



# ***IMPIEGO DI FITODERIVATI NELLA DIETA DEGLI ANIMALI DI INTERESSE ZOOTECNICO***

*La domanda di prodotti ecocompatibili e animal-friendly è sempre più in crescita e per questo si ricercano sistemi zootecnici più sostenibili e rispettosi del benessere animale e vicini ai consumatori. L'impiego alimentare dei fitoderivati può essere uno strumento di indubbia utilità sia per gli allevatori sia per l'intera filiera agro-alimentare.*



*Il microbioma ruminale svolge un ruolo chiave nella fermentazione e degradazione dell'alimento, oltre che nella conseguente produzione di metano e utilizzo della proteina*

- \* **M. Trabalza Marinucci,**
- \* **C. Forte, G. Acuti,**
- \* **G. Cobellis**

## Introduzione

**L**e tecniche di gestione della moderna industria agroalimentare sono attualmente messe in discussione sotto diversi punti di vista. Gli alimenti, sia di origine vegetale che animale, devono essere di buona qualità, salubri e poco costosi (Wenk et

al., 2003). Allo stesso tempo, le preoccupazioni in materia di rischio ambientale stanno crescendo in seno all'opinione pubblica e la ricerca e la tecnologia sono alla ricerca di sistemi a minore impatto. A questo si aggiunge la necessità, espressa oggi in maniera sempre maggiore dal consumatore, di disporre di alimenti prodotti secondo criteri rispettosi della natura.

L'Unione Europea, in linea con tali richieste, ha bandito nel 2006 l'impiego di antibiotici auxinici come promotori di crescita nella dieta destinata ad animali in produzione zootecnica. Come diretta risposta a questo bando, in un numero crescente di studi si è iniziato a valutare composti di origine naturale in alternativa ai promotori di crescita di sintesi. Questa operazione si è avvalsa inizialmente di conoscenze attinte dalla tradizione popolare, procedendo poi con l'ausilio di più moderne tecnologie sperimentali per lo studio di una ampia gamma di composti bioattivi.

Attualmente l'impiego di sostanze quali acidi organici, enzimi, probiotici e prebiotici è ormai ben radicato nelle attuali tecniche di allevamento. Al contrario, i composti fitoderivati vanno imponendosi come una nuova classe di additivi di importanza crescente, ma ancora lacunosa dal punto di vista della legislazione e da quello della validazione dell'efficacia in ambito zootecnico.

I fitoderivati vengono definiti come composti di derivazione vegetale che, aggiunti alla dieta degli animali, ne possono accrescere le performance attraverso il miglioramento delle caratteristiche del mangime, l'incremento delle prestazioni produttive, il miglioramento delle condizioni di salute e della qualità degli alimenti di origine animale (Windisch et al., 2008).

## MECCANISMO DI AZIONE DEI FITODERIVATI

### Influenza su appetibilità e quantità di alimento ingerita

I fitoderivati vengono spesso presentati come esaltatori dell'appetibilità e, di conseguenza, a essi viene imputato un effetto miglioratore sulla quantità di alimento ingerito in grado di influenzare positivamente le performance zootecniche. In realtà il numero degli studi che abbiano comportato l'applicazione di protocolli scientifici, atti a valutare questo fenomeno, è piuttosto limitato. Schüne et al. (2006) hanno impiegato estratti di finocchio e cumino nella dieta di suini in accrescimento e hanno rilevato un effetto negativo sull'ingestione di alimento. In un altro studio è stato riscontrato un effetto dose-dipendente per il quale l'ingestione dell'alimento risulterebbe inversamente correlata alla quantità di fitoderivati aggiunta alla dieta (Jugl-Chizzola et al., 2005). Al contrario, in una serie di ricerche condotte sia su monogastrici che ruminanti (Cobellis et al., 2015; Forte et al., 2016; 2017; Ranucci et al., 2015), nelle quali sono stati utilizzati estratti acquosi di origano e rosmarino, olio essenziale di origano ed estratto di corteccia di castagno, non è stato registrato alcun tipo di effetto negativo sull'assunzione di alimento da parte delle specie oggetto dello studio.

### Effetto sulle performance di accrescimento

La prima modalità di azione degli additivi "promotori di crescita" consiste in un aumentato livello di salubrità dell'alimento e in un'influenza positiva sull'ecosistema intestinale e/o ruminale, che passa innanzitutto per il controllo delle popolazioni micro-

biche potenzialmente patogene (Roth and Kirchgessner, 1998). Questo risulta particolarmente importante in alcune fasi della produzione zootecnica caratterizzate da elevata suscettibilità ai disordini gastroenterici (svezza-mento e finissaggio per gli animali da carne, transizione e lattazione per le specie lattifere). Grazie ad un ecosistema digerente più stabile, gli animali risultano meno esposti a tossine microbiche e ad altri composti di origine batterica (come ammoniaca ed amine biogene), raggiungendo mediamente livelli di prestazione più elevati.

### Azione antimicrobica e modulazione della flora enterica in animali monogastrici

L'azione antimicrobica di alcuni fitoderivati è ben documentata in letteratura in prove eseguite *in*

*vitro* contro un ampio spettro di microrganismi (Burt, 2004; Si et al., 2006; Ozer et al., 2007). Alcuni di questi additivi sembrano essere attivi sia contro batteri Gram positivi che Gram negativi, altri, invece, sembrano essere provvisti di maggiore selettività. In generale viene affermato che gli oli essenziali siano più attivi nei confronti dei Gram positivi rispetto ai batteri Gram negativi (Brenes e Roura, 2010). Traslare gli effetti ottenuti *in vitro* in esperimenti *in vivo* non è tuttavia un'operazione che può essere effettuata in maniera diretta. La microflora intestinale, infatti, è caratterizzata da un equilibrio proprio e le modifiche dipendono da molteplici fattori quali la specie animale, lo stato fisiologico, la composizione della dieta e i trattamenti tecnologici dei mangimi, nonché infine la produzione di muco e l'integrità

della barriera intestinale. L'azione antimicrobica, oltre che sulla funzionalità gastroenterica, sembra possa avere un impatto positivo anche sulle caratteristiche igieniche della carcassa. Anche se i dati disponibili risultano essere ancora limitati, sembrerebbe che l'olio essenziale di origano assunto con la dieta abbia la capacità di diminuire la carica microbica presente sulle carcasse di pollo dopo la macellazione, con particolare riferimento a microrganismi patogeni come *Salmonella* spp. (Ak-sit et al., 2006).

### Modifica dell'ecosistema ruminale

Il microbioma ruminale svolge un ruolo chiave nella fermentazione e degradazione dell'alimento, oltre che nella conseguente produzione di metano e utilizzo della proteina. La sua attività influenza



Foto di (R Longo)

Bovini all'alpeggio

in maniera diretta le performance, la salute e il benessere dell'animale. La popolazione microbica ruminale è tuttavia estremamente dinamica e capace di adattarsi a un ampio raggio di strategie nutrizionali; risulta in questo modo difficoltoso comprendere a pieno le interazioni tra componenti della dieta e microbioma.

Nonostante il crescente interesse nei confronti dei fitoderivati, il loro modo di azione rimane poco chiaro. Solo una limitata porzione della popolazione ruminale è stata infatti oggetto di ricerche riguardanti l'impiego di fitoderivati e il loro effetto. Miscele di oli essenziali somministrate nella dieta di bovini sarebbero in grado di diminuire la consistenza delle popolazioni di *Prevotella ruminicola*, *Clostridium sticklandii* e *Streptococcus bovis*, specie batteriche note per il loro effetto proteolitico. La diminuzione dell'effetto proteolitico a livello ruminale viene da molti invocato come una valida strategia per ridurre la degradazione delle proteine di origine alimentare e migliorare l'efficienza proteica della razione. La diminuzione della degradazione della proteina alimentare si traduce infatti in un aumento del passaggio di aminoacidi essenziali all'intestino, con effetto diretto sulle performance zootecniche.

L'inclusione di foglie di rosmarino nella dieta di ovini da carne (Cobbellis et al., 2015) si è dimostrata in grado di modificare alcune importanti caratteristiche dell'ecosistema ruminale. In particolare, è stata osservata una riduzione delle sottopopolazioni batteriche implicate nella proteolisi, nonché nella produzione di metano e ammoniacca. La stessa dieta, somministrata a pecore in lattazione, ha permesso di ottenere formaggi in cui si è notato un incremento della componente fenolica, con con-

seguente aumento della stabilità ossidativa (Branciarri et al., 2015). Considerata la complessità dell'argomento, appare evidente la necessità di ulteriori ricerche in questo ambito che facciano ricorso a tecniche di biologia molecolare in grado di indagare in maniera approfondita le relazioni tra fitoderivati ed ecosistema ruminale.

### Azione sul sistema immunitario

È noto che una molteplicità di derivati vegetali possono avere una azione positiva sulla risposta immunitaria, sia nell'uomo che negli animali. Orhan et al. (2016) hanno effettuato uno studio ri-

guardante l'effetto immunomodulatorio di alcuni oli essenziali sulla funzionalità immunitaria dell'uomo. Dai risultati ottenuti si evince come acido rosmarinico, quercitina, apigenina e genistina siano in grado di inibire alcune citochine (IL2, TNF $\alpha$ ) tipiche della risposta immunitaria innata.

Per quanto concerne la ricerca sugli animali di interesse zootecnico, attraverso la modulazione della flora enterica e ruminale e con la loro azione di protezione della barriera intestinale, i fitoderivati sarebbero in grado di influenzare positivamente il sistema immunitario sia a livello locale che a livello sistemico. Effetti



## LAVORAZIONI C/TERZI

### Integratori alimentari in capsule, liquidi e liofilizzati

*Si eseguono produzioni di piccoli e medi lotti*

- Integratori in capsule formato 0
- Integratori liquidi in monodose da 10 e 15 ml
- Integratori con contagocce
- Liquidi e soluzioni in flaconi fino a 1000 ml
- Liofilizzazione in monodose con sigillatura sottovuoto
- Integratori di nostra produzione con possibilità di personalizzazione
- Lavorazione materie prime fornite dal cliente
- Confezionamento finale
- Assistenza per formulazioni personalizzate
- Assistenza per la procedura di notifica ministeriale

**TECNO-LIO**  
L'energia della Vita

#### **Tecno-lio S.r.l.**

Via Riviera Berica, 260

36100 Vicenza

Tel. 0444530465 - fax. 0444532275

E-mail: [info@tecno-lio.it](mailto:info@tecno-lio.it)

Website: [www.tecno-lio.it](http://www.tecno-lio.it)

positivi sono stati evidenziati su popolazioni linfocitarie tipiche della risposta immunitaria acquisita, ma anche i fattori che condizionano la risposta immunitaria innata (es. TNF $\alpha$ ) risulterebbero sensibili all'inclusione nella dieta di fitoderivati quali ad esempio gli oli essenziali di origano, aneto o limone (Walter e Bilkei, 2004). Paraskeuas et al. (2015) hanno dimostrato che l'aggiunta di estratti di eugenolo, anetolo e mentolo nella dieta del pollo da carne in ragione di 100 e 150 mg/kg, è in grado di influenzare positivamente il sistema immunitario diminuendo la produzione di citochine pro-infiammatorie (IL-18). In un altro studio, estratti acquosi di origano e rosmarino sono stati inclusi in ragione di 2 g/kg nella dieta di polli da carne (Franciosini et al., 2016). I risultati ottenuti hanno dimostrato effetti positivi sulle performance zootecniche fino a 35 giorni di età; è stato inoltre osservato un incremento della risposta immunitaria, espressa come IgG totali, nei soggetti trattati con i fitoderivati rispetto a quelli appartenenti al gruppo controllo. La stessa ricerca ha inoltre fatto riscontrare effetti positivi sul microbiota intestinale, consistenti in un aumento della concentrazione di lattobacilli ed enterococchi e una diminuzione di quella degli stafilococchi.

### Azione antiossidante

Lo stato ossidativo dell'animale dipende da molti fattori differenti. L'animale stesso rappresenta un sistema omeostatico supportato da un elevato numero di enzimi responsabili del controllo dell'ossidazione (Wenk, 2003). Gli antiossidanti somministrati attraverso la dieta hanno un'azione variabile in dipendenza da polarità, solubilità e sito di azione. Alcune di tali sostanze vengono usate per prevenire l'ossidazione

dei componenti del mangime durante lo stoccaggio, altre invece agiscono nell'apparato digerente dell'animale e altre ancora vanno incontro ad assorbimento.

I fitoderivati sono tradizionalmente impiegati per prevenire o ritardare i processi di ossidazione lipidica nella carne e nei prodotti carnei (Branciarri et al., 2015; Ranucci et al., 2015). Il loro impiego in nutrizione animale può avere un'influenza sulla composizione acidica dell'intera carcassa, agendo sul rapporto tra acidi grassi polinsaturi e acidi grassi saturi. Composti come i polifenoli e i tocoferoli possono agire da antiossidanti, migliorando la qualità delle derrate alimentari. La loro azione in termini di scambio di elettroni ed effetti su membrane biologiche risulta ben documentata (Visioli et al., 1998).

L'inclusione di olio essenziale di origano, da solo o in associazione con estratto di corteccia di castagno, in diete destinate a suini in accrescimento, ha fatto registrare effetti positivi per quanto riguarda la qualità del prodotto finito (Ranucci et al., 2015; Forte et al., 2017). La carne fresca si è dimostrata più resistente all'ossidazione e ha fatto registrare parametri reologici migliori (colore, tenerezza e perdite durante la cottura).

Infine, nelle prove sensoriali effettuate, le carni derivate dagli animali alimentati con le diete integrate da oli essenziali hanno ottenuto valutazioni migliori rispetto ai gruppi controllo.

Oltre a proteggere i prodotti di origine animale dall'ossidazione, alcuni fitoderivati somministrati con la dieta possono migliorare il benessere degli animali agendo come difesa contro stress di natura pro-ossidante e migliorando il bilancio redox in organi diversi (Lu et al., 2010; Ranucci et al., 2015).

### Riduzione dell'emissione di gas a effetto serra (GHG)

L'allevamento animale è stato riconosciuto come responsabile dell'emissione del 37% del metano (uno dei principali GHG) e del 65% del protossido di azoto prodotti dalle attività antropiche (FAO, 2010). I ruminanti sono classificati quindi tra i maggiori responsabili dell'emissione di GHG quali sottoprodotti indesiderati delle fermentazioni anaerobiche ruminali (Bodas et al., 2012).

L'azione antimicrobica dei fitoderivati può avere, all'interno del ruminante, effetti importanti sull'ecosistema e le popolazioni microbiche, inibendo i fenomeni di deaminazione e metanogenesi e riducendo la produzione di ammoniaca, metano e acetato (con conseguente incremento della concentrazione di propionato e butirrato).

Per quanto concerne la produzione di metano, una serie di ricerche *in vitro* ha dimostrato un chiaro effetto inibitore di alcuni oli essenziali (Patra and Yu., 2012; Lin et al., 2013) sulla popolazione degli Archea e quindi indirettamente sulle emissioni di metano. Le prove *in vivo*, invece, più complesse da realizzare per le difficoltà tecniche legate alla misurazione delle emissioni gassose, sembrerebbero non confermare appieno i risultati incoraggianti ottenuti *in vitro* (Tomkins et al., 2015). Sono stati anche documentati alcuni effetti negativi relativi all'inclusione di oli essenziali nella dieta di tali specie animali, quali ad esempio la diminuzione dell'attività di degradazione dei carboidrati strutturali (Patra, 2012) da parte dei microrganismi ruminali. Tale attività è fondamentale per il sistema digerente del ruminante e può invece risultare compromessa dall'attività an-



Foto di (R. Lodi)

Bovini di razza bruna alpina

timicrobica caratteristica di molti fitoderivati.

Cobellis et al. (2015) hanno utilizzato un modello *in vitro* di fermentazione ruminale per studiare gli effetti derivanti dall'inclusione di oli essenziali di *Rosmarinus officinalis* e *Origanum vulgare* nella dieta di ruminanti. Dai risultati si evince un decremento della produzione di metano e di ammoniaca da parte dei batteri in coltura, evidenziando così la possibilità di impiegare tali composti quali modulatori dell'ecosistema ruminale. In un successivo studio *in vitro* sono stati presi in considerazione diversi oli essenziali sempre con l'obiettivo di valutarne l'effetto sulla produzione di GHG da parte dei microrganismi ruminali (Cobellis et al., 2016). Oli essenziali ottenuti da origano, rosmarino, cannella, aneto ed eucalipto sono stati caratterizzati per la loro composizione chimica e testati per la produzione di GHG

da soli o in combinazione. Questi oli essenziali e le loro combinazioni ternarie si sono dimostrati in grado di ridurre la produzione di metano e ammoniaca; tutti i composti testati, tuttavia, hanno contemporaneamente portato ad una riduzione della digeribilità della dieta a eccezione della combinazione tra olio essenziale di cannella, aneto e eucalipto. La verifica degli effetti sulla composizione della flora microbica (diminuzione della popolazione di *archeobatteri* e protozoi) consente di affermare che l'impiego alle dosi sperimentate dei composti testati può rappresentare un approccio promettente alla riduzione dell'emissione di GHG da parte dei ruminanti.

### Conclusioni

In un panorama in cui si ricercano sistemi zootecnici più sostenibili, rispettosi del benessere animale e vicini ai consumatori, la cui do-

manda di prodotti ecocompatibili e *animal-friendly* è in crescita, l'impiego alimentare di fitoderivati può essere uno strumento di indubbia utilità sia per gli allevatori che per l'intera filiera agro-alimentare.

L'uso di tali sostanze si rivela promettente in un'ampia gamma di ambiti che vanno dal miglioramento delle performance zootecniche a un'azione positiva sul benessere animale e sulle qualità nutraceutiche dei prodotti di origine animale, quali latte e derivati e carne. È tuttavia da sottolineare come in molti casi siano ancora necessarie ricerche per la validazione scientifica di questi composti, non ancora studiati appieno dal punto di vista degli effetti *in vivo* e da quello delle eventuali molecole residue nei prodotti di origine animale.

\* UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PERUGIA  
Dipartimento di Medicina Veterinaria

## Bibliografia

- Aksit, M., Goksoy, E., Kok, F., Ozdemir, D., Ozdoğan, M. (2006). The impacts of organic acid and essential oil supplementations to diets on the microbiological quality of chicken carcasses. *Archiv für Geflügelkunde*, 70(4), 168-173.
- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F. J., López, S. (2012). Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176(1), 78-93.
- Branciarì, R., Ranucci, D., Trabalza-Marinucci, M., Codini, M., Orrù, M., Ortenzi, R., Forte, C., Ceccarini, M.R., Valiani, A. (2015). Evaluation of the antioxidant properties and oxidative stability of Pecorino cheese made from the raw milk of ewes fed *Rosmarinus officinalis* L. leaves. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(2), 558-565.
- Brenes, A., Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1), 1-14.
- Cobellis, G., Acuti, G., Forte, C., Menghini, L., De Vincenzi, S., Orrù, M., Valiani, A., Pactti, D., Trabalza-Marinucci, M. (2015). Use of *Rosmarinus officinalis* in sheep diet formulations: Effects on ruminal fermentation, microbial numbers and in situ degradability. *Small Ruminant Research*, 126, 10-18.
- Cobellis, G., Petrozzi, A., Forte, C., Acuti, G., Orrù, M., Marcotullio, M. C., Aquino, A., Nicolini A., Mazza, V., Trabalza-Marinucci, M. (2015). Evaluation of the effects of mitigation on methane and ammonia production by using *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils on in vitro rumen fermentation systems. *Sustainability*, 7(9), 12856-12869.
- Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., Yu, Z. (2016). Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of the Total Environment*, 545, 556-568.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T. D., Castel, V., de Haan, C. (2006). Livestock's long shadow: environmental issues and options. *Food and Agriculture Organisation of the United Nations*.
- Forte, C., Ranucci, D., Beghelli, D., Branciarì, R., Acuti, G., Todini, L., Cavallucci, C., Trabalza-Marinucci, M. (2017). Dietary integration with oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil improves growth rate and oxidative status in outdoor-reared, but not indoor-reared, pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, doi:10.1111/jpn.12612.
- Franciosini, M. P., Casagrande-Proietti, P., Forte, C., Beghelli, D., Acuti, G., Zanichelli, D., Dal Bosco, A., Castellini, C., Trabalza-Marinucci, M. (2016). Effects of oregano (*Origanum vulgare* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) aqueous extracts on broiler performance, immune function and intestinal microbial population. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1), 474-479.
- Jugl-Chizzola, M., Ungerhofer, E., Gabler, C., Haßmüller, W., Chizzola, R., Zitterl-Eglseer, K., Franz, C. (2005). Testing of the palatability of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. as flavouring feed additive for weaner pigs on the basis of a choice experiment. *Berliner Und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 119(5-6), 238-243.
- Lin, B., Wang, J. H., Lu, Y., Liang, Q., Liu, J. X. (2013). In vitro rumen fermentation and methane production are influenced by active components of essential oils combined with fumarate. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 97(1), 1-9.
- Lu, T. M., Lee, C. C., Mau, J. L., & Lin, S. D. (2010). Quality and antioxidant property of green tea sponge cake. *Food Chemistry*, 119(3), 1090-1095.
- Orhan, I. E., Gulyurdu, F., Kupeli Akkol, E., Senol, F. S., Arabaci Anul, S., Tatli, I. I. (2016). Anticholinesterase, antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activity assessment of *Xeranthemum annuum* L. and isolation of two cyanogenic compounds. *Pharmaceutical Biology*, 54(11), 2643-2651.
- Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Ozkan, H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food chemistry*, 103(4), 1449-1456.
- Mountzouris, K. C., Paraskevas, V., Tsirtzikos, P., Palamidi, I., Steiner, T., Schatzmayr, G., Fegeros, K. (2011). Assessment of a phytogetic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. *Animal Feed Science and Technology*, 168(3), 223-231.
- Patra, A. K., & Yu, Z. (2012). Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(12), 4271-4280.
- Ranucci, D., Miraglia, D., Trabalza-Marinucci, M., Acuti, G., Codini, M., Ceccarini, M. R., Forte, C., Branciarì, R. (2015). Dietary effects of oregano (*Origanum vulgare* L.) plant or sweet chestnut (*Castanea Sativa* Mill.) wood extracts on microbiological, chemical-physical characteristics and lipid oxidation of cooked ham during storage. *Italian Journal of Food Safety*, 4(4), 5497.
- Ranucci, D., Beghelli, D., Trabalza-Marinucci, M., Branciarì, R., Forte, C., Olivieri, O., G.V. Badillo Pazmay, C. Cavallucci, Acuti, G. (2015). Dietary effects of a mix derived from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil and sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood extract on pig performance, oxidative status and pork quality traits. *Meat science*, 100, 319-326.
- Roth, R. Z., Kirchgessner, M. (1998). Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 7, 25-33.
- Schöne, F., Vetter, A., Hartung, H., Bergmann, H., Biertümpfel, A., Richter, G., Breitschuh, G. (2006). Effects of essential oils from fennel (*Foeniculi aetheroleum*) and caraway (*Carvi aetheroleum*) in pigs. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 90(11-12), 500-510.
- Si, W., Gong, J., Tsao, R., Zhou, T., Yu, H., Poppe, C., Johnson, R., Du, Z. (2006). Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 100(2), 296-305.
- Tomkins, N. W., Charmley, E. (2015). Herd-scale measurements of methane emissions from cattle grazing extensive sub-tropical grasslands using the open-path laser technique. *Animal*, 9(12), 2029-2038.
- Visioli, F., Bellomo, G., Galli, C. (1998). Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochemical and biophysical research communications*, 247(1), 60-64.
- Walter, B. M., Bilkei, G. (2004). Immunostimulatory effect of dietary oregano etheric oils on lymphocytes from growth-retarded, low-weight growing-finishing pigs and productivity. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*, 129(6), 178-181.
- Wenk, C. (2003). Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 16(2), 282-289.
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of animal science*, 86(14\_suppl), E140-E148.