



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE SAÚDE TECNOLOGIA RURAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**  
**MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**UREIA MICROPARTICULADA EM MATRIZ DE PECTINA CÍTRICA PARA**  
**LIBERAÇÃO GRADUAL NA DIETA DE RUMINANTES**

**MYRLA KRISTY NUNES MELO**

**PATOS-PB**

**2020**

**MYRLA KRISTY NUNES MELO**

**UREIA MICROPARTICULADA EM MATRIZ DE PECTINA CÍTRICA PARA  
LIBERAÇÃO GRADUAL NA DIETA DE RUMINANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração: Produção e Sanidade animal, área de atuação: Avaliação de alimentos e Nutrição animal.

**Orientador:** Prof. Dr. André Leandro da Silva

**Co-orientador:** Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva

**PATOS-PB**

**2020**

M528u Melo, Myrlla Kristy Nunes.  
Ureia microencapsulada em matriz de pectina cítrica  
para liberaç. / Myrlla Kristy Nunes Melo. - 2020.

68f.

Orientador: Professor Dr. André Leandro da Silva; Co-orientador: Professor Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva.

Dissertação de Mestrado; (Programa de Pós-graduação em Ciência Animal) - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

1. Ureia microencapsulada 2. Nutrição de ruminantes. 3. Microencapsulação de uréia. 4. Microesferas com ueia. 5. Nitrogênio não proteico - NNP. 6. Degradação in situ. 7. Cinética de degradabilidade in situ. 8. Ovinos - parâmetros ruminais e metabólicos. 9. Termogravimetria derivada. 10. Calorimetria exploratória diferencial. 11. Ovinocultura. 12. Pectina - encapsulante. 13. Gelificação iônótrópica. 14. Rejeitos agroindustriais. I. Silva, André Leandro da. II. Silva, Aderbal Marcos de Azevedo.

CDU:636.5(043.3)

**Elaboração da Ficha Catalográfica:**

Johnny Rodrigues Barbosa  
Bibliotecário-Documentalista  
CRB-15/626



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO**

**TÍTULO: “Ureia microparticulada em matriz de pectina cítrica para liberação gradual na dieta de ruminantes”**

**AUTORA:** MYRLA KRISTY NUNES MELO

**ORIENTADOR:** Dr. ANDRÉ LEANDRO DA SILVA

**JULGAMENTO**

**CONCEITO: APROVADO**

Dr. André Leandro da Silva  
UAMV-UFCG  
Presidente

Dra. Juliana Paula Felipe de Oliveira  
1º Examinadora

Dr. José Moraes Pereira Filho  
UAMV-UFCG  
2º Examinador

Dr. Leilson Rocha da Silva  
UAMV-UFCG  
3º Examinador

Patos - PB, 27 de agosto de 2020

Prof. Dr. José Fábio Paulino de Moura  
Coordenador PPGCA/CSTR/UFCG  
Mat. SIAPE 1506999  
Coordenador



## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Jecione Soares Nunes e Mara Lúcia de Melo  
Pelo possível e impossível que fizeram por mim para que alcançasse este objetivo

Para tudo há uma ocasião  
certa; há um tempo certo  
para cada propósito  
debaixo do céu.

Eclesiastes 3:1

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre está ao meu lado, abençoando minha vida, dando-me força e coragem para continuar e enfrentar os obstáculos no decorrer desta caminhada.

Aos meus pais, *Jecione Soares Nunes* e *Mara Lúcia de Melo*, por tudo que fizeram e fazem por mim, pela paciência, compreensão, amizade e principalmente pelo exemplo que é fundamental para construção do meu caráter. Sem vocês nada disso seria possível. Amo vocês!

Aos meus irmãos, *Tarcísio Rey Nunes Melo* e *Raianny Nunes Melo* que de forma direta ou indireta me ajudaram e apoiaram durante toda essa trajetória. A minha sobrinha *Valentina Sampaio Nunes Melo* que sempre manteve o sorriso em meu rosto para que eu não pudesse desistir dos meus sonhos.

A minha amiga *Aline Nunes Silva* que mesmo de longe sempre esteve presente. Não se esquecendo das minhas amigas da UFCG, *Jossiara Abrante* e *Débora Ferreira*, em que tenho maior carinho, amor e jamais serão esquecidas. Da UFCG para vida!

Ao meu orientador, *Prof. Dr. André Leandro da Silva*, pela disponibilidade, paciência, competência, apoio, ensinamentos, conselhos e esclarecimentos das minhas dúvidas. Sem dúvidas é uma excelente orientador e exemplo a ser seguido.

Aos professores e servidores da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/Cstr, que ao longo do curso ajudaram de alguma maneira. A todos os meus sinceros agradecimentos! Em especial, ao *Prof. Dr. José Morais Filho*, *Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra* e *Prof. Dr. Antônio Fernando de Melo Vaz*.

Aos meus colegas do curso de pós-graduação em ciência animal pela amizade, troca de conhecimentos e experiências. Em especial, *Joana Angélica*, *Ana Célia*, *Karina Alencar*, *Layse Medeiros* e *Izaac Pereira*.

À *Juliana Paula Felipe de Oliveira* e *Suzana Coimbra de Moura Lustosa e Silva* por toda atenção, amor, cuidado, e total apoio durante toda a trajetória, tenho maior admiração.

Aos alunos de Medicina Veterinária da UFCG pela disponibilidade de me auxiliarem no decorrer da pesquisa experimental. Em especial, *Danilo Nogueira*, *Ângelo Nóbrega*, *Giovana Diniz*, *Roberto Matheus* e *Bruno Henrique*.

Ao Secretário da Pós-graduação em Ciência Animal, *Ary Cruz Guedes* por todo apoio aos alunos.

À *Andreza Ferreira e Otávio* do Laboratório de Nutrição Animal (LANA) pelo companheirismo, ensinamentos e pelas alegrias compartilhadas, sem dúvidas são ótimos profissionais.

Aos *funcionários* da Fazenda Experimental e do Hospital Veterinário, que contribuíram direta ou indiretamente durante a execução do experimento.

À técnica *Gilzane*, do Laboratório de Patologia Clínica e ao técnico *Jaime* do Laboratório de Reprodução Animal por toda assistência durante as análises.

À técnica *Aline Diniz*, do Laboratório de Biologia pela disponibilidade e assistência.

À *Universidade Federal do Piauí*, Teresina, Piauí pela disponibilidade nas realizações de análises instrumentais.

À *Universidade Federal de Campina Grande* pela oportunidade de realizar o meu trabalho de mestrado.

À *CAPES* pela concessão da bolsa durante a realização do mestrado.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma participaram desta conquista. Obrigada por tudo!

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE SIGLAS .....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS .....</b>	<b>xii</b>
<b>RESUMO GERAL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>16</b>
<b>CAPÍTULO I</b> Microesferas de pectina contendo ureia por gelificação iôntrica externa .....	<b>18</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
2.1. Desenvolvimento de ureia microencapsulada e morfologia dos sistemas .....	22
2.2. Rendimento e eficiência da microencapsulação .....	23
2.3. Termogravimetria (TG) e Colorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	24
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>24</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO II</b> Cinética de degradabilidade <i>in situ</i> , parâmetros ruminais e metabólicos de ovinos recebendo dieta à base de microesferas de pectina contendo ureia .....	<b>34</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>
2.1. Local do experimento .....	38
2.2. Degradação <i>in situ</i> .....	39
2.3. Parâmetros ruminais.....	42
2.4. Parâmetros sanguíneos.....	43
2.5. Delineamento experimental e análise estatística.....	43
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>59</b>
<b>6. ANEXOS.....</b>	<b>64</b>

## LISTA DE SIGLAS

a	Fração solúvel inicial
ALB	Albumina
AST	Aspartato aminotransferase
AOAC	Association Of Official Analytical Chemists
b	Fração insolúvel potencialmente degradável
Ca	Cálcio
cm	Centrímetero
°C	Grau Celsius
c	Fração indigestível
COL	Colesterol
CRE	Creatinina
CEUA	Comitê de Ética em Experimentos com animais
Cl	Cloro
dL	Decilitro
DTG	Termogravimetria derivada
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DE	Degradação efetiva
DP	Degradação potencial
EM	Eficiência de microencapsulação
Eq	Equação
F	Fator de correção do ácido clorídrico
g	Grama
g/m <sup>2</sup>	Grama por miligrama
g/L	Grama por litro
h	Hora
kd	Taxa de passagem
kg	Quilograma
m/m	Massas de ureia e solução de pectina
m/v	Massa de soluto pelo volume da solução
mg	Miligrama
mmol/L	Milimol por litro
mL/min	Mililitro por minuto
mg/dL	Miligrama por decilitro
M	Molaridade
MF	Massa final do produto microencapsulado após extrusão
MI	Massa inicial das soluções de pectina e ureia.
MS	Matéria seca
NNP	Nitrogênio não proteico
np	Número de protozoários
N-NH <sub>3</sub>	Nitrogênio amoniacal
N	Nitrogênio
ns	Não significativo
Na	Sódio
NRC	National Research Council
PEC	Pectina

PB	Proteína bruta
pH	Potencial hidrogeniônico
PT	Proteína total
P-valor	Coefficiente de correlação de Pearson
RM	Rendimento de microencapsulação
rpm	Rotação por minuto
SRU	Ureia de liberação lenta
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão de patrimônio e conhecimento Tradicional Associado
Tosent	Temperatura inicial de degradação
TG	Termogravimetria
TNT	Tecido não tecido
TRI	Triglicerídeo
TUS	Teor de ureia no soro
UM <sub>1</sub>	Ureia microencapsulada com 10% de pectina cítrica
UM <sub>2</sub>	Ureia microencapsulada com 20% de pectina cítrica
UM <sub>3</sub>	Ureia microencapsulada com 30% de pectina cítrica
UM	Ureia microencapsulada
U/L	Unidade de massa atômica por litro de sangue
UFCEG	Universidade Federal de Campina Grande
Ureal	Teor real de ureia retido
Uteórica	Teor de ureia inserido
V	Volume do ácido clorídrico gasto na titulação
μL	Micrograma
μMol	Micromol

## LISTA DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1.</b> Microesferas obtidas após gelificação (sem aplicação de secagem) para pectina cítrica com concentração de 3, 4 e 5% (Da esquerda para a direita).....	25
<b>Figura 2.</b> Rendimento de microencapsulação das partículas contendo ureia e partículas de encapsulante (Vazias) .....	27
<b>Figura 3.</b> Micrografias por microscópio estereoscópio do pectinato de cálcio e dos sistemas microencapsulados. Pectina; UM <sub>1</sub> ; UM <sub>2</sub> ; UM <sub>3</sub> (Da esquerda para direita) .....	28
<b>Figura 4.</b> Micrografias por microscópio óptico o pectinato de cálcio e dos sistemas microencapsulados. Pectinato de cálcio; UM <sub>1</sub> ; UM <sub>2</sub> ; UM <sub>3</sub> (Da esquerda para direita) .	28
<b>Tabela 1.</b> Média e desvio padrão (DP) para a quantificação do nitrogênio (N) total, teor de proteína bruta, teor teórico de ureia, teor real de ureia e eficiência da encapsulação	29
<b>Figura 5.</b> Curvas termogravimétricas (TG) e termogravimetria derivada (DTG) (Da esquerda para direita).....	29
<b>Figura 6.</b> Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	30

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1.</b> Proporção dos ingredientes das dietas experimentais utilizadas na alimentação dos ovinos.....	40
<b>Figura 1.</b> Cinética de degradação ruminal da matéria seca (MS) de ureia microencapsulada com pectina.....	44
<b>Figura 2.</b> Cinética de degradabilidade ruminal da matéria seca (MS) para micropartículas de pectinato de cálcio com (UM <sub>1</sub> , UM <sub>2</sub> e UM <sub>3</sub> ) e sem ureia. ....	45
<b>Tabela 2.</b> Estimativas da fração solúvel inicial (a), fração insolúvel potencialmente degradável (b), fração indigerível (c), taxa de degradação (Kd), degradação efetiva (DE) e degradação potencial (DP) da matéria seca e do nitrogênio dos sistemas microencapsulados e micropartícula de pectinato de cálcio.....	47
<b>Figura 3.</b> Comportamento do pH ruminal de ovinos alimentados com ureia microencapsulada, ureia e micropartícula de pectinato de cálcio .....	48
<b>Figura 4.</b> Comportamento da temperatura ruminal de ovinos alimentados com ureia microencapsulada, ureia e micropartícula de pectinato de cálcio .....	49

<b>Figura 5.</b> Contagem de Protozoários (1mL) do fluido ruminal de ovinos usando microesferas de pectina contendo ureia.....	50
<b>Figura 6.</b> Valores de Albumina (g/L) usando microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia na alimentação de ovinos fistulados no rúmen em relação ao tempo de incubação.....	51
<b>Figura 7.</b> Valores de Creatinina (mg/dL) usando microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia na alimentação de ovinos fistulados no rúmen em relação ao tempo de incubação.....	52
<b>Figura 8.</b> Valores de Proteína Total (mg/dL) usando microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia na alimentação de ovinos fistulados no rúmen em relação de incubação.....	52
<b>Figura 9.</b> Valores de ureia sanguínea (mg/dL) usando microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia na alimentação de ovinos fistulados no rúmen em relação aos tempos de coleta.....	54
<b>Figura 10.</b> Concentrações séricas de AST (U/L), Colesterol e triglicerídeos (mg/dL) em relação ao tempo de incubação.....	55
<b>Figura 11.</b> Concentrações séricas de AST (U/L), Colesterol e triglicerídeos (mg/dL) em relação ao tratamento Concentrações séricas de AST, Colesterol e triglicerídeos em relação ao tratamento.....	57
<b>Figura 12.</b> Valores de eletrólitos (Ca e K) em relação ao tratamento.....	58
<b>Figura 13.</b> Valores de eletrólitos (Cl e Na) em relação ao tratamento.....	58
<b>Figura 14.</b> Valores de eletrólitos (Ca e K) em relação aos tempos de incubação.....	59
<b>Figura 15.</b> Valores de eletrólitos (Cl e Na) em relação aos tempos de incubação.....	59

## RESUMO GERAL

Objetivou-se obter microesferas contendo ureia por extrusão/gelificação iônica, obtidas por três sistemas microencapsuladas com proporções fixas de encapsulante (solução de 5% de pectina) e concentrações de 10%, 20% e 30% de ureia (m/m, considerando as massas de ureia e solução de pectina) as quais serão mencionadas como UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, respectivamente. Após teste prévio, os sistemas microencapsulados foram caracterizados quanto à sua morfologia, rendimento de microencapsulação (RM), teor de ureia retido (capacidade de carga), eficiência da microencapsulação (EM) e por técnicas de termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Avaliou-se também quanto à cinética de degradabilidade *in situ*, utilizando três ovinos fistulados no rúmen, machos, da raça Santa Inês com peso médio de 30,4 ± 6 kg e, idade 28 ± 2 meses. A técnica *in situ* realizou-se em sacos de tecido-não-tecido [(TNT - 100g/m<sup>2</sup> (polipropileno))] com dimensões de 4,5x4,5 cm contendo 1 g de amostra e os tempos de incubação foram 0, 1/4, 1/2, 1, 3, 6, 12, 24 e 48 h. Realizou-se análises quanto aos parâmetros ruminais e sanguíneos, através de contagem de protozoários, análise de pH e temperatura ruminal, dosagem de ureia e eletrólitos. No teste preliminar, o teor de ureia retido foi maior conforme diminuição da concentração de pectina, com valores (%) de 72,6±4,4; 69,6±0,5 e 56,8±0,1 para as formulações com 3, 4 e 5% de pectina, definindo, entre as testadas, a formulação com 5% de pectina. No teste definitivo, as formulações UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub> apresentaram teor de ureia efetivamente retido de 26,2, 43,5 e 49,2%, respectivamente. Todos os sistemas (UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>) obtiveram alto percentual de rendimento, com valores superiores a 92%. As análises térmicas feitas e micrografias obtidas revelam que os UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> apresentaram uma proteção mais efetiva frente à degradação térmica devido à microestrutura da partícula (mais regular e espessa). A cinética de degradação demonstrou que a utilização de ureia de liberação lenta proporcionou a elevação da degradabilidade efetiva da ureia microencapsulada, aumento a população microbiana e valores adequados de pH, temperatura e constituintes bioquímicos do sangue. Dessa forma, considera-se a pectina um encapsulante adequado para proteger ureia, destacando-se UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>. Dentre elas, recomenda-se o sistema UM<sub>2</sub>, o que pode favorecer administração de maiores proporções de ureia aos ruminantes sem prejudicar o seu metabolismo.

**Palavras-chave:** degradabilidade, microencapsulação, NNP, rejeito agroindustrial.

## GENERAL ABSTRACT

This study aimed to obtain microspheres containing urea by extrusion/ionic gelation, obtained by three microencapsulated systems with fixed ratios of encapsulant (5% pectin solution) and concentrations of 10%, 20% and 30% of urea (wt%, considering the weight of urea and pectin solution), referred as UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> and UM<sub>3</sub>, respectively. After previous testing, microencapsulated systems were characterized for their morphology, microencapsulation yield (MY), urea content (load capacity), microencapsulation efficiency (ME) and by thermogravimetry (TG), derived thermogravimetry (DTG) and differential scanning calorimetry (DSC). *In situ* degradability kinetics were also evaluated, using three fistulated male Santa Inês sheep, with an average weight of  $30.4 \pm 6$  kg and age  $28 \pm 2$  months. The *in situ* test was performed using non-woven bags [(TNT-100g/m<sup>2</sup> (polypropylene))] with 4.5x4.5 cm, containing 1 g of sample and the incubation times were 0, 1/4, 1/2, 1, 3, 6, 12, 24 and 48 h. Analyzes were carried out for ruminal and blood parameters, including protozoa counting, pH and rumen temperature, urea and electrolyte measurement. Preliminary, the retained urea content was higher as the pectin concentration decreased, with values (%) of  $72.6 \pm 4.4$ ;  $69.6 \pm 0.5$  and  $56.8 \pm 0.1$  for formulations with 3, 4 and 5% of pectin, respectively, defining, among those tested, the formulation with 5% of pectin. In the definitive test, the formulations UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> and UM<sub>3</sub> showed urea content effectively retained of 26.2, 43.5 and 49, 2%, respectively. All systems (UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> and UM<sub>3</sub>) presented a high percentage of yields, with values greater than 92%. The thermal analyzes and micrographs obtained revealed that UM<sub>1</sub> and UM<sub>2</sub> had more effective protection against thermal degradation probably due to the particle microstructure (more regular and thick). The degradation kinetics demonstrated that the use of slow-release urea provided an increase in the effective degradability of microencapsulated urea, increasing the microbial population and providing adequate values of pH, temperature and biochemical constituents of the blood. Thus, pectin can be considered a suitable encapsulant to protect urea, especially UM<sub>1</sub> and UM<sub>2</sub>. Among them, the UM<sub>2</sub> system is recommended, considering it can favor the use of higher amount of urea to ruminants without impairing their metabolism.

Keywords: degradability, microencapsulation, NPN, agroindustrial waste.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A ovinocultura vem obtendo destaque nas regiões semiáridas do Nordeste, principalmente em pequenas propriedades, consolidando-se como uma atividade de grande importância socioeconômica. Entretanto, no processo de nutrição animal há uma busca constante de tecnologias que visem o aumento da eficiência produtiva aliada à maior lucratividade nas propriedades rurais. A necessidade de avaliar um recurso alimentar é um dos critérios a serem considerados quando se fala em desempenho animal, já que os ruminantes demandam nutrientes que atendam aos seus requisitos de manutenção, crescimento, capacidade reprodutiva e produtiva, seja em carne ou leite.

As fontes de compostos nitrogenados são alternativas alimentares que vem sendo utilizadas nas dietas de ruminantes, com a finalidade de substituir parcialmente ingredientes proteicos de alto valor agregado. A ureia, por exemplo, é uma fonte de nitrogênio não proteico (NNP) recomendável devido ao seu baixo custo e importância nutricional, porém seu uso é um fator limitante quanto à sua atividade na microbiota dos animais ruminantes, devido ao baixo aproveitamento do nitrogênio amoniacal, ocasionando picos de nitrogênio na corrente sanguínea elevando a quadros de intoxicação animal e até mesmo a morte (PORSCH, 2017).

Tem sido estudado e empregado intensivamente nos últimos anos, técnicas que visem melhorar o aproveitamento e compreensão dos processos fermentativos, bem como a degradabilidade das frações dos alimentos pela técnica de degradação *in situ*, e o efeito da taxa de passagem na avaliação da degradabilidade em que estabelecem o conceito de degradação efetiva (BERCHIELLI et al., 2011).

A adaptação dos animais à ureia e à quantidade utilizada nas dietas de ruminantes é de extrema relevância para controlar a liberação da ureia no ambiente ruminal, de forma que com a redução dessa velocidade de degradação, haja mais tempo para o organismo transformar o NNP gradativamente em proteína microbiana (GERON et al., 2018). Existem produtos que promovem essa liberação da ureia mais lentamente no rúmen, mas algumas destas alternativas são geralmente mais caras do que a ureia convencional ainda pode causar danos ao meio ambiente. Entretanto, agentes encapsulantes naturais usados na microencapsulação têm promovido benefícios na

incorporação de ureia na dieta dos ruminantes, em que a pectina cítrica se apresenta como uma alternativa promissora.

A microencapsulação pode ser definida como a tecnologia que tem a capacidade de proteger qualquer substância de vários fatores externos, formando cápsulas em tamanhos e formas diferentes, as quais permitem liberar em condições específicas e controladas o conteúdo encapsulado. O processo da microencapsulação se baseia em vários métodos, em que a gelificação iônica é um deles e que proporciona a incorporação do agente de uma forma mais simplificada, sem a necessidade de grandes instrumentos tecnológicos.

A pectina vem sendo utilizada como encapsulante de vários ingredientes ativos devido também à sua facilidade de obtenção e baixo custo pois, a sua extração é proveniente de casca de frutas cítricas, principalmente a laranja. O Brasil é considerado um dos maiores exportadores de sucos de laranja, o que favorece uma elevada concentração de resíduos que podem ser aproveitados na nutrição animal. Além disso, a pectina é um material de parede que tem possibilitado promover a liberação gradual do ingrediente de forma mais lenta, além de ser considerado um material insolúvel e resistente ao conteúdo ruminal, a água e pH ruminal, entre outros fatores que devem ser estudados e comprovados. Dessa forma, a microencapsulação de ureia em matriz de pectina cítrica merece destaque, visando à liberação gradual de NNP na dieta de ruminantes.

## CAPÍTULO I

---

### **Microesferas de pectina contendo ureia por gelificação iônótrópica externa**

## **Microesferas de pectina contendo ureia obtidas por gelificação iônica externa**

### **Resumo**

Objetivou-se investigar ureia microencapsulada e a influência da pectina como encapsulante na retenção, morfologia, efetividade de proteção e perfil de liberação das micropartículas contendo NNP. Inicialmente a melhor concentração de pectina foi investigada com concentrações crescente de 3, 4 e 5% (m/v) com proporção fixa de ureia de 30% (m/m). Posteriormente, os sistemas foram desenvolvidos com proporção fixa de 5% de pectina (definida no teste preliminar) e concentrações iniciais crescentes de ureia, sendo 10, 20, 30% para UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, respectivamente. Os sistemas microencapsulados foram caracterizados quanto à sua morfologia, rendimento de microencapsulação, teor de ureia retido (capacidade de carga), eficiência da microencapsulação e por técnicas de termogravimetria (TG), curvas termogravimétricas derivadas (DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Todos os sistemas avaliados mostraram resultados promissores: Rendimento com valores de 92,2; 94,3 e 97,1%; teor de ureia retido de 26,2; 43,5 e 49,2% e eficiência de microencapsulação de 262; 217,6 e 164,2%, respectivamente, para UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>. As caracterizações das microesferas demonstraram a efetividade do processo de microencapsulação, com destaque para os sistemas UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>, que apresentaram formato mais esférico e regular, além de melhor estabilidade térmica ( $T_{\text{onset}}$  de 180, 181 e 169 °C para UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, respectivamente) em comparação à ureia livre ( $T_{\text{onset}}$  164 °C), evidenciando uma maior resistência que pode se reproduzir também no ambiente ruminal. Os resultados obtidos comprovam que a gelificação iônica externa apresentou-se como uma técnica adequada para microencapsulação de ureia, assim como a pectina cítrica apresentou-se como um bom agente encapsulante para a aplicação pretendida no presente estudo.

**Palavras-chave:** extrusão, morfologia, ureia microencapsulada, proteína protegida.

## **Pectin microspheres containing urea obtained by external ionic gelation**

### **Abstract**

This study aimed to investigate microencapsulated urea regarding the influence of pectin as an encapsulant on retention, morphology, protection and release profile of microparticles containing NNP. Initially, the best pectin concentration was investigated with increasing concentrations of 3, 4 and 5% (wt/v) and a fixed urea ratio of 30% (wt/wt). Subsequently, the systems were developed with a fixed proportion of 5% pectin (defined in the preliminary test) and increasing initial concentrations of urea of 10, 20, 30% for UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> and UM<sub>3</sub>, respectively. The microencapsulated systems were characterized for their morphology, microencapsulation yield, urea content (load capacity), microencapsulation efficiency, thermogravimetry (TG), derived thermogravimetry (DTG) and differential scanning calorimetry (DSC). All evaluated systems showed promising results to UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> and UM<sub>3</sub>, respectively: Yields of 92.2, 94.3 and 97.1%; urea content of 26.2, 43.5 and 49.2%, besides microencapsulation efficiency of 262%, 217.6% and 164.2%. The microspheres characterization demonstrated the effectiveness of the process of microencapsulation, especially UM<sub>1</sub> and UM<sub>2</sub> systems, with a more spherical and regular shape, besides better thermal stability ( $T_{\text{onset}}$  of 180, 181 and 169 °C to UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> and UM<sub>3</sub>, respectively) compared to free urea ( $T_{\text{onset}}$  164 °C), showing a greater resistance that can also be reproduced in the rumen environment. The results showed the external ionic gelation can be an adequate technique for microencapsulation of urea, as well as the citrus pectin is a good encapsulating agent, considering the application in the present study.

**Keywords:** extrusion, morphology, microencapsulated urea, protected protein.

## 1. INTRODUÇÃO

A microencapsulação vem sendo explorada há muitos anos nas áreas alimentícia, farmacêutica, sistemas de fixação de tintas e fotocopiadoras, agrotóxicos e até na fabricação de produtos cosméticos (KIM, 2011). Entretanto, no campo da nutrição animal a microencapsulação ainda precisa ter seu potencial e benefícios melhor explorados. Em alguns casos de estudos que aderiram ao uso desta tecnologia procedeu-se com bons resultados, porém, mais estudos devem ser aplicados a fim de compreender e aprofundar o conhecimento na temática, bem como para avaliar a escolha de técnicas de microencapsulação e materiais encapsulantes.

De acordo com Vanishi et al. (2017), a microencapsulação trata-se de uma tecnologia que permite o revestimento de um ingrediente ativo, seja sólido, líquido ou gasoso, por camadas de um agente encapsulante. Para Ré (2000) essa tecnologia permite a liberação desse material em tempo e destino apropriados, evitando assim sua exposição indesejada. Na indústria alimentícia, por exemplo, essa técnica visa proteger os ingredientes contra vários fatores externos, tais como a luz, elevada concentração de oxigênio, calor e umidade (FAVARO-TRINDADE, 2008), temperatura, atividade enzimática, variação de pH, estresse mecânico, força osmótica, entre outros (ALMEIDA, 2013).

A escolha do material encapsulante tem um papel importante na formação das micropartículas. O encapsulante fundamenta-se nas propriedades químicas e físicas de um corpo (núcleo) a fim de adequar com a sua finalidade e atuação em determinado local (SUAVE et al., 2006). Segundo Santos et al. (2000), o encapsulante deve apresentar várias características para ser considerado como ideal, tais como: fácil manipulação durante o procedimento, ser estável e possuir baixa higroscopicidade, ser impermeável e inerte ao material a ser encapsulado, ter capacidade de controlar a liberação do conteúdo sob determinada situação, proporcionar máxima proteção do ingrediente ativo dentro da micropartícula, não ser tóxico ou apresentar cor, sabor e odor que prejudiquem a sua utilização e apresentar boas condições no processo e secagem do material.

Existe uma grande quantidade de materiais que é utilizada como encapsulante, cada um com suas particularidades, dentre elas: a pectina. A pectina é encontrada normalmente em maior quantidade em frutas cítricas, e o seu uso como encapsulante é

importante por ser um produto natural e de fácil aquisição. Além disso, a pectina permite o isolamento do NNP promovendo sua liberação mais lentamente, melhorando o seu aproveitamento e promovendo a redução da contaminação ambiental pela excreção de nitrogênio via ciclo da ureia. Para Urbano (2004) a pectina tem sido utilizada na indústria farmacêutica na produção de comprimidos em forma de microesferas.

Dentre os diversos métodos de microencapsulação destaca-se o processo de gelificação iônica pela sua simplicidade em execução e por ser uma técnica de baixo custo. A gelificação iônica é uma técnica promissora por ser capaz de formar subitamente microesferas que incorporam e protegem ingredientes ativos dentro de uma rede tridimensional oferecendo um equilíbrio. Quando estabilizadas, as micropartículas passam por secagem permitindo obter partículas de tamanhos e formas variáveis (ROCHA, 2017).

Com isso, objetivou-se investigar ureia microencapsulada e a influência da pectina como encapsulante na retenção, morfologia, efetividade de proteção e perfil de liberação das micropartículas contendo NNP.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Desenvolvimento de ureia microencapsulada e morfologia dos sistemas**

Inicialmente a melhor concentração de pectina foi investigada. Foram testadas concentrações de pectina cítrica de 3, 4 e 5% (m/v) com proporção fixa de ureia de 30% (m/m). As formulações foram obtidas pela técnica de extrusão/gelificação iônica externa. Para preparar as respectivas soluções, as massas correspondentes de ureia e pectina foram devidamente pesadas para cada formulação e dissolvidas com água destilada. Em seguida, para cada sistema, a solução de ureia foi adicionada lentamente à solução de pectina e agitada com bastão de vidro até total homogeneização. Posteriormente, cada solução da mistura núcleo/encapsulante foi extrusada com auxílio de uma seringa plástica em banho reticulante de cloreto de cálcio 3%, previamente preparado. A extrusão foi feita a partir de uma altura fixa de 10 cm e as microesferas permaneceram em contato com a solução reticulante por 30 min, sob agitação magnética constante de 400 rpm. Por fim, as microesferas foram separadas com auxílio

de peneira, lavadas com água destilada, transferidas para placas de petri e/ou bandeja de plástico e secas em estufa a 45 °C por 24 h.

Três formulações microencapsuladas foram desenvolvidas com proporção fixa de pectina cítrica 5% (m/v), (concentração definida a partir do teste prévio anteriormente citado) e concentrações iniciais crescentes de ureia de 10%, 20% e 30% (m/m), as quais serão mencionadas como UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, respectivamente. Os sistemas microencapsulados foram obtidos conforme mencionado no teste prévio através da avaliação do rendimento, análise visual e teor de ureia retido.

Posteriormente, realizou-se as micrografias das micropartículas contendo ureia e da micropartícula vazia de pectinato de cálcio, a qual foram investigadas por microscopia óptica, em microscópio Medilux, e por microscópio estereoscópio. Para varredura no microscópio óptico, as amostras foram fixadas em lamínula com iluminação ajustada e ampliação de 40×. Todas as micrografias foram realizadas no Laboratório de microscopia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG.

## 2.2. Rendimento e eficiência da microencapsulação

O rendimento de microencapsulação se baseia nas massas das soluções de ureia e pectina antes e após extrusão/gelificação iônica, calculado por meio da equação (1) seguinte:

$$RM = \left( \frac{MF}{MI} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde: RM = Rendimento de microencapsulação; MF: Massa final do produto microencapsulado após extrusão/reticulação; MI = Massa inicial das soluções de pectina e ureia.

A eficiência de microencapsulação avaliou a capacidade de retenção de ureia pela matriz de pectina cítrica e foi determinada com base no teor de ureia inserido e no teor retido após o processo. A eficiência foi calculada por meio da equação seguinte:

$$\%EM = \left( \frac{U_{real}}{U_{teórica}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde: EM = Eficiência da microencapsulação; Ureal: Teor real de ureia retido; Uteórica: Teor de ureia inserido.

### 2.3. Termogravimetria (TG) e Colorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas TG da ureia, pectina cítrica e sistemas microencapsulados foram obtidas em analisador térmico, modelo SDT Q600 V20.9 Build 20, sob atmosfera inerte, fluxo de 100 mL/min, taxa de aquecimento de 10°C/min, em uma faixa de temperatura de 30 a 600 °C, utilizando cadinho de platina contendo entre 7,5 mg de amostra.

Para avaliação da estabilidade térmica dos materiais estudados foi considerada a *Tonset*, caracterizada como o melhor ponto que representa a temperatura inicial de degradação de determinado composto.

As curvas de DSC da ureia, pectina e sistemas microencapsulados foram obtidas pelo mesmo instrumento utilizado para a termogravimetria, analisador térmico, modelo SDT Q600 V20.9 Build 20, simultaneous, sob atmosfera inerte, fluxo de 100 mL/min, taxa de aquecimento de 10°C/min, em uma faixa de temperatura de 30 a 300 °C, utilizando cadinho de platina, contendo cerca de 7,5 mg de amostra.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os três sistemas microencapsulados desenvolvidos no teste prévio com proporção fixa de ureia de 30% (m/m) e variação de solução de pectina cítrica de 3, 4 e 5% foram avaliados. Observou-se uma diminuição na firmeza do gel formado, aumento da aglomeração e de irregularidades no formato das microesferas obtidas conforme decréscimo da concentração de pectina (Figura 1).



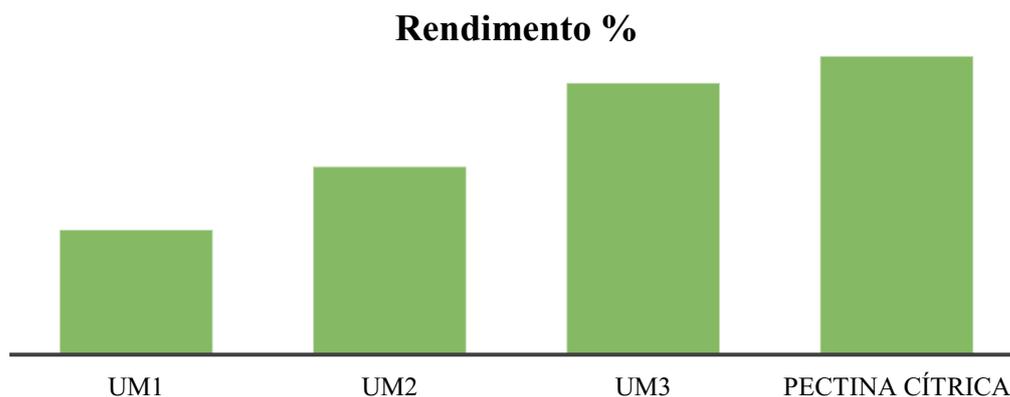
**Figura 1.** Microesferas obtidas após gelificação (sem aplicação de secagem) para pectina cítrica com concentração de 3, 4 e 5% (Da esquerda para a direita).

Todos os sistemas microencapsulados apresentaram bons rendimentos, com valores de 72,9; 66,9 e 78,7% para as formulações com 3, 4 e 5% de pectina cítrica, respectivamente. Já o teor de ureia retido foi maior conforme diminuição da concentração de pectina, com valores de  $72,6 \pm 4,4$ ;  $69,6 \pm 0,5$  e  $56,8 \pm 0,1$  para as formulações com 3, 4 e 5% de pectina. Essa retenção inversamente proporcional à concentração de pectina pode ser explicada pelo fato de que menores concentrações possibilitam obter microesferas com maior incidência de vacâncias em seu interior, tendo, portanto, mais espaços vazios para alojar o núcleo.

Devido ao maior rendimento e à firmeza das microesferas obtidas, sendo esta última uma característica relacionada à efetividade de proteção e taxa de liberação de ureia, o estudo destaca, entre as testadas, a formulação com 5% de pectina.

A morfologia, teor de nitrogênio total, proteína bruta, teor teórico de ureia, teor real médio de ureia foram realizados para os três sistemas microencapsulados contendo ureia e para pectinato de cálcio. Para o rendimento, eficiência da microencapsulação e as caracterizações (TG e DSC), os testes foram conduzidos para ureia, sistemas microencapsulados e partículas de pectinato de cálcio (Partículas vazias, sem ureia).

Os valores de rendimentos dos sistemas microencapsulados (UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>) encontram-se na figura 2 abaixo, em que todos os sistemas apresentaram alto percentual de rendimento, com valores superiores a 92%. Esses resultados comprovam que a gelificação iônica externa é uma técnica adequada para microencapsulação de ureia, assim como a pectina cítrica mostrou-se viável como agente encapsulante. Noh et al. (2018) em seu estudo ao microencapsular múltiplos agentes ativos hidrofóbicos e hidrofílicos, destacou o potencial de uso da pectina em formulações de microcápsula como proteção de agentes ativos por gelificação por reticulação eletrostática.



**Figura 2.** Rendimento de microencapsulação das partículas contendo ureia e partículas de encapsulante (Vazias).

Observou-se que o manuseio durante o processo de microencapsulação pode ocasionar perdas prévias, influenciando, conseqüentemente, no rendimento final do material, conseqüência da pectina ser um material encapsulante com característica gelificante e possuir maior facilidade de aderência a recipientes.

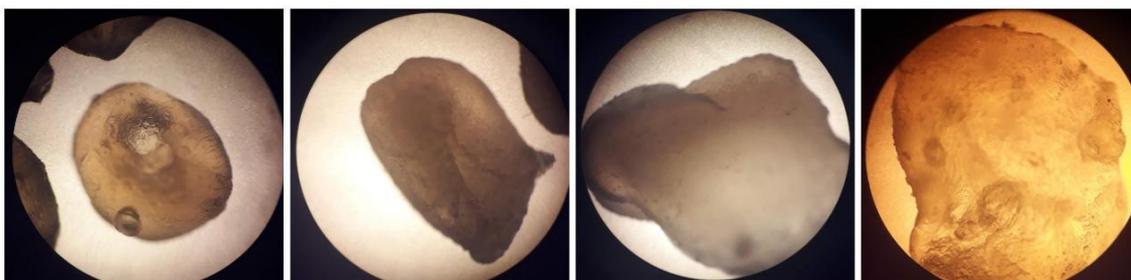
Esses valores obtidos foram aproximados e/ou superiores aos encontrados por Carvalho (2019), que por método de secagem por liofilização avaliou duas formulações microencapsuladas utilizando cera de abelha como encapsulante de ureia sem fonte de enxofre (2:1) e ureia com fonte de enxofre (2:1), a qual obteve valores de 92,53 e 90,80%, respectivamente. Da mesma maneira, Alves (2019) em um estudo avaliando dois processos de secagem empregados, liofilização e secagem em estufa, em sistemas de ureia microencapsulada em matriz lipídica de cera de carnaúba obteve valores de rendimento superiores a 94%.

As avaliações morfológicas são fatores importantes para a confirmação da proteção do conteúdo encapsulado, sua uniformidade em tamanho e suas condições de liberação, visto que a efetividade da utilização das microesferas depende diretamente das propriedades do agente encapsulante, que não deve permitir a liberação do núcleo antes do tempo desejado.

Os sistemas microencapsulados e o pectinato de cálcio (micropartículas de pectina vazias) foram avaliados quanto à sua microestrutura em microscópio estereoscópio e microscópio óptico. As micrografias encontram-se na Figura 3 e 4.



**Figura 3.** Micrografias por microscópio estereoscópio do pectinato de cálcio e dos sistemas microencapsulados. Pectina; UM<sub>1</sub>; UM<sub>2</sub>; UM<sub>3</sub> (Da esquerda para direita).



**Figura 4.** Micrografias por microscópio óptico o pectinato de cálcio e dos sistemas microencapsulados. Pectinato de cálcio; UM<sub>1</sub>; UM<sub>2</sub>; UM<sub>3</sub> (Da esquerda para direita).

Em comparação ao pectinato de cálcio, todos os sistemas apresentaram cor esbranquiçada, devido à presença da ureia. Os três sistemas apresentaram-se sem porosidade e fissuras, embora UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> tenham partícula com formato mais regular. UM<sub>3</sub> apresentou superfície rugosa, o que sugere ureia exposta. Quanto maior o teor de ureia inserido, menos esférica a partícula se tornou, assumindo um formato achatado (forma elipsoidal) e de menor espessura e maior tamanho de partícula.

Para cada sistema UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, quantificou-se o teor de nitrogênio para estimar o teor real de proteína bruta e a quantidade de ureia retida e, portanto, averiguar a eficiência da encapsulação. Os valores de cada formulação encontram-se na Tabela 1 abaixo, em que as formulações UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub> apresentaram teor de ureia efetivamente retido de 26,2, 43,5 e 49,2%, respectivamente. Esse aumento no teor real de ureia relaciona-se ao processo de secagem das microesferas, já que toda água presente é evaporada e o conteúdo de núcleo fica concentrado. Netto (2018) investigou a microencapsulação de ureia em matriz lipídica de cera de carnaúba por liofilização, em que o teor de ureia retido foi de  $33,01 \pm 0,155$  e  $19,90 \pm 0,141$  para diferentes proporções de encapsulante:núcleo (2:1 e 4:1, respectivamente).

**Tabela 1.** Média e desvio padrão (DP) para a quantificação do nitrogênio (N) total, teor de proteína bruta, teor teórico de ureia, teor real de ureia e eficiência da encapsulação.

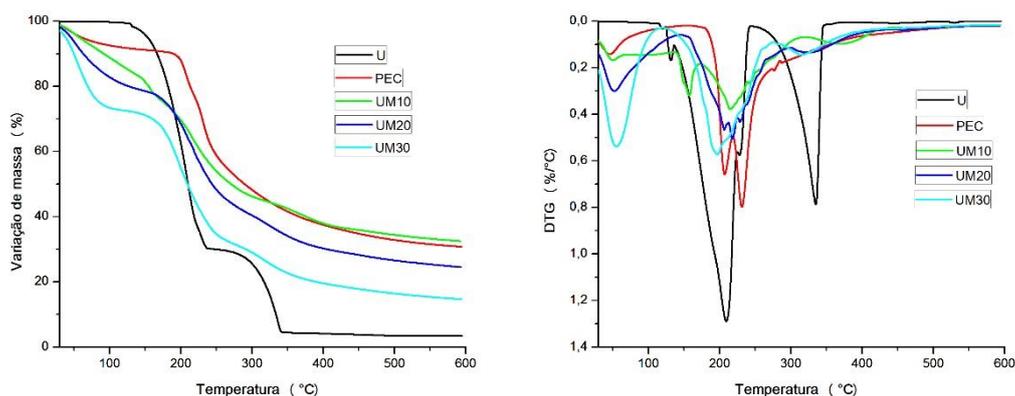
Formulações U <sub>ME</sub>	Uteórica (%)	Ntotal (%)	PB (%)	Ureal (%)
UM <sub>1</sub>	10	11,85	74,06	26,20
UM <sub>2</sub>	20	12,75	79,69	43,52
UM <sub>3</sub>	30	14,00	87,5	49,25

U<sub>ME</sub>: Ureia microencapsulada; Uteórica: Teor teórica de ureia inserida; N: Nitrogênio total; PB: Proteína bruta; Ureal: Teor real de ureia retido.

Após o cálculo da eficiência de microencapsulação para as demais formulações (UM<sub>1</sub> = 262%, UM<sub>2</sub> = 217,6% e UM<sub>3</sub> = 164,2%), observa-se que o valor diminui conforme aumento do teor de ureia. Isso ocorre porque cada material encapsulante possui um limite de retenção, ainda assim os três sistemas apresentaram altas retenções. Ao avaliar a eficiência de microencapsulação da ureia como núcleo, Medeiros (2018) e Neto (2019) obtiverem em suas formulações valores acima de 97%, Carvalho (2019) acima de 98% e Netto (2018) apresentou valores de 99,0 e 99,5%.

Na preparação de microesferas de pectinato de cálcio pelo método de emulsificação/gelificação interna, para todos os parâmetros estudados foram obtidas eficiências de encapsulação acima de 90% (URBANO, 2004). Da mesma forma, Esfanjani et al. (2015) a fim de obter uma maior eficiência de encapsulação, estudou por meio de sistemas de emulsão diferentes tipos de sistemas alimentares, dentre eles a pectina, e obteve eficiência acima de 93%. Todos esses dados de eficiência corroboram com os encontrados neste estudo, confirmando o potencial do agente encapsulante em junção ao método de gelificação inotrópica na proteção da ureia.

Na figura 5 encontram-se as Curvas termogravimétricas (TG) e termogravimétricas derivadas (DTG) da ureia, pectina cítrica e sistemas microencapsulados.



**Figura 5.** Curvas termogravimétricas (TG) e termogravimétricas derivadas (DTG) (Da esquerda para direita).

Analisando as curvas TG dos sistemas microencapsulados e das fases isoladas, observou-se a partir das curvas TG que a ureia se degrada em dois principais estágios, enquanto a pectina cítrica em apenas um. Já os sistemas microencapsulados, desconsiderando a perda de umidade (1º evento), apresentaram um estágio de perda de massa. Observa-se nas curvas DTG que, na verdade, os materiais sofrem reações de degradação térmica simultâneas que aparecem como um único evento na curva TG.

$T_{\text{onset}}$  é o parâmetro mais utilizado para estimar a estabilidade térmica de um material e é considerado o ponto onde a degradação térmica se inicia. Conforme os dados extraídos das curvas TG, a pectina cítrica apresentou  $T_{\text{onset}}$  em 200 °C, enquanto a ureia livre em 164 °C, valor aproximado ao encontrado por Carvalho (2019), com  $T_{\text{onset}}$  de 170,5°C para ureia.

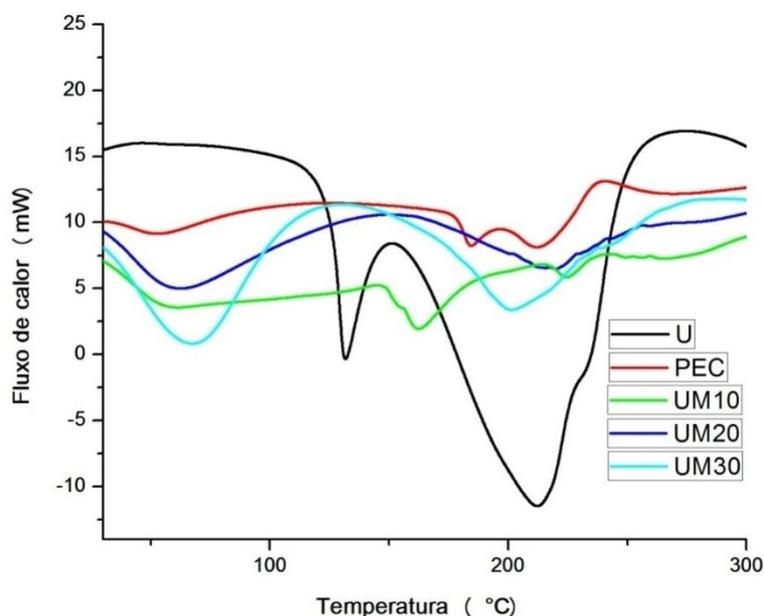
Já a ureia nos sistemas microencapsulados apresentou início de degradação térmica em uma maior temperatura quando comparada à ureia livre, considerando a  $T_{\text{onset}}$ , cujos valores foram 180, 181 e 169°C para UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, respectivamente. Isso confirma a efetividade da proteção da ureia pela pectina cítrica, com destaque para UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>, que apresentaram uma proteção mais efetiva frente à degradação térmica, provavelmente por influência da microestrutura da partícula (mais regular e espessa), conforme a própria análise visual e também como já indicado nas micrografias.

Para os sistemas microencapsulados UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, as temperaturas iniciais e finais ( $T_i$  e  $T_f$ ) de degradação foram 128 e 172, 148 e 212 e 128 e 208, respectivamente. Observa-se que UM<sub>2</sub> destaca-se com maior estabilidade térmica. Estudo anteriormente realizado por Neto (2019) com ureia microencapsulada com cera

de carnaúba encontrou valores de  $T_{\text{onset}}$  aproximados: 176,35 e 176,55 °C para os dois sistemas estudados (2:1 e 4:1, Ureia:Cera de carnaúba). Já Medeiros (2018) obteve valores superiores, com  $T_{\text{onset}}$  de 234,11, 248,80 e 259,50°C (2:1, 3:1 e 4:1, Ureia:Cera de carnaúba).

O sistema  $UM_1$  apresentou evento de degradação com  $T_{\text{onset}}$  em 156 °C, o qual não faz parte da ureia livre, pectina cítrica ou ocorreu para os demais sistemas, correspondendo provavelmente a alguma impureza de manuseio da amostra.

No Figura 2 encontram-se as curvas de DSC, em que as temperaturas dos eventos térmicos mencionados foram definidas como as temperaturas de pico ( $T_p$ ).



**Figura 6.** Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

Observa-se que o evento térmico abaixo de 100 °C corresponde à perda de umidade. A ureia apresentou eventos endotérmicos em 130 e 212 °C, correspondentes à sua fusão e degradação térmica, respectivamente. A pectina apresentou dois eventos endotérmicos em 184 e 213 °C e um evento exotérmico em 240 °C, correspondentes à sua degradação térmica.

Observou-se maior temperatura de fusão (162 °C) para a ureia em  $UM_1$  comparada à ureia livre (130 °C), enquanto  $UM_2$  e  $UM_3$  não exibiram o evento de fusão, sugerindo ocorrência desta e da degradação térmica simultaneamente. Todos os

sistemas microencapsulados apresentaram maior temperatura inicial de degradação em relação à ureia livre (212 °C), com valores de 224, 217 e 202 °C para UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, respectivamente, confirmando uma proteção mais efetiva para UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>, corroborando o observado nas micrografias e curvas TG.

#### 4. CONCLUSÃO

A obtenção de microesferas contendo ureia utilizando pectina cítrica como agente encapsulante demonstrou resultados satisfatórios. Todas as formulações apresentaram altos índices de rendimentos, eficiência da microencapsulação e efetividade na retenção do núcleo, indicando a adequação do encapsulante e técnica de microencapsulação escolhidos. As caracterizações evidenciaram que a ureia após microencapsulação passa a ser protegida por uma barreira do encapsulante, o que pode favorecer a almejada liberação gradual frente ao ambiente ruminal, alvo do presente estudo, com destaque para UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>.

#### 5. REFERÊNCIAS

Almeida, J. F. Atividade antioxidante e microencapsulação de extrato etanólico de tomilho (*Thymus vulgaris L.*). Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2013.

Alves, L. F. Cera de carnaúba como agente encapsulante de ureia: caracterização e avaliação in situ. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Piauí, 2019.

AOAC. Official Methods of Analysis. Method 969.38. 19th ed., 2012.

Berchielli, T.T.; Vega-garcia, A.; Oliveira, S.G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G. (Eds). Nutrição de Ruminantes. ed. 2. Jaboticabal: Funep. 565-600, 2011.

- Carvalho, A. de B.; Silva, A.L.da; Silva, A. M. de A.; Netto, A.J.; Medeiros, T. T. B. de; Araújo Filho, J. M.; Agostini, D. L. da S.; Oliveira, D. L. V. de; Mazzetto, S. E.; Kotzebue, L. R. V.; Oliveira, J. R.; Oliveira, R. L.; Bezerra, L. R. Effect of slow-release urea microencapsulated in beeswax and its inclusion in ruminant diets. *Small Ruminant Research*, Vol. 179, Pag. 56-63, October 2019.
- Fávaro-Trindade, C. S.; Pinho, S. C.; Rocha, G. A. Revisão: microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 11, p. 103–112, 2008.
- Kim, G. J., Bang, K. H., Kim, Y. B, e Rhee. Y. H. Preparation and characterization of native poly (3-hydroxybutyrate) microspheres from *Ralstonia eutropha*. *Biotechnology Letters*, 2000.
- Medeiros, T. T. B. de; Silva, M. de A. S.; Silva, A. L. da; Bezerra, L. R.; Agostini, D. L. da S.; Oliveira, D. L. V. de; Mazzetto, S. e; Kotzebue, L. R. V.; Oliveira, J.R.; Souto, G. S. B.; Carvalho, A. de B.; Netto, A. J.; Oliveira, R. L. Carnauba wax as a wall material for urea microencapsulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, September 2018.
- Netto, Tonio Joelson. Microesferas de cera de carnaúba contendo ureia na dieta de ovinos: obtenção, caracterização, consumo, digestibilidade e perfil metabólico. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Campina Grande – PB, 2018.
- Neto, J. P. de C.; Bezerra, L.R.; Silva, A. L. da; Moura, J. F. P. de; Filho, J. M. P.; Filho, E. C. da S.; Guedes, A. F.; Araújo, M. J.; Edvan, R. L.; Oliveira, R. L.. Methionine microencapsulated with a carnauba (*Copernicia prunifera*) wax matrix for protection from degradation in the rumen. *Livestock Science*, July 2019.
- Noh, J. K.; Kim, J.; Chung, J. S.; Chang, Y. S.; Park, S. T. Microencapsulation by pectin for multi-components carriers bearing both hydrophobic and hydrophilic active agents. *Carbohydrate Polymers*, v. 182, n. November 2017, p. 172–179, 2018.

Ré, M. I. Microencapsulação: Em busca de produtos inteligentes. *Ciência Hoje* 27(162):24-29, 2000.

Rocha, L. C. R. Desenvolvimento de micropátículas contendo suco de tomate via gelificação iônica. Dissertação – mestrado em Engenharia de Biomateriais. Universidade Federal de Lavras. Lavras - MG, p. 87, 2017.

Santos, A. B.; Ferreira, V. P.; Grosso, C. R. F. Microcápsulas: Uma alternativa viável. Microencapsulação de produtos sensíveis à oxidação óleo-resina de páprica. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*. 2000.

Suave, J.; Dall’Agnol, E. C.; Pezzin, A. P. T.; Silva, D. A. K; Meier, M. M.; Soldi, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas Florianópolis – SC, 2006.

Urbano, A.P.A. Microencapsulação de fármacos peptídicos em pectina pelo método de emulsificação/gelificação interna. A albumina como fármaco modelo. Dissertação de Mestrado em Farmácia. Universidade de Coimbra – Coimbra, p. 148, 2004.

Vanishi, R.; Corti, D.; Drunkler, D. A. Técnicas e materiais empregados na microencapsulação de probióticos. *Brazilian Journl of Food Reseach, Campo Mourão*, v. 8, n. 1, p. 156-184, 2017.

## CAPÍTULO II

---

**Cinética de degradabilidade in situ, parâmetros ruminais e metabólicos de ovinos recebendo dieta à base de microesferas de pectina contendo ureia**

## **Cinética de degradabilidade *in situ*, parâmetros ruminais e metabólicos de ovinos recebendo dieta à base de microesferas de pectina contendo ureia**

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar a influência e eficiência da ureia de liberação lenta de três sistemas microencapsulados em matriz de pectina cítrica (UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>), pectinato de cálcio e ureia livre quanto à cinética de degradação *in situ*, pH, temperatura ruminal, contagem de protozoários no fluido ruminal e parâmetros sanguíneos. Para a degradabilidade *in situ* utilizou-se três ovinos, machos, fistulados no rúmen, peso médio de 30,4 kg ± 6 e idade de 28 meses ± 2. O período experimental foi composto por 43 dias, sendo 24 dias para adaptação às instalações e às dietas contendo ureia e 19 dias para coleta de dados. Através do teste *in situ*, avaliou-se a fração solúvel inicial (a), fração insolúvel potencialmente degradável (b), fração indigerível (c), taxa de degradação (Kd), degradação efetiva (DE) e degradação potencial (DP) da matéria seca e do nitrogênio dos sistemas microencapsulados e micropartícula de pectinato de cálcio. A cinética de degradação demonstrou que os sistemas microencapsulados reduziram significativamente (com desaparecimento no tempo de 30 min de 63,2, 65,2 e 67,3% para UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, respectivamente), obtendo liberação controlada em comparação a ureia livre, já que nos primeiros tempos (15 e 30 min) todo conteúdo de ureia incubado já havia sido degradado, com valor em torno de 99,92% ± 0,04 e 99,58% ± 0,06, respectivamente. Houve elevação na densidade populacional de protozoários presente no ambiente ruminal quando receberam a ureia microencapsulada, o que favoreceu pH e temperatura ruminal dentro dos valores de referência. A utilização de microesferas não interferiu de forma negativa nos constituintes bioquímicos do sangue. Para todas as variáveis avaliadas, os sistemas UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> destacaram-se com os melhores resultados. Portanto, a microencapsulação com pectina cítrica proporcionou melhor aproveitamento da ureia, reduzindo os riscos de intoxicação animal, favorecendo a administração de maiores teores de inclusão desta na dieta de ruminantes sem prejudicar o seu metabolismo.

**Palavras-chave:** bioquímica, liberação lenta, pH e temperatura ruminal, protozoários.

***In situ* degradability kinetics, ruminal and metabolic parameters of sheep receiving a diet based on pectin microspheres containing urea**

**Abstract**

This study aimed to evaluate the influence and efficiency of three slow-release microencapsulated urea systems in a matrix of citrus pectin (UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> and UM<sub>3</sub>), besides calcium pectinate particles and free urea regarding the *in situ* degradation kinetics, pH, ruminal temperature, protozoa counting in the ruminal fluid and blood parameters. For *in situ* degradability, three male fistulated sheep were used, with an average weight of 30.4 kg ± 6 and age of 28 months ± 2. The experimental period consisted of 43 days, being 24 days for adaptation to facilities and diets containing urea and 19 days for data collection. The *in situ* test provided to investigate the initial soluble fraction (a), potentially degradable insoluble fraction (b), indigestible fraction (c), degradation rate (K<sub>d</sub>), effective degradation (DE) and potential degradation (DP) of the dry matter and nitrogen of the microencapsulated systems and also calcium pectinate microparticles. The degradation kinetics demonstrated that the microencapsulated systems reduced significantly (with disappearance in 30 min of 63.2, 65.2 and 67.3% to UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> and UM<sub>3</sub>, respectively), obtaining controlled release in comparison to free urea, since in the first times (15 and 30 min) all incubated urea content had already been degraded, with a value around 99.92% ± 0.04 and 99.58% ± 0.06, respectively. There was an increase in the population density of protozoa present in the rumen environment when they received microencapsulated urea, which favored the pH and rumen temperature within the reference values. The use of microspheres did not interfere negatively in the biochemical constituents of the blood. For all evaluated parameters, UM<sub>1</sub> and UM<sub>2</sub> systems stood out with the best results. Therefore, microencapsulation with citrus pectin provided better utilization of urea, reducing risk of animal poisoning, besides providing an use of higher amount of urea to ruminants without impairing their metabolism.

**Keywords:** biochemistry, slow release, pH and rumen temperature, protozoa.

## 1. INTRODUÇÃO

Na busca por minimizar os custos de produção animal a ureia tem sido utilizada na dieta de pequenos ruminantes por dois motivos básicos: nutricional e econômico (Santos, 2011). Segundo Maciel (2017) a ureia é um composto orgânico rico em NNP, com 45% de N e potencial equivalente a 281% de proteína bruta (PB), inteiramente degradável no rúmen. Porém, a ureia apresenta alta taxa de hidrólise devido a rápida liberação de amônia pelo acúmulo de N-NH<sub>3</sub> no rúmen, a qual será absorvida e levada ao fígado para metabolização e conversão em ureia, forma pela qual é excretada pela urina ou reciclada na parede ruminal e saliva (GONSALVES NETO et al., 2017).

Como a velocidade de liberação de amônia no rúmen é o fator determinante na transformação do nitrogênio alimentar em proteína microbiana (Freire e Pedreira, 2014), e na adaptação da ureia no ambiente ruminal, a microencapsulação da ureia surge como possibilidade de liberar este ingrediente de forma gradativa em ambiente ruminal, reduzindo estágios de intoxicação animal e melhorando o sincronismo de nutrientes no rúmen, sem comprometer o desempenho produtivo (SOUZA et al., 2010). Baseado nisso, a pectina cítrica é um agente encapsulante que tem a finalidade de proteger o ingrediente ativo e disponibilizá-lo em tempo, local e condições ideais.

Dentre as técnicas preponderantes para as taxas de degradação ruminal dos alimentos, a incubação *in situ* é uma ferramenta vantajosa que pode ser utilizada para avaliar a qualidade dos alimentos (Orskov et al., 1980), além de prover informações sobre a cinética de liberação do nitrogênio que ocorre no rúmen. Através da cinética de degradação é possível investigar a eficiência na utilização da ureia, minimizando os riscos de intoxicação, e conseqüentemente, possibilitando a sua inclusão na dieta para um bom desempenho animal.

De acordo com Van Soest (1994), a população de microrganismos ruminais necessitam de nitrogênio proveniente da degradabilidade de proteína, peptídeos, aminoácidos e de outras substâncias presentes no rúmen. O rúmen apresenta um ecossistema microbiano estável, pois possui uma população microbiana estabelecida, que tem a capacidade de produzir proteína com alto valor nutritivo decorrente de compostos inferiores. Entretanto, fatores tais como: idade e condição de saúde do animal, dieta oferecida pode afetar essa população (WELKIE et al., 2010). Entre os microrganismos presentes no ecossistema ruminal, os protozoários são descritos como

os que são em tamanho os maiores, representando assim significativamente a microbiota ruminal (MONÇÃO et al., 2013).

Dentre os fatores preponderantes para o bom funcionamento ruminal, como uma câmara fermentativa, o pH e temperatura são importantes para a presença de protozoários, bactérias e fungos. Avaliação do pH ruminal é uma das características fisiológicas importante, pois as bactérias celulolíticas são sensíveis a sua variação (SUNG et al., 2006). Entretanto alguns fatores que podem afetar diretamente o pH ruminal estão relacionados a ação dos microrganismos, uma vez que eles necessitam que a faixa de pH esteja ótimo para o seu crescimento (VAN SOEST 1994).

De acordo com González (2000), na avaliação do desempenho zootécnico, estudos tem sido realizados sobre o perfil metabólico em ruminantes através de análises dos componentes bioquímicos do sangue, que refletem de maneira confiável o balanço entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes nos tecidos animais já que o perfil bioquímico dos animais de rebanho permite avaliar o status nutricional e a dieta fornecida pode apresentar efeitos sobre os constituintes bioquímicos do sangue. (LIMA et al., 2012). Comumente, os valores de referência mais utilizados são oriundos de dados internacionais, como os definidos por Kaneko et al. (2008).

Objetivou-se avaliar a influência e eficiência da ureia de liberação lenta de três sistemas microencapsulados em matriz de pectina cítrica (UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>), pectinato de cálcio e ureia livre; quanto à cinética de degradação *in situ*, pH, temperatura ruminal, quantidade de protozoários no fluido ruminal e parâmetros sanguíneos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local do experimento**

O experimento foi conduzido no laboratório de Nutrição Animal – LANA e no Setor de Caprinos de Ovinos da Fazenda Experimental NUPEÁRIDO do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, no município de Patos – PB.

As atividades de microencapsulação de ureia em matriz de pectina cítrica e teste *in situ* foram cadastradas no Sistema Nacional de Gestão de patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), com número de cadastro de

A6A8F58 e A44F67F, respectivamente. O projeto desenvolveu-se após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentos com Animais (Protocolo CEUA 116/2018), do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, da Universidade Federal de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil.

## 2.2. Degradação *in situ*

Para a degradabilidade *in situ* foram utilizados três ovinos, machos, da raça Santa Inês com peso médio de  $30,4 \pm 6$  kg e idade de  $28 \pm 2$  meses, fistulados no rúmen, alojados em baias individuais providas de comedouro e bebedouros e distribuídos em galpão coberto.

O período experimental foi composto por 43 dias, sendo 24 dias para adaptação às instalações e as dietas contendo ureia e, 19 dias para coleta de dados. As dietas foram fornecidas no turno da manhã antes das coletas, às 8 h. As fontes volumosas utilizadas foram feno de capim Tifton 85 (*Cynodon spp.*) e o concentrado à base de milho, farelo de soja, sal mineral e ureia. Durante o período de adaptação às dietas, o volumoso foi fornecido *ad libitum* e o concentrado ofertado de forma gradual, já em período de coleta foram ofertados 455g/dia de concentrado. O concentrado foi calculado de acordo com a NRC (2007) em 100 kg da seguinte forma: 76,82 kg de milho, 19,86 kg de farelo de soja, 1,11 kg de ureia e 2,20 kg do núcleo mineral, que foi fornecido 1,0% do peso vivo dos animais (Tabela 1). As dietas foram formuladas com proporção volumoso:concentrado 60:40 para manutenção.

Os tempos de incubação foram 0, 1/4, 1/2, 1, 3, 6, 12, 24 e 48 h. A técnica *in situ* realizou-se em sacos de tecido-não-tecido [(TNT - 100g/m<sup>2</sup>-(polipropileno)] com dimensões de 4,5x4,5 cm, fechadas a quente em máquina seladora. Cada saco com aproximadamente 1g de amostra contendo ureia livre, ureia microencapsulada (pectinato de cálcio contendo ureia) e partículas de pectinato vazias como controle.

Os sacos foram incubados de forma crescente e por etapas, de modo a serem removidos um por vez a fim de reduzir interferência durante a manipulação no ambiente ruminal. As etapas de incubação consistiam de acordo com os tratamentos dos sistemas microencapsulados UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub>, UM<sub>3</sub>, Ureia e pectinato de cálcio. Para os três primeiros sistemas a incubação ocorreu em quintuplicata, os demais em duplicata, totalizando uma quantidade de 513 sacos.

**Tabela 1.** Proporção dos ingredientes das dietas experimentais utilizadas na alimentação dos ovinos.

Item	Tratamentos (g/kg MS)				
	UM <sub>1</sub>	UM <sub>2</sub>	UM <sub>3</sub>	Pectinato	Ureia
Proporção de ingredientes nas dietas (g/kg)					
Milho moído	76,82	76,82	76,82	76,82	76,82
Farelo de soja	19,86	19,86	19,86	19,86	19,86
Ureia	1,11	1,11	1,11	1,11	0
Proteína bruta	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20

Após a retirada foram imersos em água gelada até o desaparecimento de resíduos e a fim de interromper a degradação por bactérias. Depois foram lavados em água corrente, e posteriormente colocados em estufa com ventilação forçada, a 55 °C durante 72 h e em seguida pesados em balança analítica.

Para a cinética de degradação *in situ* da matéria seca (MS) e nitrogênio (N) dos diferentes tratamentos foi utilizado o modelo exponencial de Orskov e McDonald, (1979) Eq. (1):

$$DP = a + b [1 - e (-c \cdot t)] \quad (1)$$

Onde, a DP é a degradação potencial no tempo t; a, fração rapidamente solúvel em água; b, fração insolúvel em água, mas potencialmente degradável; c, taxa de degradação da tração b; e t, tempo de incubação em minutos.

Os parâmetros do modelo de Orskov e McDonald (1979) foram estimados por ajuste das curvas de degradação, utilizando-se a linearização pelo uso do logaritmo neperiano.

A degradabilidade potencial será obtida pela Eq. (2):

$$DP = a + b \quad (2)$$

A fração indigerível (c) será determinada pela Eq. (3):

$$c = 100 - (a + b) \quad (3)$$

A degradabilidade efetiva ou teórica de MS e N dos diferentes tratamentos, serão calculadas pela Eq. (4):

$$DE = a + \left[ \frac{b \times c}{c + k} \right] \quad (4)$$

Em que, DE é degradabilidade efetiva e k, taxa de passagem de partículas no rúmen.

As degradabilidades efetivas da MS e N da ureia microencapsulada foram calculadas utilizando-se, valor único de taxa de passagem de partículas no rúmen-retículo de 8%/h.

Após o processamento e incubação das amostras, foi analisado o perfil de nitrogênio, para isso, utilizou-se a metodologia de *Kjeldahl*, descrito por AOAC (2012). A análise tem por finalidade verificar a quantidade de nitrogênio dos sistemas microencapsulados, com isso analisar também a taxa de liberação *in situ*. Os dados obtidos foram analisados para quantificar o nitrogênio da amostra a partir da formula 5:

$$\%N = V \times M \times F \times 0,014 \times 100/ m \quad (5)$$

Em que: M = molaridade do ácido clorídrico, 0,02 N; F = fator de correção do ácido clorídrico = 1,00; 0,014, miliequivalente-grama do nitrogênio; V= volume do ácido clorídrico gasto na titulação, em mL; m = peso da amostra, em g.

### 2.3. Parâmetros ruminais

Para os parâmetros ruminais toda amostragem do conteúdo ruminal foi feita durante as coletas dos sacos, do teste de degradabilidade, em cada tempo de incubação do microencapsulado: 0, 1/4, 1/2, 1, 3, 6, 12, 24 e 48h.

O fluido ruminal foi coletado manualmente em diferentes pontos do rúmen através da fistula, obtendo uma amostra de aproximadamente, 200 mL. Após cada coleta o conteúdo passou pelo processo de filtração o qual foi separado em recipientes (potes coletores de 20 mL) uma quantidade específica para cada parâmetro avaliado. Imediatamente foi medido o pH e a temperatura, com auxílio de um medidor de pH, termômetro digital portátil, previamente calibrado.

A contagem de protozoários do fluido ruminal foi feita conforme à metodologia de Dehority (1977). As análises foram realizadas no Laboratório de Reprodução Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Patos-Paraíba.

Em cada coletor de amostra, continha 2 mL do inóculo filtrado e 4mL de solução de M.S.F (formaldeído a 35%, verde de metila e cloreto de sódio). Para realização da contagem de protozoário, as amostras inicialmente foram homogeneizadas com auxílio de um agitador magnético, após realizou-se a leitura em câmara de Neubauer em que foram pipetadas 10 µL em cada área de contagem da câmara e posta uma lamínula por cima para melhorar a visualização dos protozoários. A leitura procedeu-se em microscópio óptico (Modelo, Lumen) em aumento de 40x no campo C. No centro destas câmaras há várias linhas perpendiculares com marcações em quadrantes, então realizou-se 4 leituras em cada quadrante. Os resultados finais da contagem foram calculados pela fórmula 7 abaixo:

$$N \times 3 \times 10.000 = np/1mL \quad (7)$$

Em que: N: média das leituras dos quadrantes C (maiúsculo) em mL; 3: diluição do inóculo; 10.000: constante; np: número de protozoários

## 2.4. Parâmetros sanguíneos

O procedimento de coleta de sangue dos três animais realizou-se por punção da veia jugular após a alimentação para a análise do teor de ureia no soro (TUS), albumina (ALB), creatinina (CRE), proteína (PT), aspartato aminotransferase (AST), colesterol (COL) e triglicérides (TRI), por meio de tubos Vacutainer (BD – Becton, Dickinson and Co., Franklin Lakes, NJ, EUA) com capacidade para 4,0 mL. As coletas aconteceram simultaneamente aos tempos de incubação dos sistemas microencapsulados. Em cada animal foi inserido um cateter nº16 para facilitar a coleta e atender aos requisitos de bem-estar animal. Para a dosagem de ureia sanguínea, o soro foi obtido por centrifugação dos tubos por 5 min a uma velocidade de 2500 rpm, identificado, armazenado em réplicas em minitubos *Eppendorf* de 1,5 mL e, congelado para análise. Os parâmetros sanguíneos foram analisados com kits comerciais (Labtest), com auxílio de procedimentos colorimétricos. As análises foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Patos – Paraíba.

## 2.5. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi em blocos com parcelas subdivididas. O animal entra como bloco, os tratamentos como parcelas e os tempos como subparcelas. O modelo incluiu tratamento experimental, tempo de incubação, animal, período e tempo de tratamento  $\times$  tempo. Calculado pela Eq. (6) seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + A_k + P_l + (TB)_{ij} + e_{ijkl} \quad (6)$$

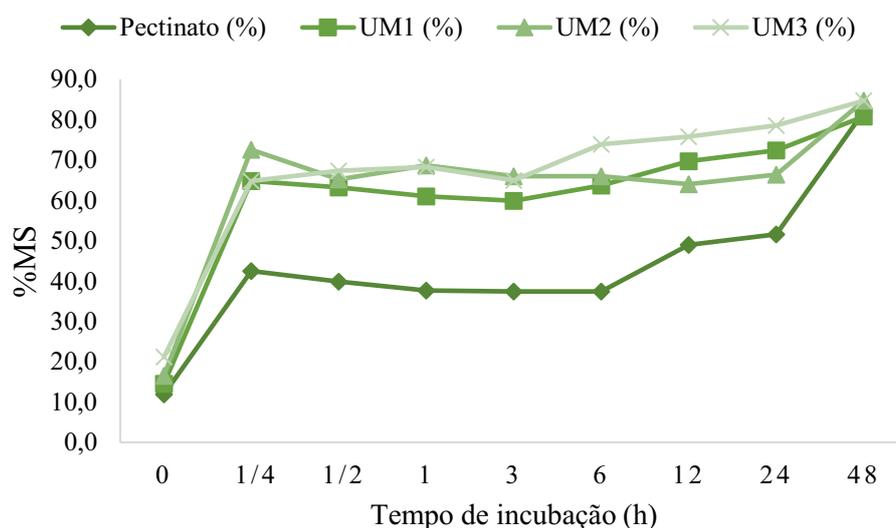
Onde  $Y_{ijkl}$  = observação do efeito do tratamento  $i$  no tempo de incubação  $J$  no período  $k$ ;  $\mu$  = média geral;  $T_i$  = efeito do nível  $A$  (tratamento,  $i = (3, 4 \text{ e } 5\%)$ ),  $B_j$  = efeito do nível  $B$  [tempo de incubação para a degradabilidade ( $j = 1, \dots, 8$ )];  $A_k$  = efeito do animal ( $k = 1, \dots, 4$ ),  $P_l$  = efeito de período (tempo,  $l = 1, 2$ );  $AB_{ij}$  = interação entre tratamento  $i$  (nível) e tempo  $j$ ; e  $e_{ijkl}$  = erro aleatório associado a cada observação.

Os resultados foram interpretados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão, adotando-se nível de 5% de probabilidade. Os modelos foram selecionados com base no coeficiente de determinação e na significância dos coeficientes de regressão, adotando-se nível de 5% de probabilidade. Quando pertinente utilizou-se o teste de Tukey para comparação de médias. Todas as análises foram realizadas pelo pacote computacional SAS (2012).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

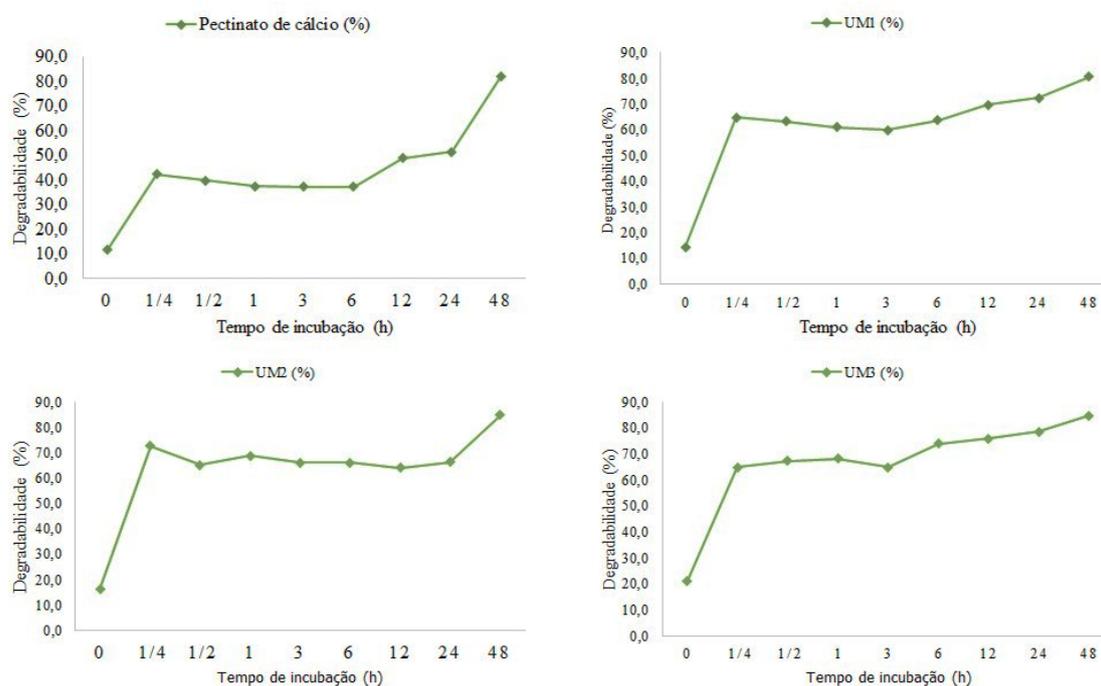
Os resultados apresentados a seguir dizem respeito à ureia livre, partícula de pectinato de cálcio e aos sistemas microencapsulados UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, cujo teor real de ureia retido (definido no Capítulo I) corresponde, respectivamente, a 26,2, 43,5 e 49,2%.

Para os parâmetros cinéticos percebe-se na Figura 1 que houve efeito de interação Tratamento x Tempo de incubação ( $P < 0,05$ ). Observa-se que, no tempo de 48 h o pectinato de cálcio não apresentou diferença significativa quando comparado aos demais tratamentos, indicando que o pectinato possui, ao final do tempo máximo estudado, degradabilidade semelhante aos sistemas microencapsulados.



**Figura 1.** Cinética de degradação ruminal da matéria seca (MS) de ureia microencapsulada com pectina.

Quanto aos sistemas UM<sub>1</sub> (64,81%) e no UM<sub>2</sub> (72,58%) a partir de ¼ h o desaparecimento atingiu valores intermediários, sendo semelhantes aos demais e diferindo apenas do tempo zero. Esse comportamento indica que a partir do momento em que as microesferas foram incubadas a ureia agiu eficientemente na parede celular, promovendo alterações que podem permitir a atividade dos microrganismos ruminais de forma satisfatória. Já no sistema UM<sub>3</sub> (68,25%) esse comportamento ocorre somente a partir de 1 h.



**Figura 2.** Cinética de degradabilidade ruminal da matéria seca (MS) para micropartículas de pectinato de cálcio com (UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>) e sem ureia.

Os sistemas UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> apresentaram menor taxa de degradação entre os sistemas testados. Essa menor taxa de degradação para UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> corrobora os resultados das análises térmicas apresentadas no Capítulo I, em que as curvas termogravimétricas e de DSC indicaram maior temperatura inicial de degradação térmica para esses dois sistemas microencapsulados, sugerindo uma proteção mais efetiva para a ureia. Isso é reforçado pelo teor maior de ureia do sistema UM<sub>3</sub>, pois aumenta a possibilidade de núcleo mais próximo à superfície da partícula e, portanto, mais acessível para degradação. O que pode ser explicado em virtude de o NNP ser prontamente disponível aos microrganismos ruminais e ser altamente solúvel em água.

Em relação ao tratamento contendo ureia livre, nos primeiros tempos ( $\frac{1}{4}$  e  $\frac{1}{2}$  h) todo conteúdo incubado já havia sido degradado, com valor em torno de  $99,92\% \pm 0,04$  e  $99,58\% \pm 0,06$ , respectivamente, o que difere dos sistemas microencapsulados em que até 48h apresentaram degradabilidade em média de 80,77; 84,70 e 84,70% para UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub>, respectivamente, indicando que todos os tratamentos apresentaram uma liberação gradual. Esses resultados reforçam ser a pectina um encapsulante adequado para proteger ureia, através da obtenção de micropartículas de pectinato de cálcio, visto a proteção observada frente ao ambiente ruminal. Assim optou-se por retirar a ureia livre da comparação com o pectinato de cálcio e os sistemas microencapsulados, conforme apresentados na Tabelas 2 e Figuras 3 a 15 de resultados.

Na Tabela 2 estão os valores das frações (a, b e c), taxa de passagem, degradabilidade efetiva e potencial, para valores de degradabilidade da matéria seca (MS) e degradabilidade do nitrogênio (N). Assim, como encontram-se as equações para estimativa de degradabilidade no decorrer do tempo. As equações apresentaram um comportamento linear, com R<sup>2</sup> partindo de valores de 0,20 a 0,74 e 0,36 a 0,51 para N e MS, respectivamente, demonstrando a representatividade da equação de regressão.

Não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para os valores de degradabilidade da MS. Entretanto, para degradabilidade do N, observou-se diferença significativa, exceto para taxa de passagem (Kd). Com a adição de ureia nos sistemas as frações a, b e c para DMS permaneceram praticamente constantes. Embora a fração (a) tenha apresentado tendências semelhantes, percebe-se que a DMS aumenta conforme a concentração de ureia utilizada no sistema, isso ocorre porque o aumento no teor de ureia aumenta a quantidade NNP que é altamente solúvel em água.

Equitativamente, as modificações ocorridas nas degradabilidade efetiva (DE) e degradabilidade potencial (DP) são consequência das alterações evidenciadas nas frações, já que são estimadas por modelos matemáticos. Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para degradabilidade efetiva da MS.

Promoveu um aumento substancial dos valores da fração insolúvel potencialmente degradável (b) e redução na fração solúvel (a) para degradabilidade do N. A fração solúvel foi maior no pectinato (97,34%), seguido do UM<sub>1</sub> (63,06%) e UM<sub>2</sub> (56,29%) que foram semelhantes entre si, mas superiores (12,69%) à observada no UM<sub>3</sub>. A fração "a" o comportamento foi o inverso, maior para UM<sub>3</sub> (79,50%) e menor para o pectinato. Já a fração insolúvel apresentou-se maior no UM<sub>3</sub> (7,81%) diferindo

dos 0,56% do pectinato, com valor intermediário para UM<sub>1</sub> (3,33%) e UM<sub>2</sub> (3,15%), que foram semelhantes entre si.

**Tabela 2.** Estimativas da fração solúvel inicial (a), fração insolúvel potencialmente degradável (b), fração indigerível (c), taxa de degradação (Kd), degradação efetiva (DE) e degradação potencial (DP) da matéria seca e do nitrogênio dos sistemas microencapsulados e micropartícula de pectinato de cálcio.

	a (%) <sup>ns</sup>	b (%) <sup>ns</sup>	c (%) <sup>ns</sup>	kd (%) <sup>ns</sup>	DE (%) <sup>ns</sup>	DP (%) <sup>ns</sup>	Y	R <sup>2</sup>
Trat.	Matéria Seca							
	(MS)							
Pectinato	11,90	70,09	18,02	2,67	29,07	81,98	0,0217x + 2,8188	0,512
UM <sub>1</sub>	14,52	66,25	19,24	4,48	36,44	80,78	0,0448x + 0,9089	0,366
UM <sub>2</sub>	16,53	68,17	15,30	0,35	19,24	84,70	0,0448x + 0,9089	0,366
UM <sub>3</sub>	21,15	63,47	15,39	0,66	25,96	84,61	0,0437x + 1,0737	0,387
	a (%)**	b (%)**	c (%)**	kd (%) <sup>ns</sup>	DE (%)**	DP (%)**	Y	R <sup>2</sup>
	Nitrogênio (N)							
Pectinato	97,34 A	2,10 C	0,56 B	9,30	98,19 A	99,44 A	0,0344x - 0,7474	0,744
UM <sub>1</sub>	63,06 B	33,61 B	3,33 AB	7,17	80,09 B	96,67 AB	0,0717x - 1,4141	0,534
UM <sub>2</sub>	56,29 B	40,56 B	3,15 AB	3,57	68,49 C	96,85 AB	0,0356x + 0,6169	0,209
UM <sub>3</sub>	12,69 C	79,50 A	7,81 A	9,08	54,74 D	92,19 B	0,0818x - 0,7883	0,740

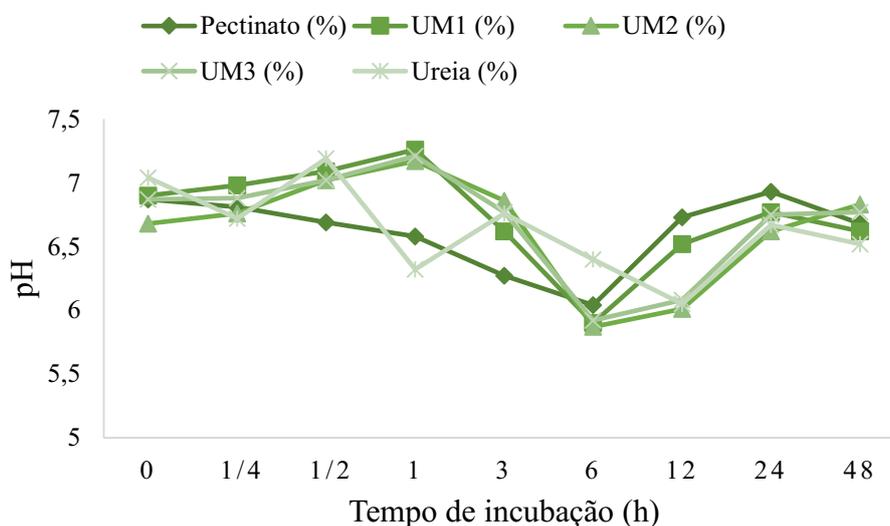
Médias seguidas de letras iguais, não diferem ao teste de Tukey com 5% de probabilidade.

Os menores valores da fração indigestível (c), podem ser explicados porque os sistemas microencapsulados apresentaram maior valor de fração solúvel. Embora UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> mantiveram-se semelhantes entre si, enquanto UM<sub>3</sub> apresentou valor mais elevado (7,81%), expressando o seu baixo potencial de degradação em comparação aos demais sistemas estudados. Quanto à taxa de degradação o sistema UM<sub>2</sub> apresentou menor valor, com 0,35 e 3,57% para MS e N, respectivamente. Taxas de passagens mais rápidas favorecem maior eficiência no crescimento de microrganismos ruminais.

A degradabilidade efetiva (DE) do N variou significativamente ( $p < 0,05$ ), com valores consideravelmente elevados (54,74%), (68,49%), (80,09%) e (98,19%) para UM<sub>3</sub>, UM<sub>2</sub>, UM<sub>1</sub> e pectinato de cálcio, respectivamente, sendo bastante favoráveis ao crescimento dos microrganismos ruminais.

Houve interação significativa entre tratamentos e tempos estudados (Tabela 3). Kaufmann, (1972) relata que o pH ruminal varia no decorrer do dia, dependendo da hora em que ocorre a ingestão de alimentos e da composição da ração fornecida.

Porém, ressalta-se que o uso de microesferas contendo ureia em seu núcleo não interferiram o pH ruminal de forma gradativa.



**Figura 3.** Comportamento do pH ruminal de ovinos alimentados com ureia microencapsulada, ureia e micropartícula de pectinato de cálcio.

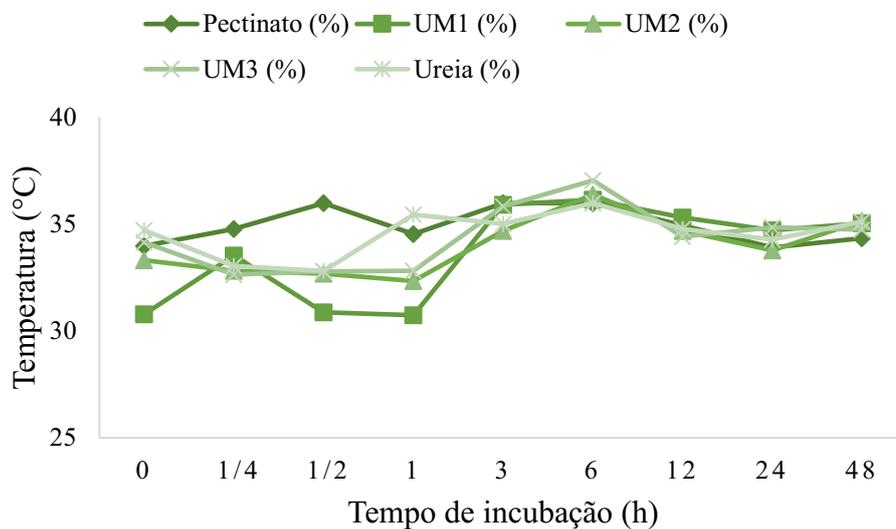
Maiores valores médios de pH (variando de 7,02 a 7,26) foram obtidos nos tempos de ½ a 1h, não havendo mudanças significativas entre os tratamentos avaliados. É importante destacar que independentemente do sistema os menores valores de pH foram observados nos tempos de 3 e 6 h.

De acordo com Furtado et al., (2014), para um ambiente favorável à proliferação bacteriana é necessário que o pH ruminal mantenha-se entre 6 a 7,20, enquanto que Oliveira et al. (2019) ressalta pH ideal entre 5,5 e 6,8 para que haja um aproveitamento de forma eficiente pelos microrganismos presentes no rúmen. Todos os tratamentos mantiveram-se com valores de pH dentro dos considerados normais.

Foram observadas interações significativas entre os valores médios de temperatura ( $P < 0,05$ ) do fluido ruminal (Figura 4). De acordo com Berchielli et al. (2006) a temperatura ideal do rúmen deve-se manter em torno de 38 a 42 °C. Percebe-se, que o presente estudo se encontra com valores inferiores aos apontados.

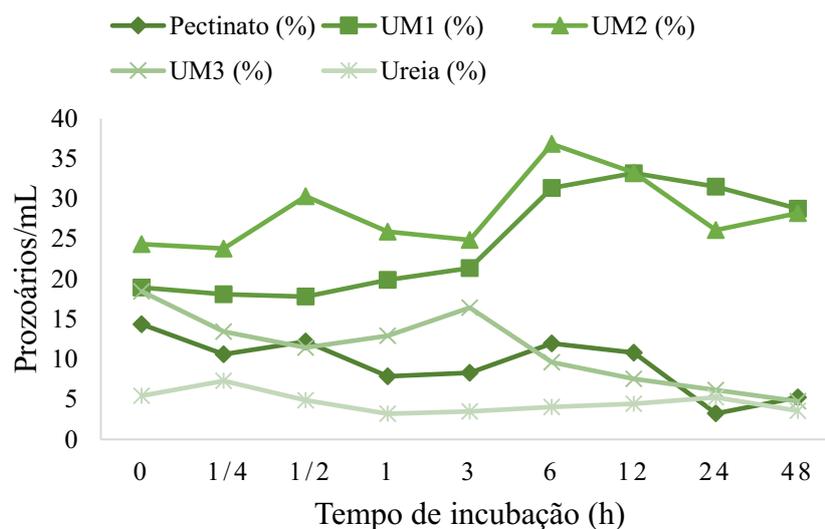
No tempo de incubação de 0, ½ e 1h o microencapsulado UM<sub>1</sub> promoveu mudanças significativas para os demais tempos avaliados, enquanto que UM<sub>3</sub> destacou-se com maior temperatura em média 37,03 °C, tendo efeito significativo para os tempos de ¼, ½ e 1 h. O pectinato de cálcio, ureia e o sistema UM<sub>2</sub> não diferiram entre si de

acordo com o tempo de coleta. Da mesma forma, ficou evidente que ureia livre não diferiu significativamente dos três sistemas microencapsulado e do pectinato de cálcio.



**Figura 4.** Comportamento da temperatura ruminal de ovinos alimentados com ureia microencapsulada, ureia e micropartícula de pectinato de cálcio.

A Figura 5 destaca-se a quantidade em média de protozoário presente no fluído ruminal de ovinos fistulados recebendo microesferas de pectina contendo ureia. De acordo com Nogueira Filho et al. (1998), a população microbiana é caracterizada por diversas espécies de bactérias e protozoários. Embora os tipos de unicelulares no rúmen sejam relativamente estáveis devido às condições de meio ambiente naquele compartimento, a quantidade e as proporções das várias espécies podem ser influenciadas pelo tipo de dieta fornecida.



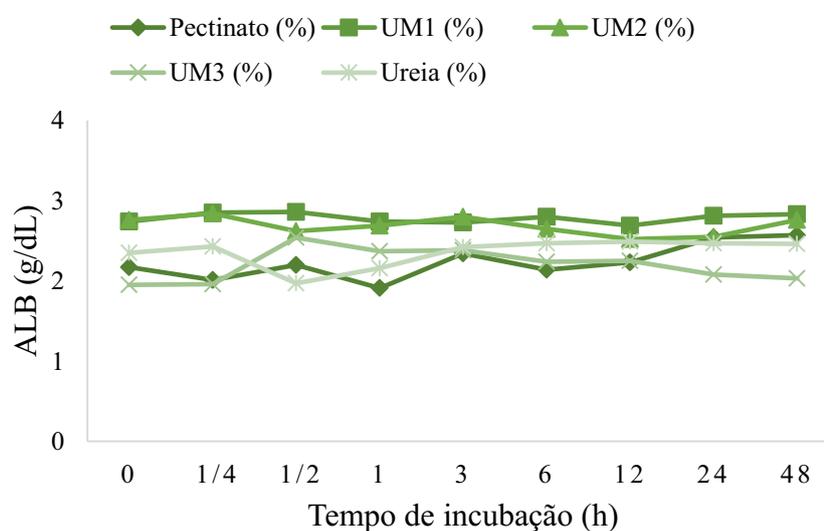
**Figura 5.** Contagem de Protozoários (1mL) do fluido ruminal de ovinos usando microesferas de pectina contendo ureia.

Observa-se que houve diferença entre os fatores. Independentemente do tempo, não houve variação na contagem de protozoários nos tratamentos pectinato, UM<sub>2</sub> e ureia, mas no UM<sub>1</sub> os menores valores foram observados nos tempos de 0 a 1/2 h e os maiores em 6 h, com valores intermediários nos tempos 1 h e 3 h. Já no tratamento UM<sub>3</sub> a quantidade de protozoários no ambiente ruminal apresentou-se redução em comparação aos demais sistemas, expressando sua insignificância com a ureia. Esse fato se explica no Capítulo I, em que através das caracterizações e análises visuais, o UM<sub>3</sub> expressou menor capacidade de proteção do núcleo, o que favorece a rápida liberação do nitrogênio, conseqüentemente, implica no crescimento microbiano.

Observa-se, na variação do número de protozoários por mililitro, interações significativas entre os tratamentos estudados ( $P < 0,05$ ) e tempos de incubação, constatando-se que a utilização de sistemas microencapsulados favoreceu a elevação significativa da densidade populacional de protozoários do rúmen. Esses resultados indicam que a liberação de forma gradual da ureia promove melhor eficiência de aproveitamento do nitrogênio e a manutenção de um ambiente estável, já que o uso de ureia livre se mostrou um comportamento inferior e diferenciado para as condições de adaptação ruminal. O pH ruminal, para Franzolin e Dehority (1996) tem também papel decisivo na manutenção da fauna ruminal. No entanto, observa-se que os valores de pH do rúmen identificados neste estudo não interferiram na quantidade de protozoários. Os sistemas UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> foram os que apresentaram melhores respostas.

A avaliação dos parâmetros bioquímicos dos animais permitiu avaliar o status nutricional dos animais, já que o tipo de alimento fornecido pode interferir de forma positiva ou negativa aos constituintes bioquímicos do sangue. De acordo com González et al. (2000) a albumina são valores plasmáticos metabólitos utilizados para avaliar o equilíbrio proteico, podendo ser um indicador do conteúdo de proteína na alimentação.

Observa-se na Figura 6 que houve um decréscimo de rendimento no sistema UM<sub>3</sub> no tempo 0 e ¼ h, bem como ao uso de ureia livre no terceiro período (½ h) e ao pectinato de cálcio no tempo de 1 h, definido com menor valor obtido (1,91 g/dL). Com relação ao tipo de sistema utilizado, notou-se que, os sistemas com microencapsulamento UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> foram os que apresentaram os melhores resultados, apresentando uma variação de 2,52 a 2,86 g/L. Segundo Wittwer et al. (1993) a albumina é considerada o indicador mais sensível para determinar o estado nutricional proteico, de modo que valores quando encontram-se dentro do intervalo da espécie indica atendimento a necessidade de aminoácidos e provoca máxima síntese de albumina.

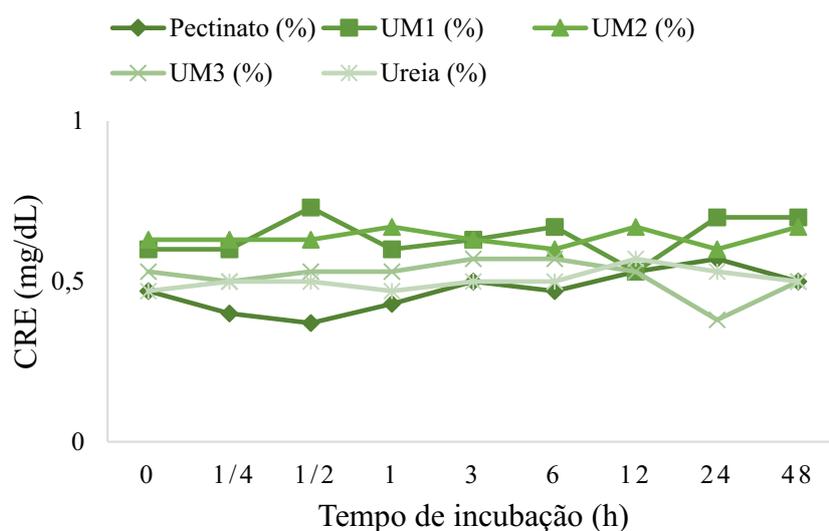


**Figura 6.** Valores de Albumina (g/L) usando microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia na alimentação de ovinos fistulados no rúmen em relação ao tempo de incubação.

Da mesma forma, para a avaliação com base na creatinina (Figura 7) apresentou melhor rendimento os sistemas UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>. Notou-se uma estabilização nos valores

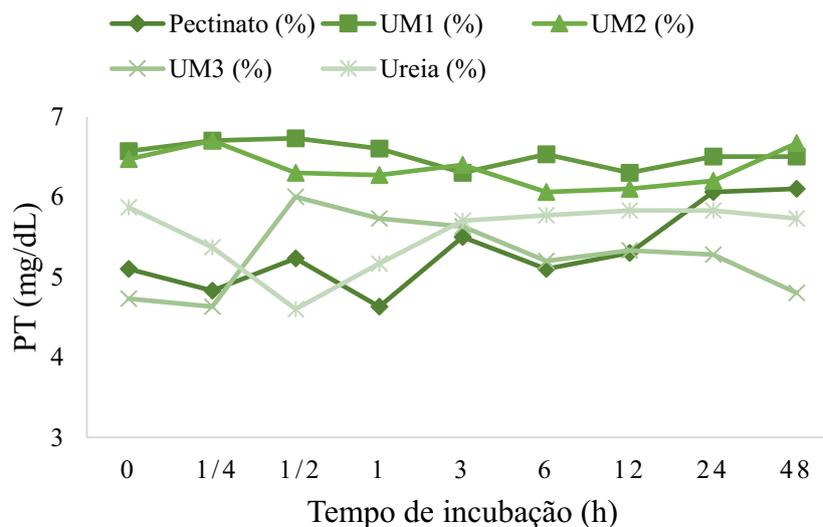
no sistema UM<sub>2</sub>, onde apresentou uma variação de no máximo 0,04. O menor valor obtido destacou-se com o uso de pectinato de cálcio durante ¼ h, com 0.40 mg/dL. Segundo Silva (2019) o intervalo definido para o metabólito albumina encontra-se entre 1,1 a 5,2 mg/dL e creatinina de 0,4 a 1,7 mg/dL, já Kaneko et al. (2008) fica em torno de 2,4 a 3,0 g/dL e 1,2 a 1,9 mg/dL, respectivamente. Calomeni et al. (2015) quantificando os efeitos da alimentação de ureia de liberação lenta revestida por polímero sobre os parâmetros sanguíneos, destacaram valores semelhantes para análise de Albumina (2,37 e 2,34 mg/dL) e valores superiores de Creatinina (1,26 e 1,27 mg/dL) para ureia de liberação lenta e ureia convencional, respectivamente.

Os resultados na Figura 8 representam pouca interação significativa para valores de proteínas totais (PT). De forma geral, as proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que sua concentração está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal e com a funcionalidade hepática.



**Figura 7.** Valores de Creatinina (mg/dL) usando microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia na alimentação de ovinos fistulados no rúmen em relação ao tempo de incubação.

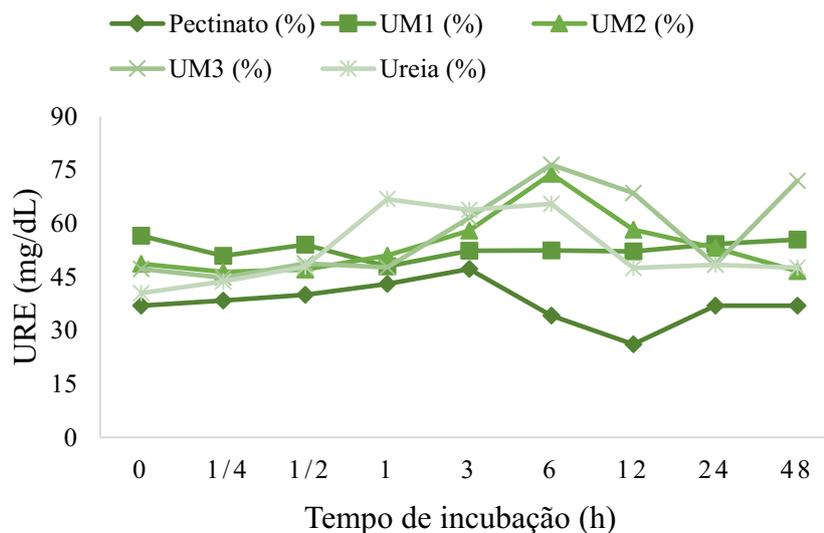
Segundo Kaneko et al. (2008) calcula-se que dietas com menos de 10% de proteína na matéria seca (MS) podem causar diminuição dos níveis proteicos no sangue. De acordo com os mesmos autores todos os tratamentos avaliados neste estudo apresentaram níveis médios de proteínas totais séricas dentro dos padrões fisiológicos (6,0 a 7,9 g/dL) para ovinos.



**Figura 8.** Valores de Proteína Total (mg/dL) usando microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia na alimentação de ovinos fistulados no rúmen em relação de incubação.

O tempo de incubação não chegou a ser um fator relevante nas concentrações de PT. Observa-se melhor resposta aos tratamentos microencapsulados UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>, onde os valores de PT chegaram a 6,73 mg/dL no sistema UM<sub>1</sub> e 6,67 mg/dL no sistema UM<sub>2</sub>, estando com resultados dentro dos padrões sugeridos por Meyer e Harvey (2004), em que os valores séricos devem situar-se entre 6,0 a 7,0 mg/dL e Silva (2019), com intervalos entre 3,1 a 10,7 mg/dL. Concentrações aproximadas foram expostas por Calomeni et al. (2015), apresentando valor médio de 5,72 mg/dL usando SRU (ureia de liberação lenta).

De acordo com Kozloski (2011) a ureia sanguínea tem correlação positiva com a concentração de amônia no rúmen e com a utilização de aminoácidos (alanina, glutamina e glicina) no fígado. O tempo e os tratamentos avaliados não influenciaram as concentrações de ureia no sangue (mg/dL) (Figura 9), mantendo-se constantes Zieger et al. (2012) que encontraram as médias de 63,82 e 62,45 mg/dL de ureia sérica em ovinos alimentados com 1% de ureia encapsulada na dieta total.



**Figura 9.** Valores de ureia sanguínea (mg/dL) usando microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia na alimentação de ovinos fistulados no rúmen em relação aos tempos de coleta.

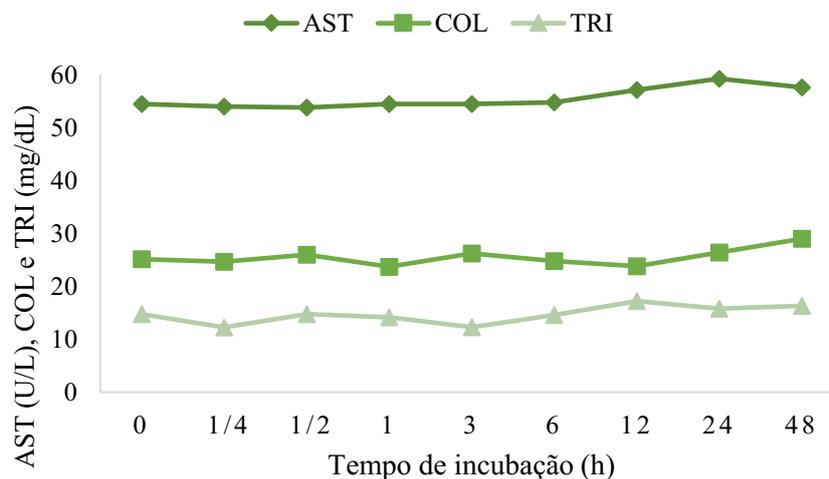
Wittwer et al. (1993) a ureia é sintetizada no fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen e sua concentração está diretamente relacionada aos níveis proteicos da ração e à relação energia:proteína da dieta. Resultados aproximados de concentrações de ureia sanguínea no presente estudo foram relatados por Calomeni et al. (2015), que encontraram valores médios de (45,50 e 49,75 mg/dL) e 42,31 mg/dL para ureia de liberação lenta (1 e 2, respectivamente) e ureia convencional, respectivamente. Entretanto, apenas os tratamentos UM<sub>3</sub> e ureia livre apresentaram alguns níveis médios de ureia sérica fora dos padrões fisiológicos (23 a 58 mg/dL) segundo Gonzales et al. (2000). Esses resultados podem indicar que a ureia livre e o sistema UM<sub>3</sub> elevam a produção de amônia ruminal, dificultando o aproveitamento destes pelos microrganismos. Porém, Silva (2019) preconiza intervalos mais amplos que os valores internacionais comumente utilizados, com intervalo ideal de 10 a 92 mg/dL para o metabólito ureia em ovinos.

Para UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>: Pode-se constatar que houve um melhor aproveitamento do nitrogênio amoniacal pelos animais que receberam esses níveis de UM. Isso ocorre devido à ureia, na forma microencapsulada, permitir menor taxa de liberação de amônia, proporcionando maior utilização desta pelas bactérias a nível ruminal.

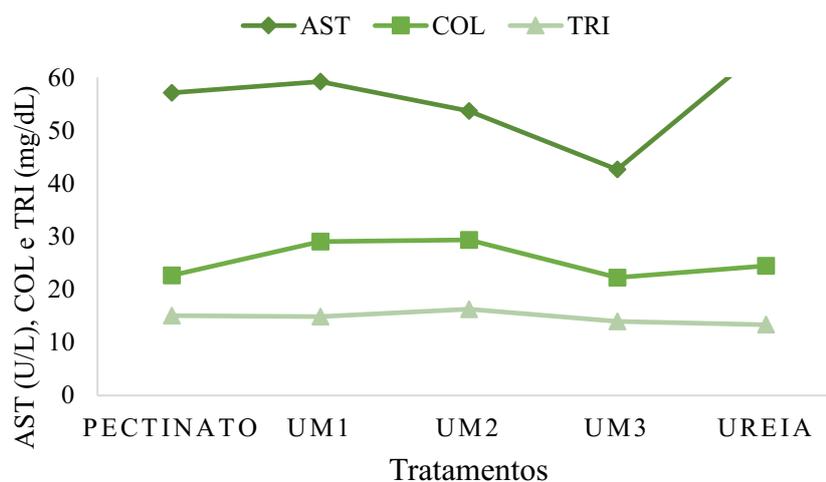
Não houve efeito significativo para AST em relação ao tempo de incubação (Figura 10), embora, os resultados tenham apresentado um pequeno decréscimo nos

valores entre os tempos de  $\frac{1}{4}$  e  $\frac{1}{2}$  h; e um aumento dos resultados do período de 1 h ao de 24 h. Houve mudança significativa nas concentrações séricas de colesterol no tempo de coleta de 48 h (média: 29,02 U/L) em relação aos tempos de 1 e 12 h (média: 23,74 e 23,81 U/L, respectivamente) os demais tempos mantiveram-se intermediários, mas dentro da referência. Da mesma forma, para os níveis de triglicerídeos, o tempo de 12 h obteve maior valor (média: 17,23 mg/dL), diferindo significativamente do tempo  $\frac{1}{4}$  e  $\frac{1}{2}$  h (média: 12,26 e 12,31 mg/dL, respectivamente).

Em relação aos tratamentos (Figura 10), observou-se que os sistemas UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub> em comparação ao uso da ureia livre apresentou uma discrepância nas variáveis: AST e Colesterol. Os sistemas microencapsulados apresentaram valores séricos reduzidos de Aspartato aminotransferase (AST) quando comparado ao sistema com ureia livre, que marcou 65,86 (U/L). O sistema UM<sub>3</sub> apresentou menor resultado, com concentração de 43,63 (U/L). Os sistemas com microencapsulamento (UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub>) foram aproximados aos intervalos sugerido como normal por Kaneko et al. (2008) que é de 60 a 280 U/L. Valores aproximados (56,0 59,9 e 70,7 U/L) também foram encontrados por Nasrollahi et al., (2019), em estudo realizado com variação de pH ruminal (baixo, médio e alto) em vacas leiteiras de alta produção alimentadas com dietas de alto concentrado.



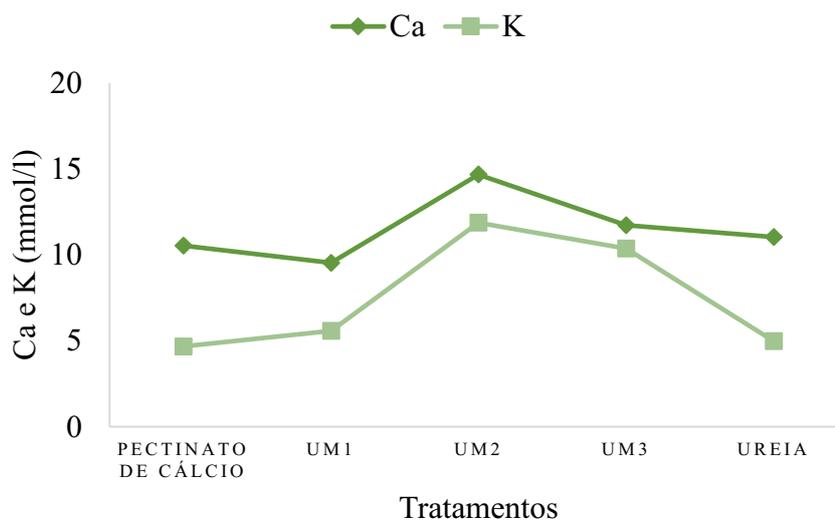
**Figura 10.** Concentrações séricas de AST (U/L), Colesterol e triglicerídeos (mg/dL) em relação ao tempo de incubação.



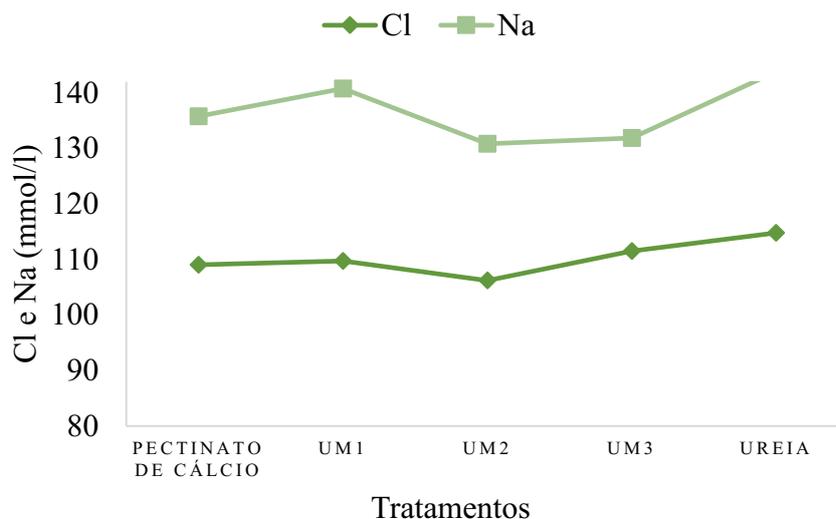
**Figura 11.** Concentrações séricas de AST (U/L), Colesterol e triglicerídeos (mg/dL) em relação ao tratamento.

Houve efeito significativo para as concentrações de colesterol sanguíneo, apresentando maiores concentrações nos sistemas UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> (média: 29,03 e 29,36 U/L, respectivamente). Os níveis séricos de colesterol encontram-se abaixo do indicado por Kaneko et al. (2008) com valores de intervalo de 52 a 76 mg/dL. Para Silva (2019), os valores de referência de colesterol e triglicerídeos para ovinos encontram-se em intervalo de 14 a 136 mg/dL e 5 a 71 mg/dL, respectivamente. Não houve diferenças nas concentrações de triglicerídeos sanguíneos (média: 13,35 a 16,29 mg/dL, respectivamente), em relação aos tratamentos avaliados, apesar de UM<sub>2</sub> apresentar sutilmente valor superior aos demais (16,29 mg/dL). Porém, todos encontram-se dentro dos valores de referência.

Para as análises de Ca, Na e Cl na Figura 12 e 13, os sistemas microencapsulados UM<sub>1</sub>, UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub> não sofreram alterações significativas quando comparados à partícula de pectinato e ureia livre, exceto para os valores de K em que UM<sub>2</sub> e UM<sub>3</sub> destacaram-se com maiores valores, divergindo significativamente dos demais tratamentos.

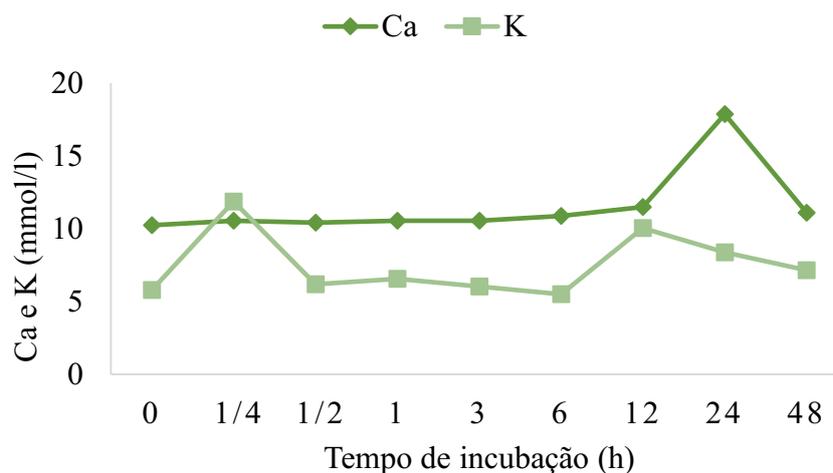


**Figura 12.** Valores de eletrólitos (Ca e K) em relação ao tratamento.

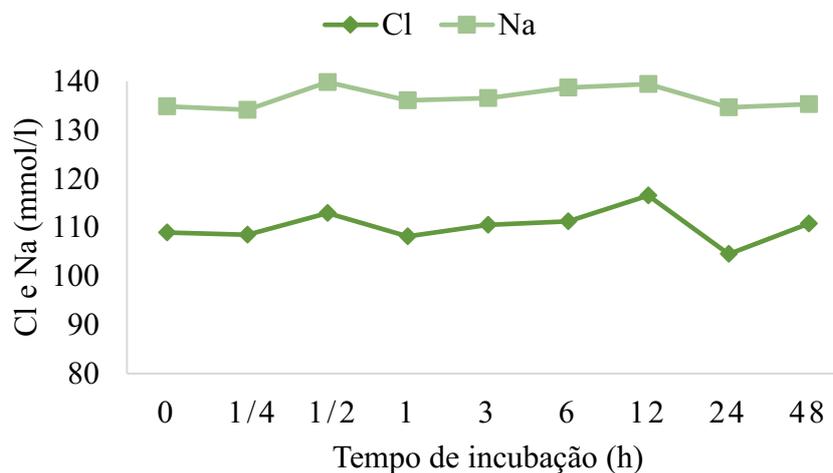


**Figura 13.** Valores de eletrólitos (Cl e Na) em relação ao tratamento.

Kaneko et al. (2008) define valor ideal de Ca em ovinos entre 11,5 a 12,8 mg/dL. Os baixos valores de Ca podem estar associados aos baixos valores de albumina encontrados neste estudo, porém encontram-se dentro dos valores (intervalo: 4,7 a 14,1 mg/dL) sugeridos por Silva (2019). Em relação aos tempos de incubação (Figura 14 e 15), constata-se que não houve significância estatística para todas as análises séricas realizadas.



**Figura 14.** Valores de eletrólitos (Ca e K) em relação aos tempos de incubação.



**Figura 15.** Valores de eletrólitos (Cl e Na) em relação aos tempos de incubação.

Para Wittner (1995), animais que apresentam níveis séricos sanguíneos superiores ou inferiores aos valores de referência, são animais considerados com desequilíbrio nutricional ou com alguma alteração orgânica que condiciona uma redução na capacidade de utilização ou metalização dos nutrientes. No entanto, as algumas alterações ocorridas no quadro bioquímico no presente estudo, não foram suficientes para causarem danos à saúde dos animais.

#### 4. CONCLUSÃO

A avaliação da eficiência de ureia de liberação lenta em matriz de pectina cítrica quanto à cinética de degradação *in situ*, confirmou que o nitrogênio não proteico quando microencapsulado se torna efetivamente mais disponível à atividade microbiana, conseqüentemente, melhora a degradabilidade efetiva e potencial. Os sistemas UM<sub>1</sub> e UM<sub>2</sub> avaliados neste capítulo, corroboram com os resultados encontrados no Capítulo I, destacando-se ser microesferas com liberação de núcleo mais controlada. O pH, temperatura ruminal e os parâmetros sanguíneos não sofreram alterações quanto ao uso de microesferas de pectinato de cálcio contendo ureia, estando dentro dos valores de referência. Com base na quantidade de protozoários no fluido ruminal, pode-se pressupor que os sistemas microencapsulados influenciaram significativamente no aumento populacional desses microrganismos. Dessa forma, conclui-se que o uso de pectina cítrica como encapsulante de ureia é uma alternativa promissora, visto proporcionar melhor aproveitamento da ureia, reduzindo riscos de intoxicação animal e favorecendo a administração segura de maiores quantidades deste ingrediente aos ruminantes, sem prejudicar o seu metabolismo.

#### 5. REFERÊNCIAS

AOAC. Official Methods of Analysis. Method 969.38. 19th ed., 2012.

AOAC. Association of official, chemists, official methods of analysis. 15th Edition, Washington DC, U.S.A. 1990.

Berchielli, T., Pires, A.V, Oliveira, S.G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep, p. 583, 2006.

Calomeni, G. D.; Gardinal, R.; Ventureli, B. C.; Júnior, J. E. de F.; Vendramini, T. H. A. Takiya, C. S.; Souza, H. N. de; Rennó, F. P. Effects of polymer-coated slow-release urea on performance, ruminal fermentation, and blood, metabolites in dairy cows. Rev. Bras. Zootec., v. 44, n. 9, p. 327–334, 2015.

- Detmann, E. et al. Métodos para análise de alimentos. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, p. 214, 2012
- Franzolin, R.; Dehority, B. A. Efeitos do pH ruminal e ingestão alimentar da deufaunação em ovinos sob rações concentradas. Rev. Bras. de Zootecnia, Viçosa, v. 25, n. 6, p. 1207-1215, 1996.
- Furtado, R. N.; Carneiro, M.J.D.; Gomes, E.S.F. Rogerio, M. C. P.; Silva, D.S. Balanço de nitrogênio e avaliação ruminal em ovinos machos e alimentadas com rações contendo torta de mamona sob diferentes parâmetros. Revista Ciências Agrárias, v.35, n.6, p.3237-3248, 2014.
- Gonsalves Neto, J.; Pedreira, M. S.; Alves, E. M.; Santos, E. J.; Silva, A C.; Freire, L. D. R.; Perazzo, A. F.; Pereira, D. M. Tipos de ureia e fontes de carboidratos nas dietas de cordeiros: desempenho, digestibilidade. Revista electrónica de Veterinaria, v. 18, n. 9, p. 1-11, 2017.
- González, F. H. D. Conceição, T. R.; Siqueira, A. J. S.; La Rosa, V. L. Variações sanguíneas de ureia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no rio grande do sul. A hora veterinária, v. 20, n. 1, p. 59–62, 2000.
- González, F. H. D. Uso de perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: González, F. H. D.; Barcellos, J. O.; Ospina, H.; Ribeiro, L. A. O. (Eds). Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.
- Kaufmann, W. Über die Regulierung des pH-Wertes im Hauben Pansenraum der Wiederkäuer. Tierarztl. Umsch. p. 27:324–328, 1972.

- Kaneko, J. J., Harvey, J. W.; Bruss, M. C. Clinical biochemistry of domestic animals. 6 ed. Academic Press, San Diego, p. 928, 2008.
- Kozloski, G. V. Bioquímica dos ruminantes. 3 ed. Santa Maria: UFSM. p. 280, 2011.
- Lima P. O.; Moura, A. A. A.; Queiroz, M. G. R.; Lima, R. N.; Duarte, L. S.; Miranda, M. V. F. G. Concentrações séricas e glicose e ureia em bezerras mestiças alimentadas com sucedâneo lácteo e probiótico. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.6, n.2, p.141- 146, 2012.
- Maciel, L. P. A. A. Diferentes fontes de nitrogênio na alimentação de cabras leiteiras. Tese (Doutorado Integrado em Zootecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, p. 67, 2017.
- Meyer, D. J.; Harvey, J. W. *Veterinary laboratory medicine: interpretation e diagnostic*. Philadelphia: Sauders, ed. 2, p. 351, 2004.
- Monção, F. P. P.; Oliveira, E. R.; Moura, L.V.; Góes, R. H. T. B. Desenvolvimento da microbiota ruminal de bezerros: Revisão de literatura. *R Unim Cient*, 2013.
- Morgavi, D. P.; Martin, C., Jouany, J. P.; Ranilla, J. M.; Rumen protozoa and methanogenesis: not a simple cause-effect relationship. *British Journal of Nutrition* 107: 388–397. 2013.
- Nasrollahi, S. M.; Zali, A.; Ghorbani, G. R.; Kahyani, A.; Beauchemin, K. A. Short communication: Blood metabolites, body reserves, and feed efficiency of high-producing dairy cows that varied in ruminal pH when fed a high-concentrate diet. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 1, p. 672–677, 2019.
- Oliveira, V. da S.; Santos, A. C. P. dos; Valença, R. de L. Desenvolvimento e fisiologia do trato digestivo de ruminantes. *Ciência Animal*, v. 29, n. 3, p. 114-132, 2019.

- Orskov, E. R., Hovell, F. D. D e B; Mould, F. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*, v. 5, n. 3, p. 195-213, 1980.
- Orskov, E. R.; McDonald, T. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate passage. *Journal of Agricultural Science*, v. 92, n. 2, p. 499-503, 1979.
- Owens, F. N.; Goetsch, A. L. Ruminal fermentation. In: Church, D. C. *The ruminant animal digestive physiology and nutrition*. Englewood cliffs. O e Books Inc., p. 146-171, 1988.
- Santos, J. F; Dias Junior, G. S; Bitencourt, L. L; Lopes, N. M. Resposta de vacas leiteiras à substituição parcial de farelo de soja por ureia encapsulada. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*, v. 63, n. 2, p. 423- 432, 2011.
- Silva, D. A. de P. Valores referência de metabólitos sanguíneos para ovinos no Brasil. Monografia. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2019.
- Souza, V. L.; Almeida, R.; Silva, D. F. F.; Piekarski, P. R. B.; Jesus, C. P.; Pereira, M. N. Substituição parcial de farelo de soja por ureia protegida na produção e composição do leite. *Arq. Bras. de Med.Vet. e Zoot.*, v. 62, n. 6, p.1 415-1422, 2010.
- Sung, H. G. D. M.; Min, D. K.; Kim, D. Y.; Li, H. J.; Kim, S. D. Upadhaya, J. K. H. A. Influence of transgenic corn on the in vitro rumen microbial fermentation. *Asian-Aust. Jornal. Animal. Science*. 19:1761-1768, 2006.
- Van Soest, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. New York: Cornell University Press, ed. 2, p. 476, 1994.

- Welkie, D.G.; Stevenson, D. M.; Weimer, P. J. analysis of ruminal bacterial community dynamics in lactating dairy cows during the feeding cycle. *Anaerobe*, London, v. 16, n. 2, p. 94–100, 2010.
- Wittner, F. Empleo de losperfiles metabólicos em el diagnóstico de desbalances nutricionales em elganado. *Buiatria*. 2:16-20, 1995.
- Wittwer, F.; Reyes, J.M.; Opitz, H. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Archivo Medico Veterinario*, v. 25, p. 165-172, 1993.
- Ziguer, E. A.; Roll, V. F. B.; Bermudes, R. F.; Montagner, P.; Pfeiter, L. F. M; Pino, F. A. B. D.; Corrêa, M. N.; Dionello, N. J. L. Performance and metabolic pattern of feedlot lambs using soyabean hulls associated to different non-protein nitrogen sources | Desempenho e perfil metabólico de cordeiros confinados utilizando casca de soja associada a diferentes fontes de nitrogênio não-. *Rev. Bras. de Zootecnia*, v. 41, n. 2, p. 449–456, 2012.

## 6. ANEXOS – ANEXO 1



Universidade Federal de Campina Grande  
Centro de Saúde e Tecnologia Rural  
Comitê de Ética em Pesquisa  
(Comissão de Ética no Uso de Animais)  
Av. Santa Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,  
CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



AO: Prof. Dr. **André Leandro da Silva**

Protocolo CEP/CEUA  
nº 116-2018

**CERTIDÃO**

Certificamos a V.Sa. que seu projeto intitulado “**MICROESFERAS DE PECTINA CONTENDO UREIA OBTIDAS POR GELIFICAÇÃO IÔNICOTRÓPICA EXTERNA**” teve parecer consubstanciado orientado pelo regulamento interno deste comitê e foi Aprovado, em caráter de *Ad referendum*, estando à luz das normas e regulamentos vigentes no país atendidas as especificações para a pesquisa científica.

Patos, 30 de novembro de 2018.

Rosália Severo de Medeiros

Coordenadora do CEP/CEUA/UFCG/Patos

## ANEXO 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
Comitê de Ética em Pesquisa



## DECLARAÇÃO

Declaro a quem possa interessar que o **SR. André Leandro da Silva** deu entrada em processo para apreciação de projeto de pesquisa, por via eletrônica, visando parecer consubstanciado, junto a CEUA/CSTR/UFCG. O projeto “**MICROESFERAS DE PECTINA CONTENDO UREIA OBTIDAS POR GELIFICAÇÃO IÔNICOTRÓPICA EXTERNA**”. TEM O NUMERO DE PROTOCOLO CEP 116/2018

**Patos, 30 de outubro de 2018**

Atenciosamente,

**Maria Mychelly Silva Dantas**

**Secretária do CEP**

**cep@cstr.ufcg.edu.br**

## ANEXO 3



Ministério do Meio Ambiente  
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso  
Cadastro nº A44F67F

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A44F67F**  
 Usuário: **André Leandro da Silva**  
 CPF/CNPJ: **056.474.614-25**  
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**  
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

**Espécie**

**Ovis aries**

Título da Atividade: **Testes in situ**

**Equipe**

André Leandro da Silva	UFCG
Leilson Rocha Bazerra	UFCG
Aderbal Marcos de Azevêdo Silva	UFCG
Tiago Tavares Brito Medeiros	UFCG
Arládne de Barros Carvalho	UFCG
Antonio Joelson Netto	UFCG
José Pires de Carvalho Neto	UFPI
Myrta Kristy Nunes Melo	UFCG

Data do Cadastro: **24/10/2018 17:35:18**  
 Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 17:35 de 24/10/2018.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
 ASSOCIADO - **SISGEN**

## ANEXO 4



Ministério do Meio Ambiente  
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso  
Cadastro n° A6A8F58

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: A6A8F58  
 Usuário: André Leandro da Silva  
 CPF/CNPJ: 056.474.614-25  
 Objeto do Acesso: Patrimônio Genético  
 Finalidade do Acesso: Pesquisa

**Espécie**

Citrus sinensis

Título da Atividade: Micronecapsulação de ureia em matriz de pectina cítrica

**Equipe**

André Leandro da Silva	UFCG
Lellson Rocha Bezerra	UFCG
Myrta Kristy Nunes Melo	UFCG
Aderbal Marcos de Azevêdo Silva	UFCG

Data do Cadastro: 23/10/2018 19:21:14  
 Situação do Cadastro: Concluído



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 19:21 de 23/10/2018.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
 ASSOCIADO - SISGEN

## ANEXO 4 - Patente



12/08/2020 870200100820  
08:42  
29409161921434391

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de  
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

**Número do Processo:** BR 10 2020 016365 5

**Dados do Depositante (71)**

---

**Depositante 1 de 1**

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - PB

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 05055128000176

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** AV. APRIGIO VELOSO, 882 - UNIVERSITÁRIO

**Cidade:** Campina Grande

**Estado:** PB

**CEP:** 58429900

**País:** Brasil

**Telefone:** (83) 2011601

**Fax:** (83) 21011601

**Email:** nitt@ufcg.edu.br

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 12/08/2020 às 08:42, Petição 870200100820

## ANEXO 5

**Dados do Pedido**

---

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** UREIA MICROPARTICULADA EM PECTINATO DE CÁLCIO PARA LIBERAÇÃO GRADUAL

**Resumo:** A presente invenção refere-se ao desenvolvimento de sistemas microencapsulados através da microencapsulação de ureia utilizando a pectina cítrica como material de parede e a técnica de Extrusão/Gelificação iônica, possibilitando aplicação das micropartículas de pectinato de cálcio obtidas contendo ureia na Nutrição animal através da liberação gradual deste ingrediente (Ureia) na dieta de ruminantes, viabilizando sua utilização com maior segurança e diminuindo riscos de intoxicação ou mesmo óbito dos animais.

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 12/08/2020 às 08:42, Petição 870200100820

## ANEXO 6

**Dados do Inventor (72)**

---

**Inventor 1 de 5****Nome:** ANDRÉ LEANDRO DA SILVA**CPF:** 05647461425**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Técnico das ciências administrativas e contábeis**Endereço:** Rua São Cristóvão, 486, Jardim Santa Cecília.**Cidade:** Patos**Estado:** PB**CEP:** 58708-115**País:** BRASIL**Telefone:** (83) 996 291742**Fax:****Email:** andre.leandro@ufcg.edu.br**Inventor 2 de 5****Nome:** MYRLA KRISTY NUNES MELO**CPF:** 09518806403**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Mestrando**Endereço:** Rua Sebastião Vieira da Rocha, 236-A, Luiz Gonzaga de Carvalho**Cidade:** Ouro Branco**Estado:** AL**CEP:** 57525-000**País:** BRASIL**Telefone:** (82) 988 440288**Fax:****Email:** myrla\_kristy@hotmail.com**Inventor 3 de 5**

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 12/08/2020 às 08:42, Petição 870200100820