



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

**Lisina microencapsulada em matriz lipídica das ceras de abelha e de  
carnaúba enriquecida com tanino da *Mimosa tenuiflora*: caracterização e  
degradabilidade**

**CLAUDINEY FELIPE ALMEIDA INÔ**

**PATOS-PB**

**2024**

**CLAUDINEY FELIPE ALMEIDA INÔ**

**Lisina microencapsulada em matriz lipídica das ceras de abelha e de carnaúba enriquecida com tanino da *Mimosa tenuiflora*: caracterização e degradabilidade**

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: Nutrição animal, área de atuação: Avaliação de alimentos e nutrição animal.

**Orientador:** Prof. Dr. José Morais Pereira Filho

**Co-orientador:** Prof. Dr. Leílson Rocha Bezerra

**PATOS-PB**

**2024**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG****Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema Integrado Bibliotecas – SISTEMOTECA/UFCG**

---

I58I

Inô, Claudiney Felipe Almeida

Lisina microencapsulada em matriz lipídica das ceras de abelha e de carnaúba enriquecida com tanino da *Mimosa tenuiflora*: caracterização e degradabilidade / Claudiney Felipe Almeida Inô. – Patos, 2024.  
87 f.

Orientador: José Morais Pereira Filho.

Coorientador: Leilson Rocha Bezerra.

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

1. Compostos fenólicos. 2. Emulsificação. 3. *In vitro*. 4. *In situ*.  
5. Abelhas. I. Pereira Filho, José Morais, *orient.* II. Título.

CDU 638.171

---

Bibliotecário-documentalista: Bárbara Costa – CRB-15/806

**CLAUDINEI FELIPE ALMEIDA INÔ**

**Lisina microencapsulada em matriz lipídica das ceras de abelha e de  
carnaúba enriquecida com tanino da *Mimosa tenuiflora*: caracterização e  
degradabilidade**

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.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Professor Dr. José Morais Pereira Filho.  
Orientador – PPGCA/CSTR/UFCG**

---

**Professor Dr. Leílson Rocha Bezerra.  
Co-orientador: PPGCA/CSTR/UFCG**

---

**Professor Dr. Ariosvaldo Nunes de Medeiros  
Examinador Externo – CCA/UFPB**

---

**Professora Dra. Juliana Paula Felipe de Oliveira  
Examinadora Interna – PPGCA/CSTR//UFCG**

**Trabalho aprovado em: 20 de fevereiro de 2024.**

**PATOS - PB**

## DEDICO E OFEREÇO

A *DEUS* arquiteto do universo, pela graça da vida, por me dar força para superar as dificuldades e por toda proteção.

Aos meus pais que são minha fonte de inspiração *JOSÉ CLAUDIONOR ALVES INÔ* e *MARIA JOSÉ DE ALMEIDA INÔ*.

A minha irmã *PRISCILA DAIANE ALMEIDA INÔ*, a meus irmãos *WAGNER GUTENBERGUE INÔ* e *CARLOS INÔ*.

A minha sobrinha *DIANA VALENTINA INÔ RODRIGUES*.

Aos meus avôs *in memoria ADEMAR JOSÉ INÔ* e *ARTUR FELIX*, as minhas avós *ILDA ALVES INÔ* e *in memoria ANA GOMES* e *in memoria* meu tio *JOSÉ EMANOEL INÔ*, a minha tia *ADECILDA ALVES INÔ*, a minha prima *KAROLLINE PETRUCIA ALMEIDA INÔ*.

Aos meus filhos *HEITOR MIGUEL PEREIRA INÔ* e *NOAH GUILHERME DA SILVA INÔ*.

**EPIGRAFE**

♪ ...“Fé em Deus que ele é justo  
Ei, irmão, nunca se esqueça  
Na guarda, guerreiro, levanta a cabeça, truta  
Onde estiver, seja lá como for  
Tenha fé, porque até no lixão nasce flor”... ♪

*Racionais MC's*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. José Morais Pereira Filho, pela atenção e conhecimentos compartilhados;

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Leílson Rocha Bezerra, pela dedicação e empenho com nossos trabalhos e o grupo de estudos;

Ao meu amigo e companheiro de projeto Roberto Matheus, por todo companheirismos e momentos compartilhados;

Ao professor e amigo Dr. André Leandro da Silva, por toda atenção ao longo do desenvolvimento da pesquisa;

Ao professor Dr. Pedro Nicó de Medeiros Neto, por todo suporte técnico na extração do tanino da Jurema Preta;

A Iara Tamires Rodrigues Cavalcante, (INSA) pela análise realizada no extrato do tanino;

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Juliana Paula Felipe de Oliveira e Prof. Dr. Ariosvaldo Nunes de Medeiros, por todas as contribuições;

Aos amigos Lucas Barros, Yuri Caie e José Vinicius pela parceria acadêmica e por todo companheirismo;

As minhas amigas e Dras. Romilda Nascimento, Joana Angélica e Gildênia Araújo, pelos momentos compartilhados, por todo apoio e dedicação na nossa formação;

Aos amigos de turma PPGCA 2022.1 por cada momento compartilhado, Luan Camboim, João Victor, Everton Chianca, Mirelly Rayanne, Rita de Cassia, Pedro Henrique;

A todo corpo docente do PPGCA: Olaf Bakker, Marcus Goes, Ricardo Loiola, André Leandro, Juliana Paula, José Fabio; Sergio Azevedo, pela partilha e dedicação em nos ensinar e ajudar no nosso crescimento acadêmico;

Ao amigo e secretário do PPGCA: José de Arimateia, pela disponibilidade e ajuda sempre que precisamos;

Aos alunos de iniciação científica João Victor e Jullyson David, por toda ajuda e parceria;

Aos membros do grupo de pesquisa GERMAM: Marcia, Kevily, Évila, Fonrose, Caio, Gabriel, Immanoel, Jade, Joaquim, Josi, Layse, Paula, Sonel, Vitória parceria nas atividades de pesquisa;

Ao amigo e coordenador da fazenda NUPEÁRIDO José Nerivaldo, pela disponibilidade e ajuda nos nossos trabalhos, ao mesmo tempo agradeço a Antônio pelo suporte dado na fazenda Lameirão;

Ao amigo Sr. Otávio do laboratório de Nutrição Animal, por toda ajuda e instruções;

A todos os funcionários do NUPEÁRIDO Neném, Eldinho, Naldo, Yago e do CSTR nossos simpáticos porteiros, servidores e seguranças, e aos nossos motoristas Zé Ferreira, Bagaceira, Sr. Chico, Clidemar, Sr. Duda, todos esses que mantêm a universidade funcionando, sem o suporte e ajuda deles as coisas se tornaria mais complicadas;

Ao Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV), da Universidade Federal do Piauí (UFPI), pela realização da análise de Microscopia eletrônica de varredura;

À FAPESQ, CAPES e CNPq, pelos investimentos na pesquisa durante a realização do mestrado.

**Muito obrigado por tudo, sem  
você nada disso seria possível,  
compartilho esta conquista!!!**



## SUMÁRIO

<b>ABREVIações E SIGLAS .....</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>12</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>13</b>
<b>RESUMO GERAL .....</b>	<b>14</b>
<b>GENERAL ABSTRACT .....</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>16</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>19</b>

### CAPÍTULO I

<b>Caracterização e avaliação da lisina microencapsulada em cera de abelha e de carnaúba enriquecida com [<i>Mimosa Tenuiflora</i> (Wild.) Poir] .....</b>	<b>21</b>
--	-----------

<b>Resumo .....</b>	<b>22</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>23</b>

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>24</b>
----------------------------	-----------

<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
------------------------------------	-----------

2.1. Local do experimento .....	26
2.2. Local de coleta e preparo do feno da Jurema Preta .....	26
2.3. Extração do tanino .....	26
2.4. Preparo dos sistemas microencapsulados e obtenção das microcápsulas .....	27
2.5. Avaliação do processo de microencapsulação .....	28
2.5.1. <i>Rendimento de microencapsulação</i> .....	28
2.5.2. <i>Eficiência de microencapsulação</i> .....	28
2.6. Avaliação e caracterização dos sistemas microencapsulados .....	29
2.6.1. <i>Calorimetria exploratória diferencial</i> .....	29
2.6.2. <i>Atividade de água</i> .....	29
2.6.3. <i>Teor de matéria seca</i> .....	29
2.6.4. <i>Teor de proteína bruta</i> .....	29
2.6.5. <i>Microscopia eletrônica de varredura</i> .....	29
2.7. Delineamento e análise estatística .....	30

<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
----------------------------	-----------

3.1. Rendimento de microencapsulação .....	31
3.2. Eficiência de microencapsulação .....	31
3.3. Calorimetria exploratória diferencial .....	32
3.4. Atividade de água .....	36
3.5. Teor de matéria seca .....	36
3.6. Teor de proteína bruta .....	37
3.7. Microscopia eletrônica de varredura .....	38

<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
---------------------------	-----------

4.1. Rendimento de microencapsulação .....	40
4.2. Eficiência de microencapsulação .....	41
4.3. Calorimetria exploratória diferencial .....	43

4.4. Atividade de água .....	44
4.5. Teor de proteína bruta .....	45
4.6. Microscopia eletrônica de varredura .....	45

<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>

## CAPÍTULO II

<b>Cinética de degradabilidade <i>in vitro</i> e em <i>in situ</i>, parâmetros ruminais da lisina microencapsulada em diferentes cerídeos enriquecida com tanino da [<i>Mimosa Tenuiflora</i> (WILD.) POIR.] .....</b>	<b>52</b>
--	-----------

<b>Resumo .....</b>	<b>53</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>54</b>

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>55</b>
----------------------------	-----------

<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>57</b>
------------------------------------	-----------

2.1. Local do experimento .....	57
2.2. Degradabilidade <i>in vitro</i> (Daisy <sup>II</sup> Ankom) .....	57
2.3. Ensaio de degradabilidade ruminal <i>in situ</i> .....	58
2.4. Avaliação do nitrogênio do microencapsulado antes e após a cinética de degradabilidade ( <i>in vitro</i> e <i>in situ</i> ) .....	60
2.5. Parâmetros ruminais .....	60
2.6. Delineamento e análise estatística .....	60

<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>61</b>
----------------------------	-----------

3.1. Degradabilidade <i>in vitro</i> .....	61
3.2. Degradabilidade <i>in situ</i> .....	64
3.3. Parâmetros ruminais .....	66

<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>68</b>
---------------------------	-----------

4.1. Degradabilidade <i>in vitro</i> e <i>in situ</i> .....	68
4.2. Parâmetros ruminais .....	69

<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>71</b>
---------------------------	-----------

<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>72</b>
--------------------------	-----------

<b>ANEXOS .....</b>	<b>76</b>
---------------------	-----------

## ABREVIações E SIGLAS

AGVs	Ácidos graxos voláteis
AOAC	Association Of Official Analytical Chemists
aW	Atividade de água
CA	Cera de Abelha
CA+Lys	Cera de Abelha+lisina
CA+Lys+1T	Cera de Abelha+lisina+1% de tanino de Jurema Preta
CA+Lys+2T	Cera de Abelha+lisina+2% de tanino de Jurema Preta
CA+Lys+3T	Cera de Abelha+lisina+3% de tanino de Jurema Preta
CC	Cera de Carnaúba
CC+Lys	Cera de Carnaúba+lisina
CC+Lys+1T	Cera de Carnaúba+lisina+1% de tanino de Jurema Preta
CC+Lys+2T	Cera de Carnaúba+lisina+2% de tanino de Jurema Preta
CC+Lys+3T	Cera de Carnaúba+lisina+3% de tanino de Jurema Preta
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CNF	Carboidratos não fibrosos
cm	Centímetro
CO <sub>2</sub>	Gás Carbônico
CED	Calorimetria exploratória diferencial
DBC	Delineamento em blocos casualizados
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
EE	Extrato etéreo
EM	Eficiência de Microencapsulação
FDA	Fibra em detergente acida
FDN	Fibra em detergente neutro
FJP	Feno de Jurema Preta
g	Gramas
kg	Quilograma
Lys	Lisina
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Min	Minuto
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria Seca
N	Nitrogênio
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NRC	National Research Council
PB	Proteína Bruta
pH	Potencial hidrogeniônico
RM	Rendimento de microencapsulação
TJP	Tanino de Jurema Preta
TNT	Tecido-não-tecido
°C	Grau Celsius
%	Porcentagem
µm	Micrometros

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1. Composição dos ingredientes em matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), cinza (MM), nitrogênio (N) e proteína bruta (PB) utilizado na produção dos encapsulados .....	28
Tabela 2. Eficiência da microencapsulação dos materiais avaliados .....	32
Tabela 3. Principais eventos das curvas de calorimetria exploratória diferencial (CED) dos diferentes material, com destacados para os pontos de mínimo e de máximo .....	34
Tabela 4. Descrição dos pontos de mínimo (evento 1), intermediários (evento 2) e máximos (evento 3) das curvas de calorimetria exploratória diferencial (CED) dos diferentes material destacado na figura 4 em função da temperatura .....	35
Tabela 5. Valores de atividade de água (aW) dos encapsulados ceras de abelha (CA) e de carnaúba (CC) + Lys associados aos níveis de 0, 1, 2 e 3% de tanino da jurema preta (TJP) .....	36
Tabela 6. Valores do teor de matéria seca (MS) dos encapsulados ceras de abelha (CA) e de carnaúba (CC) + Lys associados aos níveis de 0, 1, 2 e 3% de tanino da jurema preta (TJP) .....	37
Tabela 7. Valores do teor de proteína bruta (PB) dos encapsulados ceras de abelha (CA) e de carnaúba (CC) + Lys associados aos níveis de 0, 1, 2 e 3% de tanino da Jurema Preta (TJP) .....	37

### CAPÍTULO II

Tabela 1. Ingredientes e respectivas quantidades utilizadas em cada jarra nas incubações <i>in vitro</i> Daisy <sup>II</sup> ANKOM .....	58
Tabela 2. Composição bromatologica da dieta do ovino fistulado .....	59
Tabela 3. Degradação da matéria seca (MS) dos encapsulados de ceras de abelha e de carnaúba em função do tempo de incubação, independente do nível de tanino incubados na Daisy <sup>II</sup> ANKOM .....	62
Tabela 4. Retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados de ceras de abelha e de carnaúba em função do tempo de incubação, independente do nível de tanino incubados na Daisy <sup>II</sup> ANKOM .....	63
Tabela 5. Resultados de temperatura (°C) ruminal nos diferentes tempos de incubação no animal fistulado, em função do tipo de cera (abelha e carnaúba) e do nível (0; 1; 2 e 3%) de tanino .....	67
Tabela 6. Resultados do pH ruminal nos diferentes tempos de incubação no animal fistulado, em função do tipo de cera (abelha e carnaúba) e do nível (0; 1; 2 e 3%) de tanino .....	67

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

Figura 1. Rendimento de microencapsulação da lisina em matriz de cera de abelha e de carnaúba, enriquecimento com (1, 2 e 3%) de Tanino de Jurema Preta (TJP) na formulação de 2:1 ..... 31

Figura 2. Curva de calorimetria exploratória diferencial (CED) da Cera de Abelha (A), Lisina (L), Extrato Tânico da jurema preta (T), Cera de Abelha + lisina (A+L) e Cera de Abelha + Lisina + 1, 2 e 3 % de Tanino (A+L+T1, T2 e T3) em função da temperatura ..... 33

Figura 3. Curva de calorimetria exploratória diferencial (CED) da cera de Carnaúba (C), da lisina (L), do extrato tânico (T) da jurema preta, da cera de carnauba associado a lisina (C+L) e do complexo C+L+T (cera de carnaúba com lisina e tanino em diferentes níveis) em função da temperatura ..... 34

Figura 4. Micrografias eletrônicas de varredura: a) Cera de Carnaúba; b) Cera de Abelha; c) Lisina; d) Extrato Tânico da jurema preta ..... 38

### CAPÍTULO II

Figura 1. Degradação / retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados em função do nível de tanino no encapsulado, independente do tipo de cera e do tempo de incubação na Daisy<sup>II</sup> ANKOM ..... 61

Figura 2. Degradação da matéria seca (MS) dos encapsulados de ceras de carnaúba e de abelha em função do tempo de incubação, independente do nível de tanino, incubados na Daisy<sup>II</sup> ANKOM ..... 62

Figura 3. Retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados de ceras de carnaúba e de abelha em função do tempo de incubação, independente do nível de tanino, incubados na Daisy<sup>II</sup> ANKOM ..... 64

Figura 4. Degradação e retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados em função do tempo de incubação *in situ*, independente do nível de tanino ..... 64

Figura 5. Degradação e retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados em função dos níveis de tanino de Jurema Preta, independente do tempo de incubação *in situ* ..... 65

Figura 6. Médias de nitrogênio (N) e proteína bruta (PB) dos encapsulados em função do tempo de incubação *in situ*, independente do nível de tanino ..... 65

Figura 7. Média de nitrogênio (N) e proteína bruta (PB) dos encapsulados em função do nível de tanino, independente do tempo de incubados *in situ* ..... 66

## RESUMO GERAL

Objetivou-se através da técnica de emulsificação e secagem em estufa a formação de sistemas contendo lisina (Lys) como (núcleo) microencapsulada em matriz lipídica de cera de abelha (CA) e de cera de carnaúba (CC) (material de parede), enriquecida com tanino de Jurema Preta (TJP). Os sistemas microencapsulados foram caracterizados quanto a rendimento de microencapsulação (RM), eficiência da microencapsulação (EM), calorimetria exploratória diferencial (CED) e por técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Avaliou-se a degradabilidade *in vitro* na (Daisy<sup>II</sup> ANKOM) e *in situ* (animal fistulados no rúmen), ambas foram conduzidas em sacos de tecido-não-tecido (TNT) com dimensões de 5 x 5 cm contendo 2 g de amostra e os tempos de incubação foram (0; 15; 30; 60; 120; 180; 1440 e 2880 min), para os quais foram investigados também parâmetros ruminiais. Os resultados de RM foram de 75,66; 77,46; 78,48; 79,46% para CA+Lys+0TJP; CA+Lys+1TJP; CA+Lys+2TJP; CA+Lys+3TJP respectivamente e 80,15; 84,10; 84,29; 84,47 para CC+Lys+0TJP; CC+Lys+1TJP; CC+Lys+2TJP; CC+Lys+3TJP respectivamente. Os resultados de EM foi 81,06±0,48; 81,30±0,59; 84,69±1,29; 85,17±0,97 para CA+Lys+0TJP; CA+Lys+1TJP; CA+Lys+2TJP; CA+Lys+3TJP respectivamente e 79,12±1,18; 85,17±1,99; 87,35±3,12; 89,28±3,87 correspondentes a CC+Lys+0TJP; CC+Lys+1TJP; CC+Lys+2TJP; CC+Lys+3TJP. Os resultados da CED a CA apresentou evento endotérmico (Evento 1) em 68 °C, relativo à sua fusão e outro evento endotérmico (Evento 2) em 385 °C, relacionado à sua degradação térmica. A CC apresentou evento endotérmico em 82 °C, relacionado com seu ponto de fusão. A Lys apresentou três eventos endotérmicos em 83, 264 e 309 °C. Já o TJP apresentou evento endotérmico em 99 °C. Quanto aos sistemas microencapsulados, observa-se os eventos das fases isoladas (cera, Lys e TJP) se mantiveram ou sofreram alguma alteração de acordo com a presença ou ausência de tanino e com o nível crescente deste. Verifica-se também que a Lys microencapsulada apresentou maior temperatura de degradação térmica em relação à sua forma livre, atestando à proteção das matrizes encapsulantes de CA e CC. A formulação CC+Lys+3TJP se destacou, pois apresentou a maior EM e a maior quantidade de Lys retida, o que pode resultar em uma proteção potencialmente superior no ambiente ruminal. Não houve interação entre cera e nível de tanino ( $P>0,05$ ) para degradação e retenção da matéria seca (MS). Houve diferença estatística na retenção da MS entre CA e CC nos tempos de incubação (15; 1444 e 2880 min). O pH e temperatura ruminal se mantém relativamente constante ao longo dos períodos de incubação. A utilização das CA e de CC como matriz lipídica associada com o TJP como agentes encapsulantes apresenta RM e EM da Lys, e com elevada estabilidade térmica. As formulações com 3% de TJP, independente do cerídeo utilizado, resultam em maior quantidade de MS e do nitrogênio (N) retido na microcapsula de lisina. O encapsulamento da Lys em matriz lipídica de CA e de CC, associada ao TJP resulta em aumento da MS e do N não degradado, tanto na avaliação *in vitro* (Daisy) e *in situ* (animal fistulado), e sem comprometer o pH e a temperatura ruminal. A CC foi mais eficiente do que a CA na proteção da proteína bruta (PB) contra a degradação ruminal, e que o tempo de incubação *in situ* influenciou a retenção e degradação da PB dos encapsulados, independente dos níveis de TJP.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos; emulsificação; *in situ*; *in vitro*; microencapsulação;

## GENERAL ABSTRACT

The objective was, through the emulsification and oven drying technique, to form systems containing lysine (Lys) as (core) microencapsulated in a lipid matrix of beeswax (BW) and carnauba wax (CW) (wall material), enriched with tannin from Jurema Preta (TJP). The microencapsulated systems were characterized in terms of microencapsulation yield (MY), microencapsulation efficiency (ME), differential scanning calorimetry (DSC) and by scanning electron microscopy (SEM) techniques. Degradability was evaluated *in vitro* (DaisyII ANKOM) and *in situ* (animals fistulated in the rumen), both were conducted in non-woven fabric (NWF) bags with dimensions of 5 x 5 cm containing 2 g of sample and the incubation times were (0; 15; 30; 60; 120; 180; 1440 and 2880 min), for which ruminal parameters were also investigated. MY results were 75.66; 77.46; 78.48; 79.46% for BW+Lys+0TJP; BW+Lys+1TJP; BW+Lys+2TJP; BW+Lys+3TJP respectively and 80.15; 84.10; 84.29; 84.47 for CW+Lys+0TJP; CW+Lys+1TJP; CW+Lys+2TJP; CW+Lys+3TJP respectively. The ME results were 81.06±0.48; 81.30±0.59; 84.69±1.29; 85.17±0.97 for BW+Lys+0TJP; BW+Lys+1TJP; BW+Lys+2TJP; BW+Lys+3TJP respectively and 79.12±1.18; 85.17±1.99; 87.35±3.12; 89.28±3.87 corresponding to CW+Lys+0TJP; CW+Lys+1TJP; CW+Lys+2TJP; CW+Lys+3TJP. The DSC results for BW presented an endothermic event (Event 1) at 68 °C, related to its melting and another endothermic event (Event 2) at 385 °C, related to its thermal degradation. CW presented an endothermic event at 82 °C, related to its melting point. Lys showed three endothermic events at 83, 264 and 309 °C. TJP presented an endothermic event at 99 °C. As for microencapsulated systems, it is observed that the events of the isolated phases (wax, Lys and TJP) were maintained or underwent some change according to the presence or absence of tannin and its increasing level. It is also verified that the microencapsulated Lys presented a higher thermal degradation temperature in relation to its free form, attesting to the protection of the BW and CW encapsulating matrices. There was no interaction between wax and tannin level ( $P>0.05$ ) for degradation and retention of dry matter (DM). There was a statistical difference in DM retention between BW and CW in the incubation times (15; 1444 and 2880 min). Ruminal pH and temperature remain relatively constant throughout the incubation periods. The use of BW and CW as a lipid matrix associated with TJP as encapsulating agents presents MY and ME of Lys, and with high thermal stability. Formulations with 3% TJP, regardless of the ceride used, result in a greater amount of DM and nitrogen (N) retained in the lysine microcapsule. The encapsulation of Lys in BW and CW lipid matrix, associated with TJP results in an increase in DM and non-degraded N, both *in vitro* (Daisy) and *in situ* (fistulated animal) evaluation, and without compromising pH and rumen temperature. CW was more efficient than BW in protecting crude protein (CP) against ruminal degradation, and the *in situ* incubation time influenced the retention and degradation of CP in encapsulated products, regardless of TJP levels.

**Keywords:** phenolic compounds; emulsification; *in situ*; *in vitro*; microencapsulation;

## INTRODUÇÃO GERAL

Os animais ruminantes precisam de aminoácidos em sua dieta para a produção de proteínas em vários tecidos, que são essenciais para a produção de leite e carne. Esses aminoácidos também são vitais para otimizar o crescimento microbiano no rúmen. No entanto, as proteases e desaminases microbianas no rúmen degradam rapidamente as proteínas e aminoácidos solúveis na fase líquida do rúmen.

Diante disso, um agravante está relacionado à Lisina (Lys) fornecida na forma livre, ao chegar ao ambiente ruminal é rapidamente degradada, portanto haverá desperdício e gasto da mesma na dieta se não alterar o seu mecanismo de fornecimento. Portanto tecnologias que busquem a proteção de alimentos ofertados na dieta animal do ataque dos microorganismos presente no rúmen e a sua liberação no intestino delgado, buscando um efeito sobrepassante, vêm sendo primordial para que essa Lys atenda as exigências de proteína metabolizável (Araújo *et al.*, 2019).

Diversos estudos apontam a necessidade de proteção da Lys da degradação ruminal, seja química (Kung e Rode, 1996) ou física (Moreira, 2018), tornando acessível em maior quantidade, levando ao máximo a sua absorção no intestino delgado. Nessa perspectiva, a tecnologia de microencapsulação é bastante empregada nos setores de alimentos, farmácia e de cosméticos.

A microencapsulação é um dos mecanismos de proteção de alimentos ofertados na dieta de ruminantes, considerando que esse processo de microencapsulação corresponde no envelopamento, ou seja, é uma substância ativa como exemplo a metionina, dentro de outra substância que serve de parede protetora como a cera de carnaúba, protegendo o alimento contra ataques da microbiota presente no rúmen animal (Carvalho Neto *et al.*, 2019). Alcançando como principal função a liberação dessa substância ativa gradativamente no intestino delgado (Pereira *et al.*, 2018).

Entre as substâncias que podem ser aplicadas como parede protetora, destacam-se as ceras de abelha (CA) e de carnaúba (CC), dois cerídeos naturais, que não degradam o meio ambiente, sendo ainda inerte à flora ruminal pelo fato de serem predominantemente saturadas e podendo atuar na proteção e na biodisponibilidade controlada. A matriz lipídica da CA é um produto oriundo das glândulas presentes no abdômen de abelhas, apresenta problemas relacionados à



sua pureza, na maioria das vezes apresenta resíduo de mel, da colmeia e restos da própria produtora. Já a CC provém da palmeira que tem como nome científico (*Copernicia prunifera*), vegetal típico do Nordeste brasileiro, destacando a relevância da flora que esta região possui (Mattos *et al.*, 2017).

Buscando uma melhor proteção da Lys, além dos cerídeos CA e CC, foi adicionado no enriquecimento da parede protetora o tanino de Jurema Preta (TJP), como adjuvante para reforçar o encapsulante. Em geral, os efeitos dos taninos na dieta de ruminantes estão relacionados à sua capacidade de formar complexos com proteínas, polissacarídeos insolúvel e estável nas condições do rúmen, ao mesmo tempo em que modulam a fermentação ruminal (Costa *et al.*, 2018). Utilizando baixas e moderadas concentrações, os taninos reduzem a degradação das proteínas no rúmen, ocorrendo a dissociação apenas no abomaso, sob pH de 1,3 a 3, fator que define uma melhor utilização da proteína dietética, ao contrário do que ocorre no ambiente ruminal (Cordão *et al.*, 2010).

A Jurema Preta chega a atingir níveis de tanino de 10% (feno) até 17% (casca) na matéria seca (Pereira Filho *et al.*, 2003; Paes *et al.*, 2006) e ser encontrado em níveis de até 40% na dieta de pequenos ruminantes (Araújo Filho *et al.*, 1996) em pastejo, pode ser uma boa alternativa para extração do tanino para ser associado às ceras CA e de CC na microencapsulação de Lys.

Para avaliar a eficácia da microencapsulação, podem ser realizados testes para verificar a resistência das microesferas no ambiente ruminal. Isso pode envolver a fermentação em condições controladas de laboratório, buscando semelhanças aos padrões normais do organismo animal (López, 2005). O método conhecido como fermentador ruminal Daisy<sup>II</sup> (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY) foi introduzido no Brasil (Santos *et al.*, 2000).

O aparelho DAISY<sup>II</sup> que simula a fermentação ruminal foi desenvolvido com propósito de melhorar a eficiência laboratorial da técnica *in vitro* (Alcalde *et al.*, 2001). Este fermentador possui quatro frascos de digestão independentes, mantendo o meio de fermentação em agitação contínua a uma temperatura específica de 39,5 °C (Araújo, 2010). Permite incubar diferentes alimentos em saquinhos filtrantes no mesmo recipiente, sendo considerado o material que desaparece como digerido (Mabjeesh *et al.*, 2000).

Esses sistemas *in vitro* ou *in situ*, visam melhorar o aproveitamento e compreensão do processo fermentativo, bem como a degradação das frações dos

alimentos, e o efeito da taxa de passagem, devem ser capazes de representar todo o processo de digestão que ocorre no rúmen, abomaso ou intestino para estimar quantitativamente a taxa e o grau de digestão similarmente aos obtidos *in vivo* (Berchielli *et al.*, 2006).

Este estudo teve como objetivo proteger a Lys, microencapsulada pelo método de emulsificação em matriz lipídica de dois cerídeos, enriquecida com tanino de Jurama Preta (TJP), e avaliar e caracterizar seu rendimento de microencapsulação (RM), eficiência de microencapsulação (EM), calorimetria exploratória diferencial (CED), teor de matéria seca (MS), atividade de água (aW), avaliação do nitrogênio dos encapsulados, microscopia eletrônica de varredura (MEV), além da cinética de degradação *in vitro* e *in situ*.

## REFERÊNCIAS

- ALCALDE, C. R.; MACHADO, R. M.; SANTOS, G. T.; PICOLLI, R.; JOBIM, C. C. Digestibilidade *in vitro* de alimentos com inóculos de líquido de rúmen ou de fezes de bovinos. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 917-921, 2001.
- ARAÚJO, C. M.; OLIVEIRA, K. A.; MACEDO JUNIOR, G. L.; SILVA, A. L.; SILVA, D. A. de P.; SIQUEIRA, M. T. S.; Aminoácidos protegidos na ração de borregas sobre o consumo, desempenho e comportamento ingestivo. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 11, p. 01-10, 2019.
- ARAÚJO FILHO, J. A.; GADELHA, J. A.; LEITE, E. R.; SOUZA, P. Z. Composição botânica e química da dieta de ovinos e caprinos em pastejo combinado na região dos Inhamuns, Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v. 25, n. 3, p. 383-395, 1996.
- ARAÚJO, R. C. Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal *in vitro*. **Tese** (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 178 f. 2010.
- BERCHIELLI, T. T.; GARCIA, A. V. OLIVEIRA, S. G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, p. 583, 2006.
- CARVALHO NETO, J. P.; BEZERRA, L. R.; SILVA, A. L.; MOURA, J. F. P.; PEREIRA FILHO, J. M.; SILVA FILHO, E. C.; GUEDES, A. F.; ARAÚJO, M. J.; EDVAN, R. L.; OLIVEIRA, R. L. Microencapsulated methionine with carnauba wax matrix (*Copernicia prunifera*) to protect against degradation in the rumen. **Livestock Science**. v. 228, p. 53-60, 2019.
- CORDÃO, M. A.; PEREIRA FILHO, J. M.; BAKKE, O. A.; BAKKE, I. A. Taninos e seus efeitos na alimentação animal – Revisão bibliográfica. **Pubvet**. v. 4, n. 32, ed. 137, Art. 925, 2010.
- COSTA, M.; ALVES, S. P.; CAPPUCCI, A.; COOK, S. R.; DUARTE, A.; CALDEIRA, R. M.; McALLISTER, T. A.; BESSA, R. J. Efeitos dos taninos condensados e hidrolisáveis no metabolismo ruminal com ênfase na biohidrogenação de ácidos graxos insaturados. **Journal of Agriculture Química Alimentar**. v. 66 e.13, p. 3367-3377, 2018.
- KUNG, L.; RODE, L. Metabolismo de aminoácidos em ruminantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentação Animal**. v. 59, n. 1, p. 167-172, 1996.
- LÓPEZ, S. *In vitro* and *in situ* techniques for estimating digestibility. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Ed.). **Aspectos quantitativos da digestão e metabolismo de ruminantes**. ed. 2. Cambridge: CABI Publishing. p. 87-121, 2005.

- MABJEESH, S. J.; COHEN, M.; ARIELL, A. *In vitro* methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: comparison of methods and inoculum source. **Journal of Dairy Science**. v. 83, n. 10, p. 2289-2294, 2000.
- MATTOS, D. G., PAIVA, P. D. O., NERY, F. C., VALE, R. P.; SARTO, M. T.; LUZ, I. C. A. Water relations in post-harvested torch ginger affected by harvest point and carnauba wax. **Postharvest Biology And Technology**. v. 127, p. 35-43, 2017.
- MOREIRA, C. A. Aminoácidos protegidos em ração para borregas mestiças. **Dissertação** de mestrado - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. 78 f. 2018.
- PAES, J. B.; MARINHO, I. V.; LIMA, R. A.; LIMA, C. R.; AZEVÊDO, T. K. B. Viabilidade técnica dos taninos de quatro espécies florestais de ocorrência no semiárido brasileiro no curtimento de peles. **Ciência Florestal**. v. 16, p. 453-462, 2006.
- PEREIRA FILHO, J. M.; VIEIRA, E. L.; SILVA, A. M. A.; CÉZAR, M. F.; AMORIM, F. U. Efeito do Tratamento com Hidróxido de Sódio sobre a Fração Fibrosa, Digestibilidade e Tanino do Feno de Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora*. Produção Não-Madeireira na Caatinga Wild). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 32, p. 70-76, 2003.
- PEREIRA, K. C.; FERREIRA, D. C. M.; ALVARENGA, G. F.; PEREIRA, M. S. S.; BARCELOS, M. C. S.; COSTA, J. M. G. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos**. v. 21, n. 0, 2018.
- SANTOS, G. T.; ASSIS, M. A.; GONÇALVES, G. D.; MODESTO, E. C.; CECATO, U.; JOBIM, C. C.; DAMACENO, J. C. Determinação da digestibilidade in vitro de gramíneas do gênero *Cynodon* com uso de diferentes metodologias. **Acta Scientiarum**. v. 22, n. 3, p. 761-764, 2000.

## CAPÍTULO I

---

**Caracterização e avaliação da lisina microencapsulada em cera de abelha e de carnaúba enriquecida com tanino da *Mimosa tenuiflora***

## Resumo

A microencapsulação pode ser usada para proteger substâncias sensíveis à degradação, com destaque para os aminoácidos essenciais, especialmente a lisina. Objetivou-se com o presente estudo através da técnica de emulsificação e secagem em estufa avaliar as ceras de Abelha (CA) e de Carnaúba (CC) enriquecida com Tanino de Jurema Preta (TJP) como matrizes encapsulantes da lisina (Lys). O extrato do TJP foi obtido por fervura em uma autoclave e posterior secagem total em estufa, foi desenvolvido o ensaio para avaliar a proteção da Lys para os dois tipos de encapsulantes CA e CC, enriquecidos com níveis crescentes de TJP (0; 1; 2; 3%), totalizando oito grupos experimentais. Os sistemas microencapsulados foram caracterizados quanto à atividade de água (aW), teor de nitrogênio retido, rendimento microencapsulação (RM), eficiência da microencapsulação (EM), calorimetria exploratória diferencial (CED) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os sistemas microencapsulados com CA apresentaram RM que variou de 75,66 a 79,46 para os tratamentos CA+Lys e CA+Lys+3TJP, respectivamente; já os encapsulados utilizando CC a variação foi de 80,15 e 84,47 para os tratamentos CC+Lys e CC+Lys+3TJP respectivamente. A EM oscilou de 81,06 a 85,41 para os tratamentos CA+Lys e CA+Lys+3TJP quando se utilizou a CA. Em relação aos encapsulados a base de CC a oscilação foi de 80,65 a 87,83 para os tratamentos CC+Lys e CC+Lys+3TJP, respectivamente. Quanto a CED para a CA destacou-se dois eventos endotérmicos, um a 68 °C, relativo a seu ponto de fusão e o outro ao atingir 385 °C, relacionado à degradação térmica. A CC apresentou evento endotérmico em 82 °C, relacionado com seu ponto de fusão. A Lys apresentou três eventos endotérmicos em 83, 264 e 309 °C. Já o TJP apresentou evento endotérmico em 99 °C. Quanto aos sistemas microencapsulados, observa-se os eventos das fases isoladas (cera, Lys e TJP) se mantiveram ou sofreram alguma alteração de acordo com a presença ou ausência de tanino. A Lys microencapsulada apresentou maior temperatura de degradação térmica em relação à sua forma livre. As variáveis atividade de água (aW), teor de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) não foram alteradas. A utilização das CA e de CC como matriz lipídica associada com o TJP como agentes encapsulantes apresenta RM e EM da Lys, e com elevada estabilidade térmica. As formulações com 3% de TJP, independente do cerídeo utilizado, resultam em maior quantidade de MS e de nitrogênio retido na microcapsula de Lys. Recomenda-se o sistema microencapsulado: CC+Lys+3TJP.

**Palavras-chave:** aminoácido protegido; encapsulante; microencapsulação; micropartículas; microscopia eletrônica de varredura.

## Abstract

Microencapsulation can be used to protect substances sensitive to degradation, especially essential amino acids, especially lysine. The objective of the present study, using the emulsification and oven drying technique, was to evaluate Beeswax (BW) and Carnauba (CW) enriched with Jurema Preta Tannin (TJP) as lysine (Lys) encapsulating matrices. The TJP extract was obtained by boiling in an autoclave and subsequent total drying in an oven. The assay was developed to evaluate the protection of Lys for the two types of encapsulants BW and CW, enriched with increasing levels of TJP (0; 1; 2 ; 3%), totaling eight experimental groups. The microencapsulated systems were characterized in terms of water activity (aW), retained nitrogen content, microencapsulation yield (MY), microencapsulation efficiency (ME), differential scanning calorimetry (DSC) and scanning electron microscopy (SEM). The microencapsulated systems with BW presented MY that varied from 75.66 to 79.46 for the BW+Lys and BW+Lys+3TJP treatments, respectively; As for those encapsulated using CW, the variation was 80.15 and 84.47 for the CW+Lys and CW+Lys+3TJP treatments, respectively. The MS ranged from 81.06 to 85.41 for the BW+Lys and BW+Lys+3TJP when BW was used. In relation to CW-based encapsulates, the oscillation was from 80.65 to 87.83 for the CW+Lys and CW+Lys+3TJP treatments, respectively. As for DSC for BW, two endothermic events stood out, one at 68 °C, related to its melting and the other when reaching 385 °C, related to thermal degradation. CW presented an endothermic event at 82 °C, related to its melting point. Lys showed three endothermic events at 83, 264 and 309 °C. TJP presented an endothermic event at 99 °C. As for microencapsulated systems, it is observed that the events of the isolated phases (wax, Lys and TJP) were maintained or underwent some change according to the presence or absence of tannin. The microencapsulated Lys showed a higher thermal degradation temperature in relation to its free form. The variables water activity (aW), dry matter content (DM) and crude protein (CP) were not changed. The use of BW and CW as a lipid matrix associated with TJP as encapsulating agents presents MY and ME in the microencapsulation of Lys, and with high thermal stability. Formulations with 3% TJP, regardless of the cerid used, result in a greater amount of DM and nitrogen retained in the Lys microcapsule. The microencapsulated system is recommended: CW+Lys+3TJP.

**Keywords:** protected amino acid; encapsulant; microencapsulation; microparticles; scanning electron microscopy.

## 1. INTRODUÇÃO

A microencapsulação é um processo que consiste em envolver uma substância (núcleo) com uma camada fina de outro material (parede), formando partículas microscópicas chamadas de microcápsulas. A microencapsulação pode ser usada para proteger substâncias sensíveis à degradação, como aminoácidos, vitaminas, enzimas, probióticos, entre outras.

Os aminoácidos são os componentes básicos das proteínas e são essenciais para o funcionamento do organismo dos animais. Alguns aminoácidos são chamados de essenciais, pois não podem ser sintetizados pelo organismo e devem ser obtidos pela alimentação. Os aminoácidos essenciais para os ruminantes são: lisina, metionina, treonina, triptofano, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina e histidina (Stieven *et al.*, 2011).

A microencapsulação de aminoácidos pode trazer benefícios para a produção de ruminantes, como aumento da eficiência alimentar, da produção de leite e carne, da qualidade dos produtos, da saúde e do bem-estar animal, (Ray *et al.*, 2016). Barreto *et al.* (2015) relatam que a escolha da técnica de encapsulamento deve levar em conta aspectos como o tipo de substância ativa, método de aplicação, todo o processo de liberação, o custo e a disponibilidade do material de parede. O melhor material é aquele que proporciona mais eficiência e estabilidade da microcápsula (Vaniski *et al.*, 2017).

Entre os principais materiais que podem ser aplicadas como parede protetora, destacam-se, as ceras de abelha (CA) e carnaúba (CC), dois cerídeos naturais, que não degradam o meio ambiente, sendo ainda inerte à flora ruminal, e podendo atuar na proteção do núcleo e na biodisponibilidade controlada do mesmo.

A matriz lipídica da CA é um produto natural oriundo das glândulas presentes no abdômen de abelhas, tem problemas relacionados à sua pureza, na maioria das vezes apresenta resíduo de mel, da colmeia e restos da própria abelha. Levando em consideração esses aspectos, ela apresenta requisitos para um excelente revestimento, ressaltando sua resistência à umidade, hidrofobicidade no envolvimento (Souza *et al.*, 2017).

A CC se destaca como um excelente agente microencapsulante, por proporciona características hidrofóbicas, produto natural, provém da espécie (*Copernicia prunifera*) uma palmeira típica nativa do Semiárido do Nordeste brasileiro, que se destaca não apenas pela cera, mas também pelo seu



aproveitamento como a palha, que serve para a produção artesanal e adubação do solo, tornando-se uma planta com importância econômica, social e ecológica para a região, com maior ocorrência nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (Feitosa, 2015).

A utilização de compostos fenólicos e taninos extraídos de plantas, especialmente de leguminosas como *Acácia mearnsii* (Pimentel *et al.*, 2021), Jurema Preta (Fernandes *et al.*, 2021), Catingueira (Gonzaga Neto *et al.*, 2004) tem sido estudada na alimentação de ruminantes, seja pelos efeitos na digestibilidade da proteína (Pereira Filho *et al.*, 2005), na qualidade da carcaça e carne (Costa *et al.*, 2021) o que evidenciam sua importância biológica na nutrição animal. Nesta perspectiva, uma melhor proteção da lisina pode ser buscada pela associação do tanino para reforçar a ação encapsulante.

Em geral, os efeitos dos taninos na dieta de ruminantes estão relacionados à sua capacidade de formar complexos principalmente com proteínas, polissacarídeos ao mesmo tempo em que modulam a fermentação ruminal, reduzindo a degradação das proteínas no rúmen, ocorrendo a sua dissociação no abomaso, sob pH de 1,3 a 3 (Cordão *et al.*, 2010) o que resulta na melhoria do aproveitamento da dieta (Costa *et al.*, 2018), refletindo na qualidade da carne (Fernandes *et al.*, 2021) e do leite (Nascimento *et al.*, 2021).

Os taninos causam efeitos positivos, relacionados às suas propriedades benéficas como agentes antioxidantes e eliminadores de radicais e moduladores da microbiota intestinal (Molino *et al.*, 2018). Estas propriedades tornam este produto um aditivo interessante para complementar à dieta animal. No entanto, os mesmos mecanismos químicos que lhes conferem alguns dos seus efeitos positivos (proteínas de ligação) também são responsáveis pelo sabor adstringente (Soares *et al.*, 2018).

Por outro lado, a interação dos taninos com proteínas e carboidratos também poderia determinar efeitos na matriz encapsulante à qual são adicionados (Molino *et al.*, 2019). Esta incorporação de taninos de Jurema Preta em uma matriz protetora que atua como barreira física, mascarando as interações químicas com os alimentos e as proteínas salivares. Dessa forma, o presente estudo objetivou a obtenção, caracterização e avaliação do encapsulamento de lisina em matriz lipídica das CA e de CC associada com tanino da Jurema Preta.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Local do experimento

Os sistemas microencapsulados foram processados no Laboratório de Nutrição Animal (LANA), do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, Paraíba, Brasil, localizado no Semiárido paraibano.

A Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a Calorimetria exploratória diferencial (CED) foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV), da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

### 2.2. Local de coleta e preparo do feno da Jurema Preta

Toda a parte referente à obtenção do feno, o corte de parte das árvores de Jurema Preta para retirada das folhas com intuito de se obter o feno, ocorreu em uma área de mata nativa.

O Tanino natural foi obtido a partir do Feno de Jurema Preta (FJP), através da fenação de folhas e ramos de até 8 mm de diâmetro de plantas em estágio de vegetação plena e altura média de 3 metros em áreas de pastagem nativa do Núcleo de Pesquisa para o Desenvolvimento do Semiárido (NUPEÁRIDO), do CSTR, da UFCG, Patos, Paraíba, Brasil, geograficamente localizado no Semiárido paraibano, nas coordenadas Latitude S 07° 04' 49.68", Longitude W 037° 16' 22.85" e altitude de 264, com média de 29 °C de temperatura e de 50,5% de umidade relativa do ar. A precipitação pluviométrica gira em torno de 500 mm.

O material coletado foi triturado em uma picadeira e seco sobre lonas plásticas ao ar livre, sendo revirado a cada duas horas e coberto durante a noite até atingir o ponto de feno. Em seguida após o material esta completamente seco, foi triturado em um forrageira utilizando peneira com diâmetro de 5 mm.

### 2.3. Extração do tanino

O tanino foi extraído utilizando a metodologia modificada proposta por (Chaves, 2018), onde 15 L de água destilada, para cada 1,0 kg de FJP. A mistura (água + FJP) foi colocada em recipiente de aço inox de 30 L, em seguida submetido à temperatura de ebulição da água e pressão ambiente em uma autoclave com capacidade de 48 litros. A extração ocorreu por 2 horas, com temperatura variando

de 100 °C a 110 °C, para evitar a degradação por oxidação dos taninos e obter a quantidade máxima de extrato tânico.

Em cada etapa o material foi filtrado em tecido poroso, e o extrato obtido submetido à filtração em peneira com tecido de silkscreen. Em seguida o material filtrado foi colocado em bandejas de vidro (5 x 40 x 60 cm) e submetido a evaporação natural até perder 50% de líquido, em uma estufa de circulação de ar forçada a 100 °C, até peso constante. Em seguida os materiais foram triturados em um liquidificador industrial e homogeneizados utilizando peneira para posterior enriquecimento dos cerídeos CA e CC, seguindo metodologia modificada de (Chaves, 2018).

#### 2.4. Preparo dos sistemas microencapsulados e obtenção das microcápsulas

Após obter o extrato do tanino foi desenvolvido o ensaio para avaliar a proteção da lisina em dois tipos de encapsulantes CA e CC, com proporção das matrizes: 2:1 e com os níveis de TJP (0; 1; 2; 3%) da massa do cerídeo, totalizando oito grupos experimentais.

Para a obtenção das microcápsulas foram desenvolvidas as seguintes formulações: CA sem TJP; CC sem TJP; CA + Lys sem TJP; CC + lisina sem TJP; CA + lisina associado aos níveis de 1, 2 e 3% de TJP; CC + lisina associado aos níveis de 1, 2 e 3% de TJP. As formulações foram obtidas pela técnica de Emulsificação e secagem em estufa e adição de 2,5% de lecitina de soja como agente emulsificante.

Para o preparo dos produtos microencapsulados a Lys e o correspondentes de TJP foram pesados em balança analítica, colocados em béqueres e dissolvidos em água destilada. Já a CA ou CC e a lecitina de soja (5% com base na massa da cera) foram pesadas em outro béquer e fundidas em banho-maria, sob temperatura de 65° C e 85 °C, respectivamente. Na sequência foi feita a preparação das emulsões, que devido à rapidez de sua solidificação foi feito a quente.

A Lys foi aquecida até a mesma temperatura da cera fundida e, posteriormente, adicionada lentamente à cera, seguida de agitação constante com auxílio de um bastão por 20 min para CA e 10 min para CC. O material foi submetido à secagem em estufa de circulação de ar forçada a 55 °C por 6 h, obtendo assim o produto microencapsulado (tratamentos), que foram triturado e acondicionado em recipiente adequado e mantido em temperatura ambiente.

Na tabela 1, a seguir são descritos a composição dos ingredientes utilizados na microencapsulação.

Tabela 1. Composição dos ingredientes em matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), cinza (MM), nitrogênio (N) e proteína bruta (PB) utilizado na produção dos encapsulados.

Materiais	MS (%)	MO (%)	MM (%)	N (%)	PB (%)
Cera de Abelha	95,74	99	1,00	0,44	2,75
Lisina	95,61	98,95	1,05	12,57	78,54
Extrato Tanino	88,35	92,42	7,58	3,51	21,93
Abelha + lisina	93,41	98,50	1,50	3,32	20,73
Abelha + L + 1TJP	95,86	97,99	2,01	3,32	20,72
Abelha + L + 2TJP	97,41	97,97	2,03	3,56	22,23
Abelha + L + 3TJP	97,05	97,95	2,05	3,59	22,46
Cera de Carnaúba	97,98	98,99	1,01	0,45	2,83
Lisina	95,61	98,95	1,05	12,57	78,54
Extrato Tanino	88,35	92,42	7,58	3,51	21,93
Carnaúba + lisina	94,75	98,48	1,52	3,21	20,06
Carnaúba + L + 1TJP	97,71	97,97	2,03	3,07	19,17
Carnaúba + L + 2TJP	97,53	97,97	2,03	3,33	20,81
Carnaúba + L + 3TJP	97,39	97,94	2,06	3,39	21,20

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; MM: matéria mineral; N: nitrogênio; PB: proteína bruta.

## 2.5. Avaliação do processo de microencapsulação

### 2.5.1. *Rendimento de microencapsulação*

O rendimento da microencapsulação foi baseado nas massas da lisina, da cera com e sem tanino e lecitina de soja (emulsificante) e na massa após a secagem (final), utilizando a fórmula:  **$RM = (MF/MI) \times 100$** ; Onde: RM = Rendimento da microencapsulação; MFinal: Massa do produto microencapsulado após secagem; MInicial: Massa seca de lisina, tanino, cera e lecitina.

### 2.5.2. *Eficiência de microencapsulação*

A eficiência do processo de microencapsulação de lisina pela matriz de cera foi determinada pela relação entre o teor de lisina retido e o inserido através da fórmula:  **$\%EM = (Lretido/Linserido) \times 100$** ; Onde: EM = Eficiência da

microencapsulação; Lretido = Teor real de lisina retido; Linserido = Teor de lisina inserido.

## 2.6. Avaliação e caracterização dos sistemas microencapsulados

### 2.6.1. *Calorimetria exploratória diferencial*

As curvas de CED foram obtidas em calorímetro diferencial de varredura modelo CED-60, marca Shimadzu, sob atmosfera inerte (Nitrogênio), em fluxo de 50 mL/min, taxa de aquecimento de 10 °C/min, em uma faixa de temperatura de 30 a 400 °C, utilizando cadinho de platina contendo em torno de 3 mg de amostra. A plotagem das curvas de CED e a análise de dados foram realizadas no software OriginPro 8, em que foi considerada a temperatura de pico dos eventos.

### 2.6.2. *Atividade de água*

A atividade de água foi avaliada em um medidor de atividade de água modelo (LabStart-aw-Novasina).

### 2.6.3. *Teor de matéria seca*

O teor de matéria seca (MS) foi determinado em estufa com circulação e renovação de ar TE-391/1 (Marca Tecnal) a 105 °C.

### 2.6.4. *Teor de proteína bruta*

A quantificação do nitrogênio foi realizada através do método de Kjeldahl, descrito por AOAC (2012). Os dados obtidos foram analisados para quantificar o nitrogênio da amostra a partir da fórmula:  $\%N = V \times N \times F \times 0,014 \times 100/m$

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

### 2.6.5. *Microscopia eletrônica de varredura*

Para a realização das micrografias, as amostras foram fixadas em substrato de alumínio (stub) utilizando fita adesiva dupla face e em seguida metalizadas com ouro. As micrografias foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) com canhão a emissão por campo, marca FEI, modelo Quanta FEG 250, com

tensão de aceleração de 15 kV spot size 5,0 e detector vCD (Detector de baixa voltagem e alto contraste).

## 2.7. Delineamento e análise estatística

Embora o objetivo seja caracterização, a atividade de água (aW) e os teores de matéria seca (MS) e de proteína bruta (PB) dos encapsulados foram avaliados através do delineamento inteiramente casualizado (DIC), com os tratamentos em fatorial 2x4 (cera x tanino).

Os dados foram avaliados por análises de variância e de regressão (nível de tanino), e as médias comparadas pelo teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Rendimento de microencapsulação

Os sistemas microencapsulados protegidos com a CA apresentaram rendimentos, com valores de 75,66; 77,46; 78,48 e 79,46% para CA+Lys+0TJP; CA+Lys+1TJP; CA+Lys+2TJP e CA+Lys+3TJP, respectivamente. Já quando o material de parede foi a CC os rendimentos foram de 80,15; 84,10; 84,29 e 84,47%, CC+Lys+0TJP, CC+Lys+1TJP, CC+Lys+2TJP e CC+Lys+3TJP, respectivamente (figura 1).

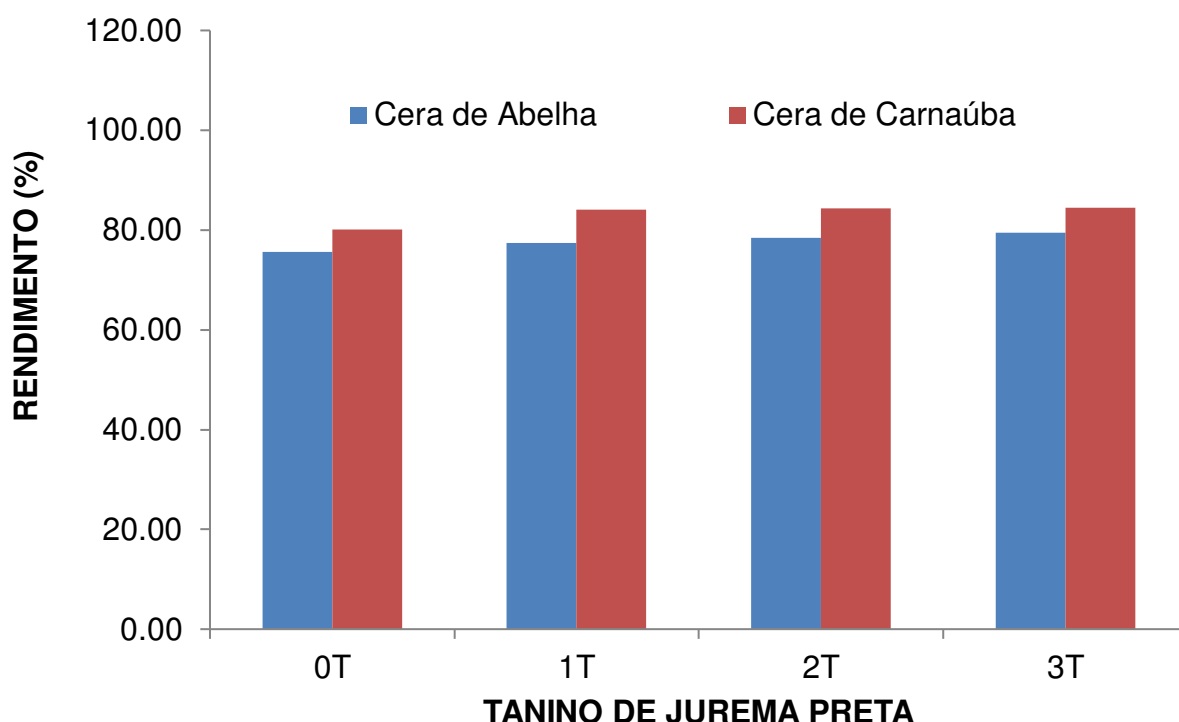


Figura 1. Rendimento de microencapsulação da lisina em matriz de cera de abelha e de carnaúba, enriquecimento com (1, 2 e 3%) de Tanino de Jurema Preta (TJP) na formulação de 2:1.

#### 3.2. Eficiência de microencapsulação

A quantificação do teor de nitrogênio da Lys e dos dois sistemas microencapsulados permitiu estimar os valores de PB e calcular a EM através do nitrogênio total presente em cada amostra, como mostra os resultados na (tabela 2).

Os resultados da análise da EM da Lys, apresentados na (tabela 2), mostram que tanto a CA quanto a CC apresentam uma eficiência de encapsulação variando de (81,22±0,85 a 85,41±1,35) e (84,52±0,24 a 87,83±5,23)

respectivamente, sendo considerável em todas as concentrações de TJP (1, 2 e 3%).

Observa-se que a EM é consistentemente alta, sendo acima de 80%, para todas as formulações. Isso indica que a técnica de microencapsulação foi eficaz, independentemente da concentração de TJP usada.

No entanto, é importante notar que a EM parece aumentar ligeiramente com o aumento da concentração de TJP, especialmente para a CA. Isso sugere que a adição de TJP pode melhorar a EM da Lys.

Tabela 2. Eficiência da microencapsulação dos materiais avaliados.

Lisina/ Formulações	N total (%)	PB (%)	Teor de lisina inserido (%)	Eficiência (%)
Lisina	12,57±0,47	78,54±2,22	100	-
CA+Lys+0TJP	3,35±0,03	20,94±0,19	33,33	81,06±0,73
CA+ Lys +1TJP	3,36±0,04	20,98±0,22	33,33	81,22±0,85
CA+ Lys +2TJP	3,49±0,08	21,81±0,47	33,33	84,44±0,47
CA+ Lys +3TJP	3,53±0,06	22,06±0,35	33,33	85,41±1,35
CC+ Lys+0TJP	3,33±0,02	20,83±0,10	33,33	80,65±0,37
CC+ Lys +1TJP	3,49±0,04	21,83±0,24	33,33	84,52±0,24
CC+ Lys +2TJP	3,52±0,17	22,02±1,05	33,33	85,25±4,06
CC+ Lys +3TJP	3,63±0,22	22,69±1,35	33,33	87,83±5,23

A EM foi de 81,06±0,73; 81,22±0,85; 84,44±0,47 e 85,41±1,35 para CA+Lys+0TJP; CA+Lys+1TJP; CA+Lys+2TJP e CA+Lys+3TJP, respectivamente, onde foi observada maior retenção de Lys na CA+Lys+3TJP.

Já para CC obtivemos EM de 80,65±0,37; 84,52±0,24; 85,25±4,06 e 87,83±5,23 correspondentes a CC+Lys+0TJP; CC+Lys+1TJP; CC+Lys+2TJP e CC+Lys+3TJP, destaque para última que obteve maior eficiência de retenção da Lys.

### 3.3. Calorimetria exploratória diferencial

As curvas de Calorimetria exploratória diferencial (CED) da CA, Lys, TJP e CA + Lys + 1, 2 e 3% de TJP encontram-se na (figura 2) a seguir.



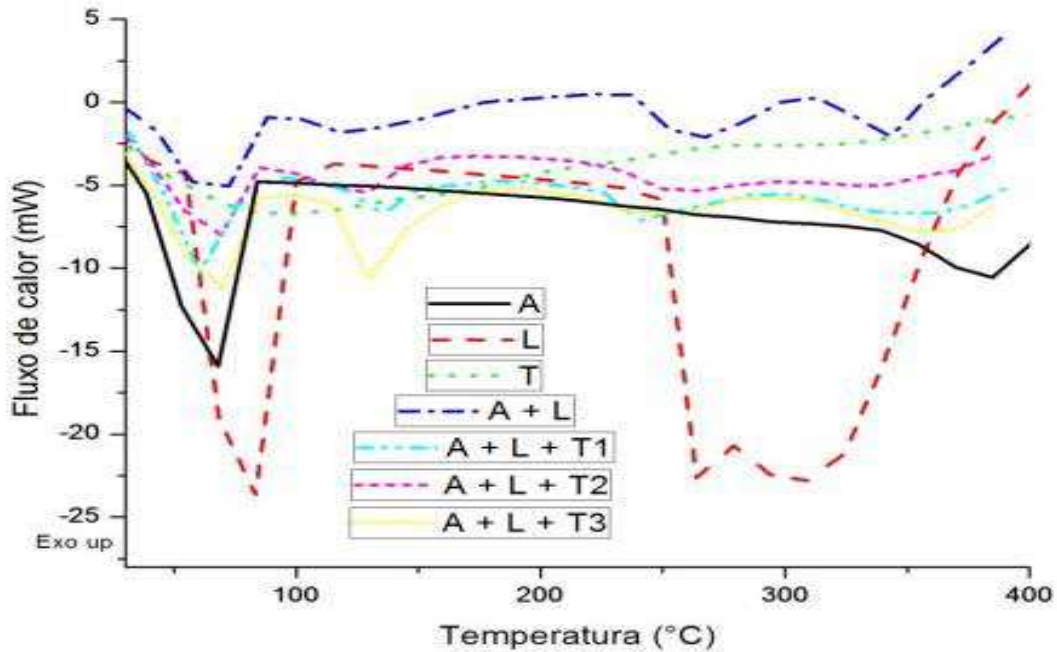


Figura 2. Curva de calorimetria exploratória diferencial (CED) da Cera de Abelha (A), Lisina (L), Extrato Tânico da Jurema Preta (T), Cera de Abelha+lisina (A+L) e Cera de Abelha+Lisina+1, 2 e 3% de Tanino (A+L+T1, T2 e T3) em função da temperatura.

Observa-se que os eventos térmicos abaixo de 100 °C correspondem à perda de umidade de cada material. A CA apresentou evento endotérmico (Evento 1) em 68 °C, relativo à sua fusão e outro evento endotérmico (Evento 2) em 385 °C, relacionado à sua degradação térmica. A Lys apresentou três eventos endotérmicos em 83, 264 e 309°C. Já o TJP apresentou evento endotérmico em 99 °C.

Quanto aos sistemas microencapsulados, observa-se que os eventos das fases isoladas (cera, lisina e TJP) se mantiveram ou sofreram alguma alteração de acordo com a presença ou ausência de TJP e com o nível crescente deste.

É possível observar que a Lys microencapsulada apresentou maior temperatura de degradação térmica (Evento 3 para a Lys e Evento 4 para os materiais microencapsulados) em relação à sua forma livre, atestando a proteção da matriz encapsulante CA.

Nos sistemas microencapsulados, o evento 2 não é proveniente de nenhuma das fases isoladas (cera, Lys e TJP), mas está presente em todos eles. O único material que apresenta evento térmico (Largo) nessa faixa é o TJP, porém não tem como associar com ele, pois esse evento apareceu também para o material que não possui inclusão de TJP.

Na tabela 3 a seguir, observa-se os principais eventos das curvas de CED da CA, Lys, TJP e CA + Lys + 1, 2 e 3% de TJP.

Tabela 3. Principais eventos das curvas de calorimetria exploratória diferencial (CED) dos diferentes material, com destacados para os pontos de mínimo e de máximo.

MATERIAL	Evento 1 (°C)	Evento 2 (°C)	Evento 3 (°C)	Evento 4 (°C)
A	68	385	-	-
L	83	264	309	-
T	99	-	-	-
A + L	72	119	268	343
A + L + T1	61	136	241	360
A + L + T2	69	129	264	340
A + L + T3	69	130	251	357

A = Cera de Abelha; L = Lisina; T = Extrato Tânico da jurema; A+L = Cera de Abelha + lisina; A+L+T1 = Cera de Abelha + Lisina + 1% de tanino; A+L+T2 = Cera de Abelha + Lisina +2% de tanino; A+L+T3 = Cera de Abelha + Lisina + 3% de tanino.

Na figura 3 encontram-se as curvas de CED da CC, Lys, TJP e sistemas microencapsulados em função da temperatura.

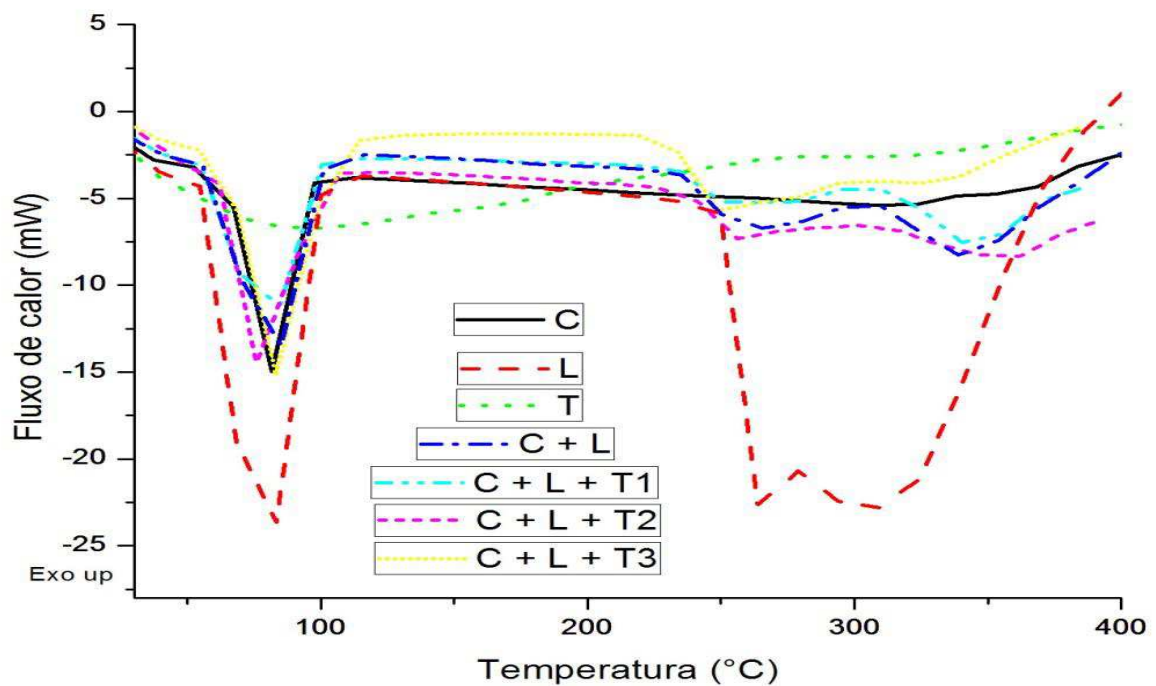


Figura 3. Curva de calorimetria exploratória diferencial (CED) da Cera de Carnáúba (C), Lisina (L), Extrato Tânico da Jurema Preta (T), Cera de Carnáúba+lisina (C+L) e Cera de Carnáúba+Lisina+1, 2 e 3% de Tanino (C+L+T1, T2 e T3) em função da temperatura.

A CC apresentou evento endotérmico em 82 °C, relacionado com seu ponto de fusão, visto que a mesma funde entre 80 e 85 °C. A Lys apresentou três eventos endotérmicos em 83, 264 e 309 °C. Já o TJP apresentou evento endotérmico em 99 °C.

Quanto aos sistemas microencapsulados, observa-se os eventos das fases isoladas (cera, Lys e TJP) se mantiveram ou sofreram alguma alteração de acordo com a presença ou ausência de TJP e com o nível crescente deste.

Observa-se também que a Lys microencapsulada apresentou maior temperatura de degradação térmica (Evento 3) em relação à sua forma livre, atestando a proteção da matriz encapsulante CC. Essa proteção frente à temperatura foi próximo para C + L e C + L + T1, apresentando maior valor para C + L + T2 e uma diminuição para C + L + T3.

Já a C + L + T2 apresentou um primeiro evento endotérmico em 76 °C, podendo ser resultado da sobreposição das temperaturas de ponto de fusão da CC e do evento apresentado pelo TJP/Lys ou mesmo ser um material com mais umidade.

Na tabela 4 a seguir, observam-se os principais eventos das curvas de CED da CC, Lys, TJP e CC + Lys + 1, 2 e 3% de TJP.

Tabela 4. Descrição dos pontos de mínimo (evento 1), intermediários (evento 2) e máximos (evento 3) das curvas de calorimetria exploratória diferencial (CED) dos diferentes material destacado na figura 4 em função da temperatura.

MATERIAL	Evento 1 (°C)	Evento 2 (°C)	Evento 3 (°C)
C	82	-	-
L	83	264	309
T	99	-	-
C + L	85	266	339
C + L + T1	84	264	340
C + L + T2	76	257	362
C + L + T3	83	250	324

C = Cera de carnaúba; L = Lisina; Tanino (T) da Jurema Preta; C+L = Cera de Carnauba associado a Lisina; C+L+T1 = Cera de Carnauba com Lisina e Tanino a 1%, C+L+T2 = Cera de carnaúba com Lisina e Tanino a 2% e C+L+T3 = Cera de carnaúba com Lisina e Tanino a 3%.

### 3.4. Atividade de água

Os dados referentes aos valores de atividade de água (aW) dos encapsulados de Lys associados aos níveis (1, 2 e 3%) de TJP são descritos na (tabela 5), onde as médias com letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre níveis de TJP e médias com letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre tipo de cera.

Observa-se que houve interação ( $p>0,05$ ) entre os níveis de TJP para a aW, com a CA + 3% TJP apresentou valor significativamente maior em comparação ao nível de 2% TJP, mas sendo próximo aos demais níveis. Para CC destaque para o nível controle 0% TJP que diferiu estatisticamente dos demais níveis. Ao avaliar os cerídeos evidencia-se que no nível controle 0% TJP a CC se sobressaiu da CA, repetindo-se de maneira inversa no nível 3% TJP onde a CA obteve elevado valor a CC. Com exceção dos níveis 1 e 2% TJP os valores obtidos são próximos.

A seguir na tabela 5, são apresentados os valores correspondentes à aW dos encapsulados CA e de CC + Lys associados aos níveis de 0, 1, 2 e 3% de TJP.

Tabela 5. Valores de atividade de água (aW) dos encapsulados ceras de abelha (CA) e de carnaúba (CC) + Lys associados aos níveis de 0, 1, 2 e 3% de tanino da Jurema Preta (TJP).

Encapsulados	Nível de tanino (TJP)			
	0	1	2	3
	Atividade de água			
CA+Lisina	0,46 ABb	0,47 ABa	0,45 Ba	0,48 Aa
CC+Lisina	0,49 Aa	0,46 Ba	0,45 Ba	0,44 Bb

Médias com letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre níveis de tanino ( $p>0,05$ ); Médias com letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre tipo de cera ( $p>0,05$ ).

### 3.5. Teor de matéria seca

Os dados referentes ao teor de matéria seca (MS) dos encapsulados de Lys associados aos níveis (1, 2 e 3%) de TJP são descritos na (tabela 6), onde as médias com letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre níveis de TJP e médias com letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre tipo de cera.

Verifica-se na tabela 6, que houve interação ( $p<0,05$ ) entre os níveis de TJP, dentro do fator CA os níveis 2 e 3% são elevados quando comparado com os demais níveis, com o nível controle 0% TJP apresentando o menor valor (93,41). Entretanto para CC os níveis 1, 2 e 3% TJP são próximos ( $p>0,05$ ) com o nível

controle 0% TJP. Quando confrontado os cerídeos verifica-se que os níveis 2 e 3% são próximo para cada cera. Já para os níveis controle 0 e 1% TJP a CC se sobressai com valores mais elevados do que a CA.

Tabela 6. Valores do teor de matéria seca (MS) dos encapsulados ceras de abelha (CA) e de carnaúba (CC) + Lys associados aos níveis de 0, 1, 2 e 3% de tanino da Jurema Preta (TJP).

Encapsulados	Nível de tanino (TJP)			
	0	1	2	3
	Teor de matéria seca (%)			
CA+Lisina	93,41Cb	95,86 Bb	97,41 Aa	97,05 Aa
CC+Lisina	94,75 Ba	97,71 Aa	97,53 Aa	97,39 Aa

Médias com letras maiúsculas diferentes na linha diferem entre níveis de tanino ( $p > 0,05$ ); Médias com letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre tipo de cera ( $p > 0,05$ ).

### 3.6. Teor de proteína bruta

Os dados referentes aos valores proteína bruta (PB) da Lys e dos encapsulados com Lys associados aos níveis (1, 2 e 3%) de TJP são descritos na (tabela 7).

Para a combinação CA+Lys, o valor da PB aumenta à medida que o nível de TJP aumenta de 0%TJP (20,94) para 3%TJP (22,00).

Para a combinação CC+Lys, o valor da PB também aumenta à medida que o nível de TJP aumenta de (20,44) 0%TJP para (23,06) 3%TJP.

Houve diferença estatística significativa entre os níveis de TJP ( $p < 0,05$ ), onde os níveis de inclusão 2 e 3%TJP são próximos e diferem dos demais para ambos cerídeos. Quando comparados os tipo de cera houve diferença ( $p > 0,05$ ) para os níveis 1, 2 e 3%TJP.

Tabela 7. Valores do teor de proteína bruta (PB) dos encapsulados ceras de abelha (CA) e de carnaúba (CC) + Lys associados aos níveis de 0, 1, 2 e 3% de tanino da Jurema Preta (TJP).

Encapsulados	Nível de tanino (TJP)			
	0	1	2	3
	Teor de proteína bruta (%)			
CA+Lisina	20,94±0,13 Ba	21,00±0,15 Bb	21,88±0,33 Ab	22,00±0,25 Ab
CC+Lisina	20,44±0,31 Ca	22,00±0,51 Ba	22,56±0,81Aa	23,06±1,00 Aa

Médias com letras maiúsculas diferem entre níveis de tanino ( $p > 0,05$ ); Médias com letras minúsculas diferem entre tipo de cera ( $p > 0,05$ ).

### 3.7. Microscopia eletrônica de varredura

Os componentes utilizados na microencapsulação foram submetidos à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As micrografias da CC, CA, Lys e o extrato do TJP encontram-se reunidas na Figura 4 abaixo. A MEV da CC fornece informações detalhadas sobre a superfície, porosidade e aparência da cera. A imagem mostra uma superfície irregular com várias protuberâncias e depressões, indicando uma textura complexa e porosa, íntegra, indicando difícil invasão do seu interior (figura 4 A). Observa-se na (figura 4 A), a superfície da CC é altamente texturizada com formas irregulares.

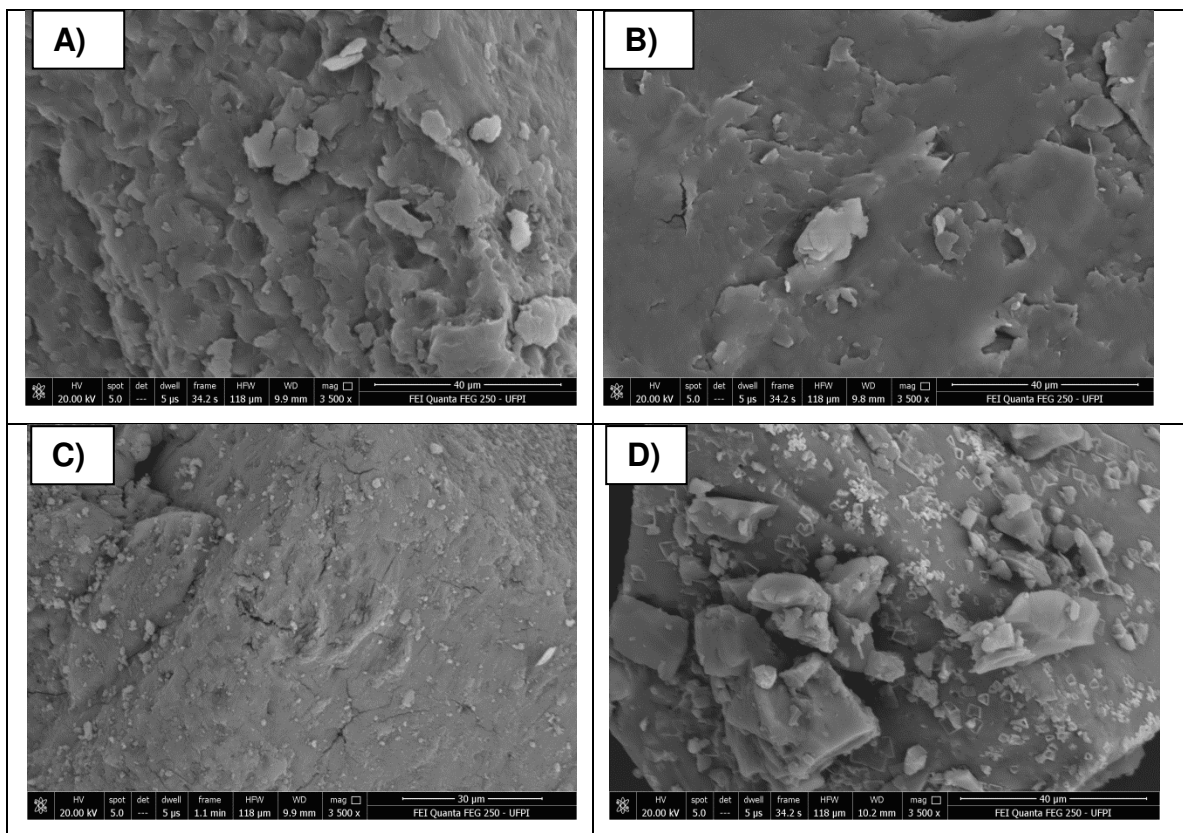


Figura 4. Micrografias eletrônicas de varredura: a) Cera de Carnaúba; b) Cera de Abelha; c) Lisina; d) Extrato Tânico da Jurema Preta.

Existem estruturas próximas a flocos ou placas espalhadas pela superfície, o que pode indicar a presença de cristais de cera. A presença de protuberâncias e depressões na superfície sugere uma certa porosidade. Isso pode ter implicações na forma como a cera interage com outros materiais ou substâncias. A aparência geral da CC na imagem é de uma superfície áspera e irregular. Isso é típico de muitos materiais naturais.

Observou-se que a CA (figura 4 B) apresentou superfície bastante irregular e áspera. Existem várias elevações e depressões, além de formações que se assemelham a fragmentos ou flocos. Alguns desses fragmentos parecem estar sobrepostos uns aos outros, o que contribui para a textura complexa. Sua porosidade é claramente visível na imagem. Há muitos poros pequenos espalhados pela superfície. Esses poros variam em tamanho e forma, o que pode indicar a complexidade da estrutura interna da CA. Sua aparência é de uma estrutura complexa e detalhada.

Os detalhes técnicos podem ser obtidos a partir dos parâmetros listados na parte inferior da imagem, como o aumento e as configurações do equipamento, a escala na parte inferior direita indica que a largura da imagem é de aproximadamente 40  $\mu\text{m}$ . Na parte inferior, há informações técnicas sobre a configuração do microscópio, incluindo ampliação (3000x), voltagem (20.00 kV), entre outros parâmetros (figura 4 B).

Na (figura 4 C) tem a MEV da Lys, verifica-se que a textura da superfície é áspera com várias elevações e depressões, com algumas áreas parecendo mais suaves. Sobre suas estruturas não há formas distintas ou reconhecíveis; tudo parece abstrato devido ao alto nível de ampliação. Na parte inferior da imagem, há detalhes técnicos, incluindo configurações e medidas relacionadas ao microscópio eletrônico usado para capturar esta imagem. A escala na parte inferior direita indica que a largura da imagem é de aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  para dar uma noção do tamanho das estruturas visíveis na imagem.

Na (figura 4 D) temos a MEV do extrato tânico da Jurema Preta, onde a imagem mostra uma superfície irregular e texturizada, estruturas cristalinas ou compostos minerais parecem estar presentes, com formas irregulares e tamanhos variados. A imagem mostra superfície áspera e irregular, com várias formas e texturas visíveis, próximo a um terreno rochoso. Há formações maiores, de forma irregular, espalhadas por toda a imagem, cercadas por estruturas granulares menores. Na parte inferior da imagem, há detalhes técnicos, incluindo configurações e medidas relacionadas ao microscópio eletrônico usado para capturar esta imagem. Os detalhes incluem HV, tamanho do ponto, tempo de permanência, tempo de quadro, distância de trabalho (WD), ampliação (mag) e barra de escala. A escala na parte inferior indica que a largura da imagem é de aproximadamente 40  $\mu\text{m}$  (micrômetros).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Rendimento de microencapsulação

Os resultados obtidos para rendimento de microencapsulação da lisina com CA ou CC associada com TJP como material de parede indicam que a técnica de emulsificação e secagem em estufa foi adequada, não havendo perdas expressivas durante o processamento dos materiais, apresentando rendimento de microencapsulação, acima de 80%, em todas as concentrações (figura 1).

Mesmo considerando os rendimentos satisfatórios é importante destacar que as perdas observadas podem está relacionada com a transferência das amostras da fase de emulsão para os recipientes de secagem.

Na secagem em estufa a uma temperatura mais elevada pode formar uma camada de crosta ao redor das partículas que pode resultar em menor transferência de massa. Por outro lado, a liofilização implica a sublimação do gelo sob baixa pressão, de modo que ajuda a remover a água ligada através do fenômeno de retirada de substância (dessorção).

Essas perdas segundo (Carvalho *et al.*, 2019) podem ser atribuídas à viscosidade intrínseca da amostra e à sua tendência à solidificação em temperatura ambiente. Aspecto que referendado por Barreto *et al.* (2015) que recomenda considerar esses fatores em qualquer processo de produção de encapsulamento.

Os resultados obtidos validam a eficácia da técnica de emulsificação para a microencapsulação dos componentes (núcleo e encapsulante) investigados neste estudo. Isso indica que a emulsificação se mostra como uma técnica adequada para a microencapsulação desses componentes específicos, corroborando a robustez e a aplicabilidade do método em questão.

Nossos resultados para a cera de abelha (CA) foram menores em comparação com os dados apresentados por Carvalho *et al.* (2019), que trabalharam com ureia microencapsulada através de emulsificação/liofilização, resultando em valores de 92,53% sem enxofre e 90,80% com enxofre para o RM. Nesse caso o maior rendimento atribuído a carvalho foi conferido ao método de secagem do material sob baixa pressão, de modo que ajuda a remover a água ligada através da dessorção.

Da Silva *et al.* (2023) ao empregar a técnica de emulsificação/liofilização para a microencapsulação de ureia enriquecida com uma fonte de enxofre, utilizando cera de carnaúba (CC) e CA, como materiais de parede obtiveram valores que



oscilaram entre 92,9% a 107%. Por outro lado, Carvalho Neto *et al.* (2019) utilizando a mesma técnica obtiveram rendimento para a CC no processo de microencapsulação da metionina, de 82,33% e 78,5% para as formulações 2:1 e 4:1 respectivamente. Embora a técnica utilizada pelos autores para encapsular metionina seja diferente, ou seja, feita pela técnica de *Fusão-emulsificação* e secagem em estufa, os rendimentos da encapsulação foram próximos.

Resultados próximos são reportados por Medeiros *et al.* (2019), que microencapsularam ureia com CC em três formulações (1:2, 1:3 e 1:4 de núcleo e encapsulante) através da técnica de emulsificação/liofilização, alcançando valores de RM de 91,6%, 88,4% e 87,8%, respectivamente. Situação próxima ocorreu com resultados de Netto *et al.* (2021), que usou o mesmo cerídeo e também aplicou a técnica de emulsificação/liofilização em duas formulações (1:2 e 1:4 de núcleo e encapsulante), obtendo valores de RM de 92,1% e 87,5%, respectivamente.

De uma forma geral os aminoácidos podem ter um impacto consistente no RM, independentemente da técnica utilizada, o que reforça a afirmação de Barreto *et al.* (2015) de que a técnica e o núcleo desempenham papéis significativos para a eficiência do processo. Todavia, quando a técnica de microencapsulação é alterada, mas a substância a ser encapsulada for um aminoácido a tendência é que os resultados sejam próximos.

É importante destacar que a associação dos cerídeos com o tanino da Jurema Preta não afetou o rendimento a eficiência da encapsulação. Neste sentido, a presença do tanino não resultou em aumento da proteção da lisina.

#### 4.2. Eficiência de microencapsulação

Os resultados obtidos indicam que os dois cerídeos tiveram eficiência de microencapsulação (EM) desejável, podendo chegar a valores maiores repetindo à mesma técnica de emulsificação, se atentando a viscosidade do material processado nas formulações. Diante desse contexto pode-se afirmar que os dois cerídeos atua como excelentes agentes para microencapsular a lisina, uma vez que reteve grande parte do conteúdo inserido durante o processo.

A EM é um aspecto crucial na análise de formulações nutricionais. Ela se refere à capacidade de um processo de microencapsulação em encapsular efetivamente um núcleo dentro de um revestimento ou cápsula. A EM também pode afetar a taxa e o grau em que o núcleo é liberado quando consumido. Isso é

importante para garantir que o nutriente encapsulado seja liberado e absorvido de maneira eficaz.

Podendo ser influenciada por vários fatores, incluindo o tipo de núcleo usado (por exemplo, diferentes aminoácidos) e a técnica de microencapsulação empregada. Além disso, essas análises permitiram determinar a porcentagem real de Lys nas formulações. Portanto, conhecer a sua porcentagem nas formulações é fundamental. Com base nessas informações, foi possível investigar a EM, um processo que pode melhorar a estabilidade e a biodisponibilidade de nutrientes como a Lys.

Os resultados que obtivemos para a EM são próximos aos relatados por Da Silva *et al.* (2023). Eles utilizaram a técnica de emulsificação/liofilização para a microencapsulação de ureia, que foi enriquecida com uma fonte de enxofre. Os materiais de parede usados foram CC e CA. Eles alcançaram altas EM, com os seguintes valores: 98,3% para CA sem enxofre, 94,5% para CC sem enxofre, 97,1% para CA com enxofre e 75,6% para CC com enxofre. Portanto, nossos resultados para a EM estão em consonância com essas descobertas.

Os resultados que obtivemos diferem dos apresentados por Carvalho *et al.*, (2019). No estudo deles, a EM do sistema que utilizou ureia microencapsulada com CA, mas sem adição de enxofre, foi de  $99,60\% \pm 3,1$ . Já o sistema que incluiu uma fonte de enxofre alcançou uma EM de  $98,51\% \pm 2,7$ . Ambos os valores são superiores aos que conseguimos em nosso estudo.

Em comparação com o estudo de Carvalho Neto *et al.* (2019), que empregou CC para microencapsular a metionina em dois sistemas (2:1 e 4:1) usando a técnica de Fusão-emulsificação, nossos resultados de EM foram inferiores. No estudo deles, ambos os sistemas alcançaram uma alta EM superior a 97,5%. Notavelmente, o sistema 2:1 atingiu uma EM de 99,65%.

Netto *et al.* (2021) em seu estudo, conseguiu resultados de EM muito próximos para as duas formulações de ureia microencapsulada em matriz lipídica de CC que ele estudou (2:1 e 4:1). Ele obteve valores de EM de 99% e 99,5%, respectivamente, usando a técnica de emulsificação/liofilização. Esses resultados são superiores aos que conseguimos em nosso estudo.

A EM é um parâmetro importante na avaliação da qualidade e eficácia de formulações nutricionais. Através de análises cuidadosas, é possível otimizar este processo para melhorar a estabilidade, proteção e liberação de nutrientes.

#### 4.3. Calorimetria exploratória diferencial

A técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial CED permite determinar a temperatura de fusão (Eventos endotérmicos), fator de grande influência em sistema de liberação controlada em que o encapsulante é um cerídeo, fornece informações relacionadas à sua estabilidade e das adequadas condições de armazenamento do material, assim como o grau de pureza dos materiais utilizados nas formulações.

Essa diminuição para o maior nível de inclusão de TJP se explica porque quanto mais material inserido na micropartícula, maior a possibilidade de mais núcleo (lisina) próximo à superfície, ou seja, mais suscetível a uma degradação ou liberação mais rápida (Netto *et al.*, 2021).

A técnica CED não depende de mudanças na massa, mas sim na energia presente nos materiais, que pode ser modificada através de processos químicos, tais como oxidação (Lima *et al.*, 2023), redução (Medeiros *et al.*, 2019). A CED permite a identificação da temperatura de fusão, sendo importante em sistema de liberação regulada, principalmente quando a substância encapsulante é um cerídeo, pois é o ponto em que ele passa do estado sólido para o líquido, liberando o material encapsulado, também avalia a estabilidade térmica e oxidativa do cerídeo, que pode influenciar na sua degradação e na eficácia e estimar o grau de cristalinidade do cerídeo, que pode afetar as propriedades mecânicas, ópticas e de permeabilidade do material.

Em geral, embora a CC apresente maior estabilidade térmica, maior ponto de fusão e maior dureza que a CA, ambas oferece proteção térmica à Lys em comparação à mesma livre, essa proteção pode ser reproduzida no ambiente ruminal (Lima *et al.*, 2023), possibilitando a liberação gradual (Medeiros *et al.*, 2019) e otimizando a utilização deste ingrediente na dieta de ruminantes.

A CC apresentou ponto de fusão que foi de 82 °C próximo aos 83 e 84 °C encontrados por Milanovic *et al.* (2010) e aos 80 °C obtidos por Leite *et al.*, (2011). Já Lacerda *et al.*, (2011) obteve ponto de fusão de 83,9 °C. Já para Rossan (2011) a CC apresenta ponto de fusão entre 83 a 86 °C.

O ponto de fusão da CA foi de 68 °C, corroborando aos resultados obtidos por (Syečnjak *et al.*, 2019) que obtiveram 64 °C e por Carvalho *et al.*, 2019) que utilizaram metodologia próxima observaram valor de 68 °C.

As representações gráficas da CED (ilustradas nas figuras 2 e 3) indicam que a temperatura de fusão dos cerídeos em sistemas de microencapsulação

permaneceu constante em comparação com as ceras não encapsuladas. Isso atesta a compatibilidade química entre a Lys e os materiais de encapsulamento, assegurando proteção sem interações que, se ocorressem, poderiam afetar a liberação da Lys.

A manutenção do ponto de fusão característico das ceras também indica que é seguro armazenar as micropartículas ou utilizá-las em processamentos que envolvam calor até cerca de 68 °C para os sistemas com CA e 82 °C para os sistemas com CC.

#### 4.4. Atividade de água

Os dados de atividade de água (aW) mostraram que todas as formulações indicam um sistema microbiologicamente seguro e estável, sem perigo de degradação. Os valores obtidos neste trabalho variou de 0,48 no tratamento CA+Lys+3T e 0,44 no tratamento CC+Lys+3T, estando em consonância com a recomendação de Gock *et al.* (2003), que estabeleceram o valor mínimo de 0,7 para permitir a germinação de microrganismos.

Variação no conteúdo de água dos alimentos vai determinar uma maior ou menor aW nos alimentos, neste sentido (Medeiros *et al.*, 2019) destacam uma possível influencia desta variável no controle da taxa de degradação por microrganismos, bem como reações enzimáticas e químicas que ocorrem durante o armazenamento (Fellows, 2006).

Portanto, estes resultados confirmam que os sistemas microencapsulados de lisina em matriz de CC+Lys associado ao tanino da Jurema Preta exibiram resultados satisfatórios, indicando uma possível estabilidade microbiológica.

Os dados de atividade de água (aW) mostraram que todas as formulações indicam um sistema microbiologicamente seguro e estável, sem perigo de degradação. Isso está em consonância com Gock *et al.* (2003), que estabeleceram o valor mínimo de aW para a germinação de microrganismos como 0,7.

Portanto, verificou-se que os sistemas microencapsulados exibiram resultados satisfatórios, demonstrando estabilidade microbiológica. O conteúdo de água é crucial na fabricação de alimentos, pois influencia diretamente o controle da taxa de degradação por microrganismos, bem como reações enzimáticas e químicas que ocorrem durante o armazenamento (Fellows, 2006).

#### 4.5. Teor de proteína bruta

As análises de nitrogênio possibilitaram a estimativa do conteúdo equivalente de proteína bruta (PB). Aspecto importante, pois o teor de PB é um indicador importante da qualidade nutricional de qualquer alimento a ser utilizado pelos animais.

Esses resultados podem ter implicações importantes para a nutrição animal. A Jurema Preta é uma planta conhecida por seu alto teor de taninos (Pereira Filho *et al.*, 2005) que podem ter efeitos antinutricionais. No entanto, este estudo sugere que a adição de TJP pode realmente aumentar o conteúdo de PB, possivelmente através de mecanismos como a proteção das proteínas contra a degradação no rúmen, conforme descrito por (Aguiar *et al.*, 2023) quando avaliaram digestibilidade, equilíbrio de nitrogênio, água e energia em ovinos alimentados por feno de Jurema Preta e feno de capim buffel.

A diferença nos resultados entre a CA e CC sugere que o tipo de cera usada para encapsular a Lys também pode afetar o conteúdo de PB. Isso abre novas possibilidades para a otimização da nutrição animal através da manipulação do tipo de cera e do nível de TJP. No entanto, mais pesquisas são necessárias para confirmar esses resultados e explorar seus mecanismos subjacentes.

#### 4.6. Microscopia eletrônica de varredura

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) emprega feixes de elétrons para alcançar uma resolução superior das amostras, ao contrário dos microscópios tradicionais que operam com luz visível. Esses elétrons, de comprimento de onda curto e alta voltagem, quando direcionados, geram imagens de alta definição, exibindo a profundidade da superfície do material analisado, bem como características estruturais e identificação de elementos químicos (Dedavid; Machado; Gomes, 2007).

A CC apresenta superfície irregular com várias protuberâncias e depressões, indicando uma textura complexa e porosa, íntegra, indicando difícil invasão do seu interior, informações que corroboram com Carvalho Netto *et al.* (2019), que a MEV da CC apresentou superfície lisa, com pequenas elevações e algumas rugas, entretanto selada, sem porosidades, íntegra, mostrando-se uma agente de difícil invasão do seu interior.

Já para CA observou-se aparência superfície bastante irregular, áspera e existem várias elevações e depressões, além de formações que se assemelham a fragmentos ou flocos. Diferente de Carvalho *et al.* (2019) observou-se na CA superfície pouco irregular, íntegra, selada, sem porosidade e lisa.

## **5. CONCLUSÃO**

A utilização das ceras de abelha e de carnaúba como matriz lipídica associada com o tanino da Jurema Preta como agentes encapsulantes apresenta rendimentos e eficiência na microencapsulação da lisina, e com elevada estabilidade térmica.

As formulações com 3% de tanino da Jurema Preta, independente do cerídeo utilizado, resultam em maior quantidade de matéria seca e de nitrogênio retido na microcapsula de lisina, recomenda-se o sistema microencapsulado: CC+Lys+3TJP.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, F. S.; BEZERRA, L. R.; CORDÃO, M. A.; CAVALCANTE, I. T. R.; OLIVEIRA, J. P. F.; NASCIMENTO, R. R.; SOUSA, B. B.; OLIVEIRA, R. L.; PEREIRA, E. S.; PEREIRA FILHO, J. M. Effects of Increasing Levels of Total Tannins on Intake, Digestibility, and Balance of Nitrogen, Water, and Energy in Hair Lambs. **Animals**. v. 13, p. 2497, 2023.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry: Washington. **Métodos Oficiais de Análise**. 19th edition. DC, USA. 2012.
- BARRETO, A. R.; MÉRIDA, L. G. R.; ETCHEPARE, M. A.; JACOB-LOPES, E.; MENEZES, C. R. Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos. **Ciência e Natura**. v. 37, p. 164, 2015.
- CARVALHO, A. B.; SILVA, A. L.; SILVA, A. M. A.; NETTO, A. J.; MEDEIROS, T. T. B.; ARAUJO FILHO, J. M.; AGOSTINI, D. L. S.; OLIVEIRA, D. L. V.; 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 Ruminants**. v. 179, p. 56–63, 2019.
- CARVALHO NETO, J. P.; BEZERRA, L. R.; SILVA, A. L.; MOURA, J. F. P.; PEREIRA FILHO, J. M.; SILVA FILHO, E. C.; GUEDES, A. F.; ARAÚJO, M. J.; EDVAN, R. L.; OLIVEIRA, R. L. Microencapsulated methionine with carnauba wax matrix (*Copernicia prunifera*) to protect against degradation in the rumen. **Livestock Science**. v. 228, p. 53-60, 2019.
- CHAVES, I. L. S. Extração e caracterização de taninos de cascas de eucalipto cultivado em ambientes contrastantes. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro. 59 f. 2018.
- CORDÃO, M. A.; PEREIRA FILHO, J. M.; BAKKE, O. A.; BAKKE, I. A. Taninos e seus efeitos na alimentação animal – Revisão bibliográfica. **Pubvet**. v. 4, n. 32, ed. 137, Art. 925, 2010.
- COSTA, E. I. S.; RIBEIRO, C. V. M.; SILVA, T. M.; BATISTA, A. S. M.; VIEIRA, J. F.; BARBOSA, A. M.; SILVA JÚNIOR, J. M.; BEZERRA, L.R.; PEREIRA, E. S.; OLIVEIRA, R. L. Effect of dietary condensed tannins inclusion from *Acacia mearnsii* extract on the growth performance, carcass traits and meat quality of lambs. **Livestock Science**. v. 253, p. 104717, 2021.
- COSTA, M.; ALVES, S. P.; CAPPUCCI, A.; COOK, S. R.; DUARTE, A.; CALDEIRA, R. M.; McALLISTER, T. A.; BESSA, R. J. Efeitos dos taninos condensados e hidrolisáveis no metabolismo ruminal com ênfase na biohidrogenação de ácidos graxos insaturados. **Revista de Agricultura Química Alimentar**. v. 66, e. 13, p. 3367-3377, 2018.



- DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostras**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.
- FEITOSA, J. P. M. Avaliação do uso de diferentes tipos de cera de carnaúba como aditivo para misturas morna. **Tese** (Doutorado em química)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 107 f. 2015.
- FELLOWS P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e prática**. Tradução: Florencia Cladera Oliveira et al – 2º edição – Porto Alegre: Artmed, 2006.
- FERNANDES; J. B.; PEREIRA FILHO, J. M.; MENEZES, D. R.; CALDAS, A. C. A.; CAVALCANTE, I. T. R.; OLIVEIRA, J. P. F.; OLIVEIRA, R. L.; SILVA JÚNIOR, J. M.; CEZAR, M. F.; BEZERRA, L. R. Quality of lamb carcass and meat receiving natural tannins from Mimosa tenuiflora hay. **Research on Small Ruminants**. v. 198, p. 106362, 2021.
- GOCK, M. A.; HOCKING, A. D.; PITT, J. I.; POULOS, P. G. Influence of temperature, water activity and pH growth of some xerophilic fungi. **Jornal Internacional de Microbiologia Alimentar**. v. 81, ed. 1, p. 11–20, 2003.
- GONZAGA NETO, S.; BATISTA, A. M. V.; CARVALHO, F. F. R.; MARQUES, C. A. T.; SANTOS, G. R. A. Efeito da adição de feno de catingueira (*Caesalpinia Bracteosa*) no balanço aparente de nitrogênio e energia em ovinos morada nova. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 33, ed. 5, p. 1325-1331, 2004.
- HOLLER, J. F.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6ª Ed., Editora bookman. Porto Alegre, RS, 2009.
- LACERDA, S. P; CERIZE, N. N. P; RÉ, M. I. Preparação e caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados em cera de carnaúba contendo benzofenona-3. **Jornal Internacional de Ciência Cosmética**. v. 33, p. 312–321, 2011.
- LEITE, L. F. M.; FILHO, L. R. S.; ASSUMPÇÃO, D. F.; NASCIMENTO, L. A. H.; MARTINS, A. T.; CRAVO, M. C. C. Composição e processo de preparação de ligante asfáltico modificado por cera de origem natural. **Brasil**. PI0901484–5 A2. 2011.
- LIMA, J. A. M.; BEZERRA, L. R.; FEITOSA, T. J. O.; OLIVEIRA, J.; OLIVEIRA, D. L. V.; MAZZETTO, S. E.; CAVALCANTE, M. T.; PEREIRA FILHO, J. M.; OLIVEIRA, R. L.; OLIVEIRA, J. P. F.; SILVA, A. L. Production, characterization, and dietary supplementation effect of rumen-protected fat on ruminal function and blood parameters of sheep. **Tropical Animal Health and Production**. v. 55, ed. 3, p. 142, 2023.
- MEDEIROS, T. T. B.; SILVA, A. M. A.; SILVA, A. L.; BEZERRA, L. R.; AGOSTINI, D. L. S.; OLIVEIRA, D. L. V.; MAZZETTO, S. E.; KOTZEBUE, L. R. V.; OLIVEIRA, J. R.; SOUTO, G. S. B.; CARVALHO, A. B.; NETTO, A. J.; OLIVEIRA, R. L.

- Carnauba wax as wall material for urea microencapsulation. **Agricultural Food Science Magazine**. v. 99. p. 1078–1087. 2019.
- MILANOVIC, J.; MANOJLOVIC, V.; LEVIC, S.; RAJIC, N.; NEDOVIC, V.; BUGARSKI, B. Microencapsulation of flavors in carnauba wax. **Sensors**. v. 10. p. 901-912. 2010.
- MOLINO, S.; CASANOVA, N. A.; RUFÍAN HENARES, J. Á.; FERNANDEZ MIYAKAWA, M. E. Natural tannin wood extracts as a potential food ingredient in the food industry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 68, ed. 10, p. 2836–2848, 2019.
- MOLINO, S.; FERNÁNDEZ-MIYAKAWA, M.; GIOVANDO, S.; RUFÍAN-HENARES, J. Á. Study of antioxidant capacity and metabolization of quebracho and chestnut tannins through in vitro gastrointestinal digestion-fermentation. **Journal of Functional Foods**. v. 49, p. 188-195, 2018.
- NASCIMENTO, T. V. C.; OLIVEIRA, R. L.; MENEZES, D. R.; LUCENA, A. R. F.; QUEIROZ, M. A. Á.; LIMA, A. G. V. O.; RIBEIRO, R. D. X.; BEZERRA, L. R. Effects of condensed tannin-amended cassava silage blend diets on feeding behavior, digestibility, nitrogen balance, milk yield and milk composition in dairy goats. **Animal**. v. 15, ed. 1, p. 100015, 2021.
- NETTO, A. J.; SILVA, A. M. A.; BEZERRA, L. R.; CARVALHO, A. B.; AGOSTINI, D. L. S.; OLIVEIRA, D. L. V.; MAZZETTO, S. E.; KOTZEBUE, L. R. V.; OLIVEIRA, J. R.; OLIVEIRA, R. L.; PEREIRA FILHO, J. M.; SILVA, A. L. Lipid microspheres containing urea for slow release of non-protein N in ruminant diets. **Animal Production Science**. v. 62, ed. 2, p. 191-200, 2021.
- PEREIRA FILHO, J. M.; VIEIRA, E. L.; KAMALAK, A.; SILVA, A. M. A.; CÉZAR, M. F.; BEELEN, P. M. G. Correlação entre o teor de tanino e a degradabilidade ruminal da matéria seca e proteína bruta do feno de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* Wild) tratada com hidróxido de sódio. **Livestock Research for Rural Development**. v. 17, n. 8, 2005.
- PIMENTEL, P. R. S.; PELLEGRINI, C. B.; LANNA, D. P. D.; BRANT, L. M. S.; RIBEIRO, C. V. D. M.; SILVA, T. M.; BARBOSA, A. M.; DA SILVA JÚNIOR, J. M.; BEZERRA, L. R.; OLIVEIRA, R. L. Effects of *Acacia mearnsii* extract as a source of condensed tannin on animal performance, carcass yield and meat quality in goats. **Animal Feed Science and Technology**. v. 271, p. 114733, 2021.
- RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Uma visão geral do encapsulamento de compostos ativos utilizados em produtos alimentícios por tecnologia de secagem. **Biociência Alimentar**. v. 13, p. 76-83, 2016.
- ROSSAN, M. A. Preparação e Caracterização de Micro e Nanopartículas Lipídicas Sólidas para Aplicação em Cosméticos. Dissertação (**Mestrado**)- Faculdade de Engenharia Química - UNICAMP, Campinas. 215 p. 2011.

- SCHORB, M.; HABERBOSCH, I.; HAGEN, W. J.; SCHWAB, Y.; MASTRONARDE, D. N.. Software tools for automated transmission electron microscopy. **Nature's Methods**. v. 16, ed. 6, p. 471 – 477, 2019.
- SILVA, A. C. C.; BEZERRA, L. R.; LIMA, J. A. M.; OLIVEIRA, J. R.; OLIVEIRA, D. L. V.; MAZZETTO, S. E.; CAVALCANTI, M. T.; PEREIRA FILHO, J. M.; OLIVEIRA, J. P. F. DE; SILVA, A. L. Lipid microspheres of different waxes containing urea enriched with a sulfur source for slow release in the rumen. **Small Ruminant Research**. v. 228, 2023.
- SOARES, S.; SILVA, M. S.; GARCÍA-ESTEVEZ, I.; GROBMANN, P.; BRÁS, N.; BRANDÃO, E.; MEYERHOF, W. Human bitter taste receptors are activated by different classes of polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 66, ed. 33, p. 8814-8823, 2018.
- SOUZA, C., FREITAS, L. A. P., E MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Formulação tópica contendo nanopartículas à base de cera de abelha com função de barreira cutânea melhorada in vivo. **Tecnologia de Ciência Farmacêutica AAPS**. v. 18, n. 7, p. 2505–2516, 2017.
- STIEVEN, I. C. B.; ROSSI JUNIOR, P.; FERNANDES, S. R.; ZANETTI, G. F.; SANTANA, M. H. A. Exigência e absorção de aminoácidos em bovinos. **PUBVET**. Londrina, v. 5, n. 7, Ed. 154, p. 1041, 2011.
- SVEČNJAK, L.; CHESSON, L. A.; GALLINA, A.; MAIA, M.; MARTINELLO, M.; MUTINELLI, F.; MUZ, M. N.; NUNES, F. M.; SAUCY, F.; TIPPLE, B. J.; WALLNER, K.; WAŚ, E.; WATERS, T. A. Métodos padrão para pesquisa de cera de abelha *Apis mellifera*. **Jornal de Pesquisa Apícola**. v. 58, ed. 2, p. 626-627, 2019.
- VANISKI, R.; CORTI, D.; DRUNKLER, D. A. Técnicas e Materiais Empregados na Microencapsulação de Probióticos. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**. v. 8, n. 1, p. 156, 2017.

## CAPÍTULO II

---

**Cinética de degradabilidade *in vitro*, *in situ* e parâmetros ruminais da lisina microencapsulada em diferentes cerídeos enriquecida com tanino da *Mimosa tenuiflora***

## Resumo

As proteínas microbianas, dependendo do nível de produção animal, nem sempre atende às exigências de proteína, especialmente de aminoácidos essenciais aos animais. Objetivou-se avaliar a lisina (Lys) microencapsulada com cera de abelha (CA) e carnaúba (CC) e enriquecida com (1, 2 e 3%) de tanino de Jurema Preta (TJP), em relação à cinética de degradação *in vitro*, *in situ*, pH e temperatura ruminal. A avaliação *in vitro* foi realizada na Daisy<sup>II</sup> Ankom, os sistemas microencapsulados foram submetidos a análises de liberação *in vitro* da matéria seca (MS) e da proteína bruta (PB). Os tempos de incubação utilizados foram de (0, 30, 60, 120, 360, 720, 1440 e 2880 min). A avaliação *in situ* utilizou-se um ovino, macho, fistulado no rúmen, peso médio de 40 kg, com a degradação ruminal avaliada em parcela subdividida, com os tratamentos em fatorial 2 x 4 (tipo de cera e nível de tanino), replicado em quatro períodos no mesmo animal. Não houve interação entre cera e nível de tanino ( $P > 0,05$ ) para degradação e retenção da MS. Houve diferença estatística na retenção da MS entre CA e CC em vários tempos de incubação (15; 1444 e 2880 min). O pH e temperatura ruminal se mantêm relativamente constante ao longo dos períodos de incubação. O encapsulamento da lisina em matriz lipídica de CA e de CC, associada ao TJP resulta em aumento da MS e do nitrogênio não degradado, tanto na avaliação *in vitro* (Daisy) e *in situ* (animal fistulado), e sem comprometer o pH e a temperatura ruminal. A CC foi mais eficiente do que a CA na proteção da PB contra a degradação ruminal, e que o tempo de incubação *in situ* influenciou a retenção e degradação da PB dos encapsulados, independente dos níveis de TJP. Sendo assim, recomenda-se o sistema microencapsulado: CC+Lys+3TJP.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos; degradabilidade ruminal; pH ruminal; proteína protegida; temperatura ruminal;

## Abstract

Microbial proteins, depending on the level of animal production, do not always meet the protein requirements, especially essential amino acids for animals. The objective of this study was to evaluate lysine (Lys) microencapsulated with beeswax (BW) and carnauba (CW) and enriched with (1, 2 and 3%) Jurema Preta tannin (TJP), in relation to *in vitro* degradation kinetics, *in situ*, pH and rumen temperature. The *in vitro* evaluation was carried out at Daisy<sup>II</sup> Ankom, the microencapsulated systems were subjected to *in vitro* release analyzes of dry matter (DM) and crude protein (CP). The incubation times used were (0, 30, 60, 120, 360, 720, 1440 and 2880 min). The *in situ* evaluation used a male sheep, fistulated in the rumen, average weight of 40 kg, with ruminal degradation evaluated in a subdivided plot, with treatments in a 2 x 4 factorial (type of wax and tannin level), replicated in four periods in the same animal. There was no interaction between wax and tannin level ( $P>0.05$ ) for DM degradation and retention. There was a statistical difference in DM retention between BW and CW at various incubation times (15; 1444 and 2880 min). Ruminal pH and temperature remain relatively constant throughout the incubation periods. The encapsulation of lysine in BW and CW lipid matrix, associated with TJP results in an increase in DM and undegraded nitrogen, both *in vitro* (Daisy) and *in situ* (fistulated animal) evaluation, and without compromising pH and rumen temperature. CW was more efficient than BW in protecting CP against ruminal degradation, and the *in situ* incubation time influenced the retention and degradation of CP in encapsulated products, regardless of TJP levels. Therefore, the microencapsulated system is recommended: CC+Lys+3TJP.

**Keywords:** phenolic compounds; rumen degradability; ruminal pH; protected protein; rumen temperature;

## 1. INTRODUÇÃO

A proteína microbiana é um componente essencial na nutrição animal e tem origem nos microrganismos presentes no rúmen. Nem todos os aminoácidos presentes nas proteínas microbianas conseguem suprir as necessidades desses animais, especialmente em situações de alta demanda, como lactação, crescimento, gestação e terminação de animais de corte com alto padrão racial. Nestas circunstâncias, é preciso adicionar aminoácidos extras na dieta, que não sejam degradados no rúmen e possam ser absorvidos no intestino delgado. Assim, todos os aminoácidos da dieta não atingidos pelos microrganismos do rúmen são conhecidos como aminoácido / proteína *by pass*.

NRC (2001) menciona vinte aminoácidos como fundamentais para a composição das proteínas, e ressalta que dez são vitais para os ruminantes. Segundo Stieven *et al.* (2011), os aminoácidos essenciais para os ruminantes são histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, arginina, fenilalanina, triptofano, treonina e valina.

A fim de atestar esta proteção e proporcionar a proteína de passagem, sistemas *in vitro* devem ser capazes de representar o processo de digestão que ocorre no rúmen para estimar a quantidade e a taxa de degradação (Berchielli *et al.*, 2006). Estes sistemas podem ser usados para estudar processos individuais fornecendo informações sobre sua natureza e sensibilidade a vários fatores (López, 2005).

Análise *in vitro* no equipamento DAISY<sup>II</sup> simula a fermentação ruminal, tendo como objetivo de melhorar a eficiência laboratorial da técnica *in vitro* (Alcade *et al.*, 2001). Este fermentador possui quatro frascos de digestão independentes e mantém o meio de fermentação em agitação contínua a uma temperatura específica de 39,5 °C. Entre as principais vantagens dos métodos de digestibilidade *in vitro*, destacam-se o custo reduzido, a rapidez na obtenção de resultados, o controle ambiental satisfatório, além da possibilidade de trabalhar com um grande número de tratamentos e pequenas quantidades de amostra (Araújo, 2010; Tassone *et al.*, 2019).

Outro processo padrão para medir a degradabilidade ruminal bastante estudado é o método *in situ*, serve para analisar a digestão microbiana de nutrientes no rúmen de ruminantes. Trata-se fundamentalmente de um procedimento que utiliza animais com uma fístula ruminal instalada. Por meio dessa fístula, amostras

de nutrientes a serem testados, contidas em bolsas permeáveis feitas de material sintético, são imersas no conteúdo ruminal por vários intervalos de incubação (Wood e Badve, 2001; Lima *et al.*, 2023).

Para (Tomich e Sampaio, 2004) essa avaliação pode ser feita *in situ* com animais fistulados, inclusive com a utilização de apenas um animal, desde que atenda o mesmo regime alimentar utilizado durante todo o experimento, a digestão é menos vulnerável ao tempo e aos efeitos ambientais e o número de sacos incubados é limitado.

Entre os métodos predominantes para as taxas de degradação ruminal dos alimentos, a incubação *in vitro* e em *in situ* são recursos benéficos que podem ser empregado para avaliar a qualidade dos alimentos, além de fornecer dados sobre a cinética de liberação do nitrogênio que ocorre no rúmen. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a lisina microencapsulada em matriz lipídica de cera de abelha e de carnaúba em relação à cinética de degradação *in vitro*, *in situ*, Ph e temperatura ruminal.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Local do experimento

O experimento *in vitro* foi conduzido no laboratório de Nutrição Animal (LANA), do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

O experimento *in situ* foi realizado no setor de caprinos e ovinos da fazenda experimental Núcleo de Pesquisas para o Desenvolvimento do Semiárido (NUPEÁRIDO) do CSTR da UFCG, no município de Patos, Paraíba, Brasil, geograficamente localizado no Semiárido paraibano, nas coordenadas Latitude S 07° 04' 49.68", longitude W 037° 16' 22.85" e altitude de 264, com média de 29 °C de temperatura e de 50,5% de umidade relativa do ar. A precipitação pluviométrica gira em torno de 500 mm.

O experimento desenvolveu-se após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentos com Animais (CEUA), Protocolo CEUA/CSTR 38/202 e 39/2022, para CA e CC respectivamente, da UFCG.

### 2.2. Degradabilidade *in vitro* (Daisy<sup>II</sup> Ankom)

Para avaliação da degradabilidade *in vitro* foi utilizado o método conhecido como fermentador ruminal Daisy<sup>II</sup> (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY), modificada.

Amostras da lisina (Lys) e dos encapsulados com os cerídeos associada às diferentes níveis de extrato tânico foram submetidas a análises de liberação *in vitro* da matéria seca (MS) e da proteína bruta (PB), utilizando a técnica descrita por (ANKOM Technology, 2005), modificado. O líquido ruminal utilizado foi colhido em um abatedouro no município de Patos, Paraíba, em seguida submetido à filtração do inoculo, em seguida o material foi armazenado em recipiente térmico e levado ao LANA, 300 mL do líquido ruminal foram transferidos para cada uma das jarras do fermentador ruminal Daisy<sup>II</sup> ANKOM. Em seguida, foram adicionados os ingredientes da solução tampão conforme descrito na tabela 1. O pH foi mantido em 6,8 para incubação dos sacos. Foram utilizados sacos de tecido não tecido (TNT) de 5 cm × 5 cm de (largura e de comprimento), com porosidade de 50 µm, que foram selados com aquecedor.

Cada jarra possuía tampa plástica com válvula unidirecional para evita o acúmulo de gases de fermentação. Os sacos foram pesados e em seguida foi

colocado 2,0 g das formulações (CA+Lys; CA+Lys+1TJP; CA+Lys+2TJP; CA+Lys+3TJP e CC+Lys; CC+Lys+1TJP; CC+Lys+2TJP; CC+Lys+3TJP). Os tempos de incubação utilizados foram de 0, 30, 60, 120, 180, 1440 e 2880 min, contabilizando 25 sacos para cada jarra, que foram mantidas na incubadora giratória (Daisy<sup>II</sup> ANKOM) a 39 °C, com rotação contínua para facilitar a imersão efetiva dos sacos no na porção líquida da jarra. Para retirar os sacos nos tempos iniciais acrescentou-se gás carbônico (CO<sub>2</sub>) para permanência da vida no inoculo ruminal. Após a incubação, os sacos foram lavados em água fria e secos em estufa em temperatura de 55 °C por 72 h. Na (tabela 1) são apresentados os componentes colocados em cada jarra da Daisy<sup>II</sup> ANKOM para incubação dos sacos.

Tabela 1. Ingredientes e respectivas quantidades utilizadas em cada jarra nas incubações *in vitro* Daisy<sup>II</sup> ANKOM

Ingrediente	Quantidade
Bicarbonato de Sódio	15,200 g
Fosfato de Sódio	5,8 g
Cloreto de Potássio	0,88 g
Cloreto de Sódio	0,73 g
Sulfato de Magnésio	0,190 g
Cloreto de Cálcio	0,080 g
Ureia	26 mL
Glicose	26 mL
Água destilada	1,540 L
Líquido ruminal	300 mL

### 2.3. Ensaio de degradabilidade ruminal *in situ*

O ensaio de degradabilidade *in situ* foi realizado em um ovino fistulado no rúmen, pesando cerca de 40 kg de peso vivo. O período experimental foi de 22 dias, sendo 10 dias para adaptação às instalações e as dietas, 12 dias para coleta de dados, replicado em quatro períodos no mesmo animal seguindo metodologia adaptada de (Tomich e Sampaio, 2004).

Tabela 2. Composição bromatológica da dieta do ovino fistulado

Composição (MS %)	
PB	13,23
CNF	37,64
FDN	51,32
EE	2,38
NDT	70,0
MS	89,8

PB: proteína bruta; CNF: carboidratos não fibrosos; FDN: fibra em detergente neutro; EE: extrato etéreo; NDT: nutrientes digestíveis totais; MS: matéria seca;

A dieta foi fornecida no turno da manhã antes das coletas, às 8 h e às 15h.

A dieta foi composta por fenos de capim Buffel (*Cenchrus ciliaris*) e Tifton 85 (*Cynodon spp.*) e o concentrado à base de milho, farelo de soja, sal mineral e o material encapsulado. Durante o período de adaptação a dieta, o volumoso foi fornecido *ad libitum* e o concentrado ofertado de forma gradual. As dietas foram formuladas com proporção volumoso:concentrado 60:40 para manutenção, de acordo com a NRC (2007).

O teste *in situ* foi conduzido em sacos de TNT com dimensões de (5 × 5 cm), fechados a quente em máquina seladora. Cada saco com aproximadamente 3,0 g de amostra contendo material microencapsulado (CA e CC com 0, 1, 2 e 3% TJP) seguindo metodologia adaptada de (Tomich e Sampaio, 2004).

Os sacos foram incubados de forma crescente (tempos de 0, 30, 60, 120, 180, 1440 e 2880 min) e por etapas, de modo a ser removido o mesmo tratamento de cada cerídeo, um por vez a fim de reduzir interferência durante a manipulação no ambiente ruminal. A incubação foi executada para os oito tratamentos (CA+Lys; CA+Lys+1TJP; CA+Lys+2TJP; CA+Lys+3TJP; CC+Lys; CC+Lys+1TJP; CC+Lys+2TJP; CC+Lys+3TJP) em triplicada, totalizando 192 sacos. Após a retirada, os sacos 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 colocados em estufa com ventilação forçada a 55 °C, durante 72 h e em seguida pesados em balança analítica, seguindo metodologia adaptada de (Tomich e Sampaio, 2004).

#### 2.4. Avaliação do nitrogênio do microencapsulado antes e após a cinética de degradabilidade (*in vitro* e *in situ*)

O perfil de nitrogênio foi avaliado utilizando a metodologia de Kjeldahl, descrito por AOAC (2012). Essa análise tem por finalidade verificar a quantidade de nitrogênio da lisina livre e dos sistemas microencapsulados, com isso analisar também a taxa de liberação *in vitro* e *in situ*.

Os dados obtidos foram analisados para quantificar o nitrogênio da amostra a partir da fórmula:  $\%N = V \times N \times F \times 0,014 \times 100 / m$ ; Em que: V= volume do ácido clorídrico gasto na titulação, em mL; N = normalidade do ácido clorídrico, 0,02 N; F = fator de correção do ácido clorídrico = 1,00; 0,014 = miliequivalente-grama do nitrogênio; m = peso da amostra, em g.

#### 2.5. Parâmetros ruminais

O líquido ruminal foi coletado manualmente em diferentes pontos do rúmen através da fístula, nos tempos (0, 15, 30, 60, 120, 180, 1440 e 2880 min.), após retirada dos sacos referente a cada tempo e tratamento. Imediatamente após a coleta, o líquido foi filtrado em gaze e o pH medido com pHmetro digital e a temperatura aferida com um termômetro digital portátil

#### 2.6. Delineamento e análise estatística

O delineamento estatístico para a avaliação na Daisy<sup>II</sup> ANKOM foi em bloco casualizados (DBC) com os tratamentos em fatorial 2 x 4 (cera x tanino) subdividido no tempo. Foram utilizados dois rumens artificiais como repetição e quatro jarras independentes como replicas do ambiente ruminal no interior de cada aparelho. Os tempos de incubação foram 0, 15, 30, 60, 120, 180, 1440 e 2880 min.

Para a degradação ruminal *in situ* foi avaliada segundo a recomendação da metodologia proposta por (Tomich e Sampaio, 2004) para o uso de apenas um animal. Assim a avaliação foi feita em parcela subdividida, com os tratamentos em fatorial 2 x 4 (tipo de cera e nível de tanino), replicado em quatro períodos no mesmo animal e utilizando os mesmos tempos da avaliação na Daisy.

Os dados foram analisados usando o software SAS- Statistic Analysis System (9.1, 2014). Quando pertinentes às médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Degradabilidade *in vitro*

Não houve interação entre cera e nível de tanino ( $P>0,05$ ) para degradação e retenção da MS. Ao avaliar o efeito de regressão linear e quadrática para nível de tanino não foi observado significância, mas ao fazer a comparação de média houve efeito significativo ( $p<0,05$ ) para retenção e degradação da MS dos encapsulados.

Observa-se na figura 1 que os encapsulados com nível de 3% de tanino apresentou menor retenção (65,40%) e maior degradação (34,60), diferenciando-se dos valores observados para os encapsulados com 1 e 2% de tanino. Os encapsulados sem a associação com o tanino da jurema preta apresentaram retenção e degradação intermediária, sendo próximo ( $p>0,05$ ) aos demais encapsulados.

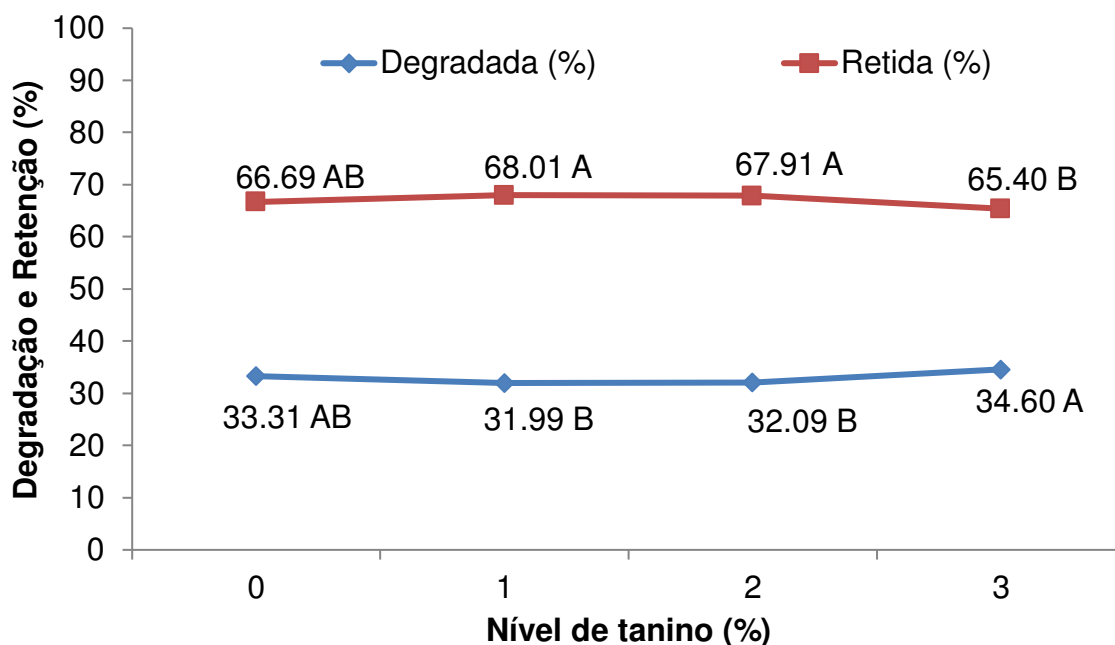


Figura 1. Degradação / retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados em função do nível de tanino no encapsulado, independente do tipo de cera e do tempo de incubação na Daisy<sup>II</sup> ANKOM.

Na tabela 3 e figura 2 são apresentados os dados de degradação da MS das ceras encapsuladas em matriz de CA e CC em função do tempo de incubação, independentemente do nível de tanino incubado na Daisy<sup>II</sup>.

Verifica-se que no tempo de incubação zero (0 minuto), a degradação da MS para CA e CC foi próxima, mas variou nos tempos 15, 1440 e 2880 minutos com os encapsulados que utilizaram CC apresentando maiores valores de degradação, com valores para a CC de 51.86% e para CA de 37.13%.

Tabela 3. Degradação da matéria seca (MS) dos encapsulados de ceras de abelha e de carnaúba em função do tempo de incubação, independente do nível de tanino incubados na Daisy<sup>II</sup> ANKOM.

Tempo de incubação (minuto)	Abelha	Carnaúba
0	4.18 Ac	6.89 Ad
15	23.2 Bb	29.91 Ac
30	33.18 Aa	37.19 Ab
60	34.19 Aa	37.97 Ab
120	34.51 Aa	39.49 Ab
180	35.25 Aa	40.44 Ab
1444	35.85 Ba	46.67 Aa
2880	37.13 Ba	51.86 Aa

Médias com letras maiúsculas diferentes indica diferença ( $p>0,05$ ) entre tipo de cera dentro de cada tempo.

Médias com letras minúsculas diferentes indica diferença ( $p>0,05$ ) entre tempo de incubação dentro de cada cera.

Na figura 2 que ilustra a comparação da degradação da MS ao longo dos tempos de incubação entre CA e CC pode ser observado que em ambas as ceras ocorre aumento na porcentagem de degradação da MS ao longo do tempo.

Destaca-se ainda que a CA inicia com 4,18% e tem uma degradação mais lenta comparado à CC, atingindo cerca de 37,13% aos 2880 minutos. Já a CC começa mais com 6,89%, e aumenta gradualmente até atingir 51,86% de degradação da MS aos 2880 minutos.

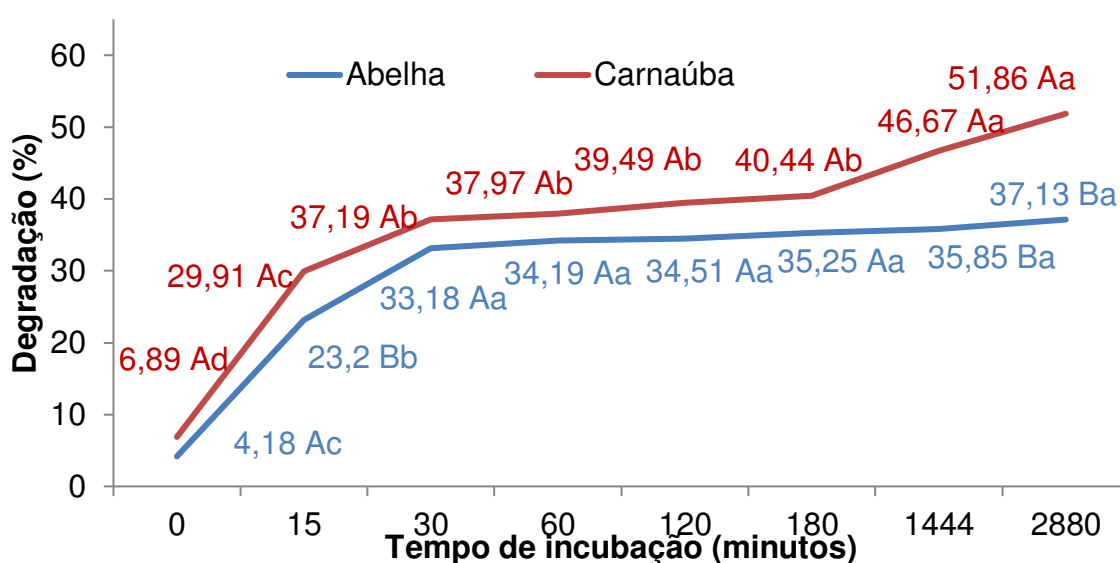


Figura 2. Degradação da matéria seca (MS) dos encapsulados de ceras de carnaúba e de abelha em função do tempo de incubação, independente do nível de tanino, incubados na Daisy<sup>II</sup> ANKOM.

Na tabela 4 são apresentados os dados de retenção da MS dos encapsulados em função do tempo de incubação, independentemente do nível de tanino, incubados na Daisy<sup>II</sup> ANKOM.

Verifica-se que no tempo de incubação zero (0 minuto), a degradação da MS para CC foi de 93.10 e de 95.86 para CA, mas não diferiu estatisticamente ( $p > 0,05$ ). Com o aumento do tempo de incubação, a retenção da MS diminui para ambos os cerídeos. No final do período de incubação (2880 minutos), a retenção da MS para CC foi de 48.13 e para CA de 62.86, diferindo entre si.

Portanto houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) na retenção da MS entre CA e CC em vários tempos de incubação (15; 1444 e 2880 min), bem como uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na retenção da MS ao longo do tempo.

Tabela 4. Retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados de ceras de abelha e de carnaúba em função do tempo de incubação, independente do nível de tanino incubados na Daisy<sup>II</sup> ANKOM.

Tempo de incubação (minuto)	Carnaúba	Abelha
0	93,10 Aa	95,86 Aa
15	70,08 Bb	76,63 Ab
30	62,80 Ac	66,81 Ac
60	62,02 Ac	65,80 Ac
120	60,50 Acd	65,48 Ac
180	59,55 Acd	64,74 Ac
1444	53,32 Ad	64,14 Bc
2880	48,13 Bd	62,86 Ac

Médias com letras maiúsculas diferentes indica diferença ( $p > 0,05$ ) entre tipo de cera dentro de cada tempo.

Médias com letras minúsculas diferentes indica diferença ( $p > 0,05$ ) entre tempo de incubação dentro de cada cera.

A comparação das porcentagens de retenção de MS entre CA e CC ao longo do tempo de incubação em minutos é apresentada na figura 3. A retenção da MS para CC começa em com 93,1% e declina para 48,13% no final do tempo observado. Já a CA começa com 95,86% e declina para 62,86% no final do período observado.

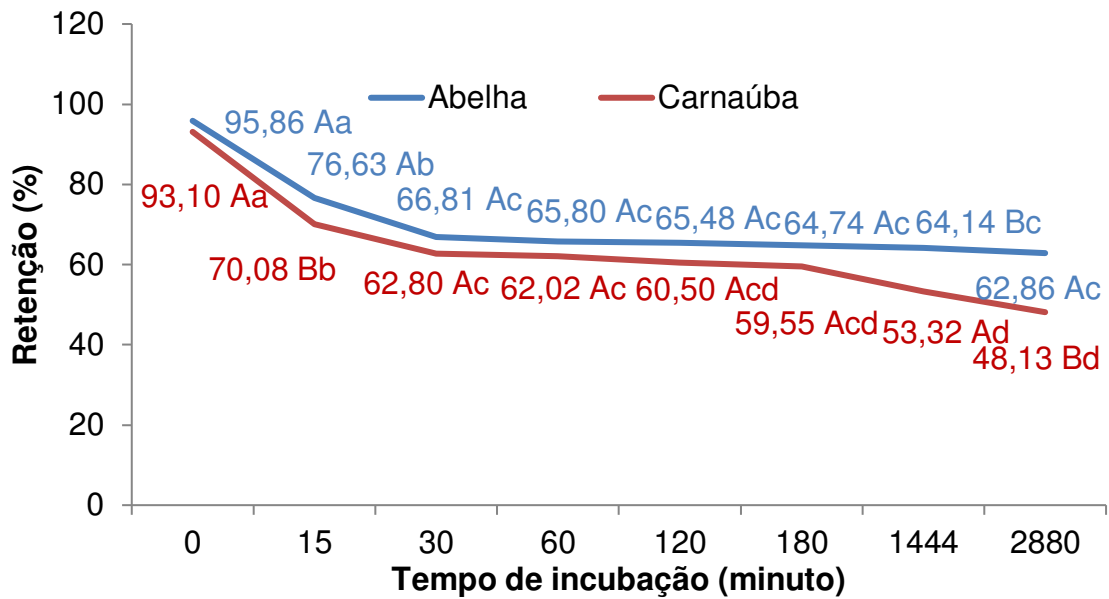


Figura 3. Retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados de ceras de carnaúba e de abelha em função do tempo de incubação, independente do nível de tanino, incubados na Daisy<sup>II</sup> ANKOM.

### 3.2. Degradabilidade *in situ*

Observa-se na figura 4 a degradação e a retenção da MS dos materiais encapsulados com (CA e CC), ao longo do tempo durante a incubação *in situ*, independente do nível de tanino. Verificou-se que a degradação e a retenção da matéria seca variam com o tempo de incubação *in situ*.

A CA obteve maior retenção e menor degradação da MS em relação aos valores observados para CC.

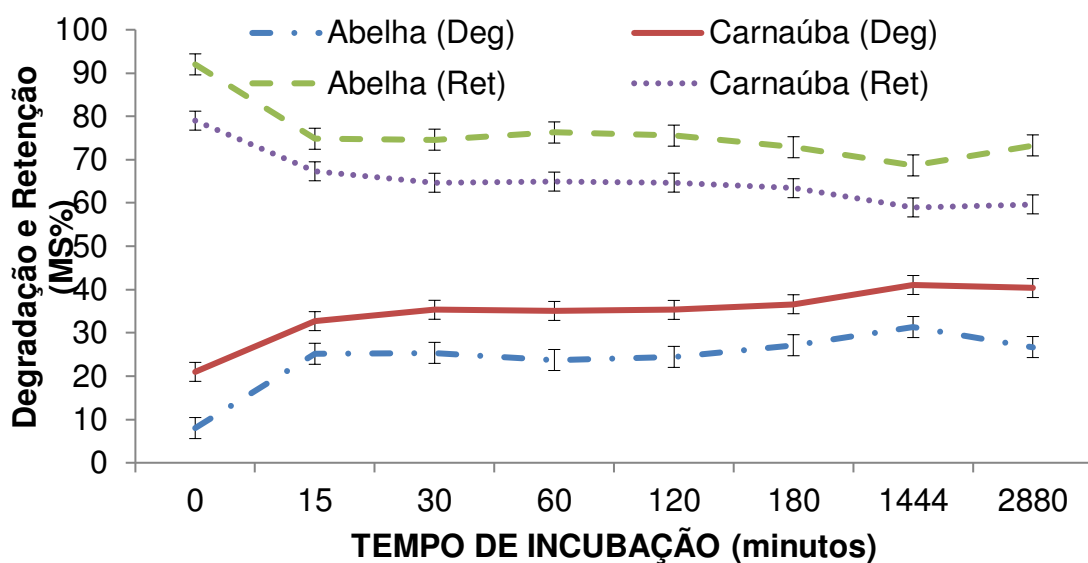


Figura 4. Degradação e retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados em função do tempo de incubação *in situ*, independente do nível de tanino.



A degradação e retenção da MS dos encapsulados em função dos níveis de tanino, independentes do tempo de incubação *in situ* são descritos na figura 5. A inclusão de 1 e 2% de tanino aumentou a retenção para ambos materiais encapsulados (CA e CC), sendo maior para CA.

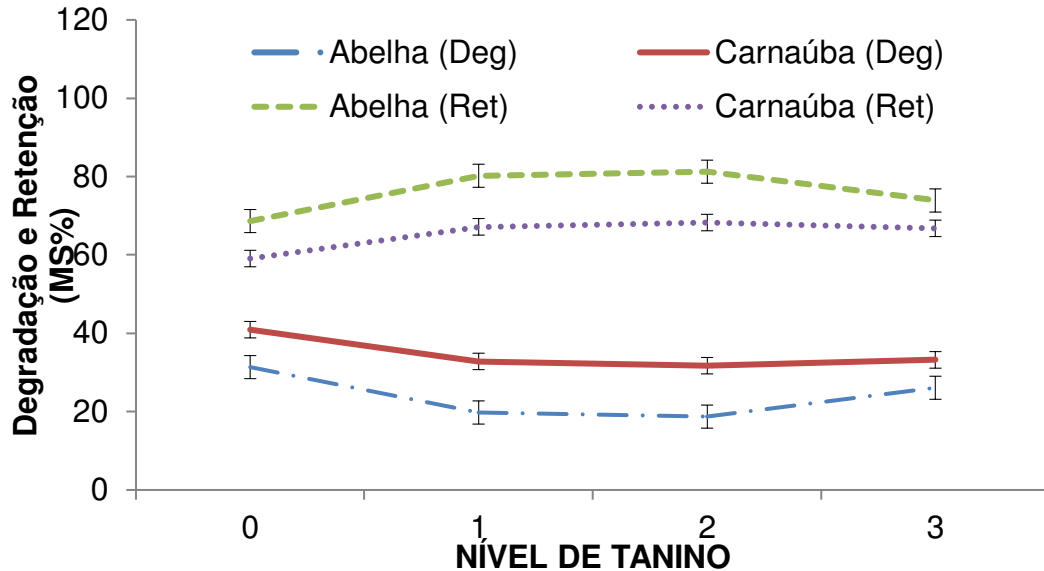


Figura 5. Degradação e retenção da matéria seca (MS) dos encapsulados em função dos níveis de tanino de Jurema Preta, independente do tempo de incubação *in situ*.

Na figura 6 observa-se as médias dos níveis de nitrogênio e proteína bruta dos encapsulados DE CA e CC, em função do tempo de incubação *in situ*, independente do nível de TJP. Ao longo do tempo de incubação ocorre decréscimo nos níveis de N e PB. Ambas as curvas mostram uma diminuição significativa nos primeiros (180 min) antes de se estabilizarem.

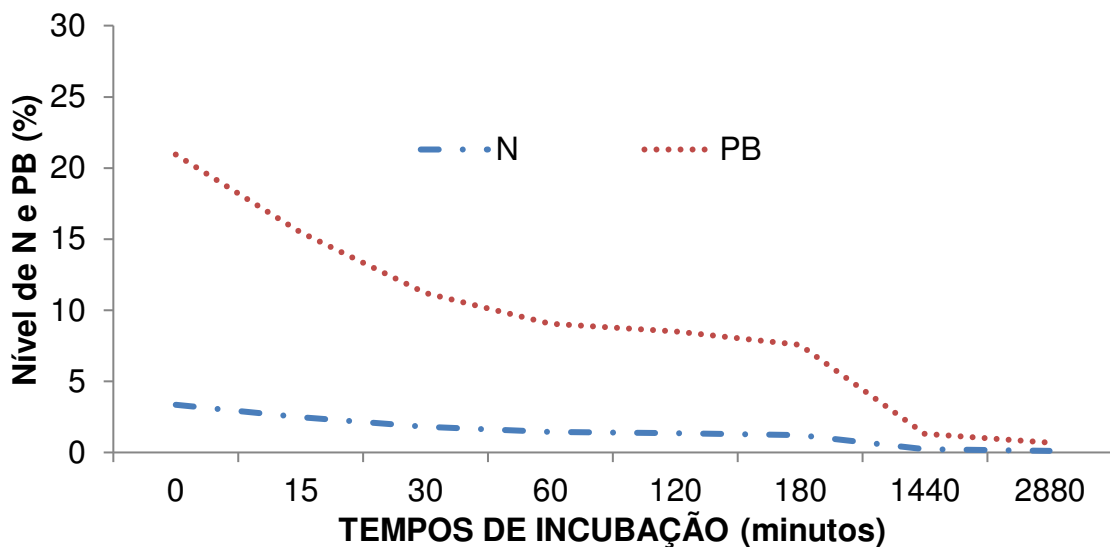


Figura 6. Médias de nitrogênio (N) e proteína bruta (PB) dos encapsulados em função do tempo de incubação *in situ*, independente do nível de tanino.

Na figura 7 a média de N e PB dos encapsulados em função do nível de TJP, independente do tempo de incubados *in situ*, observa-se uma crescente tendência de aumento na PB, quando se eleva o nível de tanino, portanto percebemos que o nível de tanino tem efeito na elevação da PB repetido.

Verifica-se que a PB, mostra uma tendência ascendente à medida que o nível de TJP aumenta, indicando uma correlação positiva entre o nível de TJP e a PB. Portanto, o aumento do TJP pode promover um aumento na PB repetido.

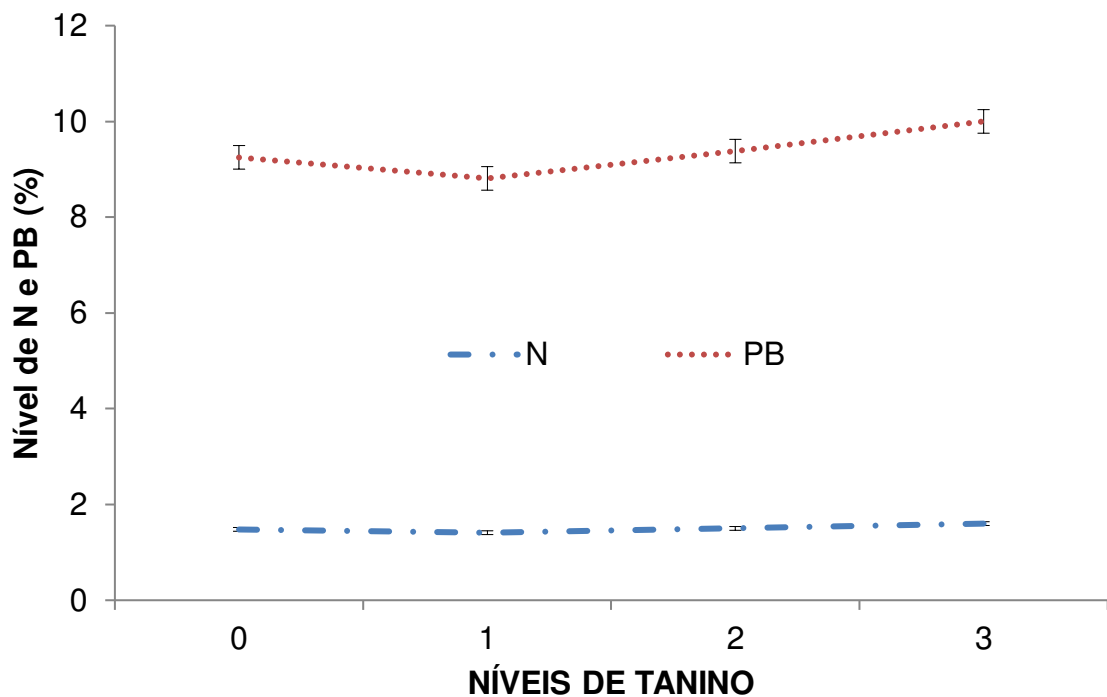


Figura 7. Média de nitrogênio (N) e proteína bruta (PB) dos encapsulados em função do nível de tanino, independente do tempo de incubados *in situ*.

### 3.3. Parâmetros ruminiais

Na tabela 5 observam-se os resultados de temperatura (°C) ruminal nos diferentes tempos de incubação no animal fistulado, em função do tipo de cera (CA e CC) e do nível (0; 1; 2 e 3%) de tanino.

Verifica-se para os dois cerídeos com 0% de tanino, a temperatura máxima é 39,3 °C e a mínima é 38,5 °C no início da incubação (0 minuto). Já com 3% de tanino obtive-se máxima de 39 °C e mínima de 38,5 °C no ultimo tempo de incubação (2880 min), para os dois cerídeos.

Tabela 5. Resultados de temperatura (°C) ruminal nos diferentes tempos de incubação no animal fistulado, em função do tipo de cera (abelha e carnaúba) e do nível (0; 1; 2 e 3%) de tanino.

Tipo de Cera	Tanino (%)	Tempo de incubação (min)								Máx.	Mín
		0	15	30	60	120	180	1440	2880		
Abelha	0	38,9	38,5	38,6	38,6	38,9	38,9	38,8	39,3	39,3	38,5
Carnaúba		38,9	38,5	38,6	38,6	38,9	38,9	38,8	39,3	39,3	38,5
Abelha	1	38,9	37,9	38,6	38,8	39,1	39,1	38,5	38,6	39,1	37,9
Carnaúba		38,9	37,9	38,6	38,8	39,1	39,1	38,5	38,6	39,1	37,9
Abelha	2	38,9	38,2	38,6	38,7	39,0	39,0	38,8	38,7	39	38,2
Carnaúba		38,9	38,2	38,6	38,7	39,0	39,0	38,8	38,7	39	38,2
Abelha	3	38,9	38,5	38,5	38,8	39,0	39,0	38,7	38,9	39	38,5
Carnaúba		38,9	38,5	38,5	38,8	39,0	39,0	38,7	38,9	39	38,5

Na tabela 6 verifica-se os dados do pH ruminal nos diferentes tempos de incubação no animal fistulado, em função do tipo de cera (CA e CC) e dos níveis (0; 1; 2 e 3%) de tanino. A CA e CC com 0% de tanino, o valor máximo de pH registrado foi de 7,19 e o mínimo foi de 6,03. Observa-se que ambos cerídeos com adição de 3%TJP apresentou valos de (6,83 máx) e (5,09 mín). Verifica-se que o pH ruminal se mantém constante ao longo dos períodos de incubação.

Tabela 6. Resultados do pH ruminal nos diferentes tempos de incubação no animal fistulado, em função do tipo de cera (abelha e carnaúba) e do nível (0; 1; 2 e 3%) de tanino.

Tipo de Cera	Tanino (%)	Tempo de incubação (min)								Máx.	Mín
		0	15	30	60	120	180	1440	2880		
Abelha	0	7,19	6,86	6,78	6,49	6,03	6,26	6,85	6,43	7,19	6,03
Carnaúba		7,19	6,86	6,78	6,49	6,03	6,26	6,85	6,43	7,19	6,03
Abelha	1	5,86	5,88	6,13	5,98	5,77	5,87	6,80	6,06	6,8	5,77
Carnaúba		5,86	5,88	6,13	5,98	5,77	5,87	6,80	6,06	6,8	5,77
Abelha	2	6,06	6,55	6,55	6,24	5,63	6,08	6,84	6,26	6,84	5,63
Carnaúba		6,06	6,55	6,55	6,24	5,63	6,08	6,84	6,26	6,84	5,63
Abelha	3	6,03	6,43	6,49	6,24	5,09	6,07	6,83	6,25	6,83	5,09
Carnaúba		6,03	6,43	6,49	6,24	5,09	6,07	6,83	6,25	6,83	5,09

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Degradabilidade *in vitro* e *in situ*

Os encapsulados com CC apresentaram maior degradação da matéria seca (MS) do que o obtido com os da CA em todos os tempos de incubação. Isso pode ser explicado pela diferença na composição química das duas ceras, sendo que a CC contém mais ésteres de ácidos graxos, que são mais susceptíveis à hidrólise do que os hidrocarbonetos presentes na CA (Ollé; Wolff e Silva, 2018).

A degradação da MS das CA e de CC foi influenciada pelo nível de tanino adicionado, sendo que o nível com 3% de tanino apresentam uma menor degradação e maior retenção de MS do que o observado no encapsulado sem tanino. Isso pode ser devido ao efeito do tanino na formação de complexos insolúveis com as proteínas presentes nas ceras, reduzindo a sua disponibilidade para a degradação ruminal (Cordão *et al.*, 2010). Entretanto, essa capacidade pode ser benéfica ou não dependendo da concentração do aditivo nas dietas e a categoria animal que se está trabalhando.

Os taninos condensados têm um mecanismo adicional de reação, porque eles são mais resistentes à remoção por quebra de ligações de hidrogênio. Foi sugerido que esta interação adicional seria a reação covalente entre a proteína e o carbono aromático das moléculas do tanino através de estruturas quinoidais (Covington, 1997).

Cordão *et al.* (2010) em revisão sobre tanino na nutrição de ruminantes destacam que a ligação do tanino com a proteína são feitas por pontes de hidrogênio, entre os grupos hidroxifenóis dos taninos e os grupos carbonila das ligações peptídicas.

Portanto quando os encapsulados retêm mais PB e MS, os animais podem aproveitar melhor esses nutrientes. Isso pode levar a uma melhor conversão alimentar e crescimento mais eficiente. Menos perda de nutrientes significa menos desperdício de ração e, portanto, economia de custos para os produtores. Já ao aumentar a retenção de PB e MS nos encapsulados pode ser benéfico, desde que seja feito com cuidado e considerando as necessidades específicas dos animais e metas de produção.

O equilíbrio em metionina e lisina leva a maior eficiência para o metabolismo da proteína (Waterman *et al.*, 2006) e como consequência diminui as perdas de nitrogênio (Prado, 2013). Segundo Araújo *et al.* (2019), a lisina ao chegar ao rúmen

é rapidamente degradada, não chegando a quantidades suficientes ao intestino delgado, dificultando o atendimento das exigências de proteína metabolizável, Carvalho Neto *et al.* (2019) destacam a necessidades dos aminoácidos na dieta para as atividades de síntese de proteína em diversos tecidos, bem como na eficiência microbiana para a manutenção do bom funcionamento do ambiente ruminal.

#### 4.2. Parâmetros ruminais

Os dados relacionados à temperatura do fluido ruminal da incubação *in situ* com valor médios de (38,76 °C) entre os tratamentos com lisina microencapsulados com cera de abelha e de carnaúba. Registrando valor máximo de (39,3 °C) e mínima de (38,2 °C). 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 normais aos apontados. Quando a temperatura está fora da faixa recomendável, pode haver impactos na eficiência da fermentação e, conseqüentemente, na digestão dos alimentos.

O resultado médio do pH encontrado do líquido ruminal da incubação *in situ* dos sistemas microencapsulados neste trabalho foi registrado de 6,28. 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 7,2, assim como Nagaraja (2016) reforça que para um ambiente favorável à proliferação bacteriana, o pH ruminal deve permanecer entre 6,0 e 7,2, 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, sendo fundamental para a saúde e a eficiência digestiva dos ruminantes, manter esse equilíbrio é essencial para garantir que os microrganismos realizem sua função de forma adequada e que os animais aproveitem ao máximo os nutrientes de sua dieta.

De acordo com Millen, Pacheco e Arrigoni (2016) relata que valores de pH ruminal superiores a 6,0 indicam que há baixa disponibilidade de amido e/ou açúcares no líquido ruminal, portanto, há baixa produção de lactato e conseqüentemente a quantidade de bactérias que utilizam lactato também é reduzida.

Quando foi registrado temperatura de 37.9 °C o pH obtido foi de 5.88, portanto a atividade dos microrganismos no rúmen é altamente influenciada pela temperatura. Temperaturas mais elevadas podem acelerar a atividade metabólica dos microrganismos, enquanto temperaturas mais baixas podem diminuí-la.

O pH ideal no rúmen está na faixa de 6,0 a 7,0 1, quando a temperatura aumenta, o pH tende a diminuir, isso ocorre porque a fermentação microbiana produz ácidos graxos voláteis (AGVs), como o ácido acético, que contribuem para a acidez do rúmen. A fermentação é mais eficiente em um ambiente ligeiramente ácido.

Segundo Silveira *et al.* (2016) o pH ruminal varia de acordo com a dieta e com o tempo após a alimentação. Com isso, a utilização das microesferas contendo lisina microencapsulada em CA ou CC associado a (1, 2 e 3%) do TJP não causou intervenção no pH ruminal.

#### 4. CONCLUSÃO

O encapsulamento da lisina em matriz lipídica de cera de abelha e de carnaúba, associada ao tanino da Jurema Preta resulta em aumento da matéria seca e do nitrogênio não degradado, tanto na avaliação *in vitro* (Daisy) e *in situ* (animal fistulado), e sem comprometer o pH e a temperatura ruminal.

A cera de carnaúba foi mais eficiente do que a cera de abelha na proteção da PB contra a degradação ruminal, e que o tempo de incubação *in situ* influenciou a retenção e degradação da PB dos encapsulados, independente dos níveis de tanino da Jurema Preta. Sendo assim, recomenda-se o sistema microencapsulado: CC+Lys+3TJP.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, F. S.; BEZERRA, L. R.; CORDÃO, M. A.; CAVALCANTE, I. T. R.; OLIVEIRA, J. P. F.; NASCIMENTO, R. R.; SOUSA, B. B.; OLIVEIRA, R. L.; PEREIRA, E. S.; PEREIRA FILHO, J. M. Effects of Increasing Levels of Total Tannins on Intake, Digestibility, and Balance of Nitrogen, Water, and Energy in Hair Lambs. **Animals**. v. 13, p. 2497, 2023.
- ALCALDE, C. R.; MACHADO, R. M.; SANTOS, G. T.; PICOLLI, R.; JOBIM, C. C. Digestibilidade in vitro de alimentos com inóculos de líquido de rúmem ou de fezes de bovinos. **Acta Scientiarum**. Maringá, v. 23, n. 4, p. 917-921, 2001.
- ANKOM, Technology. **Method 3: In vitro true digestibility using the DAISY<sup>II</sup> Incubator**. Disponível em: <https://www.ankom.com/product-catalog/daisy-incubator>. 2005. Acessado em: Janeiro de 2024.
- ARAÚJO, C. M.; MACEDO JUNIOR, G. de L.; OLIVEIRA, K. A.; VARANIS, L. F. M.; ASSIS, T. S de, SIQUEIRA, M. T. S. Effect of the inclusion of lysine and methionine on the nutritional performance and ingestive behavior of lambs. **Seminário: Ciências Agrárias**. v. 40, n. 2, p. 957, 2019.
- ARAÚJO FILHO, J. A.; GADELHA, J. A.; LEITE, E. R. SOUZA, P. Z. Composição botânica e química da dieta de ovinos e caprinos em pastejo combinado na região dos Inhamuns, Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. n. 3, p. 383-395, 1996.
- ARAÚJO, R. C. Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal *in vitro*. **Tese** (Doutorado em Ciências). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 178 f. 2010.
- BANDEIRA, P. A. V.; PEREIRA FILHO, J. M.; SILVA, A. M. A.; CEZAR, M. F.; BAKKE, O. A.; SILVA, U. L.; BORBUREMA, J. B.; BEZERRA, L. R. Performance and carcass characteristics of lambs fed diets with increasing levels of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) hay replacing Buffel grass hay. **Tropical Animal Health and Production**. v. 49. p. 1001-1007. 2017.
- BAPTISTA, J. P. Estudo sobre cera de abelha para potencial aplicação como material de mudança de fase. **Dissertação** (Mestrado em Química). Departamento de Química FCTUC, Universidade de Coimbra. 99 f. 2017.
- BERCHIELLI, T. T.; GARCIA, A. V. OLIVEIRA, S. G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, p. 583, 2006.
- CARVALHO, A. B.; SILVA, A. L.; SILVA, A. M. A.; NETTO, A. J.; MEDEIROS, T. T. B.; ARAUJO FILHO, J. M.; AGOSTINI, D. L. S.; OLIVEIRA, D. L. V.; 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 Ruminants**. v. 179. p. 56–63. 2019.
- CARVALHO NETO, J. P.; BEZERRA, L. R.; SILVA, A. L.; MOURA, J. F. P.; PEREIRA FILHO, J. M.; SILVA FILHO, E. C.; GUEDES, A. F.; ARAÚJO, M. J.; EDVAN, R. L.; OLIVEIRA, R. L. Microencapsulated methionine with carnauba wax matrix (*Copernicia prunifera*) to protect against degradation in the rumen. **Livestock Science**. v. 228, p. 53-60, 2019.
- CORDÃO, M. A.; PEREIRA FILHO, J. M.; BAKKE, O. A.; BAKKE, I. A. Taninos e seus efeitos na alimentação animal – Revisão bibliográfica. **Pubvet**. v. 4, n. 32, ed. 137, Art. 925, 2010.
- COVINGTON, A. D. Modern Tanning Chemistry. **Chemical Society Reviews**. p. 111-126, 1997.
- FERNANDES; J. B.; PEREIRA FILHO, J. M.; MENEZES, D. R.; CALDAS, A. C. A.; CAVALCANTE, I. T. R.; OLIVEIRA, J. P. F.; OLIVEIRA, R. L.; SILVA JÚNIOR, J. M.; CEZAR, M. F.; BEZERRA, L. R. Quality of lamb carcass and meat receiving natural tannins from *Mimosa tenuiflora* hay. **Research on Small Ruminants**. v. 198, p. 106362, 2021.
- 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. 32373248, 2014.
- KUNG, L.; RODE, L. Amino acid metabolism in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**. v. 59, n. 1, p. 167-172, 1996.
- LIMA, J. A. M.; BEZERRA, L. R.; FEITOSA, T. J. O.; OLIVEIRA, J.; OLIVEIRA, D. L. V.; MAZZETTO, S. E.; CAVALCANTE, M. T.; PEREIRA FILHO, J. M.; OLIVEIRA, R. L.; OLIVEIRA, J. P. F.; SILVA, A. L. Production, characterization, and dietary supplementation effect of rumen-protected fat on ruminal function and blood parameters of sheep. **Tropical Animal Health and Production**. v. 55, ed. 3, p. 142, 2023.
- MEDEIROS, T. T. B.; SILVA, A. M. A.; SILVA, A. L.; BEZERRA, L. R.; AGOSTINI, D. L. S.; OLIVEIRA, D. L. V.; MAZZETTO, S. E.; KOTZEBUE, L. R. V.; OLIVEIRA, J. R.; SOUTO, G. S. B.; CARVALHO, A. B.; NETTO, A. J.; OLIVEIRA, R. L. Carnauba wax as wall material for urea microencapsulation. **Agricultural Food Science Magazine**. v. 99. p. 1078–1087. 2019.
- MOREIRA, C. A. Aminoácidos protegidos em ração para borregas mestiças. **Dissertação de mestrado** - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. 78 f. 2018.
- MILLEN, D. D.; ARRIGONI, M. B.; PACHECO, R. D. L. Rumenology. Springer International Publishing, Cham, Switzerland. 2016.

- NAGARAJA, T. G. Microbiology of the Rumen. In: MILLEN, D. D.; ARRIGONI, M. B.; PACHECO, R. D. L. Rumenology, **Springer**. p. 39-61, 2016.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washinton, D.C. ed. 7, p. 381, 2001.
- OLIVEIRA, V. S.; SANTOS, A. C. P.; VALENÇA, R. L. Desenvolvimento e fisiologia do trato digestivo de ruminantes. **Ciência Animal**. v. 29, n. 3, p. 114132, 2019.
- OLLÉ, T. A.; WOLFF, L. F.; SILVA, E. H. Métodos simplificados de derretimento de favos e reciclagem da cera de abelhas – Pelotas: **Boletim Embrapa Clima Temperado**. v. 316, p. 24, ISSN 1678-2518, 2018.
- PAES, J. B.; MARINHO, I. V.; LIMA, R. A.; LIMA, C. R. de; AZEVÊDO, T. K. B. Viabilidade técnica dos taninos de quatro espécies florestais de ocorrência no semiárido brasileiro no curtimento de peles. **Ciência Florestal**. v. 16, p. 453-462, 2006.
- PEREIRA FILHO, J. M.; VIEIRA, E. L.; SILVA, A. M. A.; CÉZAR, M. F.; AMORIM, F. U. Efeito do Tratamento com Hidróxido de Sódio sobre a Fração Fibrosa, Digestibilidade e Tanino do Feno de Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora*. 159 Produção Nao-Madeireira na Caatinga Wild). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 32, p. 70-76, 2003.
- PIMENTEL, P. R. S.; PELLEGRINI, C. B.; LANNA, D. P. D.; BRANT, L. M. S.; RIBEIRO, C. V. D. M.; SILVA, T. M.; BARBOSA, A. M.; DA SILVA JÚNIOR, J. M.; BEZERRA, L. R.; OLIVEIRA, R. L. Effects of *Acacia mearnsii* extract as a source of condensed tannin on animal performance, carcass yield and meat quality in goats. **Animal Feed Science and Technology**. v. 271, p. 114733, 2021.
- PRADO, T. F. Metionina protegida, lisina protegida, enzima amilolítica e lisofosfolípídeos em dieta de alto concentrado para cordeiros confinados. **Dissertação** de Mestrado em Escola de Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 75 f. 2013.
- SAS Institute. SAS Systems for Windows, Version 9.1. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc. 2014.
- SILVEIRA, M. F.; KOZLOSKI, G. V.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; RESTLE, J.; LEITE, D. T.; METZ, P. A. M.; SILVEIRA, S. R. L. Live weight gain and rumen fermentation in steers kept on cultivated pasture in a temperate climate and receiving different supplements. **Rural Science**. v. 36, n. 3, 2016.
- STIEVEN, I. C. B.; ROSSI JUNIOR, P.; FERNANDES, S. R.; ZANETTI, G. F.; SANTANA, M. H. A. Exigência e absorção de aminoácidos em bovinos. **PUBVET**, Londrina, v. 5, n. 7, ed. 154, 2011.

- TASSONE, S.; RENNA, M.; BARBERA, S.; VALLE, E.; FORTINA, R. *In Vitro* Digestibility Measurement of Feedstuffs in Donkeys Using the Daisy<sup>II</sup> Incubator. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 75, p. 122-126, 2019.
- TOMICH, T. R.; SAMPAIO, I. B. M. A new strategy for the determination of forage degradability with an in situ technique through the use of one fistulated ruminant. **Journal of Agricultural Science**. v. 142, p. 589–593, 2004.
- WATERMAN, R. C.; LÖEST, C. A.; BRYANT, W. D.; M. K. PETERSEN. Supplemental methionine and urea for gestating beef cows consuming low quality **Journal Animal Science**. v. 85, ed. 3, p. 731–736. 2007.
- WOOD, C. D.; BADVE, V. C. Desenvolvimentos recentes em métodos laboratoriais para avaliação de alimentos para ruminantes. Pune, Índia: **BAIF Fundação de Pesquisa para o Desenvolvimento e Recursos Naturais**. Institute UK, p. 14, 2001.

## ANEXOS

Protocolo CEUA/CSTR N° 38/2022 cera de abelha



Universidade Federal de Campina Grande  
Centro de Saúde e Tecnologia Rural  
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



A Sra.: Prof. Dr. José Morais Pereira Filho

Protocolo CEUA/CSTR N° 38/2022

## CERTIDÃO

Certificamos para os devidos fins que o projeto intitulado “*Lisina microencapsulada com matriz lipídica de cera de abelha enriquecida com tanino da jurema preta (mimosa tenuiflora)*”, coordenado pelo (a) pesquisador (a) acima citado (a), obteve parecer consubstanciado pelo regulamento interno deste comitê, sendo **APROVADO** em caráter de *Ad Referendum*, estando a luz das normas e regulamentos vigentes no país e atendidas as pesquisas para especificações científicas.

Patos, 21 de dezembro de 2022

Prof. Dr. Valdir Morais de Almeida

UFCG / Campus Patos

SIAPE 1406222

Prof. Valdir Morais De Almeida  
Coordenador do CEP/CEUA/UFCG/CSTR

Protocolo CEUA/CSTR Nº 39/2022 cera de carnaúba



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS –  
CEUA/CSTR



### DECLARAÇÃO

Declaramos a quem possa interessar, que o(a) Sr.(a) **José Morais Pereira Filho**, por via eletrônica, deu entrada em processo para apreciação de projeto de pesquisa, visando parecer consubstanciado junto a CEUA/CSTR/UFCG. O projeto, cujo título é **“Obtenção e caracterização da lisina bypass microencapsulada em matriz de cera de carnaúba enriquecida com tanino da jurema preta (*mimosa tenuiflora*)”**, tem número de protocolo **39/2022**.

Patos, 15 de agosto de 2022

Atenciosamente,

**Juliana Kelly de Souza Almeida Santos**  
Secretária do CEP  
cep@cstr.ufcg.edu.br

## Patente cera de abelha

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA,  
**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica  
**CPF/CNPJ:** 15180714000104  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa  
**Endereço:** Rua Augusto Viana, s/n, Palácio da Reitoria, Canela,  
**Cidade:** Salvador  
**Estado:** BA  
**CEP:** 40110-909  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (71) 328 37063  
**Fax:**  
**Email:** sic@ufba.br

**Dados do Pedido**

---

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

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** LISINA MICROENCAPSULADA EM MATRIZ LIPÍDICA DE CERA DE ABELHA ENRIQUECIDA COM TANINO DA (Mimosa tenuiflora)  
**Resumo:** A presente invenção engloba a obtenção de sistemas microencapsulados, através da microencapsulação de lisina utilizando a cera de abelha como material encapsulante, pela técnica de Emulsificação, possibilitando aplicação das microesferas desenvolvidas preferencialmente na nutrição animal, especificamente na dieta de ruminantes, contornando limitações de seu uso direto, permitindo o manuseio desse ingrediente, além de possibilitar a ocorrência de liberação programada, propiciando proteção frente ao ambiente ruminal, com disponibilização no sítio de interesse, diminuindo riscos, custos e acarretando em melhor aproveitamento de seu potencial nutricional. Além disso, utilização do tanino da Mimosa tenuiflora, promovendo uma proteção ainda maior das micropartículas produzidas, utilizando esse importante produto de uma espécie vegetal de grande importância do clima semiárido.

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 29/08/2023 às 10:10, Petição 870230076450

## Patente cera de carnaúba

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica  
**CPF/CNPJ:** 15180714000104  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa  
**Endereço:** Rua Augusto Viana, s/n, Palácio da Reitoria, Canela  
**Cidade:** Salvador  
**Estado:** BA  
**CEP:** 40110-909  
**Pais:** BRASIL  
**Telefone:** (71) 328 37063  
**Fax:**  
**Email:** sic@ufba.br

---

**Dados do Pedido**

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

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** LISINA MICROENCAPSULADA EM MATRIZ LIPÍDICA DE CERA DE CARNAÚBA ENRIQUECIDA COM TANINO DA [Mimosa tenuiflora (Wild.) Poir.].

**Resumo:** A presente invenção engloba a obtenção de sistemas microencapsulados, através da microencapsulação de lisina utilizando a cera de carnaúba como material encapsulante, pela técnica de Emulsificação, possibilitando aplicação das microesferas desenvolvidas preferencialmente na Nutrição animal, especificamente na dieta de ruminantes, contornando limitações de seu uso direto, permitindo o manuseio deste ingrediente, além de possibilitar a ocorrência de liberação programada, propiciando proteção frente ao ambiente ruminal, com disponibilização no sítio de interesse, diminuindo riscos, custos e acarretando em melhor aproveitamento de seu potencial nutricional. Além disso, utilização do tanino da Mimosa tenuiflora, promovendo uma proteção ainda maior das micropartículas produzidas, utilizando esse importante produto de uma espécie vegetal de grande importância do clima semiárido.

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 29/08/2023 às 09:47, Petição 870230076440

## Menção honrosa CNPA 2023





Coleta do feno de capim buffel na fazenda Lameirão



Preparo do feno da Jurema Preta



## Extração do tanino da Jurema Preta



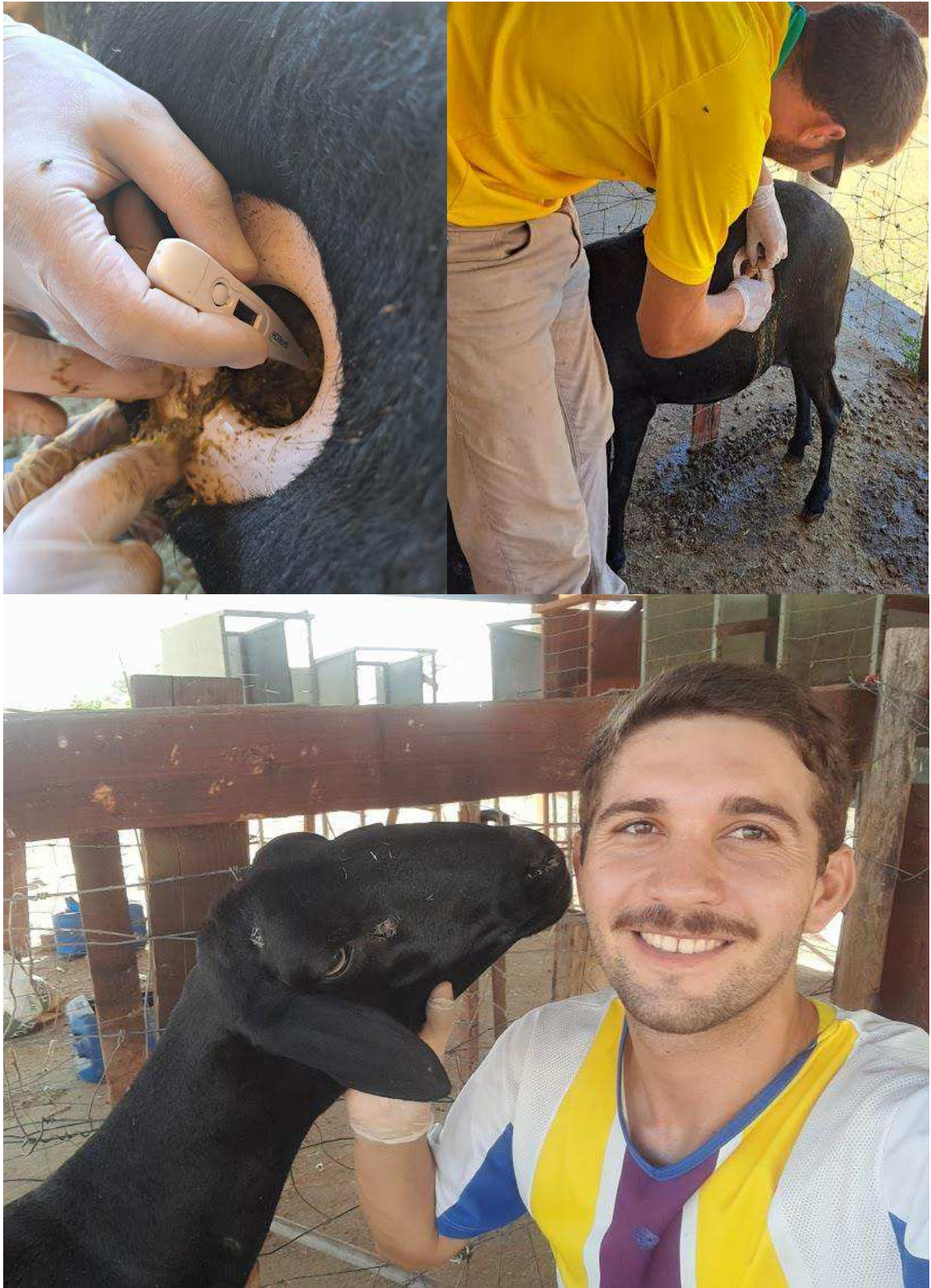
## Preparo dos materiais microencapsulados



Incubação *in vitro* Daisy<sup>II</sup> ANKOM



Incubação *in situ*



Professor Morais

