causar toxidade em suínos e aves (WITKAMP *et al.*, 1994).

De acordo com Silva *et al.* (2021), grande parte dos metabólitos e microrganismos causadores de lesões no fígado entram pelo sistema portal hepático, causando, desta forma, infiltração inflamatória nesta região. Alterações hepáticas observadas na região portal foram analisadas como fibrose portal ou de septo, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 16. Medianas da distribuição de alterações em células hepáticas de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

Alterações	CN	CP	AO	OM	p-valor
Região capsular					
Fibrose	0	0	0	0	0,483
Região portal					
Colangite	3	3	3	3	0,336
Fibrose	3	3	3	3	0,480
Hepatócitos					
Hepatite*	0	3	3	3	0,019
Necrose	0	0	0	0	0,843
Telangiectasia	0	0	0	0	0,409
Região Centro-lobular					
Hiperemia	0	0	0	0	0,584
Hiperemia aleatória	0	3	0	3	0,376

*Diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$); CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; AO – ácidos orgânicos; OM – óleo de moringa.

A fibrose de cápsula também não foi alterada devido aos tratamentos. Sugere-se que algum fator incomum tenha causado tais alterações. A qualidade das matérias-primas das rações pode estar diretamente relacionada a lesões hepáticas e renais, muitas vezes pela presença de micotoxinas.

Deste modo, de acordo com Mallmann e Dilkin (2007), foram revelados, mediante exames histopatológicos, que lesões necróticas e hemorragias hepáticas foram causados por toxicidade em suínos, e após investigações foram relacionadas à presença de fungos *Aspergillus* *genus* e principalmente *A. flavus*.

Tabela 17. Medianas da intensidade de alterações em células hepáticas de suínos recebendo dietas contendo óleo de moringa e ácidos orgânicos em substituição ao antibiótico melhorador de desempenho

Alterações	CN	CP	AO	OM	p-valor
Região capsular					
Fibrose	0	0	0	0	0,428
Região portal					
Colangite	1	1	1	1	0,279
Fibrose	1	2	1	1	0,632
Hepatócitos					
Hepatite*	0	1	1	1	0,030
Necrose	0	0	0	0	0,787
Telangiectasia	0	0	0	0	0,583
Região Centro-lobular					
Hiperemia	0	0	0	0	0,584
Hiperemia aleatória	1	1	0	1	0,450

*Diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$); CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; AO – ácidos orgânicos; OM – óleo de moringa.

Por outro lado, Rocha *et al.* (2013), avaliando o efeito de ácidos orgânicos ao nível de 0,4% na dieta de frangos de corte desafiados com *S. typhimurium*, não identificaram lesões hepáticas nas aves por meio da histopatologia; no entanto, foi possível observar menores contagem de bactérias. Deste modo, as lesões hepáticas podem ser atribuídas contaminações ou infecções por agentes patogênicos (SILVA *et al.*, 2021). Com isso, aditivos capazes de reduzir contaminação por esses patógenos pode reduzir a incidência dessas lesões.

CONCLUSÕES

O óleo de sementes de moringa não reduz a incidência de diarreia em leitões recém-desmamados e não melhora o desempenho.

Os ácidos orgânicos são uma ótima alternativa ao uso dos antimicrobianos, uma vez que reduz o índice de diarreia e não altera o desempenho animal.

A suplementação dietética de leitões desmamados com ácidos orgânicos e óleo de sementes de moringa melhoram a resposta imune dos leitões no final da fase pré-inicial, evidenciados pelo aumento das imunoglobulinas G.

A suplementação com antibióticos, ácidos orgânicos e óleo de moringa podem causar lesões hepáticas; no entanto, mais estudos são necessários para evidenciar as causas.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e à Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela realização do curso de Doutorado em Zootecnia, por intermédio do Programa de Pós-Graduação em Zootecni

REFERÊNCIAS

- ABDELQADER, A.; AL-FATAFTAH, A-R.: Effect of dietary butyric acid on performance, intestinal morphology, microflora composition and intestinal recovery of heat-stressed broilers. **Livestock Science**. v.183, p.78–83, 2016.
- ABPA, A. B. DE P. A. **Relatório Anual da Associação Brasileira de Proteína Animal**. Associação Brasileira de Proteína Animal, 2021.
- ADERIBIGBE, A. S. *et al.* Contribution of purified soybean trypsin inhibitor and exogenous protease to endogenous amino acid losses and mineral digestibility. **Poultry Science**. v.100, P101486, 2021.
- ALY, A. A.; MARAEI, R. W.; ALI, H. G. M. Fatty Acids Profile and Chemical Composition of Egyptian Moringa oleifera Seed Oils. **JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 3, p. 397–404, 2016.
- ARAÚJO, R. G. A. C. **Perfil de ácidos graxos e energia metabolizável aparente de diferentes fontes lipídicas para galinhas poedeiras**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. 56f.: il. 2017.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71–79, 2016.
- BASUNY, A. M.; AL-MARZOUQ, M. A. Biochemical Studies on Moringa Oleifera Seed Oil. **MOJ Food Processing & Technology**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 40–46, 2016.
- BICHI, M. H. A Review of the Applications of Moringa oleifera Seeds Extract in Water Treatment. **Civil and Environmental Research**. v.3, n.8, p.-11, 2013.
- BOAS, A. D. C. V. *et al.* Organic acids in diets of weaned piglets: performance, digestibility and economical viability. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.68, n.4, p.1015-1022, 2016.
- BEZERRA, B. M. O. *et al.* Fatores inerentes às fases de creche, crescimento e terminação influenciam marcadores da atividade muscular, do metabolismo proteico e do estresse oxidativo em suínos. **Rev. Bras. Med. Vet.**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 371–376, 2016.
- COOPER, C. A. *et al.* Hematologic and biochemical reference intervals for specific pathogen free 6-week-old Hampshire-Yorkshire crossbred pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 5, n. 1, p.1 – 5, 2014.
- COSTA JUNIOR, M. B. **Níveis e fontes lipídicas no valor energético de dietas para suínos**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. 88 p.:il. 2018.
- COSTA, L. B. *et al.* Herbal extracts and organics acids natural feed additives in pig diets. **South African Journal of Animal Science**. v.43, n.2, p.181-193, 2013.

COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V.; SELLE, P. H.: Influence of Dietary Phytic Acid and Source of Microbial Phytase on Ileal Endogenous Amino Acid Flows in Broiler Chickens. **Poultry Science**. v.87, p.2287–2299, 2008.

CUI, H. *et al.* Antibacterial mechanism of oregano essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 139, n. 111498, p. 1- 9, 2019.

CURTIS, J.; BOURNE, F. J.: Half-lives of immunoglobulins IgG, IgA and IgM in the serum of new-born pigs. **Immunology**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 147–55, 1973.

DAVIS, J. E. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In: **Simposium on Antibiotic resistance: Origins, evolution, selection and spread. Ciba Foundation**, London, July 16-18, 1996.

DIAO, H. *et al.* Effects of Benzoic Acid and Thymol on Growth Performance and Gut Characteristics of Weaned Piglets. **Asian Australasian Journal Animal Science**. v.28, n.6, p.827-839, 2015.

DINESHA, B. L. *et al.* Effect of extraction methods on physicochemical, nutritional, antinutritional, antioxidant and antimicrobial activity of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) seed kernel oil. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 10, n. 1, p. 287–295, 2018.

DEVI, S. M.; LEE, K. Y.; KIM, I. H.: Analysis of the effect of dietary protected organic acid blend on lactating sows and their piglets. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.45, n.2, p.39-47, 2016.

DZIDIC, S.; SUSKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. **Food Technology and Biotechnology**. v.46, n.1, p.11–21, 2008.

EBEID, H.M. *et al.* Effect of moringa oleifera seed oil as natural feed supplement on the productive performance of lactating ewes. **Egyptian Journal Nutrition and Feeds**. v.22, n.2, p.273-282, 2019.

FRIENDSHIP, R. M. *et al.* Hematology and Biochemistry Reference Values for Ontario Swine. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ontario. v.48, n.4, p.390 - 393, 1984.

GHAZALI, H. M.; MOHAMMED, A. S. Moringa (*Moringa oleifera*) Seed Oil: Composition, Nutritional Aspects, and Health Attributes. In: **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier Inc., p. 787–793, 2011.

GIESTING, D. W.; EASTER, R. A.: Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets with organic acids. **Journal of Animal Science**. v.60, n.5, p.1288-1294, 1985.

_____; ROOS M.A.; EASTER, R.A.: Evaluation of the effect of fumaric acid and sodium bicarbonate addition on performance of starter pigs fed diets of different types. **Journal of Animal Science**. v.69, p.2489-2496, 1991.

GOIS, F. D.; CAIRO, P. L. G.; CANTARELLI, V. S. *et al.* Dietary Brazilian red pepper essential oil on pork meat quality and lipid oxidation. **Ciência Rural**. v. 183, p. 24 - 27, 2017.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C.: **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. [s. l.], [s.d.]. 3ª edição, 2017.

_____. *et al.* Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no rio grande do sul. **A Hora Veterinária**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 59–62, 2000.

GOPALAKRISHNAN, L.; DORIYA, K.; KUMAR, D. S. Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application. **Food Science and Human Wellness**. v.5, p.49-56, 2016.

HENN, J. D. *et al.* Oregano essential oil as food additive for piglets: antimicrobial and antioxidant potential. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1761–1767, 2010.

JONES, P. J. H. *et al.* Effect of dietary fat selection on plasma cholesterol synthesis in older, moderately hypercholesterolemic humans. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 542–548, 1994.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.

KIM, Y. J. *et al.* Evaluation of pig behavior changes related to temperature, relative humidity, volatile organic compounds, and illuminance. **Journal of Animal Science and Technology**. v.63, n.4, p.790-798, 2021.

LEKAGUL, A. *et al.* How antibiotics are used in pig farming: a mixed-methods study of pig farmers, feed mills and veterinarians in Thailand. **BMJ Global Health**. v.5: e001918. doi:10.1136/bmjgh-2019-001918. 2020.

LIMA, T. S. **Utilização do feno de moringa (Moringa oleífera Lam) na alimentação de suínos em crescimento e terminação**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. 86 f.: il. 2016.

LINDEMANN, M. D.; CORNELIUS, S. G.; EL KANDELGY, S. M.: Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. **Journal of Animal Science**. v.62, p.1298-1307, 1986.

LI, S. *et al.* Supplementation with organic acids showing different effects on growth performance, gut morphology, and microbiota of weaned pigs fed with highly or less digestible diets. **Journal of Animal Science**. v.96, p.33023318, 2018.

LI, S. Y. *et al.* The effect of essential oils on performance, immunity and gut microbial population in weaner pigs. **Livestock Science** [s. l.], v. 145, p. 119–123, 2012.

LIU, N. *et al.* Effect of dietary phytate and phytase on proteolytic digestion and growth regulation of broilers. **Archives of Animal Nutrition**. v. 63, n.4, 292–303, 2009.

LONGAS, S. F. *et al.* Mixed organic acids as antibiotic substitutes improve performance, septic immunity, intestinal morphology and microbiota for weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**. v. 235, p.23-32, 2018.

LUCHESE, F. C.; CECIM, M.; SOARES, M. Avaliação de óleos essenciais de orégano e alecrim na prevenção da diarreia neonatal em leitões. **Arquivo do Instituto Biológico**. v.78, n.1, p.17-22. 2011.

IGWILO, I. O. *et al.* Comparative studies on the nutrient composition and anti-nutritional factors in different parts of *Moringa oleifera* plant found in awka, nigeria. **The Bioscientist**. v. 5, n. 1, p. 1–12, 2017.

JANACUA-VIDALES, H. *et al.* Determination of carcass yield, sensory and acceptance of meat from male and female pigs with dietary supplementation of oregano essential oils. **Italian Journal of Animal Science**. v.18, n.1, p.668-678, 2019.

JOHNSTON, D. E. Special considerations in interpreting liver function tests. **American Family Physician**, [s. l.], v. 59, n. 8, p. 2223–2230, 1999.

KIRKPINAR, F. *et al.* Effects of dietary oregano and garlic essential oils on carcass characteristics, meat composition, colour, Ph and sensory quality of broiler meat. **British Poultry Science**. Vol. 55, No. 2, 157–166, 2014.

KIBIWOTT, S. J. **Effects of Moringa oleifera leaf meal diets on growth performance, haematology and histopatology of key body organs in growing pigs**. [s. l.], n. August, p. 128, 2018.

KUMAR, A. R. *et al.* Scientific seed production techniques in Moringa. **Agricultural Reviews**. v.35, n.1, p.69-73, 2014.

LEONE, A. *et al.* Moringa oleifera seeds and oil: Characteristics and uses for human health. **International Journal of Molecular Sciences**. v.17, n.2141, p.1-14, 2016.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P. **Mycotoxins and Mycotoxicosis in Swine**. [s. l.], p. 182, 2007.

MAKINDE, M.O.; MAJOK, A.A.; HILL, F.W.G. Biochemical and hematological values in abattoir pigs with and without subclinical lesions. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. v.63, p.11-14,1996

MANNO, M. C. *et al.* Efeitos da temperatura ambiente sobre o desempenho de suínos dos 30 aos 60 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, n.2, p.471-477, 2006.

MARION, H.; SIEGWART, E. Quotient Bio Analytical Sciences, Final Analytical Report – MIC determination of the VetPath III collection of veterinary bacterial pathogens from Europe, 2015.

MARRUFO, T. *et al.* Chemical composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Moringa oleifera* Lam. cultivated in Mozambique. **Molecules**, v. 18, n. 9, p. 10989–11000, 2013.

MBAH, B. O.; EME, P. E.; OGBUSU, O. F. Effect of cooking methods (boiling and roasting) on nutrients and anti-nutrients content of *Moringa oleifera* seeds. **Pakistan Journal of Nutrition**. v.11, n.3, p.211-215, 2012.

MUNITA J. M.; ARIAS, C. A. Mechanism of Antibiotic Resistance. **Microbiology Spectrum**. 4(2):VMBF-0016-2015.

MUNIYAPPAN, M.; PALANISAMY, T.; KIM, I. K. Effect of microencapsulated organic acids on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, fecal gas emission, fecal microbial, and meat-carcass grade quality of growing-finishing pigs. **Livestock Science**. v.252, 104658, 2021.

NEPOMUCENO, R. C. *et al.* Neutral detergent fibre in piglets: performance and gastrointestinal implications. **Ciência e Agrotecnologia**. v.40, n.2, p.205-2016, 2016.

NÉVOA, M. L. *et al.* Desempenho e características bioquímicas de leitões submetidos a dietas com aditivos probióticos, prébióticos, simbióticos e antibióticos. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**. v.65, n.2, p.447-454, 2013.

OLADEJI, O. A. *et al.* Studies on Chemical Constituents and Nutrients Bioavailability in Moringa oleifera Leaf and Seed. **Journal of Scientific Research and Reports**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 2017.

OLUDURO, O. A. *et al.* Characterization and Antimicrobial Activity of 4-(β -d-Glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl thiocarboxamide; a Novel Bioactive Compound from Moringa oleifera Seed Extract. **Folia Microbiologica**, v. 55, n. 5, p. 422–426, 2010.

ÖZCAN, M. M. Moringa spp: Composition and bioactive properties. **South African Journal of Botany**. p.1-7, 2018.

PAPATSIROS, V. G. *et al.* Effect of benzoic acid and combination of benzoic acid with a probiotic containing *Bacillus Cereus var. toyoi* in weaned pig nutrition. **Polish Journal of Veterinary Sciences**. v.14, n.1, p.117-125, 2011.

PARTANEN, K. H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**. v.12, p.117-145, 1999.

PERRI, A. M. An investigation of various hematological and biochemical parameters to asses the health of nursery pigs. (Thesis). **The University of Guelph**, [s. l.], p. 1–165, 2015.

PRIKOSZOVITS, A.; SCHUH, M. The mineral content of calcium, phosphorus and magnesium in the serum and bones and serum activity of alkaline phosphatase in slaughtered fattening pigs. **Dtsch Tierarztl Wochenscher**. v.1, n.102, p.53-55, 1995.

REAVEN, P. D.; GRASSE, B. J.; TRIBBLE, D. L. Effects of linoleate-enriched and oleate-enriched diets in combination with α -tocopherol on the susceptibility of LDL and LDL subfractions to oxidative modification in humans. **Arteriosclerosis and Thrombosis**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 557–566, 1994.

RI, C-S. *et al.* Effects of dietary oregano powder supplementation on the growth performance, antioxidant status and meat quality of broiler chicks. **Italian Journal of Animal Science**. VOL. 16, NO. 2, 246–252, 2017.

ROCHA, T. M. *et al.* Liver function and bacteriology of organs in broiler inoculated with nalidixic acid-resistant Salmonella Typhimurium and treated with organic acids. **Italian Journal of Animal Science**. v. 12, n. 3, p. 353–358, 2013.

ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas brasileiras para suínos e aves**. (H. S. Rostagno, Ed.), Composição de alimentos e exigências nutricionais (3rd ed., p. 252). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017.

SAA, R. W. *et al.* Treatments and uses of Moringa oleifera seeds in human nutrition: A review. **Food Science and Nutrition**. v. 7, p.1911-1919, 2019.

SANTANA, M. B. *et al.* Alternatives to antibiotic growth promoters for weanling pigs. **Ciência Rural**. v. 45, n. 6, p. 1093–1098, jun, 2015.

SANTOS, M. A. T. Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de brócoli, couve- flor e couve. **Ciência e Agrotecnologia**. v.30, n.2, p.294-301, 2006.

SERAFIM, J. E. **Rendimentos e predição da composição física de carcaça suína**. Dissertação (Mestrdo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. 56 f.: il. 2016.

SHEN, Y. B. *et al.* Effects of increasing tryptophan intake on growth and physiological changes in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 90, n. 7, p. 2264–2275, 2012.

SILVA, T. G. P. *et al.* Liver status of goats fed with cactus cladodes genotypes resistant to Dactylopius opuntiae. **Small Ruminant Research**. v. 198, n.106359, p.1- 8, 2021.

SILVA, T. R. G.; NASCIMENTO, M. C.; SILVA, N. C. Óleos essenciais na dieta de suínos em substituição aos antimicrobianos. **Acta Veterinaria Brasilica**. v.4, n.2, p.70-73, 2010.

SINGH, D.; CHO, W. C.; UPADHYAY, G. Drug-induced liver toxicity and prevention by herbal antioxidants: An Overview. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 6, n. JAN, p. 1–18, 2016.

SINHORIN, A. L. *et al.* Óleo essencial na dieta de leitões na fase de creche. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zoologia, UNIPAR**, Umuarama, v. 20, n. 3, p. 147-151, jul./set. 2017.

STENSLAND, I. *et al.* A Comparison of Diets Supplemented with a Feed Additive Containing Organic Acids, Cinnamaldehyde and a Permeabilizing Complex, or Zinc Oxide, on Post-Weaning Diarrhoea, Selected Bacterial Populations, Blood Measures and Performance in Weaned Pigs Experimentally Infected with Enterotoxigenic *E. coli*. **ANIMALS**. v.5, p. 1147 - 1168, 2015.

STEVENS, C. G. *et al.* Proximate and anti-nutritional composition of leaves and seeds of *Moringa oleifera* in Nigeria: a comparative study. **Agro-Science**, v. 14, n. 2, p. 9-17, 2015.

SUIRYANRAYNA, M. V. A. N.; RAMANA, J. V. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2015.

TSILOYIANNIS, V. K. *et al.* The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhoea. **Research in Veterinary Science**. v.70, p.287-293, 2001.

TUTIDA, Y. H. *et al.* Effects of in feed removal of antimicrobials in comparison to Other prophylactic alternatives in growing and finishing pigs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.73, n.6, p.381-1390, 2021.

UNIGWE, C. R., BALOGUN, F. A., ODEYEMI, T. A. Liver enzymes and histo-morphology of pigs fed fermented and enzyme- supplemented cassava peels meal based diets. [s. l.], v. 20, n. 3, p. 106–116, 2018.

VIAPIANA, J. G. Uso da moringa como aditivo para suínos na fase pós-desmame. (TESE) Universidade Federal Rural de Pernambuco. 98 f.:il. 2019.

WEI, A.; SHIBAMOTO, T. Medicinal Activities of Essential Oils. In: **Bioactive Foods in Promoting Health**. [s.l.] Elsevier, p. 59–70, 2010.

WITKAMP, R. F.; NIJMEIJER, S. M.; MIERT, A. S. J. P. A. M. V. Tiamulin selectively inhibits oxidative hepatic steroid and drug metabolism in vitro in the pig. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 317–322, 1994.

WOYENGO, T. A.; WEIHRAUCH, D.; NYACHOTI, C. M. Effect of dietary acid on performance and nutrient uptake in the small intestine of piglets. **Journal Of Animal Science**. v.90, p.543-549, 2012.

XU, Y. T. *et al.* Effect of organic acids and essential oils on performance, intestinal health and digestive enzyme activities of weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**. 235, p.110-119. 2018.

YAN, L. *et al.* Influence of essential oil supplementation and diets with different nutrient densities on growth performance , nutrient digestibility, blood characteristics , meat quality and fecal noxious gas content in grower – finisher pigs. **Livestock Science**, v. 128, n. 1–3, p. 115–122, 2010.

YANG, H. *et al.* Antibiotic Application and Resistance in Swine Production in China: Current Situation and Future Perspectives. **Frontiers in Veterinary Science**. v.6, n.136, p.1-8, 2019.

YANG, C. *et al.* Effects of dietary supplementation with essential oils and organic acids on the growth performance, immune system, fecal volatile fatty acids, and microflora community in weaned piglets. **Journal of Animal Science**. v.97, p.133–143, 2018.

YOUSEF, M. A.; KHATTAB, H. A. R. H.; SINDI, H. A. A. Effectiveness of moringa oleifera L. Leaves extract against methotrexate-induced acute hepatotoxicity in male rats. **International Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 14, n. 7, p. 1029–1037, 2018.

ZAITSEV, S. Y. *et al.* Correlations between antioxidant and biochemical parameters of blood serum of duroc breed pigs. **Animals**, [s. l.], v. 11, n. 8, 2021.