

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MICHELI NEGRI BRUSAMARELLO

**ENCAPSULAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DE *Baccharis
trimeria* (LESS.) DC PARA O CONTROLE DE PATÓGENOS ENTÉRICOS DE
SUÍNOS**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS

2022

MICHELI NEGRI BRUSAMARELLO

**ENCAPSULAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DE *Baccharis
trimera* (LESS.) DC PARA O CONTROLE DE PATÓGENOS ENTÉRICOS DE
SUÍNOS**

**Encapsulation, characterization and evaluation of the antioxidant and
antimicrobial activity of aqueous extract of *Baccharis trimera* (LESS.) DC for
the control of pork enteric pathogens**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia - Área de Concentração: Biotecnologia.

Orientador: Dr. Cleverson Busso
Coorientador: Dr. Mário A. A. da Cunha

DOIS VIZINHOS

2022



[4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Ponta Grossa**



MICHELI NEGRI BRUSAMARELLO

**ENCAPSULAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DE BACCHARIS TRIMERA (LESS.) DC PARA O CONTROLE
DE PATÓGENOS ENTÉRICOS DE SUÍNOS**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Área de concentração: Biotecnologia.

Data de aprovação: 08 de Abril de 2022

Prof. Cleverson Busso, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Carlos Pedroso, Doutorado - Instituto Federal Catarinense

Profa. Paula Fernandes Montanher, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 08/04/2022.

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela vida.

Agradeço a meu esposo Antonio Pedro Brusamarello, por todo seu companheirismo, paciência, atenção, carinho e amor ao longo desta caminhada muito importante em nossas vidas.

Agradeço aos meus pais Darci Luís Negri e Silvana Alberti Negri e ao meu irmão Eduardo Luis Negri pela dedicação, paciência, suporte financeiro, ajuda e apoio emocional e a grande lição de vida ao longo da minha formação acadêmica e de pós graduação.

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Cleverson Busso, por toda atenção, colaboração, auxílio, orientação e amizade durante o mestrado, ao meu coorientador professor Dr. Mário A. A. da Cunha, pelo auxílio, colaboração, amizade e orientação durante esse período.

Agradeço à Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), aos técnicos, professores e funcionários que permitiram a realização deste projeto, com uso de estrutura.

Agradeço à Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMBRAPA) unidade Suínos e Aves, à pesquisadora Dr. Jalusa Deon Kich, à técnica de laboratório Luiza L. Biesus e à curadora Cátia Silene Klein pelo auxílio à pesquisa e doação das amostras bacterianas usadas neste projeto.

Agradeço a todos que de forma direta ou indireta participaram e me auxiliaram durante este processo.

RESUMO

A planta *Baccharis trimera* é popularmente utilizada como produto fitoterápico, sua aplicação é voltada para tratamento de problemas digestivos principalmente, mas também apresenta efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos importantes. O objetivo do presente trabalho foi analisar *in vitro* a atividade antioxidante e potencial antimicrobiano do extrato de *B. trimera* no controle de patógenos entéricos de suínos e sua viabilidade como gastroprotetor. A espécie foi coletada em área rural do município de Verê-PR e o extrato aquoso da parte aérea foi preparado no laboratório da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Foram realizados ensaios de quantificação de fenólicos totais, atividade antioxidante pelos métodos de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazoline)-6-sulfônico (ABTS), atividade antimicrobiana pelo teste de microdiluição em placa, *spot-test* e curva de inibição, além da caracterização química por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Após encapsulamento com alginato de sódio, o produto foi submetido a micrografia por microscopia eletrônica de varredura, avaliação de fenólicos totais, solubilidade, eficiência da encapsulação, diâmetro e cinética de liberação do encapsulado. Os resultados dos ensaios de fenólicos totais e atividade antioxidante demonstraram importante atividade de sequestro de radicais livres, enquanto que, os ensaios avaliando a atividade antimicrobiana apresentaram importante efeito bacteriostático sobre os isolados clínicos de suínos e bactérias ATTCs (*American Type Culture Collection*) testadas. A CLAE do extrato aquoso revelou a presença do ácido clorogênico em maior concentração, ácido ferúlico, ácido caféico e ácido cinâmico, os quais possivelmente estão associados a importante atividade antioxidante e antimicrobiana. O encapsulado do extrato aquoso apresentou $102 \pm 0,40$ mg de equivalente de ácido gálico, solubilidade em água de 25,3%, eficiência da encapsulação e carga de extrato de 73%. A microscopia eletrônica revelou cápsulas com superfície irregular e rugosa, não apresentando dimensões uniformes, mas o aprisionamento do conteúdo encapsulado foi satisfatório. O diâmetro do encapsulado variou de 1,81-1,46 mm e a área de superfície de 37,18-47,74 cm^2/cm^3 entre as duas amostras avaliadas. O perfil de liberação *in vitro* do extrato encapsulado foi investigado em fluido gástrico simulado (pH 3,0) e fluido intestinal simulado (pH 7,4) e revelou liberação lenta e sustentada no pH alcalino durante 48h. Os resultados indicam potencial biológico importante na utilização do extrato aquoso de *B. trimera* como fonte natural para produção de fármacos comerciais futuros.

Palavras-chave: carqueja; aditivos; produto natural; fitobióticos.

ABSTRACT

The *Baccharis trimera* plant is popularly used as a herbal product, its application is mainly aimed at treating digestive problems, but it also has important anti-inflammatory and antimicrobial effects. The objective of the present work was to analyze in vitro the antioxidant activity and antimicrobial potential of the extract of *B. trimera* in the control of enteric pathogens in swine and its viability as a gastroprotective agent. The species was collected in a rural area of the city of Verê-PR and the aqueous extract of the aerial part was prepared in the laboratory of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Tests were carried out to quantify total phenolics, antioxidant activity by the methods of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS), activity antimicrobial activity by plate microdilution test, spot-test and inhibition curve, in addition to chemical characterization by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). After encapsulation with sodium alginate, the product was subjected to scanning electron microscopy micrography, evaluation of total phenolics, solubility, encapsulation efficiency, diameter and release kinetics of the encapsulate. The results of the total phenolics and antioxidant activity assays showed important free radical scavenging activity, while the assays evaluating the antimicrobial activity showed an important bacteriostatic effect on the clinical isolates of swine and ATTCs (*American Type Culture Collection*) bacteria tested. HPLC of the aqueous extract revealed the presence of chlorogenic acid in higher concentration, ferulic acid, caffeic acid and cinnamic acid, which are possibly associated with important antioxidant and antimicrobial activity. The aqueous extract encapsulate presented 102 ± 0.40 mg gallic acid equivalent, 25.3% water solubility, encapsulation efficiency and 73% extract load. Electron microscopy revealed capsules with an irregular and rough surface, not showing uniform dimensions, but the entrapment of the encapsulated content was satisfactory. The encapsulate diameter ranged from 1.81-1.46 mm and the surface area from 37.18 to 47.74 cm²/cm³ between the two evaluated samples. The in vitro release profile of the encapsulated extract was investigated in simulated gastric fluid (pH 3.0) and simulated intestinal fluid (pH 7.4) and revealed slow and sustained release at alkaline pH for 48h. The results indicate an important biological potential in the use of the aqueous extract of *B. trimera* as a natural source for the production of future commercial drugs.

Keywords: carqueja; additions; natural product; phytobiotics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Microscopia eletrônica de 100, 200, 600, 1.800, 2.000, 2.500 X respectivamente para as cápsulas de alginato de sódio contendo extrato vegetal e microscopia eletrônica de 1.500, 2.500 e 3.000 vezes respectivamente para as cápsulas abertas de alginato e extrato vegetal.....	44
Gráfico 1 - Atividade antioxidante do extrato aquoso de <i>B. trimera</i> (A) e padrão de ácido ascórbico (B) pelo método de DPPH	38
Gráfico 2 - Atividade antioxidante do extrato aquoso de <i>B. trimera</i> (A) e padrão de ácido ascórbico (B) pelo método de ABTS.....	38
Gráfico 3 - Absorbância (nm) relativa ao crescimento celular de <i>E. coli</i> (A) e <i>S. Typhimurium</i> (B) (ATCC) na ausência e presença de extrato de carqueja na concentração de 5 e 10 mg mL⁻¹, respectivamente, para as bactérias	40
Gráfico 4 - Absorbância (nm) relativa ao crescimento celular de <i>E. coli</i> 371 (A) e 348 (B), <i>S. Choleraesuis</i> (1542) (C) e <i>S. Senftenberg</i> (25) (D) na ausência e presença de extrato aquoso de carqueja na concentração de 20 mg mL⁻¹	41
Gráfico 5 – Cromatograma de CLAE do extrato aquoso da parte aérea de <i>B. trimera</i>	42
Gráfico 6 - Cinética de liberação do microencapsulado de extrato aquoso e alginato em meio alcalino e ácido durante 48 horas	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de compostos fenólicos totais do extrato aquoso de <i>B. trimera</i>	37
Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos sorovares isolados clínicos de <i>Salmonella enterica</i> subespécie <i>enterica</i> e linhagens ATCC pelo teste de microdiluição ..	39
Tabela 3 - Teor de compostos fenólicos totais em 687 µg de microencapsulado de <i>B. trimera</i> (equivalente a 480 µg de extrato bruto)	43
Tabela 4 - Eficiência do processo de encapsulação do extrato aquoso de <i>B. trimera</i> e solubilidade em água.....	43
Tabela 5 - Diâmetro e área superficial do encapsulado de <i>B. trimera</i>	44

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Abs	Absorbância
ABTS	2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico)
AIEC	<i>Escherichia coli</i> invasora aderente
ATCC	American Type Culture Collection
C	Celsius
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
cm	Centímetro
DAEC	<i>E. coli</i> difusa aderente
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
Dr	Doutor
Dr ^a	Doutora
EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasiva
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica
ETEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
g	Gramas
GAE	Equivalente de Ácido Gálico
IC50	Concentração inibitória 50
L	Litros
m	Metros
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitros
mm	Milímetros
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
nm	Nanômetros

OD	Densidade optica
P/V	Peso/Volume
pH	Potencial hidrogeniônico
PR	Paraná
rpm	Rotação por minuto
S	<i>South</i>
spp	Espécie
STEC	<i>E. coli</i> produtora de toxina Shiga
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UV	Ultravioleta
W	<i>West</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°	Grau
μ	Micra
β	Beta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Objetivos	17
1.1.1 Objetivo geral	17
1.1.2 Objetivos específicos.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Microbiota intestinal de suínos	18
2.1.1 <i>Salmonella</i> em suínos	19
2.1.2 <i>Escherichia coli</i> em suínos	20
2.2 Aditivos alimentares na dieta de suínos	21
2.2.1 Probióticos.....	21
2.2.2 Óleos essenciais	22
2.2.3 Prebióticos.....	23
2.3 Potencial fitoquímico de extratos vegetais	25
2.3.1 Potencial fitoquímico de <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Coleta do material e obtenção do extrato	29
3.2 Determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante no extrato bruto de <i>Baccharis trimera</i>	29
3.2.1 Fenólicos totais	29
3.2.2 Atividade de sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).....	30
3.2.3 Atividade de sequestro do radical cátion ácido 2,2'-azino-bis(3- etilbenzotiazoline)-6-sulfônico (ABTS)	30
3.3 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto pelo teste de microdiluição e atividade bactericida por <i>spot-test</i>	31
3.4 Curva de inibição bacteriana	31
3.5 Identificação dos compostos presentes no extrato de <i>Baccharis trimera</i>	32
3.6 Encapsulação do extrato bruto	33
3.7 Compostos fenólicos totais, solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado, microscopia eletrônica de varredura e cinética de liberação do encapsulado	33
3.7.1 Avaliação de fenólicos totais contido no encapsulado	33
3.7.2 Solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado	34

3.7.3 Microscopia eletrônica de varredura	35
3.7.4 Determinação do diâmetro e área superficial do encapsulado	35
3.7.5 Cinética de liberação do encapsulado contendo extrato de <i>Baccharis trimera</i>	35
4 RESULTADOS.....	37
4.1 Determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante no extrato bruto de <i>Baccharis trimera</i>	37
4.1.1 Fenólicos totais	37
4.1.2 Atividade de sequestro do radical DPPH.....	37
4.1.3 Atividade de sequestro do radical cátion ABTS.....	38
4.2 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto pelo teste de microdiluição e atividade bactericida por <i>spot-test</i>.....	38
4.3 Curva de inibição bacteriana.....	39
4.4 Identificação dos compostos presentes no extrato de <i>Baccharis trimera</i>...41	41
4.5 Encapsulação do extrato bruto	42
4.6 Compostos fenólicos totais, solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado, microscopia eletrônica de varredura, diâmetro e área de superfície e cinética de liberação do encapsulado	42
4.6.1 Avaliação de fenólicos totais contido no encapsulado	42
4.6.2 Solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado	43
4.6.3 Microscopia eletrônica de varredura	43
4.6.4 Determinação do diâmetro e área superficial do encapsulado.....	44
4.6.5 Cinética de liberação do encapsulado contendo extrato de <i>Baccharis trimera</i>	45
5 DISCUSSÃO	46
5.1 Determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante no extrato bruto de <i>Baccharis trimera</i>	46
5.1.1 Fenólicos totais	46
5.1.2 Atividade de sequestro do radical DPPH.....	46
5.1.2 Atividade de sequestro do radical ABTS	47
5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato aquoso pelo teste de microdiluição e atividade bactericida por <i>spot-test</i>.....	48
5.3 Curva de inibição bacteriana.....	50
5.4 Identificação dos compostos presentes no extrato de <i>Baccharis trimera</i>...50	50
5.5 Compostos fenólicos totais, solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado, microscopia eletrônica de varredura e cinética de liberação do encapsulado	51

5.5.1 Avaliação de fenólicos totais contido no encapsulado	51
5.5.2 Solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado	52
5.5.3 Microscopia eletrônica de varredura	53
5.5.4 Determinação do diâmetro e área superficial do encapsulado	54
5.5.5 Cinética de liberação do encapsulado contendo extrato de <i>Baccharis trimera</i>	54
6 CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

Os patógenos bacterianos em medicina veterinária podem causar infecções nos diferentes sistemas biológicos do organismo, causando doença clínica com os sinais característicos ou de forma subclínica com evolução assintomática e sem sinais evidentes de infecção, causam perdas produtivas e possuem risco de veiculação ao ser humano (PALLO-ZIMMERMAN; BYRON, 2010). As principais doenças relatadas e com impacto negativo na produção são ditas multifatoriais, causam imunossupressão, reduzem desempenho e abrem portas para entrada de agentes oportunistas (BRUM *et al.*, 2013).

Na cadeia produtiva de suínos destacam-se as doenças causadas por patógenos entéricos como as principais responsáveis por perda produtiva, retardo no crescimento e mortalidade variável (BRUM *et al.*, 2013). Alguns patógenos entéricos presentes em suínos não causam doença clínica, porém são importantes por afetar a segurança do alimento como é o caso de alguns sorovares da bactéria *Salmonella* (BEARSON *et al.*, 2013).

A doença clínica em suínos comumente acontece por ação da *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Choleraesuis (KICH *et al.*, 2011), porém os rebanhos podem ser infectados por outros sorovares, incapazes de causar doença clínica, mas que podem ser fontes de contaminação no produto cárneo (ZANELLA *et al.*, 2016) como as sorovares Typhimurium, Panama, Senftenberg, Derby e Mbandaka (KICH *et al.*, 2011). A infecção por *Salmonella* pode ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento do suíno (JACOBSON *et al.*, 2005).

Outro patógeno de importância nos suínos é a bactéria *Escherichia coli*, causadora da síndrome da diarreia pós-desmame e doença do edema (ZANELLA *et al.*, 2016). Por causar atraso no desenvolvimento, perdas econômicas geradas por redução do ganho de peso e gastos com medicamentos é considerada uma das principais enfermidades na cadeia produtiva de suínos (SILVA *et al.*, 2015; ZANELLA *et al.*, 2016). A ocorrência da enfermidade se dá durante o período do desmame dos animais, influenciada por fatores relacionados ao manejo, como mudança de alimentação e da fisiologia digestiva por ingestão de ração, condições das instalações e fatores estressantes (ZANELLA *et al.*, 2016).

Os fatores estressantes e mudanças de manejo além de favorecerem a ocorrência de patologias entéricas devem ser considerados de importância também para o aparecimento de úlceras gástricas (ALMEIDA *et al.*, 2006).

A fisiopatogenia da úlcera gástrica está associada ao desequilíbrio entre os fatores de proteção do estômago e fatores agressivos, o dano ocorre quando os efeitos nocivos sobrecarregam a defesa da mucosa ou causam injúria ao mecanismo de proteção (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008). Um dos mecanismos úteis contra as condições agressivas a mucosa gástrica e aparecimento de úlceras é o sistema de defesa antioxidante, esse evita os danos celulares ocasionados pelas altas concentrações de radicais livres e contrabalança o quadro deletério causado pelo estresse oxidativo (VALKO *et al.*, 2007; SUZUKI *et al.*, 2012). Outra alternativa eficiente para controle destas afecções envolve o uso de substâncias com expressiva atividade antioxidante que é atribuída ao seu poder sequestrante de radicais livres (HAIDA *et al.*, 2012; SUZUKI *et al.*, 2012).

Para controle dos microrganismos são comumente utilizados agentes antimicrobianos fornecidos via ração, embora não se caracterize como a única causa, a utilização de agentes antimicrobianos para tratamento ou prevenção de afecções bacterianas colabora para seleção de patógenos resistentes (LIMA, 2018).

O emprego de extratos vegetais no tratamento de afecções bacterianas é bastante comum e cada vez mais aceito, algumas plantas possuem uso já conhecido e ensaios *in vitro* demonstram perspectivas de aplicação.

Ensaio biológico utilizando extrato de *Persea cordata* Mez. demonstraram atividade antimicrobiana importante contra *Clostridium perfringens*, um isolado clínico de mastite gangrenosa em espécie animal, evidenciando as propriedades biológicas da planta e seu uso como coadjuvante no tratamento de mastites (SCHLEMPER; SCHLEMPER; MELLO, 2016).

Além da atividade antimicrobiana, os extratos vegetais podem apresentar outras atividades biológicas importantes, o efeito antiulcerogênico e cicatrizante também é bastante relatado. Adicionalmente, a *Baccharis trimera* (carqueja) têm demonstrado promissora utilização em humanos como agente fitoterápico no tratamento de úlceras gástricas, distúrbios intestinais e também atividade antimicrobiana, embora seu uso em animais ainda é pouco descrito sua aplicação pode apresentar resultados positivos.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Analisar *in vitro* a atividade antioxidante e potencial antimicrobiano do extrato aquoso da parte aérea de *Baccharis trimera* no controle de patógenos entéricos de suínos e sua viabilidade na forma encapsulada como antioxidante gastroprotetor.

1.1.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato aquoso da parte aérea de *B. trimera* pelo método de infusão;
- Avaliar o conteúdo de fenólicos totais do extrato aquoso;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato de *B. trimera* pelos métodos de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazoline)-6-sulfônico (ABTS);
- Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato de *B. trimera* no controle de isolados clínicos de sorovares de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* e isolados de *Escherichia coli* enterotoxigênica por meio do teste de microdiluição, *spot-test* e curva de inibição;
- Identificar compostos bioativos presentes no extrato por método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Realizar a encapsulação de extrato bruto de *B. trimera*;
- Caracterizar por microscopia eletrônica de varredura o encapsulado;
- Avaliar a presença de fenólicos totais, solubilidade, eficiência da encapsulação, diâmetro e a cinética de liberação do encapsulado contendo extrato de *B. trimera*;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microbiota intestinal de suínos

Denominado como órgão multifuncional, o trato gastrointestinal é responsável por manutenção de absorção de nutrientes, eletrólitos e água, além de atuar como barreira de exclusão a patógenos e toxinas. Adicionalmente, o ambiente intestinal é formado por uma população microbiana muito dinâmica e complexa, formando um ecossistema variado o que permite uma relação simbiótica valiosa com o hospedeiro (FOUHSE; ZIJLSTRA; WILLING, 2016; YANG *et al.*, 2017).

A colonização microbiana do trato gastrointestinal ocorre logo após o nascimento dos leitões. O ambiente anaeróbico favorece o desenvolvimento e colonização por bactérias dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Lactobacillus* (PETRI; HILL; VAN-KESSEL, 2010). Assim, o perfil microbiano de um animal saudável é variável, normalmente apresenta Firmicutes e Bacteroidetes em proporções similares, juntos os dois filos correspondem a 90% das bactérias presentes (LOOFT *et al.*, 2012).

Dentre os microrganismos mais prevalentes nos sítios iniciais do trato gastrointestinal destacam-se os gêneros bacterianos *Lactobacillus*, *Actinobacillus*, *Escherichia*, *Shigella* e *Campilobacter*, enquanto que o perfil microbiano no intestino grosso é caracterizado pela presença de agentes das famílias *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Prevotellaceae* e *Bacteroidaceae* (GRESSE *et al.*, 2019). Os microrganismos presentes no intestino grosso em segmentos como cólon e ceco são conhecidos por produzir ácido butírico e propiônico, ácidos graxos de cadeia curta importantes para o hospedeiro (BESTEN *et al.*, 2013; LOUIS; FLINT, 2017; YANG *et al.*, 2017).

A microbiota do sistema gastrointestinal dos leitões sofre alteração significativa por efeito da dieta e do ambiente (THOMPSON; WANG; HOLMES, 2008). O aumento dos níveis de cortisol decorrente do estresse a longo prazo também contribui para agravar o estado de imunossupressão e alteração do ambiente intestinal (DONALDSON *et al.*, 2002). Os resultados de tais modificações incluem

distúrbio de secreção salivar, enzimas digestivas e suco gástrico, afeta o peristaltismo e contribui para inflamação e ulceração (KNECHT *et al.*, 2020).

A microbiota residente possui papel fundamental na manutenção das funções imunológicas, nutricionais e fisiológicas do órgão e do organismo como um todo (BRESTOFF; ARTIS, 2013; GRESSE *et al.*; 2017). No entanto, a população microbiana residente pode incluir microrganismos que são potenciais causadores de doenças, como a *Escherichia coli* e *Salmonella* (KNECHT *et al.*, 2020). A presença de microrganismos patogênicos pode ser grande causa de mortalidade e perdas no sistema de produção, uso de antimicrobianos profiláticos e desequilíbrio do ecossistema microbiano com risco ao aumento das doenças (FOUHSE; ZIJLSTRA; WILLING, 2016).

2.1.1 *Salmonella* em suínos

A cadeia produtiva de suínos alcançou patamar elevado de tecnificação e credibilidade nos produtos, no entanto, os cuidados para produção da matéria prima devem ser intensificados afim de minimizar os riscos a saúde pública (MACHADO *et al.*, 2016). Uma das maiores preocupações mundiais no sistema de produção de suínos tem sido a presença de *Salmonella*, tanto por razões econômicas como relacionadas a saúde pública (SPRICIGO *et al.*, 2008).

A *S. enterica*, um dos patógenos mais comumente transmitido por alimentos, está entre as principais causas de bacteremia e gastroenterite em humanos (HENDRIKSEN *et al.*, 2011). A presença tanto em carcaças como em derivados de suínos representa importante risco à saúde pública, além de elevados custos no sistema de produção, entraves no consumo e importação de produtos (KICH *et al.*, 2011).

A infecção por *S. enterica* é de maior prevalência em suínos desmamados e de terminação, embora suínos de todas as idades sejam suscetíveis à infecção, animais em período de desmame e crescimento parecem ser mais sensíveis (KUMAR; RAJORA; ARORA, 2014; SHIM *et al.*, 2016).

Infecções pela sorovar Choleraesuis resultam em doença sistêmica grave nos suínos, com complicações entéricas e que podem ser fatais (BOYEN *et al.*, 2008). Já

a infecção pela sorovar Typhimurium pode ocorrer de forma leve, com aumento de temperatura retal apenas ou sem manifestação de sinais clínicos em sua forma assintomática (TANAKA *et al.*, 2010; VERBRUGGHE *et al.*, 2011; YIN *et al.*, 2014) tornando-se portadores e excretores crônicos do patógeno gerando preocupação em saúde pública. Ambas sorovares Typhimurium e Choleraesuis são adaptadas aos suínos, sendo frequente causa de diminuição no crescimento, eficiência alimentar e aumento da mortalidade (SHIM *et al.*, 2016).

2.1.2 *Escherichia coli* em suínos

A *E. coli* assim como a *Salmonella*, é outro importante patógeno entérico que compreende diferentes cepas, algumas compõem a microbiota intestinal de animais e humanos enquanto outras possuem associação a alterações intestinais que culminam com infecções (GONZALEZ; CERQUEIRA, 2019).

As diferentes cepas desta bactéria são descritas em patótipos, sendo eles sete: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), enteroinvasiva (EIEC), enterotoxigênica (ETEC), enteroagregativa (EAEC), difusa aderente (DAEC), produtora de toxina Shiga (STEC) e a *E. coli* invasora aderente (AIEC) (ORI *et al.*, 2018). O patótipo STEC está relacionado à ocorrência de doenças em humanos em manifestações de colite hemorrágica e síndrome hemolítica-urêmica (CROXEN *et al.*, 2013).

A presença de patógenos alimentares como a STEC em produtos de origem animal é de importante relevância para o Brasil, pois o mesmo é líder em produção de proteína suína, bovina e de aves, uma vez presente nos animais pode ser fonte contaminante de matéria-prima, água e outros alimentos (GONZALEZ; CERQUEIRA, 2019).

Na produção suinícola, a enterite é principal causa de perdas econômicas em animais jovens, por causar diarreia, redução do ganho de peso, alterações na conversão alimentar e pode, ainda, causar morte súbita (PEREIRA *et al.*, 2016).

A ocorrência do patótipo ETEC em leitões recém-nascidos e desmamados pode ser considerada de grande importância, pois o patógeno é capaz de causar doença e morte (ALMEIDA *et al.*, 2007), a síndrome diarreica é responsável por até 6% da mortalidade dos leitões nas granjas (JÚNIOR *et al.*, 2010), quando não tomadas

medidas adequadas de prevenção e tratamento esta taxa pode alcançar 25% de mortalidade (MORÉS; MORENO, 2007). As medidas de prevenção e controle da doença empregadas de forma correta, são importantes para manutenção da sanidade da granja, evitando contaminação de carcaças e riscos à saúde pública.

2.2 Aditivos alimentares na dieta de suínos

O conhecimento sobre efeitos negativos decorrentes do uso de antibióticos como melhoradores de desempenho na produção de suínos despertou interesse em um sistema livre do uso destas moléculas, entretanto, ao remover da dieta os antimicrobianos as doenças tendem a aumentar e o desempenho e crescimento podem ser reduzidos (LIU *et al.*, 2018).

Com a remoção dos melhoradores de desempenho, mudanças no manejo e novas estratégias nutricionais devem ser adotadas (KIL; STEIN, 2010). Uma alternativa a essa mudança é tornar o suíno capaz de prevenir colonização bacteriana por meio de resposta imune melhorada, adotando a utilização de aditivos alimentares que aumentem digestibilidade, saúde intestinal e geral do hospedeiro (GRESSE *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2018).

2.2.1 Probióticos

Frente aos efeitos adversos do uso de antimicrobianos na alimentação animal e, conseqüentemente, em humanos, um dos maiores desafios do setor produtivo tem sido produzir animais saudáveis sem a utilização dessas drogas, a suplementação alimentar probiótica mostra-se uma segura alternativa para produção de suínos (ANGELAKIS, 2016; DOWARAH; VERMA; AGARWAL, 2016).

Probióticos caracterizam-se como microrganismos benéficos, bactérias e leveduras adicionados a dieta com objetivo de melhorar a colonização intestinal, os principais utilizados como agentes probióticos são pertencentes ao gênero *Lactobacillus*. Os microrganismos deste gênero são conhecidos por melhorar a microbiota intestinal, potencializar a utilização de nutrientes, regular o sistema imunológico e saúde intestinal além de promover melhora em desempenho e

eficiência na conversão alimentar (DOWARAH; VERMA; AGARWAL, 2016). Microrganismos do gênero *Bifidobacteria*, *Enterococcus*, *Bacillus* e *Streptococcus* também são importantes agentes utilizados como probióticos (YIRGA, 2015).

Os probióticos modulam a microbiota intestinal, melhoram a imunidade e resistência a doenças, reduzem a excreção de patógenos e melhoram a saúde do animal (KENNY *et al.*, 2010; UPADHAYA *et al.*, 2014). A encapsulação dos probióticos tem sido a técnica mais utilizada para manutenção da viabilidade dos microrganismos, garantindo proteção contra ação do pH gástrico e intestinal do suíno e do suco biliar, além de ser eficiente na proteção de alterações do ambiente quando adicionado à ração (WANG *et al.*, 2017).

No início do seu desenvolvimento, a microbiota intestinal do suíno é imatura, podendo ser otimizada pela suplementação com aditivos probióticos. Na suplementação com *Lactobacillus*, todo o ambiente intestinal pode ser otimizado, aumentando a abundância de microrganismos e de seus produtos com funções prebióticas, algumas bactérias colonizadoras possuem características de produção de compostos que beneficiam o hospedeiro como ácidos graxos de cadeia curta que podem ser utilizados pelos suínos como por outros microrganismos além de estimular uma cascata imunológica local (YANG *et al.*, 2017).

A fim de obter sucesso na substituição dos melhoradores de desempenho tradicionais e substituí-los por alternativas como os probióticos, é necessário compreender as interações entre a microbiota intestinal e a relação com o hospedeiro, isso permite desenvolver alternativas dietéticas que aumentem a performance dos animais e maximizem a saúde do rebanho protegendo contra as doenças entéricas (ANGELAKIS, 2016; YANG *et al.*, 2017).

2.2.2 Óleos essenciais

Considerando a proibição do uso de alguns antimicrobianos como melhoradores de desempenho, alternativas eficazes para sustentar a eficiência produtiva tem sido alvo de interesse crescente no setor da suinocultura (ZHAI *et al.*, 2018). Os óleos essenciais têm demonstrado potencial aplicação na dieta de suínos

por serem naturais, apresentarem toxicidade reduzida e não possuírem resíduos quando comparados a drogas antimicrobianas (GONG *et al.*, 2014).

Os óleos essenciais exibem importante atividade antioxidante e reforçam o estado imunológico (ZENG *et al.*, 2015). São fonte natural de compostos que podem ser empregados na indústria de cosméticos, alimentícia e farmacêutica (MIGUEL, 2010). O emprego em rações de uso animal tem demonstrado importantes resultados como melhora em ganho de peso e conversão alimentar. Tais observações são decorrentes da estimulação de secreção de enzimas digestivas e modulação de microbiota intestinal proporcionada pela ação dos óleos essenciais na dieta (JANG *et al.*, 2007; BENTO *et al.*, 2013).

Os óleos essenciais também podem influenciar seletivamente a microbiota intestinal e exibir importante atividade antimicrobiana (MICHIELS *et al.*, 2009; ZHAI *et al.*, 2018), conferida pela presença dos compostos fenólicos em sua constituição (BRENES; ROURA, 2010). Em *E. coli* e *Salmonella* os constituintes hidrofóbicos dos óleos essenciais desintegram a membrana inativando-os (DABBAH, EDWARDS, MOATS; 1970), o mecanismo ocorre por meio de mudança na solubilidade dos lipídeos de membrana do patógeno (LAMBERT *et al.*, 2001).

Baseado no potencial fitoquímico dos óleos essenciais, a literatura tem registrado resultados positivos da sua utilização, principalmente relacionado à melhora de digestibilidade, absorção e saúde intestinal (ZENG *et al.*, 2015; ZHAI *et al.*, 2018). Agem alterando a distribuição de linfócitos, melhorando relação entre microbiota intestinal, mucosa e sistema imunológico (PURCHIARONI *et al.*, 2013) configurando um potencial aditivo alimentar. A adição de óleos essenciais (como óleo de anis, citrus, orégano), administrada de forma isolada ou associada (MANZANILLA *et al.*, 2004; KOMMERA *et al.*, 2006) e *blends* de substâncias como o carvacrol, timol e cinamaldeído (ZHANG *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2012) tem sido eficiente em leitões recém desmamados e suínos em terminação (YAN *et al.*, 2010).

2.2.3 Prebióticos

A eficiência alimentar em suínos possui uma intrínseca ligação com a microbiota desses animais e a sua manipulação pode aumentar esses parâmetros

(MCCORMACK *et al.*, 2019). Dessa forma, estratégias nutricionais alternativas são adotadas com o objetivo de mitigar os efeitos deletérios dos patógenos no hospedeiro, bem como melhorar seu estado de saúde geral e intestinal (ADHIKARI *et al.*, 2020).

A promoção da saúde intestinal pode ser alcançada por meio de suplementação dietética, seja de forma isolada ou associada a outras moléculas, melhorando a abundância e condições de multiplicação dos microrganismos sem causar desequilíbrio (DOO *et al.*, 2019).

Oligossacarídeos são exemplos de compostos que apresentam potencial uso como prebióticos, o alginato pertencente à um grupo de sacarídeos poliurônicos exibe importantes propriedades e efeitos benéficos à saúde. Há evidências do efeito imunomodulador promovido pelo alginato, bem como atividade antimicrobiana e antioxidante, o que tem despertado interesse na sua incorporação em formulações prebióticas de diferentes espécies (LIU *et al.*, 2019). Derivados do alginato despolimerizado apresentaram importantes efeitos sobre a população microbiana intestinal humana, aumentando o número de bifidobactérias sem interferir no crescimento das demais e incrementa a proporção de ácidos graxos de cadeia curta produzidos pelos microrganismos fermentadores (RAMNANI *et al.*, 2012), dados importantes para usos futuros pesquisas de inclusão em dieta de suínos.

As β -glucanas também podem ser adicionadas à dieta. Agentes prebióticos, caracterizados como constituintes estruturais de fungos, leveduras e alguns vegetais, possuem importante atividade biológica pois aumentam a resposta imune do hospedeiro, considerada um modificador da resposta biológica (MAGNANI; GÓMEZ, 2008).

A suplementação de mananoligossacarídeo e β -glucana avaliada por Luna *et al.* (2015), em dieta de suínos em fase de creche, quanto ao uso dos polissacarídeos especialmente a β -glucana, influenciou na altura de vilosidade intestinal dos leitões com maior profundidade de criptas em duodeno e íleo além de maior perímetro das vilosidades em jejuno. Apresenta-se como boa alternativa para suplementação animal em substituição aos antibióticos, porém com índices de adição não muito elevados na dieta de recém desmamados para não obter um efeito contrário (ANJOS *et al.*, 2019).

O amido resistente também é uma alternativa, pois apresenta potencial prebiótico e tem recebido atenção na nutrição de suínos (GIUBERTI *et al.*, 2015) por ser considerada uma fibra alimentar importante (BIRT *et al.*, 2013).

Ao se manter íntegra após digestão e passagem no intestino delgado, a fração resistente deste amido é utilizada como substrato para fermentação microbiana que ocorre no intestino grosso, promovendo aumento da massa digerida e incrementando a produção de ácidos graxos pelos microrganismos fermentadores (BIRT *et al.*, 2013; GIUBERTI *et al.*, 2015). Animais que receberam dieta com 5% de amido resistente de batata demonstraram alterações relacionadas à saúde intestinal quando comparados aos animais com dieta controle, a abundância de clostrídios anaeróbicos nas fezes e tecido também aumentou, bem como as concentrações de butirato naqueles animais que receberam amido resistente (TRACHSEL *et al.*, 2019). Embora seu uso possa influenciar de maneira negativa a eficiência energética, o emprego da fração resistente como fibra de dieta estimula o processo fermentativo em cólon distal, estabilizando o ambiente intestinal nos animais no período crítico de desenvolvimento entre o desmame e o crescimento inicial em creche (ZEBELI *et al.*, 2018).

Alguns subprodutos cítricos e extratos vegetais, como a chicória, exibem importante atividade prebiótica modulando a microbiota benéfica. Resultados positivos foram observados por Uerlings *et al.* (2019), ao avaliar a capacidade de fermentação de frutano e alguns subprodutos ricos em pectina em modelo fecal *in vitro* de suíno, confirmando a possibilidade de ser utilizado para modular a ecologia microbiana intestinal.

2.3 Potencial fitoquímico de extratos vegetais

O emprego de extratos vegetais faz paralelo ao seu uso como óleos essenciais ou fontes probióticas. Porém sua aplicação também pode ser sobre a perspectiva fitobiótica, apoiada pelo conhecimento tradicional associado àquela planta, extrato ou derivado vegetal, estratégia que auxilia na redução de aplicação de antimicrobianos comerciais (DADI *et al.*, 2020).

Algumas ervas com efeitos conhecidos relacionados ao controle de diarreia em humanos e animais podem apresentar potencial biológico para uso como aditivos e modulador de microbiota (DADI *et al.*, 2020). Os compostos bioativos extraídos de plantas, empregados como fitobióticos, oferecem uma perspectiva importante na substituição de formulações comerciais promotoras de crescimento hoje proibidas

(VIDANARACHCHI *et al.*, 2005), com uma abordagem mais saudável e que atenda as exigências do consumidor.

Seus efeitos biológicos envolvem atividade anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e modulador de microbiota, permitindo serem inclusos em dieta como melhoradores de desempenho (GHEISAR; KIM, 2017). O mecanismo envolvido na atividade antimicrobiana dos extratos fitobióticos, embora não esteja totalmente elucidado, está relacionado a sua capacidade de modulação de ambiente intestinal, à medida que favorece o crescimento de alguns microrganismos aumenta a pressão sobre os patógenos dificultando a colonização do local (GHEISAR; KIM, 2017). O extrato de *Lythrum salicaria*, em terapia preventiva de diarreia pós-desmame em leitões, foi capaz de modular a microbiota e aumentar a saúde intestinal por ser fonte de metabólitos com propriedades anti-inflamatórias associadas (DADI *et al.*, 2020).

As avaliações dos compostos químicos dos extratos, suas interações com as vias metabólicas do organismo, toxicidade e riscos ao uso são pontos chave a serem considerados na busca por alternativas terapêuticas. Porém, os efeitos adversos oriundos dos extratos de origem vegetal, conforme uso popular, são baixos ou pouco relatados, fator importante para inclusão nas dietas e rações (KOSTADINOVIĆ; LEVIĆ, 2018), determinando relevância para uso e desenvolvimento de fitobióticos eficazes (BAGNO *et al.*, 2018).

2.3.1 Potencial fitoquímico de *Baccharis trimera* (Less.) DC

Novas abordagens terapêuticas têm-se demonstrado como alternativas promissoras para o tratamento de doenças e o uso de produtos naturais ou derivados de plantas mostram-se eficazes, geralmente com menores efeitos colaterais quando utilizados de forma correta (KARIMI; MAJLESI; RAFIEIAN-KOPAEI, 2015).

Dentre as espécies com uso medicinal a *B. trimera*, comumente chamada de carqueja, possui muitas propriedades farmacológicas, é originária da América do Sul e encontrada em florestas do Sul do Brasil (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005). Caracterizada como um subarbusto perene, com ramos cilíndricos de até um 1 m de comprimento e folhas sésseis, pode atingir até 1,5 m de altura (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005; BUDEL; DUARTE, 2009). Seu crescimento ocorre em solos

pobres não respondendo positivamente à fertilização com nitrogênio e minerais, tal condição favore o plantio e cultivo com baixo custo (PALÁCIO *et al.*, 2007).

O estudo das propriedades farmacológicas da planta tem indicado seu uso no tratamento de diabetes, problemas digestivos e problemas hepáticos (RODRIGUES *et al.*, 2009; OLIVEIRA; KFFURI; CASALI, 2010). A parte aérea da planta é responsável pela maioria das atividades biológicas e farmacológicas relatadas nos extratos de *B. trimera*, normalmente é seca, pulverizada e submetida a diferentes processos de extração de metabólitos secundários para uso (RABELO; COSTA, 2018). Os principais compostos constituintes da planta são flavonóides, sendo o acetato de carquejila marcante na espécie (PIRES *et al.*, 2005).

Os compostos isolados variam de acordo com os métodos de extração empregados, solventes e parte da planta utilizada (RABELO; COSTA, 2018). Quando empregado métodos de extração baseados em destilação ou araste a vapor sem uso de solvente, em folhas e raízes, foram obtidos compostos monoterpênicos (como o acetato de carquejila), flavonoides e sesquiterpênicos (OLIVEIRA *et al.*, 2012; CANESCHI *et al.*, 2015). Enquanto que, ao utilizar a parte aérea, com solventes orgânicos (metanólico e hidroetanólico) com maceração e ultrassom os compostos extraídos em sua maioria foram flavonóides, terpenóides, diterpênicos e ácidos clorogênicos (BORELLA *et al.*, 2006; RODRIGUEZ *et al.*, 2013; PADUA *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2017; LÍVERO *et al.*, 2016).

Embora os solventes orgânicos possuam elevada empregabilidade nos processos de extração de compostos secundários, solventes polares e atóxicos como a água também apresentam bons resultados e são utilizados para obtenção de extratos de forma positiva. Inúmeros trabalhos apontam a eficiência do uso da água na obtenção de compostos secundários com atividade biológica. À exemplo, Gené *et al.* (1996), obteve por hidrodestilação da parte aérea de *B. trimera* sapogeninas e flavonóides quando utilizou água no processo de extração. Outros compostos como terpenos, saponinas, compostos fenólicos em geral (ácido gálico, cafeico, clorogênico, cumárico, cafeoilquínico) e também flavonóides foram extraídos por maceração ou infusão em solvente aquoso (RODRIGUES *et al.*, 2009; BIONDO *et al.*, 2011; ZIELINSKI *et al.*, 2014; SABIR *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2017; RABELO *et al.*, 2017).

A diversidade de compostos obtidos nos extratos da planta é importante para expressão de funções farmacológicas distintas, estas estão ligadas à atividade anti-inflamatória, efeito antioxidante, protetor gástrico e hepático, antifúngico, antimicrobiano e até mesmo antiparasitário (RABELO; COSTA, 2018).

A *B. trimera* tem demonstrado efeitos importantes em ensaios realizados *in vitro* com condições simuladas. As evidências registradas em seus compostos com atividade biológica e uso seguro com respeito à dose representa uma planta em potencial para o desenvolvimento de novas drogas (RABELO; COSTA, 2018).

O isolamento e análise detalhada dos metabólitos obtidos desta espécie, o melhor entendimento de seus mecanismos de ação, sua disponibilidade de forma segura, espectro de ação e forma de uso, apresentam perspectivas promissoras para aplicação no tratamento de diversos distúrbios (RABELO; COSTA, 2018), sejam em espécie humana ou para uso em animais.

Os metabólitos com atividade biológica podem ser preservados por diferentes técnicas e com diferentes substratos, os quais além de preservarem permitem posterior liberação e disponibilidade do composto. O processo de encapsulação tem como princípio o modelo celular, no qual uma membrana semipermeável envolve o núcleo protegendo-o do meio externo (RÉ, 2006). De forma similar, o material de interesse é revestido com um agente encapsulante obtendo cápsulas com variação de tamanho (TIWARI *et al.*, 2010). Esta técnica é utilizada com o objetivo de produzir um revestimento do composto, modificando e até melhorando as propriedades da substância (NUNES; RAGAGNIN, 2015).

A imobilização do extrato de *B. trimera* permite manutenção das propriedades farmacológicas da planta e posterior liberação no local alvo de ação. Sua aplicação com aditivo alimentar vem de encontro a necessidade de uso de compostos naturais com efeito biológico importante e a pressão por redução em massa de moléculas sintéticas com potencial residual na produção animal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta do material e obtenção do extrato

As folhas de *B. trimera* foram coletadas de árvores nativas no município de Verê – PR (25° 55' 42" W, 52° 57' 35" S), no período da manhã. Após coletadas foram encaminhadas ao laboratório, lavadas e secas à temperatura ambiente. Fragmentos do exemplar encaminhados para identificação botânica da espécie foram identificados e depositados sob o número de registro 6.668 no herbário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (DVPR).

As folhas foram cortadas em pequenos fragmentos (1 cm) e levadas à extração térmica em água (10 gramas de material para cada 100 mL de solvente - concentração de 10 % p/v) por 60 minutos em banho-maria na temperatura de 100 °C conforme protocolo adaptado de Sabir *et al.*, (2017). A solução foi filtrada em papel filtro 80 g/m² e o filtrado obtido evaporado a temperatura ambiente seguido de liofilização.

3.2 Determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante no extrato bruto de *Baccharis trimera*

Os compostos obtidos de plantas podem exibir capacidade antioxidante por meio de diferentes mecanismos, desta forma os ensaios *in vitro* são importantes para identificar esse potencial (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Tais ensaios laboratoriais buscam avaliar esta capacidade por reprodução de reações que ocorrem naturalmente nos sistemas (EBRAHIMABADI *et al.*, 2010).

3.2.1 Fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de *Folin-Ciocalteu*, com padrão de referência ácido gálico. Foram adicionados em tubo de ensaio 0,5 mL da solução de extrato (320 µg mL⁻¹), 2,5 mL de *Folin Ciocalteu* diluído

1:1 em água destilada, aguardando 3 minutos, em seguida 2 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4 %, mantido em repouso por 15 minutos em banho-maria à 50 °C. Após 2 horas ao abrigo da luz foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV / visível U – 2800 Digilab a 740 nm. O branco foi constituído de 0,5 mL de água destilada, 2,5 mL de *Folin-Ciocalteu* e 2 mL de Na_2CO_3 . Foi construída uma curva padrão do ácido gálico (1,25-62,5 μg $0,5 \text{ mL}^{-1}$) diluídos em água destilada. Os resultados obtidos por regressão linear da curva analítica foram expressos em GAE: equivalente em ácido gálico por grama de extrato (SINGLETON *et al.*, 1999).

3.2.2 Atividade de sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

Para os testes foram preparadas soluções do extrato seco das amostras nas concentrações de 1,500, 1,000, 500, 100, 50 e 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em um tubo de ensaio adicionou-se 500 μl da amostra diluída, acrescentado 3,0 mL de etanol 100% e 300 μl da solução padrão de DPPH (0,025g L^{-1} em metanol). A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV a 515 nm após 30 min de reação, protocolo adaptado de Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995). Os resultados foram calculados com base em uma curva de calibração de ácido ascórbico (1, 5, 50, 100, 250 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e determinada a concentração inibitória (IC_{50}) através de regressão (SABIR *et al.*, 2017).

3.2.3 Atividade de sequestro do radical cátion ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazoline)-6-sulfónico (ABTS)

Para determinação da atividade antioxidante pela capacidade de sequestro do radical cátion ABTS foi utilizado o protocolo descrito por Rufino *et al.* (2007). Volume de 30 μL (1,500, 1,000, 500, 100, 50 e 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) do extrato aquoso da planta e 3 mL da solução de ABTS diluída em etanol foram adicionados a um tubo de ensaio, homogeneizados e mantidos ao abrigo de luz por 30 minutos. A leitura da absorbância foi realizada no comprimento de 734 nm em espectrofotômetro. Utilizou-se como branco o metanol. Os resultados foram calculados através de uma curva de calibração construída com o padrão antioxidante ácido ascórbico (1, 5, 50, 100, 250 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

¹⁾ e determinada a concentração inibitória (IC₅₀) através de regressão (SABIR *et al.*, 2017).

3.3 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto pelo teste de microdiluição e atividade bactericida por *spot-test*

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato que exerça atividade antimicrobiana foi realizada por meio do teste de microdiluição em caldo. Em uma microplaca contendo 96 poços, foram adicionados 100 µL de caldo Mueller Hinton, 100 µL do agente antimicrobiano a ser testado (1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mg mL⁻¹) e os inóculos isolados clínicos de *Salmonella spp.* e *Escherichia coli*, provenientes de suínos no volume de 5 µL padronizado a 0,5 na escala de McFarland. A placa foi incubada a 37 °C durante 16-20 horas para crescimento e posterior leitura (CLSI, 2003a). Após a incubação, em cada poço, adicionou-se 20 µL do corante-revelador cloreto de 2, 3, 5-trifeniltetrazólio para verificação da presença de células viáveis. As placas permaneceram em repouso por uma hora e então realizou-se a primeira leitura a fim de avaliar a inibição dos microrganismos testados, sendo que a formação de coloração rosa representa crescimento celular e a não mudança de cor representa inibição. O caldo contido nos poços que apresentarem resultado positivo (inibição do microrganismo) foram repicados para placas contendo ágar Mueller Hinton (duas doses superiores e duas doses inferiores a concentração inibitória) e incubadas a 37 °C (bactérias) por 24 horas. Após incubação avaliou-se a atividade bactericida das amostras.

3.4 Curva de inibição bacteriana

A curva de inibição bacteriana foi realizada adicionalmente afim de verificar o perfil de inibição microbiana do extrato pelo período avaliado conforme metodologia adaptada de Lee *et al.*, (2018). Foram cultivadas as linhagens ATCCs, dois isolados clínicos de *Salmonella* e dois isolados de *E. coli* inicialmente em caldo nutriente seguido do cultivo em ágar nutriente.

Colônias isoladas de cada microrganismo foram ressuspensas em Erlenmeyer contendo 50 mL de caldo Mueller Hinton e padronizados na leitura de 0.1 de absorbância a 600 nm, em seguida adicionado à cultura padronizada o extrato bruto de *B. trimera* na dose determinada pelo CIM para cada microrganismo. Após a adição do extrato a ser avaliado os Erlenmeyers contendo a cultura e o extrato bem como seus controles foram incubados em agitador orbital, na temperatura de 37 °C à 150 rpm. A avaliação da inibição foi realizada durante 9 horas de tratamento, a cada hora uma alíquota do cultivo foi avaliada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 600 nm e sua absorbância anotada a fim de determinar a curva de inibição do crescimento ao final do tratamento. Todos os microrganismos foram avaliados em triplicata (tratamento e controle).

3.5 Identificação dos compostos presentes no extrato de *Baccharis trimera*

Na análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi utilizado um sistema Varian 920 LC (Varian Inc., Walnut Creek, CA, EUA), no qual a solução do extrato aquoso de *B. trimera* e dos padrões (ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido vanílico, ácido cafeico, epicatequina, ácido cumárico, ácido ferúlico, rutina, isoquercitina, astragalina, miricetina, ácido salicílico, quercetina, ácido cinâmico e canferol) foram injetadas no cromatógrafo, utilizando uma coluna de octadecilsilil de fase reversa (C18 RP) (4,6 x 250 mm, tamanho de partícula de 5 µm) (Microsorb MV-100, Agilent Technologies, Wilmington, DE, EUA), conforme metodologia descrita por Oldoni et al. (2020). As condições cromatográficas para a determinação de compostos fenólicos foram: volume de injeção de 10 µL, a fase móvel utilizada foi constituída pelos solventes A (ácido acético:água (2:98 v/v) e B (ácido acético:acetonitrila:água (2:40:58 v/v) com eluição em modo gradiente: primeiro segmento (0-2 min: 5-20% B), segundo segmento (2-15 min: 20-25% B), terceiro segmento (15-25 min: 25-85% B), quarto segmento (25-30 min: mantido em 85% B), etapa de lavagem (30-36 min: 85-95% B), retornando a condição inicial e mantendo na etapa de condicionamento (5%B) por 9 minutos. Foi utilizada uma taxa de fluxo de 1,0 mL min⁻¹, temperatura da coluna de 30 °C, varredura de 200-400 nm. Para os trabalhos de quantificação, foram selecionados os comprimentos de onda de detecção

de 280 nm (derivados do ácido benzóico e flavonóis), 320 nm (derivados do ácido cinâmico), 360 nm (flavonóis) e 300 nm (estilbenos).

3.6 Encapsulação do extrato bruto

Para a encapsulação do extrato empregou-se a técnica de geleificação iônica utilizando alginato de sódio, foram preparadas solução de alginato de sódio 2% (agente encapsulante) e solução de cloreto de cálcio 2% em água destilada (solução reticulante). Essas soluções foram preparadas no dia anterior à encapsulação, esterilizadas e resfriadas para o uso. À solução de alginato de sódio foi adicionado o extrato vegetal na proporção de 1:1,5 (alginato de sódio: extrato vegetal), agitado vigorosamente para completa incorporação antes e durante o processo de encapsulação. O encapsulado foi obtido por gotejamento da dispersão de alginato e extrato vegetal em solução de cloreto de cálcio sob agitação constante. Afim de impulsionar o gotejamento utilizou-se bomba peristáltica (Tecnal TE-PB-01-mini) e mangueira de silicone com velocidade ajustada para 5 mL min⁻¹, as esferas foram formadas pelo gotejamento através de agulha descartável (0,80 mm x 30 mm, 21G) estéril acoplada à mangueira. As esferas produzidas permaneceram por período mínimo de 30 min na solução de cloreto de cálcio para total reticulação. Após reticulação foram lavadas em água estéril, congeladas e submetidas à liofilização durante 72 horas à 60 °C negativos para obtenção de cápsulas secas, conforme protocolo adaptado de Yan *et al.* (2014).

3.7 Compostos fenólicos totais, solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado, microscopia eletrônica de varredura e cinética de liberação do encapsulado

3.7.1 Avaliação de fenólicos totais contido no encapsulado

O conteúdo dos compostos fenólicos totais presentes no encapsulado produzido foi avaliado pela solubilização de 687 µg (equivalente a 480 µg) da amostra de cápsulas em 1 mL de citrato de sódio a 2%. Os tubos foram agitados em vórtex por 1 minuto e a amostra será filtrada em papel filtro, o filtrado foi analisado quanto ao conteúdo de fenólicos totais (item 3.2.1).

3.7.2 Solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado

A avaliação da solubilidade em água foi determinada conforme metodologia adaptada de Cano-Chauca *et al.* (2005). Utilizou-se 1 g de encapsulado já liofilizado adicionado em 100 mL de água destilada em temperatura ambiente, essa suspensão foi mantida em agitador magnético por 5 min em velocidade máxima. Posteriormente, a suspensão foi filtrada em malha de nylon e dividida em alíquotas de 25 mL que foram colocadas em placas de petri secas e vazias com massa conhecida. A triplicada da solução foi mantida em estufa para secagem na temperatura de 60 °C até obter peso constante. O cálculo da solubilidade foi realizado por meio da diferença de massa final e inicial expresso em percentagem:

$$\text{Solubilidade em água (\%)} = \frac{\text{massa final}}{\text{massa inicial}} \times 100$$

A eficiência da encapsulação (EE) foi calculada conforme metodologia modificada descrita por Ge *et al.* (2009), mensurando a massa do extrato inicial sobre a massa do extrato não encapsulado de acordo com a fórmula:

$$EE (\%) = \frac{\text{massa do extrato inicial} - \text{massa do extrato não encapsulado}}{\text{massa do extrato inicial}} \times 100$$

O valor da massa de extrato não encapsulado utilizado para cálculo na fórmula anterior foi obtido por meio da leitura em espectrofotômetro do conteúdo residual do processo de encapsulação. Foram realizadas leituras no comprimento de onda de 520 nm e a massa residual calculada com base em curva de calibração do extrato puro

obtida nas mesmas condições. Enquanto que a carga do extrato (CE) no encapsulado foi expressa pela razão entre a massa do extrato e do material de revestimento:

$$CE (\%) = \frac{\text{massa do extrato contida no encapsulado}}{\text{massa do encapsulado após a liofilização}} \times 100$$

3.7.3 Microscopia eletrônica de varredura

Micrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura (TM3000 (Hitachi, Irving, TX USA). O encapsulado foi fixado em um suporte com fitas de carbono e as imagens foram capturadas com ampliações de 100 a 3000 vezes, a fim de avaliar a presença de poros, integridade do revestimento e as características da superfície do encapsulado (IURCKEVICZ, 2019).

3.7.4 Determinação do diâmetro e área superficial do encapsulado

A determinação do diâmetro e área superficial do encapsulado foram realizadas em equipamento HORIBA LA-960 (HORIBA Instruments Inc, Irvine CA) baseada em difração de laser. Cinco unidades do encapsulado foram adicionados a uma cubeta contendo 10 mL de água destilada, mantidas em agitação magnética em velocidade máxima. conforme metodologia adaptada de Nguyen *et al.*, (2017) e Singh *et al.*, (2019).

3.7.5 Cinética de liberação do encapsulado contendo extrato de *Baccharis trimera*

Para a avaliação da liberação *in vitro* do extrato de *B. trimera* foi conduzido um ensaio cinético com o encapsulado contendo o extrato da planta. Realizou-se por meio do acompanhamento da liberação em diferentes soluções tampão, simulando o pH estomacal do suíno de 2,0 a 3,0 faixa favorável à ação da pepsina e também do pH intestinal ligeiramente alcalino na faixa de 7,0 a 8,0, durante um determinado tempo de contato. Amostra de 300 mg do encapsulado foi dispersa em 10 mL das

soluções tampão pH 3,0 (acetato de sódio) e pH 7,4 (tampão fosfato de sódio), transferido para o interior de uma membrana de celulose (12000 Da, 5 cm de diâmetro-Sigma-Aldrich, EUA) e imerso em 150 mL da respectiva solução tampão e submetida à diálise. Alíquotas de 3 mL foram removidas da solução de análise em intervalos pré-determinados (5 min; 10 min; 20 min; 30 min; 1 h; 2 h; 3 h; 4 h; 6 h; 8 h; 12 h; 24 h; 36 h; e 48 horas), e o mesmo volume de solução tampão devolvido a fim de manter a condição da taxa de dissolução. A liberação do extrato encapsulado foi acompanhada com leituras em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 615 e 652 nm conforme metodologia descrita por Yan *et al.* (2014). Para construção da curva e expressão da cinética de liberação, a concentração do extrato liberado foi calculada utilizando a absorbância nos diferentes comprimentos de onda citados, seguindo a fórmula descrita por Bennett e Bogorad (1973), conforme segue:

$$\text{Concentração de extrato (mg mL}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Abs 615} - (0,474 \times \text{Abs 652})}{5,34}$$

4 RESULTADOS

4.1 Determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante no extrato bruto de *Baccharis trimera*

4.1.1 Fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos no extrato aquoso de *B. trimera* foi de $288,2 \pm 2,29$ mg de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (Tabela 1).

Tabela 1 - Teor de compostos fenólicos totais do extrato aquoso de *B. trimera*

Parâmetro Bioativo	Valor observado
Fenólicos totais	$288,2 \pm 2,29$ mg GAE/g*

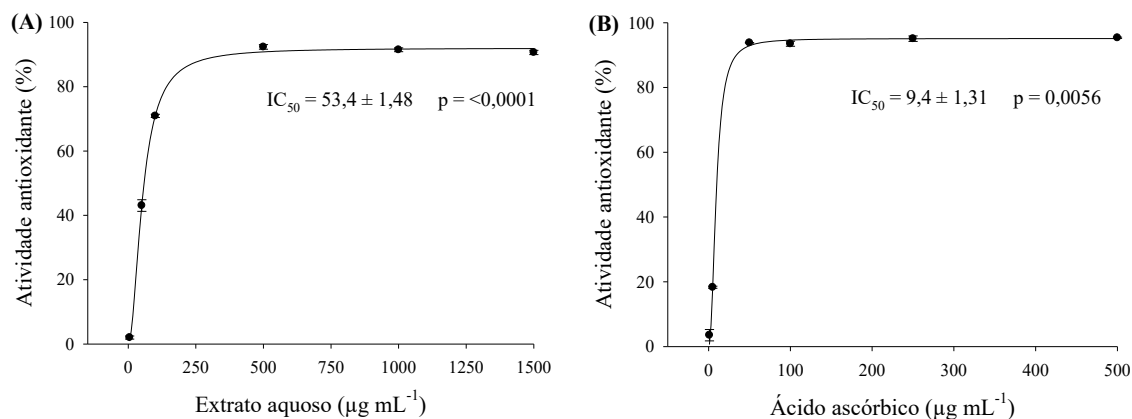
*Ácido gálico equivalente por grama de extrato

Fonte: A autoria própria (2022).

4.1.2 Atividade de sequestro do radical DPPH

Para a atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH, o extrato aquoso apresentou alta eficiência na inibição do radical DPPH, apresentando um valor de IC_{50} de $53,4 \pm 1,48$ $\mu\text{g mL}^{-1}$. Embora tenha apresentado eficiência, o resultado foi inferior quando comparado com o padrão de referência do ácido ascórbico, uma vez que a dose necessária do extrato foi maior que o padrão o qual apresentou IC_{50} de $9,4 \pm 1,31$ $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Atividade antioxidante do extrato aquoso de *B. trimera* (A) e padrão de ácido ascórbico (B) pelo método de DPPH

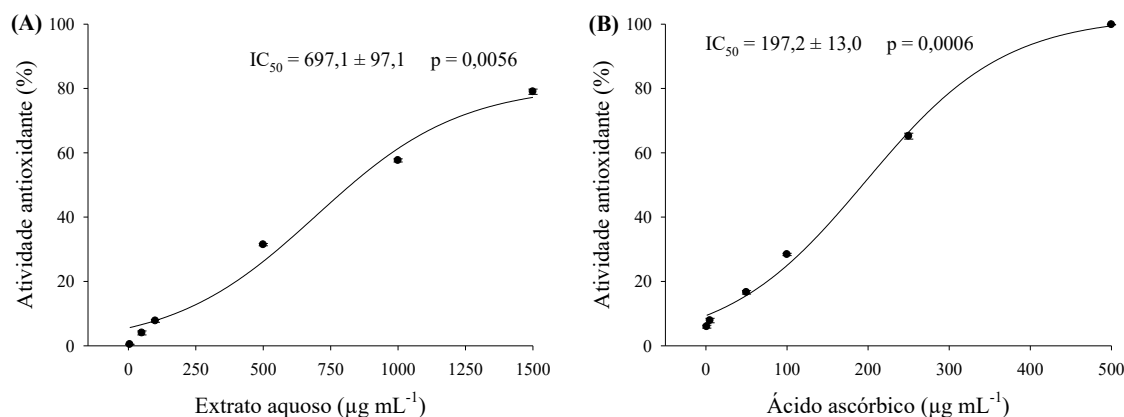


Fonte: Autoria própria (2022).

4.1.3 Atividade de sequestro do radical cátion ABTS

No ensaio antioxidante pelo sequestro do radical cátion ABTS, o extrato aquoso também apresentou alta eficiência, resultando em valor de IC_{50} de $697,1 \pm 97,1 \mu\text{g mL}^{-1}$, mas inferior em comparação ao padrão de ácido ascórbico que apresentou IC_{50} de $197,2 \pm 13,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Atividade antioxidante do extrato aquoso de *B. trimera* (A) e padrão de ácido ascórbico (B) pelo método de ABTS



Fonte: Autoria própria (2022).

4.2 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto pelo teste de microdiluição e atividade bactericida por *spot-test*

Após a incubação e adição da solução reveladora, a CIM revelou concentrações inibitórias variando entre 5 e 50 mg mL⁻¹ e importante atividade antimicrobiana sobre os isolados clínicos. Já o método de avaliação da concentração bactericida mínima (*Spot-test*) não demonstrou efeito bactericida (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos sorovares isolados clínicos de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* e linhagens ATCC pelo teste de microdiluição

Microrganismo	CIM (mg mL ⁻¹)	CBM (mg mL ⁻¹)
<i>S. Choleraesuis</i> (1542)	20	-
<i>S. Choleraesuis</i> (1548)	50	-
<i>S. Choleraesuis</i> (1568)	20	-
<i>S. Typhimurium</i> (20)	30	-
<i>S. Typhimurium</i> (29)	30	-
<i>S. Typhimurium</i> (592)	40	-
<i>S. Derby</i> (21)	20	-
<i>S. Derby</i> (49)	40	-
<i>S. Derby</i> (50)	40	-
<i>S. Agona</i> (64)	40	-
<i>S. Infantis</i> (1666)	40	-
<i>S. Infantis</i> (24)	40	-
<i>S. Senftenberg</i> (25)	20	-
<i>S. Senftenberg</i> (31)	30	-
<i>S. Panama</i> (54)	40	-
<i>S. Panama</i> (1664)	50	-
<i>Escherichia coli</i> (2337)	30	-
<i>Escherichia coli</i> (2338)	50	-
<i>Escherichia coli</i> (2339)	30	-
<i>Escherichia coli</i> (2340)	30	-
<i>Escherichia coli</i> (348)	20	-
<i>Escherichia coli</i> (283)	30	-
<i>Escherichia coli</i> (371)	20	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	5	-
<i>S. typhimurium</i> ATCC 0028	10	-

- Ausência de atividade bactericida nas doses testadas

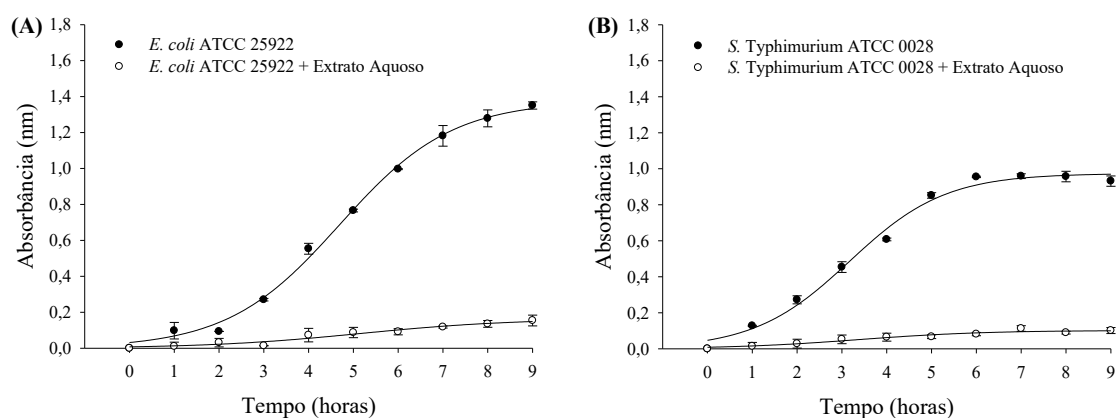
Fonte: Autoria própria (2022).

4.3 Curva de inibição bacteriana

A curva de inibição microbiana para as bactérias controle ATCC com concentração inicial de 0.1 em OD₆₀₀ nm demonstrou manutenção do efeito

antimicrobiano inibitório do extrato. Ambas as cepas de *E. coli* (ATCC 25922) e *S. Typhimurium* (ATCC 0028) apresentaram baixo crescimento microbiano na presença de extrato aquoso em suas respectivas doses de CIM, enquanto que, o crescimento controle sem extrato manteve o desenvolvimento durante o período avaliado (Gráfico 3).

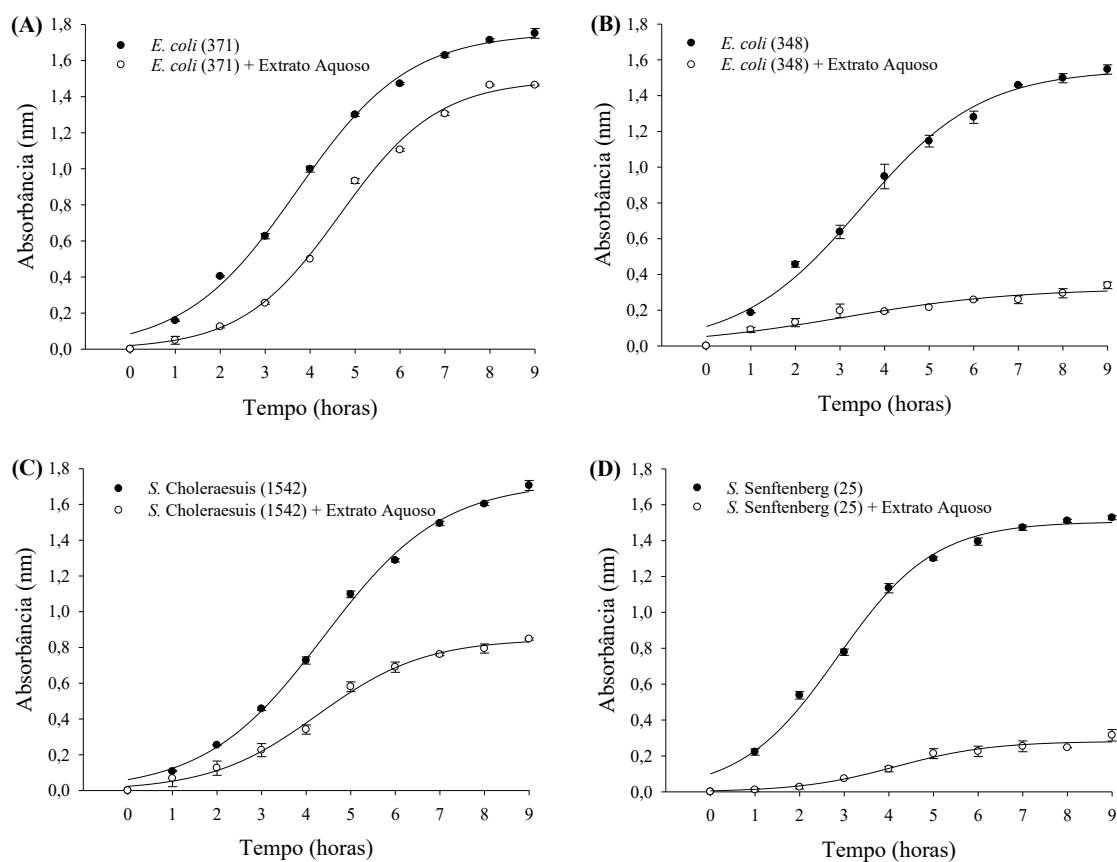
Gráfico 3 - Absorbância (nm) relativa ao crescimento celular de *E. coli* (A) e *S. Typhimurium* (B) (ATCC) na ausência e presença de extrato de carqueja na concentração de 5 e 10 mg mL⁻¹, respectivamente, para as bactérias



Fonte: Autoria própria (2022).

Para os isolados clínicos *E. coli* (371), *E. coli* (348), *S. Choleraesuis* (1542) e *S. Senftenberg* (25) o extrato aquoso demonstrou efeito inibitório no crescimento microbiano em níveis diferentes entre as cepas, destacando a suscetibilidade de algumas cepas em relação a outras. O cultivo de cada microrganismo na ausência do extrato manteve o desenvolvimento esperado durante a avaliação (Gráfico 4). O isolado clínico *E. coli* (371) foi o que apresentou menor sensibilidade ao extrato, a curva de inibição acompanha o perfil do inóculo controle, enquanto os isolados *E. coli* (348) e *S. Senftenberg* (25) foram os mais sensíveis à ação do extrato.

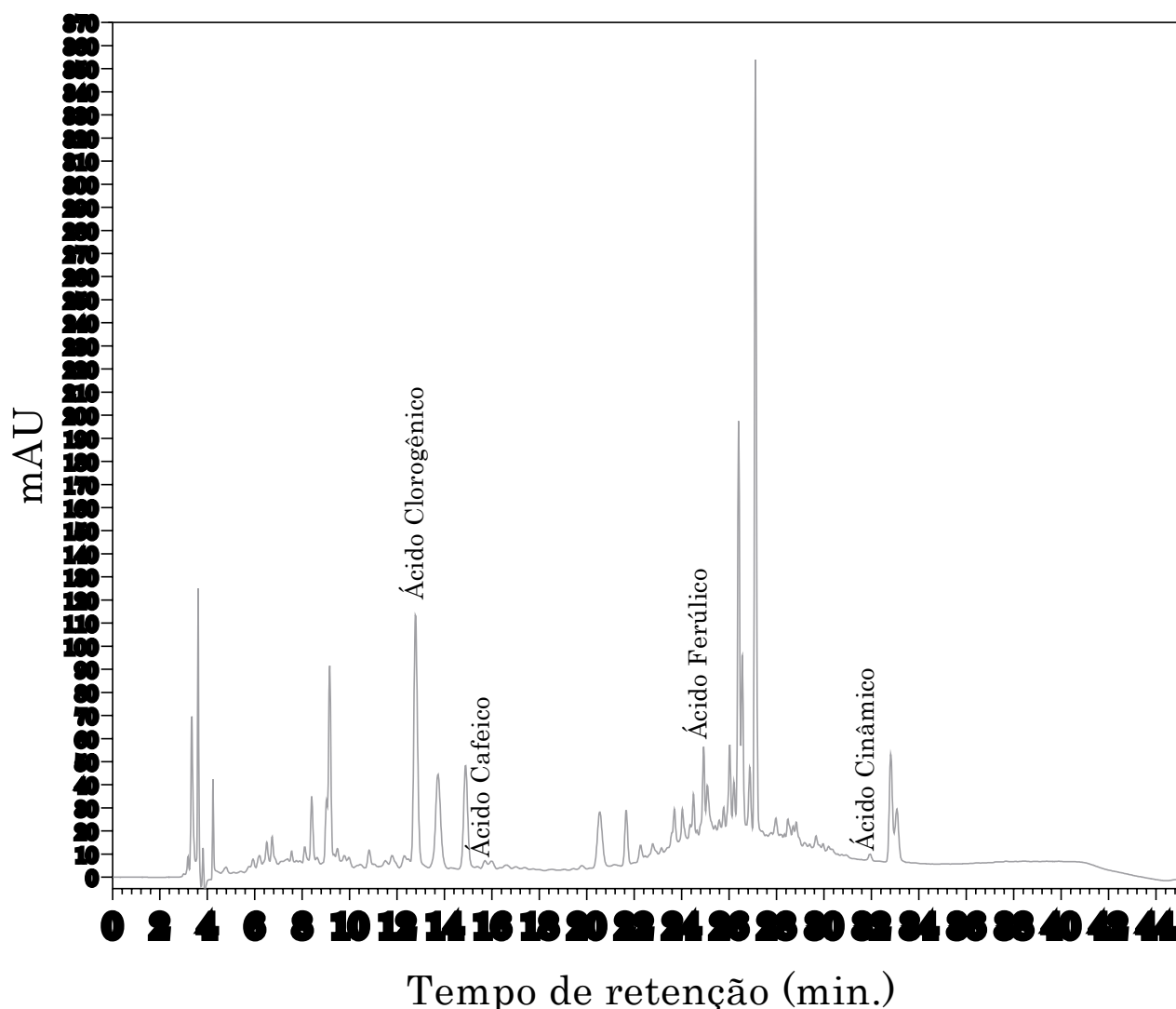
Gráfico 4 - Absorbância (nm) relativa ao crescimento celular de *E. coli* 371 (A) e 348 (B), *S. Choleraesuis* (1542) (C) e *S. Senftenberg* (25) (D) na ausência e presença de extrato aquoso de carqueja na concentração de 20 mg mL⁻¹



Fonte: Autoria própria (2022).

4.4 Identificação dos compostos presentes no extrato de *Baccharis trimera*

No extrato de *B. trimera* de 97 picos observados foram identificados quatro compostos, estando em maior concentração o ácido clorogênico (0,09189 mg g⁻¹), seguido do ácido ferúlico na concentração de 0,02138 mg g⁻¹, ácido caféico (0,0013 mg g⁻¹) e ácido cinâmico (0,00009 mg g⁻¹) (Gráfico 5).

Gráfico 5 – Cromatograma de CLAE do extrato aquoso da parte aérea de *B. trimera*

Fonte: Autoria própria (2022).

4.5 Encapsulação do extrato bruto

4.6 Compostos fenólicos totais, solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado, microscopia eletrônica de varredura, diâmetro e área de superfície e cinética de liberação do encapsulado

4.6.1 Avaliação de fenólicos totais contido no encapsulado

O teor de compostos fenólicos no encapsulado do extrato aquoso de *B. trimera* foi de $102 \pm 0,40$ mg de equivalente de ácido gálico por grama de encapsulado (Tabela 3).

Tabela 3 - Teor de compostos fenólicos totais em 687 μ g de microencapsulado de *B. trimera* (equivalente a 480 μ g de extrato bruto)

Parâmetro Bioativo	Valor observado
Fenólicos totais	$102 \pm 0,40$ mg GAE/g*

*Ácido gálico equivalente por grama de microencapsulado

Fonte: Autoria própria (2022).

4.6.2 Solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado

As cápsulas apresentaram solubilidade de 25,3% quando submetidas a agitação por 5 minutos em água. Para eficiência de encapsulação o resultado encontrado foi de 73% nas esferas produzidas de alginato e extrato vegetal e adicionalmente a carga de extrato contida do encapsulado também foi de 73% (Tabela 4).

Tabela 4 - Eficiência do processo de encapsulação do extrato aquoso de *B. trimera* e solubilidade em água

Parâmetro	Valor observado
Solubilidade em água	25,3%
Eficiência da encapsulação	73%
Carga de extrato no encapsulado	73%

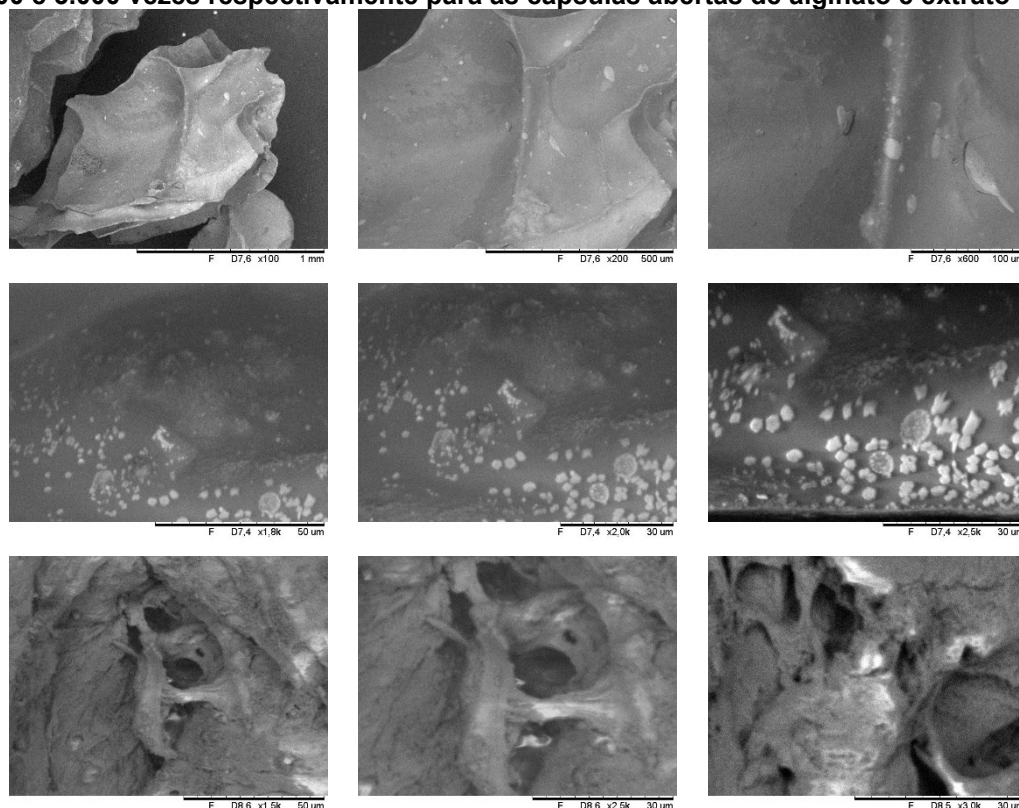
Fonte: Autoria própria (2022).

4.6.3 Microscopia eletrônica de varredura

As micrografias de microscopia eletrônica de varredura revelaram cápsulas com superfície irregular e rugosa semelhantes a “uva passa”, não apresentando dimensões uniformes. Embora não apresentem formato esférico, as paredes mostram-se integras, sem presença de macro-poros ou superfície que represente pontos de fragilidade. Os maiores aumentos de visualização das micrografias (1.800,

2.000, 2.500 vezes) permitem observar a interação entre os agentes encapsulantes e o extrato no aprisionamento satisfatório do conteúdo encapsulado (Figura 1).

Figura 1 - Microscopia eletrônica de 100, 200, 600, 1.800, 2.000, 2.500 X respectivamente para as cápsulas de alginato de sódio contendo extrato vegetal e microscopia eletrônica de 1.500, 2.500 e 3.000 vezes respectivamente para as cápsulas abertas de alginato e extrato vegetal



Fonte: Autoria própria (2022).

4.6.4 Determinação do diâmetro e área superficial do encapsulado

O encapsulado liofilizado de alginato de cálcio contendo o extrato liofilizado da parte aérea de *B. trimeria* aprisionado, apresentou diâmetro médio de $1,81 \pm 0,61$ mm na primeira amostra e $1,46 \pm 0,57$ mm na segunda amostra. A área de superfície do encapsulado foi de $37,18 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$ na primeira amostra e de $47,74 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$ na segunda amostra (Tabela 5).

Tabela 5 - Diâmetro e área superficial do encapsulado de *B. trimeria*.

Amostra	Diâmetro médio (mm)	Área de superfície (cm^2/cm^3)
1	$1,81 \pm 0,61$	37,18
2	$1,46 \pm 0,57$	47,74

Os valores são média \pm desvio padrão.

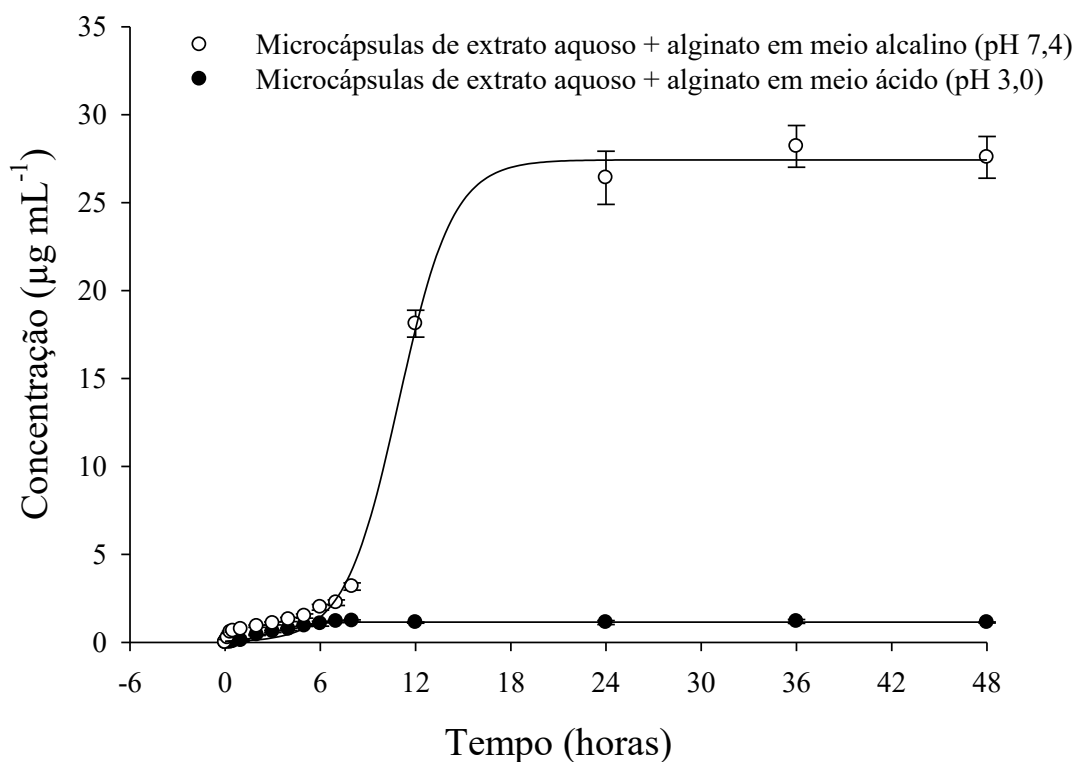
Fonte: Autoria própria (2022).

4.6.5 Cinética de liberação do encapsulado contendo extrato de *Baccharis trimera*

Os perfis de liberação *in vitro* de extrato de *Baccharis* das cápsulas de alginato foram investigadas em fluido gástrico simulado (pH 3,0) e fluido intestinal simulado (pH 7,4) durante 48 horas.

A liberação de extrato contido nas esferas ocorreu apenas na solução de pH alcalino (7,4), com pico de liberação observado entre as 12 e 18 horas de avaliação, mantendo perfil de liberação lenta e sustentada durante todo o período avaliado (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Cinética de liberação do microencapsulado de extrato aquoso e alginato em meio alcalino e ácido durante 48 horas



Fonte: Autoria própria (2022).

5 DISCUSSÃO

5.1 Determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante no extrato bruto de *Baccharis trimera*

5.1.1 Fenólicos totais

O alto valor de compostos fenólicos presentes no extrato aquoso de *B. trimera* destaca a importância da planta como um potencial agente antioxidante. Em estudo anterior realizado por Sabir *et al.* (2017), o teor de compostos fenólicos foi de $101 \pm 4,1$ mg GAE/g, inferior ao observado no presente estudo que foi 2,85 vezes superior. Durante o processo de reação oxidativa são geradas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio endógenas e fisiológicas (RABELO; COSTA, 2018), algumas condições podem causar o aumento na sua produção e a exposição excessiva alterar a homeostase redox (HE *et al.*, 2017). Como consequência, o estresse oxidativo tende a causar danos a organelas e biomoléculas importantes (HE *et al.*, 2017).

A fim de contornar os efeitos nocivos decorrentes da ação dessas espécies reativas de oxigênio, os organismos desenvolveram mecanismos de defesa preventivos e reparadores (RABELO; COSTA, 2018). Esse sistema de defesa pode ser classificado em enzimático e não enzimático, a defesa não enzimática inclui compostos carotenóides, polifenóis, vitaminas entre outros, responsáveis por eliminar os radicais livres ou suprimir sua produção (KANAAN; HARPER, 2018; KUMARI *et al.*, 2018). Portanto, os compostos fenólicos desempenham papel fundamental na eliminação de diferentes tipos de radicais livres.

5.1.2 Atividade de sequestro do radical DPPH

O agente antioxidante tem papel de remover radicais livres, o ensaio utilizando DPPH é aplicado para testar a inibição dos radicais em compostos cujas espécies reativas são originadas em lipídeos (YASUDA *et al.*, 2000).

A alta eficiência do extrato aquoso de *B. trimera* na eliminação dos radicais produzidos no ensaio é facilmente observada quando a dose necessária para inibir 50% dos radicais DPPH foi de apenas 5,7 vezes maior que o padrão de ácido ascórbico, enquanto que, essa relação foi 14,6 vezes superior (IC_{50} DPPH $415 \pm 12,1 \mu\text{g mL}^{-1}$; IC_{50} ácido ascórbico $28,4 \pm 1,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) em estudo realizado por Sabir *et al.* (2017), também com extrato aquoso da espécie. Embora o extrato bruto tenha apresentado alto potencial de atividade antioxidante, tais evidências se confirmam quando correlacionamos as doses de IC_{50} do extrato bruto utilizado no presente estudo e da fração purificada utilizada no mesmo teste realizado por Chaves *et al.* (2020), que foi de $16,82 \mu\text{g mL}^{-1}$, apenas 3,2 vezes inferior ao encontrado neste estudo e 24,7 vezes inferior ao resultado obtido por Sabir *et al.* (2017).

5.1.2 Atividade de sequestro do radical ABTS

O extrato aquoso de *B. trimera* também foi eficiente na redução do radical ABTS, com relação entre o IC_{50} do extrato e o ácido ascórbico de apenas 3,5 vezes, a qual foi menor que a observada no ensaio antioxidante usando DPPH. Em frações aquosas de amostras comerciais e coletadas de plantas do gênero *Baccharis* originadas de São Paulo e Paraná-Brasil, foi observado variação de IC_{50} de 6,07 e >100 entre as amostras e o IC_{50} de 7,24 para ácido ascórbico, resultando em uma relação IC_{50} (amostra/ácido ascórbico) de 0,87 a 13,8 vezes, respectivamente (STRUIVING *et al.*, 2020). Isso evidencia que o extrato analisado apresenta atividade antioxidante semelhante ao observado no estudo citado, uma vez que a relação de 3,5 vezes fica entre os resultados encontrados por Struiving *et al.* (2020).

A marcante atividade antioxidante do extrato pode estar relacionada à presença de polifenóis e flavonóides. Estudos anteriores demonstraram correlação positiva e alta entre a expressiva atividade antioxidante e presença de compostos fenólicos na amostra (KATALINIK *et al.*, 2006; FLOEGEL *et al.*, 2011). Pequenas variações nos resultados entre os métodos de ABTS e DPPH, são explicadas pelo fato de alguns compostos antirradicais serem inertes ou apresentarem uma taxa de reação mais lenta a esses radicais (STRUIVING *et al.*, 2020).

Substâncias que apresentam expressiva atividade antioxidante são reportadas como importantes agentes no controle de afecções cuja origem possa ser o desequilíbrio do sistema antirradicalar por apresentarem característica sequestrante de radicais livres (HAIDA *et al.*, 2012; SUZUKI *et al.*, 2012).

O uso popular de infusões de *B. trimera* é bastante empregado na medicina popular, uma das aplicações envolve o uso como protetor de mucosa gástrica (RABELO; COSTA, 2018). A ocorrência de úlceras gástricas é decorrente de um desequilíbrio entre fator de proteção e agressão da mucosa, o sistema antioxidante é o principal responsável por minimizar os efeitos negativos dos radicais livres e do estresse oxidativo (VALKO *et al.*, 2007; LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; SUZUKI *et al.*, 2012). Este efeito protetor tem sido demonstrado em estudos que datam a década de 90, a administração de extrato aquoso do gênero *Baccharis* foi eficiente na redução de secreção gástrica e aumento do pH gástrico em ratos, além da redução do índice de ulceração (GAMBERINI *et al.*, 1991).

Substâncias que atuam revertendo espécies de radicais livres e seus danos podem ser consideradas protetores de indução de úlceras gástricas (BONAMIN; MORAES; SANTOS, 2014) assim o efeito protetor de *B. trimera* em parte pode estar relacionado à supressão do estresse oxidativo destacando a importância da atividade antioxidante observada no presente estudo (LIVERO *et al.*, 2016).

5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato aquoso pelo teste de microdiluição e atividade bactericida por *spot-test*

O presente estudo demonstrou importante atividade antimicrobiana do extrato aquoso sobre microrganismos (*E. coli* e *Salmonella*) isolados clínicos patogênicos gram negativos de suínos. A atividade antimicrobiana da tintura de *B. trimera* foi eficaz ao inibir bactérias gram positivas como o isolado clínico de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *S. aureus* (ATCC 29213 e 6538) e gram negativas *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC PAO1), porém não apresentou atividade para *E. coli* (ATCC 35218) (SILVA *et al.*, 2018), diferente do encontrado no presente estudo em que o extrato aquoso inibiu o crescimento de linhagem *E. coli* ATCC e isolados clínicos enterotoxigênicos.

Em estudo com resíduo aquoso, fração n-BuOH (n-butanol), fração EtOAc (acetato de etila) e extrato bruto de *B. trimera* frente *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *Enterococcus faecalis* (ATCC 14506) e *Enterococcus faecium* (ATCC 10541), apenas houve atividade antimicrobiana para a bactéria gram positiva *S. aureus* na concentração de 1 mg mL⁻¹ quando utilizado extrato bruto (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Em extrato hidroalcolico de *B. trimera* não foi observada atividade inibitória sobre os microrganismos gram negativos ATCCs *K. pneumoniae* (27736), *S. typhi* (19430), *E. coli* EHEC (43895), *P. aeruginosa* (27853) mesmo na maior dose testada de 1,25 mg mL⁻¹, havendo atividade apenas para as gram positivas (ALEIXO *et al.*, 2013).

Considerando os resultados dos trabalhos citados anteriormente observa-se aparente susceptibilidade de microrganismos gram positivos a ação de diferentes extratos de *B. trimera*, inclusive sugerindo uma ação seletiva sobre esse grupo de microrganismos (RABELO; COSTA, 2018). Porém, os resultados obtidos neste estudo contradizem essa afirmação, uma vez que todos os microrganismos gram negativos testados, sorovares isolados clínicos de *Salmonella* e cepas de *E. coli* enterotoxigênicas foram sensíveis ao extrato no teste de microdiluição.

A menor concentração do extrato aquoso exigida para o controle de *E. coli* e *S. Typhimurium* (linhagens ATCC) no teste de microdiluição, em relação aos isolados clínicos e diferenças nos níveis de controle entre os isolados, indicam sensibilidade diferencial de cada cepa às doses testadas. Tal variabilidade pode ser atribuída a fatores de virulência adquiridos por cada cepa frente aos desafios antimicrobianos e durante o processo evolutivo (ANNOUS; FRATAMICO; SMITH, 2009; NAZZARO; FRATIANNI; COPPOLA, 2013). O efeito bacteriostático do extrato foi demonstrado pelo método *spot-test*, pelo qual o inóculo tende a permanecer com número de células viáveis próximo ao inicial e o retorno do crescimento microbiano acontece quando se interrompe a administração, o efeito bacteriostático é característico de drogas antimicrobianas como tetraciclinas e macrolídeos (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). A fim de melhorar o perfil de microbiota e diminuir os danos a mucosa, os antimicrobianos com efeito bacteriostático são uma alternativa mais segura por apresentarem menor toxicidade e efeitos colaterais (PANKEY; SABATH, 2004; NEMETH; OESCH; KUSTER, 2014).

5.3 Curva de inibição bacteriana

A inibição do crescimento microbiano na presença do extrato ocorreu de forma mais pronunciada nas bactérias ATCCs (*Salmonella* e *E. coli*) e com grande variação entre os isolados clínicos (*S. Choleraesuis* 1542, *S. Senftenberg* 25, *E. coli* 348 e 371), destacando novamente a sensibilidade diferencial entre cepas. O perfil da curva de inibição quando utilizado o extrato reforça o efeito bacteriostático observado no *spot-test*, enquanto que, o inóculo controle manteve crescimento esperado. Os microrganismos isolados clínicos em algum momento do seu processo evolutivo foram desafiados a adaptar-se a determinada condição do hospedeiro que permitisse colonização, multiplicação e consequente infecção. Esses desafios tendem a alterar a sua virulência e aumentar fatores de patogenicidade (ASLAM *et al.*, 2018), embora acredite-se que a virulência e a resistência a antimicrobianos tenham evoluído em eras distintas (FAIR; TOR, 2014), tais processos são importantes para a sobrevivência microbiana uma vez que a resistência à terapêutica antimicrobiana é imprescindível para a manutenção do crescimento microbiano (MARTINEZ; BAQUERO, 2002).

Ao utilizar tintura de *B. trimera* Silva *et al.* (2018), demonstrou efeito importante na inibição da formação de biofilme, resultado de grande importância tendo em vista a dificuldade no controle de biofilmes bacterianos. Os resultados citados, somados aos encontrados neste estudo reforçam a importância de ensaios toxicológicos e a elucidação do mecanismo de ação dos derivados da planta que apresentam atividade antimicrobiana a fim de aplicá-los no controle de infecções.

5.4 Identificação dos compostos presentes no extrato de *Baccharis trimera*

A identificação de compostos detectados na cromatografia restringiu-se a apenas quatro compostos, os demais não identificados possivelmente sejam derivados. Em extrato aquoso de folhas dessa mesma espécie, Rabelo *et al.* (2017), encontraram 15 compostos, sendo a maioria (12) derivados de ácido cafeico e ácido

ferúlico e 3 flavonóides. Outros estudos envolvendo diferentes tipos de extratos dessa espécie, encontraram flavonóides, derivados do ácido cafeico e diterpenos (ABAD; BERMEJO, 2007; VERDI *et al.*, 2005; LÍVERO *et al.*, 2016a).

Em extrato aquoso de folhas de *B. trimera* foi detectada a presença de ácido gálico ($45,8 \text{ mg g}^{-1}$), rutina ($15,1 \text{ mg g}^{-1}$) e quercitina ($5,1 \text{ mg g}^{-1}$) (SABIR *et al.*, 2017), os quais são potenciais agentes antioxidantes (ROBERT *et al.*, 2008) e foi o primeiro relato a encontrar tais compostos na espécie (SABIR *et al.*, 2017). Esses compostos não foram identificados no presente estudo, o que pode ser devido as diferenças na metodologia de CLAE empregada, visto que os padrões desses compostos estavam presentes na análise. Portanto, os compostos não identificados no presente estudo também podem estar envolvidos na importante atividade antioxidante observada.

Lívero *et al.* (2016b), ao induzir cirrose hepática (10% de etanol) em camundongos e em seguida ao fornecer de forma oral extrato hidroetanólico de *B. trimera*, o estresse oxidativo induzido pelo etanol no fígado foi revertido, reduzida a lipoperoxidação, normalizada a atividade de glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, superóxido dismutase e catalase. Assim como, foram reduzidos os níveis de glutathione reduzida e espécies que reagem ao oxigênio. Os autores supracitados apontam que o extrato de *B. trimera* pode ser um tratamento farmacológico promissor para a doença hepática alcoólica. Da mesma forma, Rabelo *et al.* (2017), observou que extrato de *B. trimera* foi capaz de minimizar os danos oxidativos, melhorou a defesa antioxidante e atenuando a esteatose hepática, apontando como potencial agente terapêutico para hepatoproteção.

5.5 Compostos fenólicos totais, solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado, microscopia eletrônica de varredura e cinética de liberação do encapsulado

5.5.1 Avaliação de fenólicos totais contido no encapsulado

O encapsulado manteve a presença de fenólicos totais, sendo que a relação entre extrato e alginato influencia significativamente no teor de compostos quando avaliado. Os extratos vegetais normalmente são ricos em presença destes compostos,

apresentam altas concentrações de fenólicos uma vez que são metabólitos especializados das plantas (ROLEIRA *et al.*, 2015).

As substâncias bioativas apresentam instabilidade alta, podendo sofrer degradação por inúmeros fatores e ter sua funcionalidade comprometida (BOTELHO; CANAS; LAMEIRAS, 2016). Com objetivo de conservar as propriedades dos compostos com efeito antioxidante a encapsulação tende a preservar os compostos fenólicos aumentando a sua estabilidade durante o armazenamento (NUNES *et al.*, 2015), como observado no presente trabalho.

5.5.2 Solubilidade em água, eficiência da encapsulação e carga de extrato no encapsulado

A solubilidade em água é um parâmetro importante na estabilidade de uma molécula, fator fundamental a ser considerado para a via de administração. A insolubilidade em água apresenta-se como uma característica requerida no presente estudo, uma vez que as esferas não deveriam ser prontamente desintegradas ao serem administradas mantendo característica viscosa e de liberação lenta. A encapsulação utilizando o alginato de sódio se mostra eficiente na reticulação de compostos, embora seja solúvel em água, esta forma uma estrutura em gel que aprisiona o composto e permite uma liberação controlada (LI *et al.*, 2009; LOPES *et al.*, 2016).

A liberação dos compostos reticulados nesta matriz se dá por meio de difusão decorrente do relaxamento da matriz geleificante (LI *et al.*, 2009). Dentre as vantagens de utilizar o alginato como biopolímero de encapsulação podemos destacar a ausência de toxicidade, retenção de materiais sensíveis devido a formação de matriz suave com o cloreto de cálcio, apresenta amplo uso como aditivo alimentar além de ter baixo custo (CHÁVARRI *et al.*, 2010).

A eficiência do processo de encapsulação e a carga do extrato são parâmetros que tendem a aumentar com o aumento do teor de alginato, conforme observado por Yan *et al.*, (2014) ao avaliar a aumento do teor de alginato variando de 1,0% a 3,5% na solução de encapsulação.

Além da influência sobre a eficiência e carga, os diferentes teores de alginato e a sua proporção entre encapsulante/extrato afeta a viscosidade da solução, influenciando no formato da cápsula produzida. Os resultados encontrados no presente estudo são sustentados pelas observações realizadas por Yan *et al.*, (2014) que também visualizou um aumento na eficiência de encapsulação e carga de extrato ao utilizar uma proporção maior de extrato para agente encapsulante.

5.5.3 Microscopia eletrônica de varredura

Pela micrografia das cápsulas é possível observar que o encapsulado não apresenta formato regular, nota-se uma variação na morfologia que é explicada pela proporção entre núcleo e material reticulante, essa variação também foi observada por Yan *et al.* (2014), ao produzir encapsulado utilizando diferentes proporções entre núcleo e alginato, tal relação parece ser determinante para obtenção de formato esférico do encapsulado.

Adicionalmente ao efeito da relação extrato/alginato, o processo de secagem do encapsulado também pode alterar a morfologia do produto. A sublimação envolvida no processo de liofilização que foi empregado a fim de conservar e manter as propriedades do extrato, é caracterizada pela rápida remoção da água sob baixa temperatura e contribui para o aspecto mais achatado e morfologia irregular (YAN *et al.*, 2014; CUJIC *et al.*, 2016).

Durante o processo de imobilização celular de *Lactobacillus acidophilus* por gelificação iônica Lasta *et al.* (2021), utilizando alginato de sódio nas mesmas proporções avaliadas no presente estudo, também observaram irregularidade na superfície das esferas produzidas decorrente principalmente do processo de liofilização a que foram submetidas. A formação de cristais de gelo durante a preparação das esferas somada a rápida remoção da água por efeito da liofilização são fatores importantes que contribuem para a morfologia final do encapsulado, promovem uma deformação na esfera produzida e presença de sulcos e ranhuras em sua superfície (DOLLY *et al.*, 2011; HADIYANTO *et al.*, 2017; BASSANI *et al.*, 2019; LASTA *et al.*, 2021).

O aspecto irregular das cápsulas também foi observado por VARGAS *et al.* (2021), ao utilizar matriz de alginato para encapsular extrato vegetal de erva mate e liofilização como processo de secagem, similarmente ao realizado no presente estudo, os autores correlacionam a irregularidade das esferas à rápida remoção da água durante a secagem e também à viscosidade da solução decorrente da maior proporção de extrato para alginato. Embora o encapsulado não apresente formato regular e esférico, esses aspectos não influenciam na capacidade de retenção e proteção do composto imobilizado (VARGAS *et al.*, 2021).

5.5.4 Determinação do diâmetro e área superficial do encapsulado

O diâmetro do encapsulado de alginato de cálcio (alginato de sódio + cloreto de cálcio) foi semelhante ao obtido por Lasta *et al.* (2021), que foi $1,73 \pm 0,16$ mm e por Yan *et al.* (2014), que obteve $2,54 \pm 0,18$ mm (sem quitosana) a $1,36 \pm 0,07$ mm (com adição de 3% de quitosana), os quais também usaram alginato de cálcio. Isso demonstra que o processo de encapsulação foi eficiente em gerar partículas de encapsulado de tamanho pequeno, com área superficial suficiente para favorecer a liberação do extrato aprisionado.

5.5.5 Cinética de liberação do encapsulado contendo extrato de *Baccharis trimera*

Espera-se que um encapsulado proteja o material revestido e possua capacidade de liberação em determinada condição. O perfil de liberação simulada em diferentes condições de pH mostra-se eficiente para demonstrar a capacidade de resistência ou suscetibilidade de um material de revestimento frente a ação do suco gástrico ou conteúdo intestinal (YAN *et al.*, 2014). Tratando-se do uso de encapsulados com efeito fitobiótico e como aditivo alimentar se deseja que a liberação ocorra no segmento intestinal, com efeito protetor do suco gástrico e rápida absorção intestinal (YOO *et al.*, 2006).

Ao avaliar o perfil de liberação de ficocianina em modelo simulado de pH ácido e alcalino, Yan *et al.* (2014), observou taxa de liberação mais lenta quando as esferas permaneceram no pH ácido. Ao transferir as esferas para o meio com pH alcalino o

aumento de liberação foi expressivo, de modo que a liberação inicial foi maior seguida de um decréscimo, resultado similar ao relatado por Manconi *et al.* (2010) e Yoo *et al.* (2006). No presente trabalho o perfil de liberação apresentou comportamento similar aos trabalhos mencionados anteriormente, observou-se maior liberação do extrato em pH alcalino quando comparado ao pH ácido durante todo o período de avaliação. As concentrações liberadas encontraram-se baixas no meio por conta da porosidade da membrana utilizada que reteu grande quantidade do extrato em seu interior limitando a passagem para o meio.

O processo de encapsulação utilizando alginato se mostra uma importante ferramenta para imobilização celular ou de outros compostos, é eficiente na proteção, aprisionamento e liberação do conteúdo. Lasta *et al.* (2021), avaliou o uso de alginato na imobilização celular de células probióticas, a técnica revelou eficiência significativa na proteção das células contra o pH gástrico mantendo alta taxa de sobrevivência após passagem pelo suco gástrico simulado. O comportamento das esferas produzidas pelo autor é muito similar ao observado no presente trabalho, permitindo inferir que a técnica de geleificação iônica utilizando alginato de sódio pode ser utilizada para imobilizar extratos vegetais e promover uma liberação gradual e segura dos compostos.

Similar as condições de pH simuladas, o trato gastrointestinal dos suínos também sofre variações a depender do segmento avaliado, o estômago apresenta pH mais ácido decorrente da presença de enzimas digestivas e secreção de suco gástrico, enquanto que, o segmento intestinal apresenta pH alcalino, variando à medida que evolue para a porção mais distal do intestino até chegar ao ceco (HEO *et al.*, 2013). Em leitões a maturidade do trato gastrointestinal não está completa na fase inicial do desmame, o conteúdo estomacal ainda apresenta um pH mais elevado sendo necessária a administração conjunta de ácidos orgânicos que possam auxiliar na redução do pH favorecendo a ativação de enzimas proteolíticas (DENCK; HILGEMBERG; LEHNEN, 2017). Considerando a administração do encapsulado a um suíno, este não sofrerá liberação nas porções iniciais do trato digestivo (estômago), sendo liberado ao alcançar as porções distais (intestino delgado e grosso) atuando como modulador de microbiota ao exercer efeito bacteriostático sobre os microrganismos e agente antioxidante pelo seu efeito sequestrante de radicais livres.

6 CONCLUSÕES

Conclui-se a partir dos resultados obtidos que o extrato aquoso de *B. trimera* se mostrou rico em compostos fenólicos e com elevada capacidade de remoção de radicais DPPH e ABTS.

Também se verificou potencialidade antimicrobiana do extrato liofilizado, o qual apresentou atividade bacteriostática considerável sobre todos os sorovares isolados clínicos de *Salmonella* e *E. coli* testados. Para as linhagens ATCCs testadas os resultados foram ainda melhores com dose de inibição de 5 mg mL⁻¹ e 10 mg mL⁻¹ para *E. coli* (ATCC 25922) e *S. Typhimurium* (ATCC 0028), respectivamente. Os resultados de atividade antimicrobiana demonstraram efetividade na inibição e uma sensibilidade diferencial entre as cepas.

A análise da CLAE, revelou maior concentração do ácido clorogênico, seguido do ácido, ácido caféico e ácido cinâmico, compostos que podem estar relacionados as atividades antimicrobianas e antioxidantes observadas.

Após a encapsulação do extrato aquoso de *B. trimera* continuou apresentando significativo teor de compostos fenólicos. O encapsulado apresentou baixa solubilidade em água, fator importante para manutenção da integridade da cápsula em soluções aquosas. A encapsulação foi eficiente e adicionalmente a carga de extrato contida no encapsulado também foi alta, demonstrando que o uso da técnica de aprisionamento do extrato foi positivo.

A eficiência da técnica também foi demonstrada pelas micrografias de microscopia eletrônica de varredura que revelaram cápsulas com superfície irregular e rugosa semelhantes a “passas”, não apresentando dimensões uniformes, porém integras.

Os perfis de liberação *in vitro* de extrato de *Baccharis* das cápsulas de alginato revelaram melhor condição para liberação na solução de pH alcalino (7,4), com pico observado entre as 12 e 18 horas de avaliação, mantendo perfil de liberação lenta e sustentada durante todo o período avaliado.

REFERÊNCIAS

- ABAD, M. J.; BERMEJO, P. *Baccharis* (Compositae): a review update. **Arkivoc** v. 7, p. 76–96, 2007
- ADHIKARI, P.; KIESS, A.; ADHIKARI, R.; JHA, R. An approach to alternative strategies to control avian coccidiosis and necrotic enteritis. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 29, n. 2, p. 515-534, 2020.
- ALEIXO, A. A.; HERRERA, K. M. S.; RIBEIRO, R. I. M. A.; LIMA, L. A. R. S.; FERREIRA, J. M. S. Antibacterial activity of *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja) against bacteria of medical interest. **Revista Ceres**, v. 60, n. 5, p. 731-734, 2013.
- ALMEIDA, F. S.; RIGOBELLO, E. C.; MARIN, J. M.; MALUTA, R. P.; ÁVILA, F. A. Diarréia suína: estudo da etiologia, virulência e resistência a antimicrobianos de agentes isolados em leitões na região de Ribeirão Preto-SP. **ARS Veterinária**, v. 23, n. 3, p. 151-157, 2007.
- ALMEIDA, M. N.; VEARICK, G.; LIPPKE, R. T.; LAGEMANN, F. L.; CORREA, A. M. R.; BARCELLOS, D. E. S. N. Úlceras gástricas em suínos. **A Hora Veterinária**, v. 153, n. 2, p. 62-63, 2006.
- ANGELAKIS, E. Weight gain by gut microbiota manipulation in productive animals. **Microbial Pathogenesis**, v. 106, p. 1-9, 2016.
- ANJOS, C. M.; GOIS, F. D.; ANJOS, C. M.; ROCHA, V. S.; CASTRO, D. E. S.; ALLAMAN, I. B.; SILVA, F. L.; CARVALHO, P. L. O.; MENEGHETTI, C.; COSTA, L. B. Effects of dietary beta-glucans, glucomannans and mannan oligosaccharides or chlorohydroxyquinoline on the performance, diarrhea, hematological parameters, organ weight and intestinal health of weanling pigs. **Livestock Science**, v. 223, n. 3, p. 39-46, 2019.
- ANNOUS, B. A.; FRATAMICO, P. M.; SMITH, J. L. Quorum sensing in biofilms: why bacteria behave the way they do. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 1, 2009.
- ARAÚJO, G. R.; RABELO, A. C. S.; MEIRA, J.S.; ROSSONI-JÚNIOR, J. V.; BORGES, W. C.; SÁ, R. G.; BATISTA, M. A.; LEMOS, D. S.; SOUZA, G. H. B.; BRANDÃO, G. C.; CHAVES, M. M.; COSTA, D. C. *Baccharis trimera* inhibits reactive oxygen species production through PKC and down-regulation p47 phox phosphorylation of NADPH oxidase in SK Hep-1 cells. **Experimental Biology and Medicine**, v. 242, n. 3, p. 333-343, 2017.
- ASLAM, B.; WANG, W.; ARSHAD, M. I.; KHURSHID, M.; MUZAMMIL, S.; RASOOL, M. H.; NISAR, M. A.; ALVI, R. F.; ASLAM, M. A.; QAMAR, M. U.; SALAMAT, M. K. F.; BALOCH, Z. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1645–1658, 2018.

BAGNO, O. A.; PROKHOROV, O. N.; SHEVCHENKO, S. A.; SHEVCHENKO, A. I.; DYADICHKINA, T. V. Use of phytobiotics in farm animal feeding. **Agricultural Biology**, v. 53, n. 4, p. 687-697, 2018.

BASSANI, J. C.; SANTOS, V. A. Q.; BARBOSA-DEKKER, A. M.; DEKKER, R. F. H.; CUNHA, M. A. A.; PEREIRA, E. A. Microbial cell encapsulation as a strategy for the maintenance of stock cultures. **LWT**, v. 102, p. 411-417, 2019.

BEARSON, S. M. D.; ALLEN, H. K.; BEARSON, B. L.; LOOFT, T.; BRUNELLE, B. W.; KICH, J. D.; TUGGLE, C. K.; BAYLES, D. O.; ALT, D.; LEVINE, U. Y.; STANTON, T. B. Profiling the gastrointestinal microbiota in response to *Salmonella*: low versus high *Salmonella* shedding in the porcine host. *Infection*. **Genetics and Evolution**, v. 16, p. 330-340, 2013.

BENNETT, A.; BOGORAD, L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of Cell Biology**, v. 58, n. 2, p. 419-435, 1973.

BENTO, M. H. L.; OUWEHAND, A. C.; TIIHONEN, K.; LAHTINEN, S.; NURMINEN, P.; SAARINEN, M. T.; SCHULZE, H.; MYGIND, T.; FISCHER, J. Essential oils and their use in animal feeds for monogastric animals – Effects on feed quality, gut microbiota, growth performance and food safety: a review. **Veterinárni Medicina**, v. 58, n. 9, p. 449-458, 2013.

BESTEN, G. D.; EUNEN, K. V.; GROEN, A. K.; VENEMA, K.; REIJNGOUD, D. J.; BAKKER, B. B. M.; The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of Lipid Research**, v. 54, 2013.

BIONDO, T. M. A.; TANAE, M. M.; COLETTA, E. D.; LANDMAN, M. T. R. L.; LAPA, A. J.; SOUCCAR, C. Antisecretory actions of *Baccharis trimera* (Less.) DC aqueous extract and isolated compounds: analysis of underlying mechanisms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 2, p. 368-373, 2011.

BIRT, D. F.; BOYLSTON, T.; HENDRICH, S.; JANE, J. L.; HOLLIS, J.; LI, L.; MCCLELLAND, J.; MOORE, S.; PHILLIPS, G. J.; ROWLING, M.; SCHALINSKE, K.; SCOTT, M. P.; WHITLEY, E. M. Resistant starch: promise for improving human health. **Advances in Nutrition**, v. 4, n. 6, p. 587–601, 2013.

BONAMIN, F.; MORAES, T. M.; SANTOS, R. C. The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: the role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 5, n. 212, p. 11-19, 2014.

BORELLA, J. C.; DUARTE, D. P.; NOVARETTI, A. A. G.; JR, A. M.; FRANÇA, S. C.; RUFATO, C. B.; SANTOS, P. A. S.; VENEZIANI, R. C. S.; LOPES, N. P. Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n. 4, p. 557-561, 2006.

BOTELHO, G.; CANAS, S.; LAMEIRAS, J. Development of phenolic compounds encapsulation techniques as a major challenge for food industry and for health and nutrition fields. **Nutrient Delivery**, v. 1, p. 535-586, 2016.

BOYEN, F.; HAESEBROUCK, F.; MAES, D.; IMMERSEEL, F. V.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F. Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: A closer look at epidemiology, pathogenesis and control. **Veterinary Microbiology**, v. 130, p. 1-19, 2008.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v. 158, p. 1-14, 2010.

BRESTOFF, J. R.; ARTIS, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. **Nature immunology**, v. 14, n. 7, 2013.

BRUM, J. S.; KONRADT, G.; BAZZI, T.; FIGHERA, R. A.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Características e frequência das doenças de suínos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 1208-1214, 2013.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R. Análise morfoanatômica comparativa de duas espécies de carqueja: *Baccharis microcephala* DC. e *B. trimera* (Less.) DC., Asteraceae. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, 2009.

CANESCHI, C. A.; MARTINS, F. J.; LARRUDÉ, D. G.; ROMANI, E. C.; BRANDÃO, M. A. F.; RAPOSO, N. R. B. In vitro antifungal activity of *Baccharis trimera* Less (DC) essential oil against dermatophytes. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.14, n. 11, p. 2083-2089, 2015.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, n. 4, p. 420-428, 2005.

CHÁVARRI, M.; MARAÑÓN, I.; ARES, R.; IBÁÑEZ, F.C., MARZO, F.; VILLARÁN, M.C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.142, p. 185-189, 2010.

CHAVES, P. F. P.; ADAMI, E. R.; ACCO, A.; IACOMINI, M.; CORDEIRO, L. M. C. Chemical characterization of polysaccharides from *Baccharis trimera* (Less.) DC. Infusion and its hepatoprotective effects. **Food Research International**, v. 136, p. 109510, 2020.

CLSI (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE). **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico: norma aprovada**. 6ª Ed. M7-A6. Pennsylvania: CLSI, v. 23, n. 2, 2003a.

CROXEN, M. A.; LAW, R. J.; SCHOLZ, R.; KEENEY, K. M.; WLODARSKA, M.; FINLAY, B. B. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013.

CUJIC, N.; TRIFKOVIC, K.; BUGARSKI, B.; IBRIC, S.; PLJEVLJAKUSIC, D.; SAVIKIN, K. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) extract loaded in alginate and alginate/inulin system. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 120-131, 2016.

DABBAH, R.; EDWARDS, V. M.; MOATS, W. A. Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria. **Applied Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 27-31, 1970.

DADI, H. T.; VAHJEN, W.; ZENTEK, J.; MELZIG, M. F.; GRANICA, S.; PIWOWARSKI, J. P. *Lythrum salicaria* L. herb and gut microbiota of healthy post-weaning piglets. Focus on prebiotic properties and formation of postbiotic metabolites in ex vivo cultures. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 261, 113073, 2020.

DENCK, F. M.; HILGEMBERG, J. O.; LEHNEN, C.R. Uso de acidificantes em dietas para leitões em desmame e creche. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 256, p. 629-638, 2017.

DOLLY, P.; ANISHAPARVIN, A.; JOSEPH, G. S.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (mtcc 5422) by spray-freeze-drying method and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. **Journal of Microencapsulation**, v. 28, n. 6, p. 568-574, 2011.

DONALDSON, T. M.; NEWBERRY, R. C.; SPINKA, M.; CLOUTIER, S. Effects of early play experience on play behaviour of piglets after weaning. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 79, p. 221-231, 2002.

DOO, E. H.; SCHWAB, C.; CHASSARD, C.; LACROIX, C. Cumulative effect of yeast extract and fructooligosaccharide supplementation on composition and metabolic activity of elderly colonic microbiota in vitro. **Journal of Functional Foods**, v. 52, p. 43-53, 2019.

DOWARAH, R.; VERMA, A. K.; AGARWAL, N. The use of *Lactobacillus* as an alternative of antibiotic growth promoters in pigs: a review. **Animal Nutrition**, p. 1-6, 2016.

EBRAHIMABADI, A. H.; DJAFARI-BIDGOLI, Z.; MAZOOCHI, A.; KASHI, F. J.; BATOOLI, H. Essential oils composition, antioxidant and antimicrobial activity of the leaves and flowers of *Chaerophyllum macropodium* Boiss. **Food Control**, v. 21, p. 1173-1178, 2010.

FAIR, R. J.; TOR, Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. **Perspectives in Medicinal Chemistry**, v. 6, p. 25-64, 2014.

FLOEGEL, A.; KIM, D.O.; CHUNG, S.J.; KOO, S.I.; CHUN, O.K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 1043-1048, 2011.

FOUHSE, J. M.; ZIJLSTRA, R. T.; WILLING, B. P. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. **Animal Frontiers**, v. 6, n. 3, 2016.

GABERINI, M. T.; SKORUPA, L. A.; SOUCCAR, C.; LPA, A. J. Inhibition of gastric secretion by a water extract from *Baccharis triptera*, Mart. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, sup. 2, p. 137-139, 1991.

GE, X.; WAN, Z.; SONG, N.; FAN, A.; WU, R. Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 1, p. 122-128, 2009.

GENÉ, R. M.; CARTANA, C.; ADZET, T.; MARÍN, E.; PARELLA, T.; CANIGUERAL, S. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its active constituents. **Planta Medica**, v. 62, n. 3, p. 232-235, 1996.

GHEISAR, M. M.; KIM, I. H. Phytobiotics in poultry and swine nutrition – a review. **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 1, p. 92-99, 2017.

GIUBERTI, G.; GALLO, A.; MAURIZIO, M.; MASOERO, F. New insight into the role of resistant starch in pig nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 201, p. 1-13, 2015.

GONG, J.; YIN, F.; HOU, Y.; YIN, Y. Review: Chinese herbs as alternatives to antibiotics in feed for swine and poultry production: Potential and challenges in application. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 94, p. 223-241, 2014.

GONZALEZ, A. G. M.; CERQUEIRA, A. M. F. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in the animal reservoir and food in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, p. 1568-1582, 2019.

GRESSE, P.; DURAND, F. C.; FLEURY, M. A.; WIELE, T. V.; FORANO, E.; DIOT, S. B. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 10, p. 851-873, 2017.

GRESSE, R.; DURAND, F. C.; DUNIERE, L.; BLANQUET-DIOR, S.; FORANO, E. microbiota composition and functional profiling throughout the gastrointestinal tract of commercial weaning piglets. **Microorganisms**, v. 7, n. 343, 2019.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n.3, 2010.

HADIYANTO, M. S.; SETYAWAN, D.; MAJID, D.; SUTANTO, H. Encapsulation of phycocyanin-alginate for high stability and antioxidant activity. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 55, 2017.

HAIDA, K. S.; HAAS, J. LIMA, D. S.; HAIDA, K. Y.; SILVA, F.J.; LIMANA, S.; RODRIGUES, R. T. Atividade antioxidante e compostos fenólicos de *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 5, n. 2, p. 360-368, 2012.

HE, L.; HE, T.; FARRAR, S.; JI, L.; LIU, T.; MA, X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 44, n. 2, p. 532-553, 2017.

HENDRIKSEN, R. S.; VIEIRA, A.; KARLSMOSE, S.; WONG, D. M. A. L. F.; JENSEN, A. B.; WEGENER, H. C.; AARESTRUP, F. M. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the world health organization global foodborne infections network country data bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 8, n. 8, 2011.

HEO, J. M.; OPAPEJU, F. O.; PLUSKE, J. R.; KIM, J. C.; HAMPSON, D. J.; NYACHOTI, C. M. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, n. 2, p. 207-237, 2013.

IURCKEVICZ, G.; DAHMER, D.; SANTOS, V. A. Q.; VETVICKA, V.; BARBOSA-DEKKER, A. M.; DEKKER, R. F. H.; MALFATTI, C. R. M.; CUNHA, M. A. A. Encapsulated Microparticles of (1→6)- β -Glucan Containing Extract of *Baccharis dracunculifolia*: Production and Characterization. **Molecules**, v. 24, n. 11, e2099, 2019.

JACOBSON, M.; GERTH-LOFSTEDT, M.; HOLMGREN, N.; LUNDEHEIM, N.; FELLSTROM, C. The prevalences of *Brachyspira* spp. and *Lawsonia intracellularis* in Swedish piglet producing herds and wild boar population. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 52, p. 386-391, 2005.

JANG, I. S.; KO, Y. H.; KANG, S. Y.; LEE, C. Y. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 134, p. 304-315, 2007.

JÚNIOR, J. G. C.; ARAÚJO, G. M.; VLELTES, F. M.; ABREU, J. G.; COCHOVE, V. C.; SILVA, G. S. Causas de mortalidade em leitões em granja comercial do médio-norte de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 12-15, 2010.

KANAAN, G. N.; HARPER, M. E.; Cellular redox dysfunction in the development of cardiovascular diseases. **Elsevier Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1861, n. 11, p. 2822-2829, 2017.

KARIMI, A.; MAJLESI, M.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Herbal versus synthetic drugs; beliefs and facts. **Journal of Nephro pharmacology**, v. 4, n. 1, p. 27-30, 2015.

KATALINIC, V.; MILOS, M.; KULISIC, T.; JUKIC, M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. **Food Chemistry**, v. 94, p. 550-557, 2006.

KENNY, M.; SMIDT, H.; MENGHERI, E.; MILLER, B. Probiotics – do they have a role in the pig industry? **Animal**, v. 5, n. 3, p. 462-470, 2010.

KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORÉS, N.; NOGUEIRA, M. G.; CARDOSO, M.; FRATAMICO, P. M.; CALL, J. E.; CRAY, P. F.; LUCHANSKY, J. B. Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 151, p. 307-313, 2011.

KIL, D. Y.; STEN, H. H. Invited Review: Management and feeding strategies to ameliorate the impact of removing antibiotic growth promoters from diets fed to weanling pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 90, p. 447-460, 2010.

KNECHT, D.; CHOLEWINSKA, P.; MAKOSA, A. J.; CZYZ, K. Development of swine's digestive tract microbiota and its relation to production indices - a review. **Animals**, v. 10, n. 527, 2020.

KOMMERA, S. K.; MATEO, R. D.; NEHER, F. J.; KIM, S. W. Phytobiotics and organic acids as potential alternatives to the use of antibiotics in nursery pig diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 19, n. 12, p. 1784-1789, 2006.

KOSTADINOVIĆ, L.; LEVIĆ, J. Effects of phytoadditives in poultry and pigs diseases. **Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2018.

KUMAR, T.; RAJORA, V. S.; ARORA, N. Prevalence of *Salmonella* in pigs and broilers in the Tarai region of Uttarakhand, India. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 32, n. 1, 2014.

KUMARI, S.; BADANA, A. K.; G, M. M.; G, S.; MALLA, R. Reactive oxygen species: a key constituent in cancer survival. **Biomark Insights**, v. 6, n. 13, p. 1177271918755391, 2018.

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41-60, 2008.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J.; NYCHAS, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 453-462, 2001.

LASTA, E. L.; RONNING, E. S. P. DEKKER, R. F. H.; CUNHA, M. A. A. Encapsulation and dispersion of *Lactobacillus acidophilus* in a chocolate coating as a strategy for maintaining cell viability in cereal bars. **Scientific Reports**, v. 11, p. 20550, 2021.

LEE, B. S.; CHEN, Y. J.; WEI, T. C.; MA, T. L.; CHANG, C. C. Comparison of antibacterial adhesion when salivary pellicle is coated on both poly(2-hydroxyethyl-methacrylate) - and polyethylene-glycol-methacrylate-grafted poly(methyl methacrylate). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 9, p. 2764, 2018.

LI, B. Z.; WNG, L.J.; LI, D.; BHANDARI, B.; LI, S. J.; LAN, Y.; CHEN, X. D.; MAO, Z. H. Fabrication of starch-based microparticles by an emulsification-crosslinking method. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 3, p. 250-254, 2009.

LI, S. Y.; RU, Y. J.; LIU, M.; XU, B.; PÉRON, A.; SHI, X. G. The effect of essential oils on performance, immunity and gut microbial population in weaner pigs. **Livestock Science**, v. 145, p. 119-123, 2012.

LIMA, G. J. M. M. Estratégias no auxílio da redução do uso de antimicrobianos na produção de suínos. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 20, n. 1, p. 46-58, 2018.

LIU, J.; YANG, S.; LI, X.; YAN, Q. REANEY, M. J. T.; JIANG, Z. Alginate oligosaccharides: production, biological activities, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 6, p. 1859-1881, 2019.

LIU, Y.; ESPINOSA, C. D.; ABELILLA, J. J.; CASAS, G. A.; LAGOS, L. V.; LEE, S. A.; KWON, W. B.; MATHAI, J. K.; NAVARRO, D. M. D. L.; JAWORSKI, N. W.; STEIN, H. H. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: a review. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 113-125, 2018.

LÍVERO, F. A. R.; DA SILVA, L. M.; FERREIRA, D. M.; GALUPPO, L. F.; BORATO, D. G.; PRANDO, T. B.; LOURENÇO, E. L.; STRAPASSON, R. L.; STEFANELLO, M. É.; WERNER, M. F.; ACCO, A. Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* promotes gastroprotection and healing of acute and chronic gastric ulcers induced by ethanol and acetic acid. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 389, p. 985-998, 2016a.

LÍVERO, F. A. R.; SILVA, L. M.; FERREIRA, D. M.; GALUPPO, L. F.; BORATO, D. G.; PRANDO, T. B.; LOURENÇO, E. L.; STRAPASSON, R. L.; STEFANELLO, M. E.; WERNER, M. F.; ACCO, A. Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* promotes gastroprotection and healing of acute and chronic gastric ulcers induced by ethanol and acetic acid. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 389, n. 9, p. 985-998, 2016.

LÍVERO, F. A.; MARTINS, G. G.; QUEIROZ TELLES, J. E.; BELTRAME, O. C.; PETRIS BISCAIA, S. M.; CAVICCHIOLLO FRANCO, C. R.; OUDE ELFERINK, R. P.;

ACCO, A. Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* ameliorates alcoholic fatty liver disease in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 260, p. 22–32, 2016b.

LÍVERO, F.A. R.; MARTINS, G. G.; TELLES, J. E. Q.; BELTRAME, O. C.; BISCAIA, S. M. P.; FRANCO, C. R. C.; ELFERINK, R. P. J. O.; ACCO, A. Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* ameliorates alcoholic fatty liver disease in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 260, p. 22-32, 2016.

LOOFT, T.; JOHNSON, T. A.; ALLEN, H. K.; BAYLES, D. O.; ALT, D. P.; STEDTFELD, R. D.; SUL, W. J.; STEDTFELD, T. M.; CHAI, B.; COLE, J. R.; HASHSHAM, S. A.; TIEDJE, J. M.; SANTON, T. B. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. **Pnas**, v. 109, n. 5, p. 1691-1696, 2012.

LOPES, M.; ABRAHIM, B.; VEIGA, F.; SEIÇA, R.; CABRAL, L. M.; ARNAUD, P.; ANDRADE, J. C.; RIBEIRO, A. J. Preparation methods and applications behind alginate-based particles. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 14, n. 6, p. 769-782, 2016.

LOUIS, P.; FLINT, H. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 29-41, 2017.

LUNA, U. V.; JÚNIOR, J. G. C.; CORRÊA, G. S. S.; KIEFER, C.; SOUZA, M. A.; VIEITES, F. M.; CRUZ, R. A. S.; ASSIS, S. D. Mananoligossacarídeo e β -glucano em dietas de leitões desmamados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 2, p. 591-599, 2015.

MACHADO, G. B.; MOURA, S. V.; FORTES, T. P.; FELIZ, S. R.; TIMM, C. D.; SILVA, E. F. Impacto da salmonelose na suinocultura e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, e0472014, 2016.

MAGNANI, M.; GÓMEZ, R. J. H. C. β -glucana de *Saccharomyces cerevisiae*: constituição, bioatividade e obtenção. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 3, p. 631-650, 2008.

MANCONI, M.; MURA, S.; MANCA, M.L.; FADDA, A.M.; DOLZ, M.; HERNANDEZ, M.J.; CASANOVAS, A.; DÍEZ-SALES, O. Chitosomes as drug delivery system for C-phycoyanin: preparation and characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 392, n. 1-2, p. 92-100, 2010.

MANZANILLA, E. G.; PEREZ, J. F.; MARTIN, M.; KAMEL, C.; BAUCCELLS, F.; GASA, J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 11, p. 3210–3218, 2004.

MARTINEZ, J. L.; BAQUERO, F. Interactions among strategies associated with bacterial infection: pathogenicity, epidemicity, and antibiotic resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 4, p. 647–679, 2002.

MCCORMACK, U. M.; CURIÃO, T.; ZEBELI, B. U. M.; WILKINSON, T.; REYER, H.; CRISPIE, F.; COTTER, P. D.; CREEVEY, C. J.; GARDINER, G. E.; LAWLOR, P. G. Improvement of feed efficiency in pigs through microbial modulation via fecal microbiota transplantation in sows and dietary supplementation of inulin in offspring. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 22, e01255-19, 2019.

MICHIELS, J.; MISSOTTEN, J. FREMAUT, D.; SMET, S.; DIERICK, N. A. *In vitro* characterisation of the antimicrobia activity of selected essential oil components and binary combinations against the pig gut flora. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, p. 11-127, 2009.

MIGUEL, M. G. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 291-312, 2010.

MORÉS, N.; MORENO, A. M. **Colibacilose neonatal**. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLO, D.E.S.N. (Eds). Doenças dos suínos. 2ª Ed. Goiânia: Cãnone editorial, p. 71-76, 2007.

NASCIMENTO, D. S. M.; OLIVEIRA, R, M.; CAMARA, R. B. G.; GOMES, D. L.; MONTE, J. F. S.; COSTA, M. S. S. P.; FERNANDES, J. M.; LANGASSNER, S. M. Z.; ROCHA, H. A. O. *Baccharis trimera* (Less.) dc exhibits an anti-adipogenic effect by inhibiting the expression of proteins involved in adipocyte differentiation. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 972, 2017.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R. Quorum sensing and phytochemicals. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 14, p. 12607-12619, 2013.

NEMETH, J.; OESCH, G.; KUSTER, S. P. Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: systematic review and meta-analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 2, p. 382-395, 2015.

NGUYEN, Q. B.; NAI, M. L. S.; XHU, Z.; SUN, C. N.; WEI, J.; ZHOU, W. Characteristics of inconel powders for powder-bed additive manufacturing. **Engineering**, v. 3, p. 695-700, 2017.

NUNES, G. L.; BOAVENTURA, B. C. B.; PINTO, S. S.; VERRUCK, S.; MURAKAMI, F. S.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C. Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 151, p. 60-68, 2015.

NUNES, G. L.; RAGAGNIN, C. M. Microencapsulação por spray drying dos compostos bioativos do extrato aquoso de erva mate (*Ilex paraguariensis*) crioconcentrado. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, p. 18-29, 2015.

OLDONI, T. L. C.; SILVA, R. C.; CARPES, S. T.; MASSARIOLI, A. P.; ALENCAR, S. M. Antioxidant activity and development of one chromatographic method to determine the phenolic compounds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 3, p. e20181068, 2020.

- OLIVEIRA, C. B.; COMUNELLO, L. N.; LUNARDELLI, A.; AMARAL, R. H.; PIRES, M. G. S.; SILVA, G. L.; MANFREDINI, V.; VARGAS, C. R.; GNOATTO, S. C. B.; OLIVEIRA, J. R.; GOSMANN, G. Phenolic enriched extract of *Baccharis trimera* presents anti-inflammatory and antioxidant activities. **Molecules**, v. 17, n. 1, p. 1113-1123, 2012.
- OLIVEIRA, C. T.; MAIA, B. H. L. N. S.; FERRIANI, A. P. SANTOS, V. A. Q.; CUNHA, M. A. A.; TEIXEIRA, S. D. Chemical characterization, antioxidant capacity and antimicrobial potential of essential oil from the leaves of *Baccharis oreophila* MALME. **Chemistry e Biodiversity**, v. 16, e1800372, 2019.
- OLIVEIRA, H. B.; KFFURI, C. W.; CASALI, V. W. D. Ethnopharmacological study of medicinal plants used in Rosário da Limeira, Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, 2010.
- OLIVEIRA, S. Q.; TRENTIN, V. H.; KAPPEL, V. D.; BARELLI, C.; GOSMANN, C.; REGINATTO, F. H. Screening of Antibacterial Activity of South Brazilian *Baccharis* Species. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 5, p. 434–438, 2005.
- ORI, E. L.; TAKAGI, E. H.; ANDRADE, T. S.; MIGUEL, B. T.; NOVELLA, M. C. C.; GUTH, B. E. C.; HERNANDES, R. T.; DIAS, R. C. B.; PINHEIRO, S. R. S.; CAMARGO, C. H.; ROMERO, E. C.; SANTOS, L. F. Diarrhoeogenic *Escherichia coli* and *Escherichia albertii* in Brazil: pathotypes and serotypes over a 6-year period of surveillance. **Epidemiology and Infection**, 2018.
- PADUA, B. C.; JUNIOR, J. V. R.; MAGALHÃES, C. L. B.; SEIBERF, J. B.; ARAUJO, C. M.; SOUZA, G. H. B.; CHAVES, M. M.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; COSTA, D. C. *Baccharis trimera* improves the antioxidant defense system and inhibits iNOS and NADPH oxidase expression in a rat model of inflammation. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 14, n. 11, p. 975-984, 2013.
- PALÁCIO, C.P.A.M.; BIASI, L.A.; NAKASHIMA, T.; SERRAT, B.M. Biomassa e óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* (Less) DC.) sob influência de fontes e doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 3, p. 58-63, 2007.
- PALLO-ZIMMERMAN, L. M.; BYRON, J. K.; GRAVES, T. K. Fluoroquinolonas: Then and now. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian -North American Edition**, v. 32, E1-E8. 2010.
- PANKEY, G. A.; SABATH, L. D. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, n. 38, p. 864-870, 2004.
- PEREIRA, A. A.; VIDOTTO, M. C.; NASCIMENTO, K. A.; SANTOS, A. C. R.; MECHLER, M. L.; OLIVEIRA, L. G. Virulence factors of *Escherichia coli* in relation to the importance of vaccination in pigs. **Ciência Rural**, v. 46, n. 8, p. 1430-1437, 2016.

PETRI, D.; HILL, J. E.; VAN-KESSEL, A. G.; Microbial succession in the gastrointestinal tract (GIT) of the preweaned pig. **Livestock Science**, v. 133, p. 107-109, 2010.

PIRES, C. A. S.; DEBENEDETTI, S.; SPEGAZZINI, E.; MENTZ, L. A.; MATZEMBACHER, N.I.; LIMBERGER, R. P.; HENRIQUES, A. T. Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belonging to sect. Caulopterae (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach. **Plant Systematics and Evolution**, v. 253, p. 23-32, 2005.

PURCHIARONI, F.; TORTORA, A.; GABRIELLI, M.; BERTUCCI, F.; GIGANTE, G.; IANIRO, G.; OJETTI, V.; SCARPELLINI, E.; GASBARRINI, A. The role of intestinal microbiota and the immune system. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 17, p. 323-333, 2013.

RABELO, A. C. S.; COSTA, D. C. A Review of Biological and Pharmacological Activities of *Baccharis trimera*. **Chemico-Biological Interactions**, v. 296, 65-75, 2018.

RABELO, A. C.; ARAÚJO, G. R.; LÚCIO, K. P.; ARAÚJO, C. M.; MIRANDA, P. H, A.; SILVA, B. M.; CARNEIRO, A. C. A.; RIBEIRO, E. M. C.; LIMA, W. G. L.; SOUZA, G. H. B.; BRANDÃO, G. C.; COSTA, D. C. Aqueous extract of *Baccharis trimera* improves redox status and decreases the severity of alcoholic hepatotoxicity. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v. 27, p. 729, 738, 2017.

RAMNANI, P.; CHITARRARI, R.; TUOHY, K.; GRANT, J.; HOTCHKISS, S.; PHILP, K.; CAMPBELL, R.; GILL, C.; ROWLAND, I. In vitro fermentation and prebiotic potential of novel low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds. **Anaerobe**, v. 18, n. 1, p. 1-6, 2012.

RÉ, M. I. Formulating drug delivery systems by spray drying. **Drying Thecnology**, v. 24, n. 4, p. 433-446, 2006.

ROBERT, S.; LESŁAW, J.; SŁAWOMIR, P.; TERESA, F. Antioxidant activity and phenolic composition of herb honeys. **Food Chemistry**, n. 113, v. 2, p. 568–574, 2008.

RODRIGUES, C. R. F.; DIAS, J. H.; MELLO, R. N.; RICHTER, M. F.; PICADA, J. N.; FERRAZ, A. B. F. Genotoxic and antigenotoxic properties of *Baccharis trimera* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, n. 17, p. 97-101, 2009.

RODRIGUEZ, M. V.; SORTINO, M. A.; IVANCOVICH, J. J.; PELLEGRINO, J. M.; FAVIER, L. S.; RAIMONDI, M. P.; GATTUSO, M. A.; ZACCHINO, S. A. Detection of synergistic combinations of *Baccharis* extracts with terbinafine against *Trichophyton rubrum* with high throughput screening synergy assay (HTSS) followed by 3D graphs. Behavior of some of their componentes. **Phytomedicine**, v. 20, n. 13, p. 1230-1239, 2013.

ROLEIRA, F. M. F.; SILVA, E. J. T.; VARELA, C. L.; COSTA, S. C.; SILVA, T.; GARRIDO, J.; BORGES, F. Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. **Food Chemistry**, v. 183, p. 235-258, 2015.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS**. EMBRAPA, Comunicado Técnico online, Fortaleza, 2007.

SABIR, S. M.; ATHAYDE, M. L.; BOLIGON, A. A.; ROCHA, J. B. T. Antioxidant activities and phenolic profile of *Baccharis trimera*, a commonly used medicinal plant from Brazil. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 318-323, 2017.

SCHLEMPER, V.; SCHLEMPER, S. R. M.; MELLO, D. M. S. Inhibitory effect of *Persea cordata* Mez (pau-andrade) bark extracts against *Clostridium perfringens* causing gangrenous mastitis. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 4, p. 1-16, 2016.

SHIM, M.; HONG, S.; SEOK, M. J.; KIM, H. B. Salmonellosis in swine: clinical perspectives. **Korean Journal of Agricultural Science**, v. 43, n. 3, 2016.

SILVA, A. R. H.; LOPES, L. Q. S.; CASSANEGO, G. B.; JESUS, P. R.; FIGUEIREDO, K. C.; SANTOS, R. C. V.; LOPES, G. H. H.; BAUERMANN, L. F. Acute toxicity and antimicrobial activity of leaf tincture *Baccharis trimera* (Less). **Biomedical Journal**, v. 41, n. 3, p. 194-201, 2018.

SILVA, C. V. O.; OLIVEIRA, A. M. A. de; BEZERRA, P. P. N.; EVANGELISTA, J. N. B. *Escherichia coli* na suinocultura. Aspectos clínicos. Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 9, p. 288-293, 2015.

SINGH, P.; BODYCOMB, J.; TRAVERS, B.; TATRKIEWICZ, K.; TRAVERS, S.; MATYAS, G. R.; BECK, Z. Particle size analyses of polydisperse liposome formulations with a novel multispectral advanced nanoparticle tracking technology. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 566, p. 680-686, 2019.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of *Folin-Ciocalteu* reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SPRICIGO, D. A.; MATSUMOTO, S. R.; ESPÍNDOLA, M. L.; FERRAZ, S. M. Prevalência, quantificação e resistência a antimicrobianos de sorovares de *Salmonella* isolados de linguiça frescal suína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 779-785, 2008.

STRUIVING, S.; HACKE, A. C. M.; SIMIONATTO, E. L.; SCHARF, D. R.; KLIMACZEWSKI, C. V.; BESTEN, M. A.; HEIDEN, G.; BOLIGON, A. A.; ROCHA, J. B. T.; VELLOSA, J. C. R.; NUNES, D. S.; GRANATO, D.; PEREIRA, R. P. Effects of

gender and geographical origin on the chemical composition and antiradical activity of *Baccharis myriocephala* and *Baccharis trimera*. **Foods**, v. 9, n. 1433, 2020.

SUZUKI, H.; NISHIZAWA, T.; TSUGAWA, H.; MOGAMI, S.; HIBI, T. Roles of oxidative stress in stomach disorders. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 35-39, 2012.

TANAKA, T.; IMAI, Y.; KUMAGAE, N.; SATO, S. The effect of feeding lactic acid to *Salmonella typhimurium* experimentally infected swine. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 72, n. 7, p. 827-831, 2010.

THOMPSON, C. L.; WANG, B.; HOLMES, A. The immediate environment during postnatal development has long-term impact on gut community structure in pigs. **The ISME Journal**, v. 2, p. 739-748, 2008.

TIWARI, S.; GOEL, A.; JHA, K. K.; SHARMA, A. Microencapsulation techniques and its application: a review. **The Pharma Research**, v. 3, n. 12, 2010.

TRACHSEL, J.; BRIGGS, C.; GABLER, N. K.; ALLEN, H. K.; LOVING, C. L. Dietary resistant potato starch alters intestinal microbial communities and their metabolites, and markers of immune regulation and barrier function in swine. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. 1381, p. 1-13, 2019.

UERLINGS, J.; BINDELLE, J.; SCHROYEN, M.; RICHEL, A.; BRUGGEMAN, G.; WILLEMS, E.; EVERAERT, N. Fermentation capacities of fructan- and pectin-rich by-products and purified fractions via an in vitro piglet faecal model. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 13, p. 5720-7533, 2019.

UPADHAYA, S. D.; KIM, S. C.; VALIENTES, R. A.; KIM, I. H. The effect of *Bacillus* based feed additive on growth performance, nutrient digestibility, fecal gas emission, and pen cleanup characteristics of growing finishing pigs. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 7, p. 999-1005, 2015.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, DIETER.; MONCOL, J. CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VARGAS, B. K.; FROTA, E. G.; SANTOS, L. F.; GUTKOSKI, J. P.; LOPES, S. T.; BERTOL, C. D.; BERTOLIN, T. E. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) microparticles modulate antioxidante markers in the plasma and brains of rats. **Food Bioscience**, v. 41, e. 100999, 2021.

VERBRUGGHE, E.; BOYEN, F.; PARYS, A. V.; DEUM, K. V.; CROUNELS, S.; THOMPSON, A.; SHEARER, N.; LEYMAN, B.; HAESEBROUCK, F.; PASMANS, F. Stress induced *Salmonella Typhimurium* recrudescence in pigs coincides with cortisol induced increased intracellular proliferation in macrophages. **Veterinary Research**, v. 42, n. 118, 2011.

- VERDI, L. G.; BRIGHENE, I. M.C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.
- VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, p. 85–94, 2005.
- VIDANARACHCHI, J. K.; MIKKELSEN, L. L.; SIMS, I.; IJI, P. A.; CHOCT, M. Phytobiotics: alternatives to antibiotic growth promoters in monogastric animal feeds. **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia**, v. 15, p. 131-144, 2005.
- WANG, W.; CHEN, J.; ZHOU, H.; WANG, L. DING, S.; WANG, Y.; SONG, D.; LI, A. Effects of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* and fructooligosaccharide on growth performance, blood immune parameters, and intestinal morphology in weaned piglets. **Food And Agricultural Immunology**, v. 29, n. 1, p. 84-94, 2017.
- YAN, L.; WANG, J. P.; KIM, H. J.; MENG, Q. W.; AO, X.; HONG, S. M.; KIM, I. H. 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, p. 115-122, 2010.
- YAN, M.; LIU, B.; JIAO, X.; QIN, S. Preparation of phycocyanin microcapsules and its properties. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, n. 1, p. 89-97, 2014.
- YANG, J.; QIAN, K.; WANG, C.; WU, T. Roles of probiotic lactobacilli inclusion in helping piglets establish healthy intestinal inter-environment for pathogen defense. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 10, p. 243-250, 2017.
- YASUDA, T.; INABA, A.; OHMORI, M.; ENDO, T.; KUBO, S.; OHSAWA, K. Urinary metabolites of gallic acid in rats and their radical-scavenging effects on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. **Journal of natural products**, v. 63, n. 10, p. 1444-1446, 2000.
- YIN, F.; FARZAN, A.; WANG, Q. C.; YU, H.; YIN, Y.; HOU, Y.; FRIENDSHIP, R.; GONG, J. Reduction of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 infection in experimentally challenged weaned pigs fed a *Lactobacillus*-fermented feed. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11, n. 8, p. 628-634, 2014.
- YIRGA, H. The use of probiotics in animal nutrition. **Journal of Probiotics & Health**, v. 3, n. 2, 2015.
- YOO, S. H.; SONG, Y. B.; CHANG, P. S.; LEE, H. G. Microencapsulation of alpha-tocopherol using sodium alginate and its controlled release properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 38, n. 1, p. 25-31, 2006.

ZANELLA, J. R. C.; MORÉS, N.; BARCELLOS, D. E. S. N. Principais ameaças sanitárias endêmicas da cadeia produtiva de suínos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 443-453, 2016.

ZEBELI, B. U. M.; CANIBE, N.; MONTAGNE, L.; FREIRE, J.; BOSI, P.; PRATES, J. A. M.; TANGHE, S.; TREVISI, P. Resistant starch reduces large intestinal pH and promotes fecal lactobacilli and bifidobacteria in pigs. **Animal**, v. 13, n. 1, p. 64-73, 2018.

ZENG, Z.; ZHANG, S.; WANG, H.; PIAO, X. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2015.

ZHAI, H.; LIU, H.; WANG, S.; WU, J.; KLENTNER, A. M. Potential of essential oils for poultry and pigs. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 179-186, 2018.

ZHANG, S.; JUNG, J. H.; KIM, H. S.; KIM, B. Y.; KIM, I. H. Influences of phytoncide supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, diarrhea scores and fecal microflora shedding in weaning pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 9, p. 1309-1315, 2012.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; GRANATO, D. A comparative study of the phenolic compounds and the *in vitro* antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v.60, p. 246-254, 2014.