UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL CAMPUS ERECHIM CURSO DE AGRONOMIA

DANIELI MARTINS

NANOPARTÍCULAS DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS
NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL NA DIETA DE LEITÕES RECÉM
DESMAMADOS, COMO ALTERNATIVA AO USO DE ANTIMICROBIANOS

ERECHIM - RS

DANIELI MARTINS

NANOPARTÍCULAS DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL NA DIETA DE LEITÕES RECÉM DESMAMADOS, COMO ALTERNATIVA AO USO DE ANTIMICROBIANOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus* Erechim, como requisito para obtenção do título de bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Bernardo Berenchtein

ERECHIM - RS

2023

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Martins, Danieli

NANOPARTÍCULAS DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL NA DIETA DE LEITÕES RECÉM DESMAMADOS, COMO ALTERNATIVA AO USO DE ANTIMICROBIANOS / Danieli Martins. -- 2023.

23 f.

Orientador: Bernardo Berenchtein

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Bacharelado em Agronomia, Erechim,RS, 2023.

I. Berenchtein, Bernardo, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

DANIELI MARTINS

NANOPARTÍCULAS DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL NA DIETA DE LEITÕES RECÉM DESMAMADOS, COMO ALTERNATIVA AO USO DE ANTIMICROBIANOS.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS – *campus* Erechim, como parte das exigências para obtenção de grau de bacharel em Agronomia.

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 20/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Bernardo Berenchtein - UFFS Orientador

Prof°. Dr°. Sandra Maria Maziero - UFFS Avaliadora

M.e. Alessandro Ulrich – Agroenergia Avaliador

Erechim – RS, dezembro de 2023.

NANOPARTÍCULAS DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL NA DIETA DE LEITÕES RECÉM DESMAMADOS, COMO ALTERNATIVA AO USO DE ANTIMICROBIANOS

Danieli Martins¹, Bernardo Berenchtein²

RESUMO

A possibilidade de resistência cruzada com patógenos humanos fez com que a Europa proibisse o uso da maioria dos antibióticos como promotores de crescimento na alimentação animal a partir de 1999. Tal proibição determinou que pesquisadores e nutricionistas buscassem novas alternativas, entre as quais a utilização de extratos vegetais. Tais extratos são normalmente fabricados através da micronização, a inovação deste projeto é elaborar e sintetizar nanopartículas de prata com extratos vegetais, com efeitos antimicrobianos comprovados, como a Carqueja (Baccharis trimera), Erva Mate (Ilex paraguariensis) e Losna (Artemisia absinthium L), com o objetivo de potencializar a ação bacteriostática destes extratos em dietas de leitões recém-desmamados. O objetivo foi avaliar extratos vegetais de plantas nativas do Rio Grande do Sul, nanoparticulados, em dietas de leitões recém-desmamados na fase de creche, sob os aspectos de desempenho, digestibilidade aparente das dietas, incidência de diarreias e morfometria de órgãos digestivos. Foram utilizados 144 leitões recém-desmamados, em delineamento de blocos casualizados, com oito tratamentos, dieta sem antimicrobianos, ração com antimicrobiano comercial, dietas contendo extratos micronizados (40 ppm) das plantas de Carqueja (Baccharis trimera), Erva Mate (c) e Losna (Artemisia absinthium L) e dietas contendo extratos micronizados (40 ppm) das plantas de Carqueja (Baccharis trimera), Erva Mate (Ilex paraguariensis) e Losna (Artemisia absinthium L), e dieta contendo extratos nanoparticulados (40 ppm) com as mesmas plantas, com seis repetições de três animais cada. O peso dos leitões o consumo diário de ração e conversão alimentar foram mensurados semanalmente até o término dos experimentos, durante cinco semanas cada, com repetições no tempo, perfazendo o total de três experimentos. As fezes foram monitoradas diariamente, com a atribuição de escores relacionados à consistência. A digestibilidade aparente foi obtida após a avaliação da energia bruta das dietas. A morfometria dos órgãos foi obtida ao final do experimento avaliando o leitão mais próximo do peso médio do bloco, mensurando através da pesagem e medição do comprimento dos diferentes segmentos de intestino. Não foram verificadas diferenças significativas (P>0,05) entre os tratamentos propostos. Após a adição de extratos vegetais ou de extratos vegetais nanoparticulados não proporcionaram aumento no desempenho dos animais, todavia, podem ser utilizados como substitutos dos antimicrobianos convencionais nas dietas de leitões recémdesmamados.

Palavra-chave: Aditivos. Fase de creche. Diarreia.

¹Graduanda em Agronomia na Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS – Campus Erechim, <u>dani-martins29@hotmail.com</u>.

²Professor Dr. Na Área de Nutrição e Produção e Animal na Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS – Campus Erechim.

NANOPARTICLES OF PLANT EXTRACTS FROM PLANTS NATIVE TO RIO GRANDE DO SUL IN THE DIET OF NEWLY WEANED PIGLETS, AS AN WEANED PIGLETS AS AN ALTERNATIVE TO THE USE OF ANTIMICROBIALS

ABSTRACT

The possibility of cross-resistance with human pathogens led Europe to ban the use of most antibiotics as growth promoters in animal feed from 1999. This ban led researchers and nutritionists to look for new alternatives, including the use of plant extracts. These extracts are usually manufactured by micronisation. The innovation of this project is to design and synthesise silver nanoparticles with plant extracts with proven antimicrobial effects, such as Carqueja (Baccharis trimera), Erva Mate (Ilex paraguariensis) and Losna (Artemisia absinthium L), with the aim of enhancing the bacteriostatic action of these extracts in diets for newly weaned piglets. The objective was to evaluate nanoparticulate plant extracts from plants native to Rio Grande do Sul in diets for newly weaned piglets in the nursery phase, in terms of performance, apparent digestibility of the diets, incidence of diarrhoea and morphometry of digestive organs. A total of 144 newly-weaned piglets were used in a randomised block design, with eight treatments: diet without antimicrobials, feed with commercial antimicrobials, diets containing micronised extracts (40 ppm) from Carqueja plants (Baccharis trimera), Erva Mate (c) and Losna (Artemisia absinthium L) and diets containing micronised extracts (40 ppm) of the plants Carqueja (Baccharis trimera), Erva Mate (Ilex paraguariensis) and Losna (Artemisia absinthium L), and a diet containing nanoparticulate extracts (40 ppm) with the same plants, with six repetitions of three animals each. The piglets' weight, daily feed consumption and feed conversion were measured weekly until the end of the experiments, for five weeks each, with repetitions over time, totalling three experiments. Faeces were monitored daily and consistency scores were assigned. Apparent digestibility was obtained after evaluating the gross energy of the diets. Organ morphometry was obtained at the end of the experiment by evaluating the piglet closest to the average weight of the block, weighing it and measuring the length of the different intestinal segments. There were no significant differences (P>0.05) between the proposed treatments. The addition of plant extracts or nanoparticulate plant extracts did not increase animal performance, but they can be used as a substitute for conventional antimicrobials in the diets of newly weaned piglets.

Keyword: Additive. Crèche stage. Diarrhea.

SUMÁRIO

RESUMO	4
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	
MATERIAL E MÉTODOS	
ANÁLISE ESTATÍSTICA	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
CONSIDERAÇÕES FINAIS	21
REFERÊNCIAS	22

1 INTRODUÇÃO

Nos sistemas suinícolas no Brasil, a nutrição e a sanidade dos leitões desmamados precocemente são pontos críticos de suma importância. Uma das principais estratégias utilizadas para diminuir problemas ocasionados pelo desmame, é o uso massivo de antimicrobianos sintéticos, visando mitigar o aparecimento de transtornos gastrintestinais ocasionados pela troca da dieta dos leitões, pela alteração da estrutura das micro vilosidades intestinais e ainda pela falta de enzimas específicas a digestão da nova dieta. A utilização dos antimicrobianos propiciam ainda, aumento no crescimento dos animais, na conversão alimentar e menor mortalidade por infecções clínicas e subclínicas, através do controle de micro-organismos que colonizam o trato gastrintestinal dos leitões desmamados precocemente.

A utilização destes antimicrobianos acarretam o aparecimento de formas microbianas resistentes e prejudiciais à saúde e à terapia humana. A possibilidade de resistência cruzada com patógenos humanos fez com que a Europa proibisse a maioria dos antibióticos como promotores de crescimento na alimentação animal a partir de 1999 (DORMAN et al., 2000). Tal proibição determinou que pesquisadores e nutricionistas buscassem novas alternativas, entre as quais a utilização de extratos vegetais, que promovam o equilíbrio no trato gastrintestinal, atuando como uma barreira defensiva para evitar o alojamento de bactérias patogênicas na mucosa intestinal e, consequentemente, eliminar os distúrbios que venham a diminuir ou interferir a digestão e a absorção de nutrientes (SANTIN et al., 2001).

Considerando a diversidade de plantas e suas inúmeras substâncias, o desafio atual é identificar e avaliar os efeitos dos componentes dos extratos sobre o organismo animal (KAMEL, 2000). Os óleos essenciais e seus extratos são representados por complexas misturas de substâncias voláteis, de forma geral lipofílica, cujos componentes incluem uma série de hidrocarbonetos terpênicos, ésteres, ácidos orgânicos, aldeídos, cetonas, fenóis, entre outros, em diferentes concentrações, nos quais um composto farmacologicamente ativo é majoritário (BURT, 2004).

Entre os possíveis mecanismos de ação dos óleos e seus respectivos extratos no organismo animal, pode-se citar estimulação da digestão, alterações na microbiota intestinal, aumento na digestibilidade e absorção de nutrientes e efeitos antimicrobianos e imunomodulador (MELLOR, 2000). Inúmeros trabalhos foram realizados na última

década (Costa et al., 2008), avaliando principalmente os efeitos dos extratos vegetais na microbiota de leitões recém-desmamados. Portanto a efetividade do uso destes em dietas complexas para leitões nesta fase. Extratos são normalmente fabricados através da micronização, é dada a importância de elaborar e sintetizar nanopartículas de prata com extratos vegetais, com efeitos antimicrobianos comprovados, como a Carqueja (*Baccharis trimera*), Erva Mate (*Ilex paraguariensis*) e Losna (*Artemisia absinthium* L), com o objetivo de potencializar a ação bacteriostática destes extratos (Milani et al., 2017) em dietas de leitões recém-desmamados.

A Carqueja (*Baccharis trimera*), têm seus respectivos óleo e extrato compostos principalmente por carquejol, acetato de carquejila e sesquiterpenos (Siqueira et al., 1985; Santos et al., 1988; Sousa et al.,1991). Também possui flavonóides como a quercetina, luteolina, nepetina, apigenina, rutina, hispidulina (Soicke e Leng-Peschlow, 1987; Di Stasi et al. 1988), eupatorina, cirsimaritina, cirsiliol, apigeina, genkwanina e eriodictiol (Kuroyanagi et al., 1985; De Mello e Petrovic, 2000), diterpenos, compostos tânicos e saponinas (Castro et al., 1999; Jarvis et al., 1991; Zdero et al.,1991). A *B. trimera* tem ação antimicrobiana seletiva quanto à estrutura bioquímica da parede celular bacteriana (Carvalho et al., 2013). Na etnofarmacologia, a planta é usada como diurética, tônica, digestiva (Carneiro e Fernandes, 1996; Lorenzi e Matos, 2008; Schmidt et al., 2008), protetora e estimulante do fígado, antianêmica, anti-reumática, depurativa, no controle da obesidade, diabetes, hepatite e gastroenterites (Castro e Ferreira, 2000).

A Erva Mate (*Ilex paraguaiensis*) tem sua propriedade estimulante já conhecida (Evans, 1998), apresenta várias classes de moléculas bioativas incluindo flavonóides, terpenóides, metilxantinas, saponinas, taninos, carotenóides, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, proteínas, glicídios, vitaminas e minerais (Alikaridis, 1987; Borille et al., 2005; Bortoluzzi, 2006; Brenelli, 2003; Ducat & Quinàia, 2004; Filip et al., 2001; Gnoatto et al., 2005; Gnoatto et al., 2007; Reissmann & Carneiro, 2004). Além de propriedades nutritivas e farmacêuticas a erva-mate proporciona atividade: antioxidante, antimicrobiana, diurética, digestiva, cicatricial e estimulante, conferindo um grande potencial de aproveitamento (Asolini et al., 2006; Filip et al., 2000; Gorzalczany et al., 2001; Gonçalves et al., 2005; Kowalczyk et al., 2006; Vidor et al., 2002).

A Losna (*Artemisia vulgaris* L.), pertencente à família Asteraceae (Compositae), todas as partes desta planta têm sido amplamente usadas há séculos na medicina popular em todo o mundo, sendo reconhecida por seus efeitos analgésicos, antiespasmódicos e

anticonvulsivos, dispepsia, astenia, epilepsia, dores reumáticas, febres, anemias, expelir parasitos intestinais. Ameniza sintomas de cólicas intestinais e menstruais, tônico da circulação sanguínea e distúrbios. E no uso externo em aplicação localizada contra escaras, feridas, piolhos e lêndeas (Lorenzi & Matos, 2002). O óleo essencial rico em terpenos (cineol e tuiona), flavonóides, taninos, saponinas, resinas, artemisina e princípios amargos. A artemisina vem sendo testada com resultados promissores contra malária e em respostas antimicrobianas positivas (Lorenzi &Matos, 2002).

A utilização de nanopartículas de prata com efeitos antimicrobianos são recorrentes (FONDEVILA et al., 2008), o objetivo deste estudo é avaliar o sinergismo de nanopartículas associadas aos efeitos de extratos vegetais em dietas de leitões recémdesmamados na fase de creche, sob os aspectos de desempenho, digestibilidade aparente, frequência de diarreia, morfometria de órgãos e histologia intestinal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos extratos Aquosos

A obtenção dos extratos aquosos das plantas foi realizada no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim. Posteriormente os mesmos foram enviados para o Laboratório de Química da Universidade Federal do Piauí, Campus Parnaíba, para confecção das nanopartículas de prata.

Inicialmente foram obtidos os extratos aquosos de Carqueja, Erva-Mate e Losna. A produção do extrato aquoso, as folhas foram secas e posteriormente bem trituradas em moinho até ficarem em consistência de pó. No processo de maceração foram utilizadas 50 gramas de pó das folhas trituradas para 500ml de água ultra pura. A mistura permaneceu em agitação constante e em temperatura ambiente por 24 horas, ao final do processo a solução foi filtrada e o filtrado posto pra secar em centrivap, a fim de reduzir e concentrar a solução para posterior secagem total por liofilização, de acordo com a Metodologia de RIBEIRO et al., (2016). A solução foi mantida sob o abrigo de luz durante todo o processo de extração e secagem.

2.1 Síntese das Nanopartículas de Prata

A síntese das nanopartículas de prata foi utilizada os reagentes: nitrito de prata P.A. (SIGMA-ALDRICH), boro hidreto de sódio 98,0% (ALDRICH) colágeno hidrolisado tipo II e extratos aquosos de carqueja, erva-mate e losna.

Foram preparadas soluções de colágeno em três concentrações diferentes sendo, 0,1%, 0,2% e 03% (m/v) além do preparo de soluções dos extratos de carqueja, ervamate e losna, também nas três concentrações de, 0,1%, 0,2% e 0,3% para cada extrato. A formação das soluções iniciais a síntese das nanospartículas se deu após a mistura (colágeno hidrolisado e carqueja, colágeno/erva-mate; colágeno/losna) nas concentrações de 0,1%, 0,2% e 0,3% (m/v) e na proporção de 1:1 (v/v).

As sínteses foram conduzidas segundo a metodologia de (CARDOSO et al, 2014) em que se utiliza o boro hidreto de sódio (NaBH4) como agente redutor e o colágeno hidrolisado tipo II. As soluções de carqueja, losna e erva-mate nas três concentrações de 0,1%, 0,2% e 0,3% (m/v) foram submetidas à agitação, em seguida foi adicionado as soluções de colágeno a cada uma das soluções, na mesma concentração da solução dos extratos, na proporção de 1:1.

A solução formada permaneceu em agitação por 10 minutos. Em seguida, a solução de AgNO3 foi adicionada a cada mistura, na proporção de 1:1, seguindo de agitação por 10 minutos. Logo após, foi adicionado a solução de boro hidreto de sódio (NaBH4) na forma de jato, que o NaBH4 entre em contato com s solução no béquer de forma rápida e completa, no primeiro momento a solução fica enegrecida, com o passar de 15 minutos sob agitação, observou-se a mudança de coloração para amarelo claro. Todas as sínteses de nanopartículas obtidas foram centrifugas a 3600 rpm durante 15 minutos separando o sobrenadante do precipitado.

A caracterização e o acompanhamento da reação foram avaliados por espectroscopia na região do ultravioleta ao visível (190-800 nm), utilizando um equipamento modelo UV1800 da Shimadzu.

2.2 Experimento de Desempenho, Digestibilidade, Presença de Diarreia e Morfometria de Órgãos

O experimento foi realizado em uma granja comercial no município de Severiano de Almeida – RS. Os animais foram alojados em baias de creche suspensas (1,2m X 1,6m), com piso plástico vazado, e receberam alimento e água *ad libitum* durante todo período experimental.

Foram utilizados 144 suínos recém-desmamados (72 machos castrados e 72 fêmeas), aos 21 dias, em média, os quais foram divididos em oito tratamento, cada qual composto por seis repetições, de três animais, em um delineamento experimental em blocos casualizados.

Foram realizados três experimentos, com repetições no tempo, onde o período experimental foi composto por cinco semanas, a iniciar no momento do desmame. Durante o experimento, foram utilizadas duas dietas basais, sendo a pré-inicial fornecida do 1º ao 14º dia e a inicial do 14º ao 34º dia do experimento.

O peso dos animais foi verificado ao início do experimento e utilizado para distribuí-los igualmente nas diferentes repetições de todos os tratamentos. Toda ração fornecida aos animais foi pesada, bem como as sobras, visando analisar o consumo diário de ração. Da mesma maneira, semanalmente, os animais foram pesados para as análises de ganho diário de peso e posterior cálculo da conversão alimentar.

As análises de digestibilidade aparente, foi empregado o método da coleta parcial de fezes, utilizando o óxido crômico (Cr2O3) como marcados dietético, adicionado às dietas experimentais na concentração de 0,05%. A ração cm o marcados

foi fornecida a partir do 21º de experimento. A coleta de fezes foi feita durante sete dias (manhã e tarde) e teve início após cinco dias de fornecimento do marcador na dieta. As amostras de fezes foram imediatamente acondicionadas em sacos plásticos e congeladas. Posteriormente, estas amostras foram descongeladase homogeneizadas, coletando-se uma subamostra de, aproximadamente, 200 g. As subamostras foram secas em estufas de circulação de ar forçada. A 60°C durante 168 horas, e moídas em moinho tipo Willley, em peneira de 1 mm. As amostras de fezes e rações foram enviadas a análise de matéria seca, energia bruta, proteína bruta e de óxido crômico. Em seguida, foi realizada a determinação da porcentagem de óxido crômico nas amostras no Laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, pela técnica de fluorescência de raios X por dispersão de energia (NASCIMENTO FILHO; ABADALA; KORNDORFER. 1997; ZUCCHI; NASCIMENTO FILHOO, 1995). As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Já a determinação de energia bruta foi feita em bomba calorimétrica automática IKA - WERK modelo C 5001 em laboratório comercial. As análises de matéria seca e proteína bruta foram realizadas de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1980). Todas as amostras foram analisadas em duplicata. A determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDap) da matéria seca, energia bruta e proteína bruta foram utilizadas as seguintes fórmulas:

Matéria seca: CDap (%) = $100 - 100 \times \frac{\text{(% marcador na dieta)}}{\text{(% marcador nas fezes)}}$

Proteína bruta e energia bruta:

CDap (%) = 100 – 100 x (% marcador na dieta) X (% nutriente nas fezes)

(% marcador nas fezes) X (% nutriente na dieta)

A avaliação de frequência de diarreias foi realizado diariamente o monitoramento da incidência em todas as baias, sendo atribuídos escores relacionados à consistência das fezes, variando de 0 a 3, sendo: 0 - fezes normais, 1 - fezes pastosas, 2 - fezes cremosas e 3 - fezes líquidas. Escores 0 e 1 foram considerados fezes normais, e

escores 2 e 3 considerados diarreia. A avaliação foi realizada comparando o número de fezes com escores 2 e 3 entre os diferentes grupos de tratamento. Por último, ao término do experimento, um animal de cada unidade experimental foi selecionado, aquele mais próximo do peso médio do bloco, o qual foi abatido após insensibilização por eletronarcose, e posterior coleta do fígado, coração, baço e segmentados o intestino delgado(duodeno, jejuno e íleo) e o intestino grosso (ceco, cólon e reto), posterior pesagem e medição do comprimento dos diferentes segmentos.

2.3 Dietas Experimentais

Foram utilizadas oito dietas experimentais, subdivididas em ração pré-inicial nas duas primeiras semanas e ração inicial nas três semanas finais, isonutricionais, formuladas a cada fase de alimentação visando atender as exigências nutricionais de suínos na fase de creche, conforme determinado pelo National Research Council (NRC, 2012), sendo elas: dieta controle negativo (ração sem promotor de crescimento), dieta controle positivo (ração com promotor de crescimento comercial), seguido de três tratamentos com dietas contendo 40 ppm de extratos micronizados de Carqueja (*Baccharis trimera*), Erva Mate (*Ilex paraguariensis*) e Losna (*Artemisia absinthium* L) e três tratamentos, com a inclusão da mesma concentração (40 ppm) dos extratos de Carqueja (*Baccharis trimera*), Erva Mate (*Ilex paraguariensis*) e Losna (*Artemisia absinthium* L), nanopartículados adicionados às dietas experimentais, conforme a Tabela 01 e Tabela 02.

TABELA 1: Composição e valores calculados das dietas experimentais Pré-Iniciais

	Dietas (Controle	Dietas	com Extr	atos		Dietas com Nanopartículas			
Ingrediente	Controle Negativo	Controle Positivo	Carqueja	Erva- Mate	Losna	Carqueja	Erva- mate	Losna		
Milho grão	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00		
Farelo de Soja	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00		
Plasma Sanguíneo	4,00	4,00	4.00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00		
Produto Lacteo	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00		
Amido de Milho	3,07	3,07	3,07	3,07	3,07	3,07	3,07	3,07		
Açucar	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00		
L-Lisina	0,70	0,70	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80		
DL- Metionina	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18		
L-Triptofano	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04		
Calcáreo	0,58	0,48	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18		
Fosfato Bicálcico	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00		
Sal	0,28	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18		
Supl. Vitamínico	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		
Supl. Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10		
Promotor ou Extr.	-	0,20	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04		
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100		
Valores calculados:										
Cálcio, %	0,97	0,98	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97		
EM, kcal/kg	3324,00	3324,0	3324,0	3324,00	3324,0	3324,0	3324,0	3324,0		
Fosforo disponível,	0,74	0,73	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75		
Fosforo total, %	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79		
Gordura, %	2,92	2,92	2,92	3,46	2,92	2,92	2,92	2,92		
Lisina total, %	2,10	2,15	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20		
Metionina total, %	0,43	0,43	0,45	0,46	0,45	0,43	0,44	0,45		
Proteína bruta, %	19,50	19,50	19,58	19,58	19,58	19,58	19,58	19,58		
Triptofano total, %	0,29	0,30	0,28	0,28	0,28	0 0,28	0,28	0,28		

TABELA 2: Composição e valores calculados das dietas experimentais Iniciais

	Dietas (Controle							Dietas com nopartículas		
Ingrediente	Controle Negativo	Controle Positivo	Carqueja	Erva- Mate	Losna		Carqueja	Erva- mate	Losna		
Milho grão	66,00	66,00	66,00	66,00	66,00		66,00	66,00	66,00		
Farelo de Soja	22,00	21,90	21,95	21,95	21,95		21,95	21,95	21,95		
Plasma Sanguíneo	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2	2,00	2,00	2,00		
Produto Lacteo	5,07	1,80	5,07	1,80	5,07	1	5,07	1,80	5,07		
Açucar	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1	1,00	1,00	1,00		
L-Lisina	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0	0,70	0,70	0,70		
DL- Metionina	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0	0,18	0,18	0,18		
L-Triptofano	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0	0,04	0,04	0,04		
Calcáreo	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0	0,58	0,58	0,58		
Fosfato Bicálcico	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2	2,00	2,00	2,00		
Sal	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0	0,28	0,28	0,28		
Supl. Vitamínico	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0	0,05	0,05	0,05		
Supl. Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0	0,10	0,10	0,10		
Promotor ou Extr.	-	0,20	0,04	0,04	0,04	0	0,04	0,04	0,04		
TOTAL	100	100	100	100	100	,	100	100	100		
Valores calculados:											
Cálcio, %	0,97	0,98	0,97	0,97	0,97		0,97	0,97	0,97		
EM, kcal/kg	3324,00	3324,0	3324,0	3324,00	3324,0		3324,0	3324,0	3324,0		
Fosforo disponível,	0,74	0,73	0,75	0,75	0,75		0,75	0,75	0,75		
Fosforo total, %	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79		0,79	0,79	0,79		
Gordura, %	2,92	2,92	2,92	3,46	2,92		2,92	2,92	2,92		
Lisina total, %	2,10	2,15	2,20	2,20	2,20		2,20	2,20	2,20		
Metionina total, %	0,43	0,43	0,45	0,46	0,45		0,43	0,44	0,45		
Proteína bruta, %	19,50	19,50	19,58	19,58	19,58		19,58	19,58	19,58		
Triptofano total, %	0,29	0,30	0,28	0,28	0,28	0	0,28	0,28	0,28		

3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo SAS LAB na adequação dos dados ao modelo linear. A análise de variância pelo PROC GLM (General Linear Models) do SAS (Statistical Analysis System, 2001). Na variável frequência de diarreia, utilizou-se a distribuição binomial da metodologia dos modelos lineares generalizados (NELDER; WEDDERBURN, 1972), com auxílio do PROC GLIMMIX do SAS e a função de ligação Logit.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho

Os resultados de peso vivo inicial (PVI), peso vivo aos 14 dias (PV14), consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) dos leitões o período de 1 a 14 dias de experimentação encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Médias de peso vivo inicial (PVI), peso vivo aos 14 dias (PV14), consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) para o período de 1 a 14 dias de experimentação

		Tratamentos									
Variáveis	Con	trole	Dieta	s com Extra	atos		Dietas com ,% Nanoparticulas				
	Controle Negativo	Controle Positivo	Carqueja	Erva-Mate	Losna	Carqueja	Erva-Mate	Losna			
PVI, kg	6,02	6,04	6,03	6,08	6,03	6,04	6,01	6,03	-	-	
PV14, kg	10,70	11,07	10,82	10,85	10,79	10,52	10,95	10,60	12,7	NS	
CDR, g	452	446	467	439	425	435	466	457	14,8	NS	
GDP, g	357	369	320	338	317	326	347	368	12,9	NS	
CA	1,27	1,21	1,46	1,30	1,34	1,33	1,34	1,24	10,2	NS	

¹ Coeficiente de variação. Nota: NS - Não Significativo; Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)</p>

O período total de 1 a 34 dias de experimentação, os resultados médios de peso vivo inicial (PVI), peso vivo aos 35 dias (PV35), CDR, GDP e CA dos leitões são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Médias de peso vivo inicial (PVI), peso vivo aos 35 dias (PV35), consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) para o período de 1 a 35 dias de experimentação

	Tratamentos											
Variáveis	Contr	oles	Dietas	com Extra	atos		etas com oparticul	. CV ¹ , %	P			
	Controle Negativo	Controle Positivo	Carqueja	Erva- Mate	Losna	Carqueja	Erva- Mate	Losn a				
PVI, kg	6,02	6,04	6,03	6,08	6,03	6,04	6,01	6,03	-	-		
PV35, kg	19,79	20,47	18,97	19,49	19,38	18,96	19,37	19,2 5	12,97	NS		
CDR, g	610	603	600	599	598	635	602	597	10,02	NS		
GDP, g	398	388	392	387	395	387	390	375	11,04	NS		
CA	1,53	1,55	1,53	1,55	1,51	1,64	1,54	1,59	11,37	NS		

1 Coeficiente de variação. Nota: NS - Não Significativo; Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) nas variáveis de desempenho de leitões suplementados com os diferentes tratamentos, utilizando extratos vegetais, bem como a nanoparticulação dos mesmos extratos. Efeitos de nanopartículas de Zinco, Prata e outros, já são bastante conhecidas e comprovadas a partir de trabalhos de Milani (2016), Case; Carlson (2002); Hill et al. (2001) e Mavromichalis et al.(2000).

Uma das possíveis explicações aos resultados obtidos neste estudo, talvez seja o fato de a granja utilizada ter um altíssimo controle sanitário, bem como excelentes resultados produtivos. Mesmo no tratamento sem nenhum controle com antibióticos (controle negativo), extratos ou extratos nanoparticulados. Outros estudos em granjas com altos níveis de contaminação ou em granjas experimentais com desafios propostos devem ser realizados.

Conforme proposto por Madella (2021), o desenvolvimento de aditivos a nutrição animal, baseados em Nanopartículas de Prata, salientando que este projeto as junta com extratos vegetais, pode ser considerado como uma ferramenta promissora na indústria animal, visto que a proibição do uso de antibióticos, como melhoradores de

desempenho, é uma realidade, porém, a disponibilidade de validações científicas de sua utilização, na produção animal, ainda é muito escassa (GONZALES et al., 2012).

4.2 Digestbilidade Aparente

A Tabela 05 apresenta as médias dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta em função dos tratamentos.

Tabela 05 - Médias dos coeficientes de digestibilidade aparente (%) para matéria seca, proteína bruta e energia bruta em função dos tratamentos

				Tratame	entos				CV,	
Variáveis	Cont	Controles Dietas com Extratos				_	Dietas con noparticu	%	P	
		Controle Positivo	Carqueja	Erva- Mate	Losna	Carqueja	Erva- Mate	Losna		
Matéria Seca	84,89	85,9	85,99	84,67	83,29	84,56	83,45	83,97	12,37	NS
Proteína Bruta	75,90	77,89	75,29	76,35	77,93	77,67	78,90	78,45	14,39	NS
Energia Bruta	85,27	85,26	83,73	84,46	84,29	83,99	84,27	84,12	11,26	NS

¹ Coeficiente de variação. Nota: NS - Não Significativo; Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Como no desempenho dos animais, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos propostos. As alterações nos teores de matéria seca nas fezes estão diretamente relacionadas com a ocorrência de diarreia nos animais, o que não variou no presente estudo.

No que tange os teores de energia e proteína bruta, a inclusão de extratos vegetais, bem como os mesmos associados às nanopartículas, a digestibilidade destes, é diretamente impactada com a taxa de passagem, a incidência de diarreias, absorção dos nutrientes ingeridos, todavia, não foram observadas diferenças significativas (p<0,05) entre os tratamentos em todas as variáveis avaliadas neste estudo.

4.3 Presença de Diarreia

As porcentagens médias de ocorrência de diarreia estão apresentadas na Tabela 06, nos períodos de 14 e 35 dias de experimentação.

Tabela 6 - Efeito dos diferentes tratamentos sobre a frequência da ocorrência de diarreia de leitões recém-desmamados

			7	Tratamen	itos				. cv.	
Variáveis [*]	Contr	oles	Dietas	com Extr	atos		etas com oparticul		%	P
	Controle Negativo	Controle Positivo	Carqueja	Erva- Mate	Losna	Carqueja	Erva- Mate	Losn a		
FD (%) 1 a 14 dias	9,37	7,25	8,97	9,00	8,95	9,12	9,24	9,45	17,37	NS
FD (%) 1 a 35 dias	8,27	5,35	7,35	8,47	7,99	8,45	8,28	8,45	16,23	NS

1 Coeficiente de variação. Nota: NS – Não Significativo; Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) entre os diferentes tratamentos. Granjas com desafios sanitários ou experimentos com desafios propostos, provavelmente iriam encontrar resultados diferentes dos encontrados neste estudo. Entretanto, outros autores (FONDEVILA et al., 2009), usaram uma forma coloidal de nanoparticulas como aditivo em dietas em leitões desmamados na dose de 20 e 40 mg/kg de ração para minimizar a ocorrência de diarreia e fornecer a microbiota gastrointestinal reforço probiótico, observaram aumento linear no ganho de peso e no consumo de ração dos animais e ainda, reduziu significativamente a incidência de coliformes, proporcionando menor incidência de diarreia.

4.4 Morfometria de Órgãos

As médias do peso vivo aos 35 dias (P35), dos pesos relativos (em porcentagem do peso vivo) dos órgãos digestórios (estômago vazio, pâncreas, fígado, intestino delgado e ceco vazios), como do comprimento, do comprimento relativo e da relação peso: comprimento do intestino delgado em função dos tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7 - Médias do peso vivo aos 35 dias (P35), dos pesos relativos (porcentagem do peso vivo) dos órgãos digestórios, do comprimento do intestino delgado, em função dos tratamentos utilizados

Tratamentos										
Variáveis	Cont	roles	Dietas	com Ext	ratos		Dietas con anoparticu	- CV, %	P	
		Controle Positivo	Carqueja	Erva- Mate	Losna	Carqueja	Erva- Mate	Losna		
P35,kg	19,79	20,47	18,97	19,49	19,38	18,96	19,37	19,25	-	-
Estômago, %	0,67	0,69	0,65	0,63	0,60	0,61	0,62	0,64	10,1	NS
Pâncreas,%	0,11	0,15	0,12	0,14	0,18	0,19	0,11	0,13	11,2	NS
Fígado, %	3,04	3,07	3,16	3,18	3,19	3,12	3,19	3,10	12,9	NS
ID,%	5,12	5,14	5,19	5,10	5,20	5,26	5,29	5,19	11,9	NS
Ceco, %	0,23	0,21	0,19	0,20	0,18	0,18	0,25	0,29	14,4	NS
Comp. ID.,m	12,37	11,67	13,29	12,49	11,59	12,38	11,90	12,37	13,7	NS

1 Coeficiente de variação. Nota: NS - Não Significativo; Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) entre os diferentes tratamentos nas diferentes variáveis de biometria de órgãos.

Aumentos ou reduções no peso de órgãos, de acordo com Batista (2008), são resultados de elevados consumos de ração pelos leitões, uma vez que a ingestão de alimentos interfere na altura das vilosidades e na profundidade das criptas (PLUSKE; HAMPSON; WILLIAMS, 1997) e aumenta a massa intestinal (BURRIN et al., 2001), todavia, não foram observadas diferenças no presente estudo em nenhuma variável estudada, consequência de elevado controle sanitário da granja parceira e também de não haver desafio intencional proposto.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adição de extratos vegetais ou de extratos vegetais nanoparticulados não proporcionou alteração no desempenho dos animais, todavia, podem ser utilizados como substitutos dos antimicrobianos convencionais nas dietas de leitões recém desmamados.

6 REFERÊNCIAS

AHAMED M, ALSALHI MS, SIDDIQUI MKJ. Silver nanoparticles applications and human health. *Clin chim Acta* 2010; 411:1841-1848.

AHMADI, J. Aplicação de diferentes níveis de nanopartículas de prata em alimentos no desempenho e alguns parâmetros sanguíneos de frangos de corte. World Applied Sciences Journal, v. 7, n. 1, p. 24-27, 2009.

ALBANESE, A.; TANG, P. S.; CHAN, W. C. W. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. Annu Rev Biomed Eng., v. 14, p. 1-16, 2012.

ARABI, F., IMANDAR, M., NEGAHDARY, M., IMANDAR, M., NOUGHABI, M. T., AKBARI-DASTJERDI, H., FAZILATI, M. Investigation anti-bacterial effect of zinc oxide nanoparticles upon life of Listeria monocytogenes. Ann. Biol. Res., v. 7, p. 3679-3685, 2012.

ASHARANI, P. V., LOW, G., HANDE, M.P., VALIYAVEETTIL, S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. ACS Nano, v. 3, p. 279-290, 2009.

BATISTA, E. B. Óleos essenciais no desempenho de suínos em crescimento terminação, 2018.

CHALOUPKA K, MALAM Y, SEIFALIAN AM. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. *Trends Biotechnol* 2010; 28:580-588.

COSTA MO, RODRIGUES JPA, DE PAULA RCM. Monitorização do processo de purificação de gomas naturais: goma do cajueiro. *Polímeros: Ciência e Tecnologia* 1996; 2:49-54.

CUNHA PLR, PAULA RCM, FEITOSA JPA. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. *Química Nova* 2009; 32:649-660.

FDA-CDER. Guidance for industry. Extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro/in vivo correlations. Rockville: Food and Drug Administration, p. 1-24, 1997.

GALLO RL. Proteoglycans and glycosaminoglycans of skin. In: Fredberg, E.M. et al. *Fitzpatrick's Dermatology in general medicine*. 5.ed. McGraw-Hill, 1999.

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

HACKENBERG S, SCHERZED A, KESSLER M, HUMMEL S, TECHNAU A, FROELICH K, ET AL. SILVER nanoparticles: Evaluation of DNA damage, toxicity and functional impairment in human mesenchymal stem cells. *Toxicol lett* 2011; 201:27-33.

- HEBEISH AA, EL-RAFIE FA, ABDEL-MOHDY FA, ABDEL-HALIM ES, EMAM HE. <u>Carboxymethyl cellulose for green synthesis and stabilization of silver</u> nanoparticles. *Carbohydrate Polymer* 2010; 82:933-941.
- J. Fondevila, JC BrÉgains, F. Ares e E. Moreno, "Aplicação da modulação de tempo na síntese de padrões de soma e diferença usando matrizes lineares", *Microw. Optar. Tecnologia. Vamos.*, vol. 48, pp. 829-832, 2008.
- KONWARH R, KARAK N, SAWIAN CE, BARUAH S, MANDAL M. <u>Effect of sonication and aging on the templating attribute of starch for "green" silver nanoparticles and their interactions at bio-interface</u>. *Carbohydrate Polymer* 2011; 83:1245-1252.
- KORA AJ, SASHIDHAR RB, ARUNACHALAM J. <u>GUM KONDAGOGU</u> (*Cochlospermum gossypium*): A template for the green synthesis and stabilization of <u>silver nanoparticles with antibacterial application</u>. *Carbohydrate Polymer* 2010; 82:670-679.
- Lorenzi, H. & Matos, F.J.A. 2002. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa, Plantarum.
- NETO EAB, RIBEIRO C, ZUCOLOTTO V. Síntese de nanopartículas de prata para aplicação na sanitização de embalagens. **Embrapa** 2008; nov.
- QUELEMES PV, ARARUNA FB, DE FARIA BEF, KUCKELHAUS SAS, DA SILVA DA, MENDONÇA RZ, EIRAS C, SOARES MJS, LEITE JRSA: Development and antibacterial activity of cashew gum-based silver nanoparticles. *Int J Mol Sci* 2013, 14:4969-4981.
- SAS Intitute. SAS^â (Statistical Analysis System). User's Guide: Statistics. Cary, NC: SAS Institute INC; 1998.
- Santin E, Maiorka A, Fischer da Silva AV, Grecco M, Sanchez JC, Macari M. Efeito de diferentes níveis de parede celular de Saccharomyces cerevisiae no desempenho e mucosa intestinal de frangos. Revista Brasileira de Ciência Avícola 2000; 2 (Suplemento): 37.