



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**UREIA DE LIBERAÇÃO LENTA MICROENCAPSULADA COM CERA
DE ABELHA NA DIETA DE RUMINANTES**

ARIÁDNE DE BARROS CARVALHO

PATOS – PB

2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**UREIA DE LIBERAÇÃO LENTA MICROENCAPSULADA COM CERA DE
ABELHA NA DIETA DE OVINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, como uma das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de concentração Mestrado em Zootecnia, para obtenção do título de mestre.

Ariadne de Barros Carvalho

Orientador: Prof. Dr. André Leandro da Silva

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

PATOS – PB

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

C331u Carvalho, Ariádne de Barros
 Uréia de liberação lenta microencapsulada com cera de abelha na dieta
 de ovinos / Ariádne de Barros Carvalho. – Patos, 2018.
 34f.: il.;color.

 Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de
 Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.

 “Orientação: Prof. Dr. André Leandro da Silva.”

 “Co-orientação: Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo.”

 Referências.

 1. Microscopia. 2. Matriz lipídica. 3. Amônia. 4. Nutrição. I.Título.

CDU 636.033



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

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: "Ureia de liberação lenta microencapsulada com cera de abelha na dieta de ovinos"

AUTORA: ARIADNE DE BARROS CARVALHO

ORIENTADOR: Prof. Dr. ANDRÉ LEANDRO DA SILVA

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO


Prof. Dr. André Leandro da Silva
Presidente


Prof. Dr. Jaime Miguel de Araújo Filho
1º Examinador


Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra
3º Examinador

Patos - PB, 23 de fevereiro de 2018.


Prof. Dr. José Fábio Paulino de Moura
Coordenador
PPGZICSTR/UFMG
Mat. SIAPE 1506999

“Uma noite eu tive um sonho. Sonhei que estava andando na praia com o Senhor e através do Céu passavam cenas de minha vida. Para cada cena que passava, percebi que eram deixados dois pares de pegadas na areia; um era o meu, e o outro, do Senhor.

Quando a última cena de minha vida passou diante de nós, olhei para trás, para as pegadas na areia, e notei que muitas vezes no caminho da minha vida havia apenas um par de pegadas na areia. Notei também que isso aconteceu nos momentos mais difíceis e angustiosos da minha vida. Isso aborreceu-me e então perguntei ao Senhor:

- Senhor, Tu me disseste que, uma vez que eu resolvi Te seguir, Tu andarias sempre comigo, em todo o caminho. Contudo, notei que durante as maiores atribuições do meu viver, havia apenas um par de pegadas na areia. Não compreendo porque nas horas em que eu mais necessitava de Ti, Tu me deixaste sozinho.

O Senhor me respondeu:

- Meu querido filho. Jamais te deixaria nas horas de prova e de sofrimento. Quando vistes na areia, só um par de pegadas, eram as minhas. Foi exatamente aí que eu te carreguei em meus braços.”

Pegadas na areia (Autor desconhecido)

Em memória de Benedito Lopes de
Barros Neto (*in cor meum aeternum*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela sua infinita bondade, sabedoria e proteção ao longo dessa jornada, sem Ele nada seria possível.

Agradeço à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste mestrado.

Aos laboratórios parceiros (UFC, UNESP).

Agradeço à minha família Amalia, Nivaldo, Dênis, Benedito, Sizenando, Adalia, Eponina e Luzia, por incentivar e acreditar no meu sucesso e felicidade na carreira que escolhi.

Ao meu namorado Stanislley que participou diretamente da realização deste trabalho. O seu apoio foi essencial.

Aos meus amigos, Tatiana Gouveia e esposo Jaime Miguel de Araújo Filho, agradeço a amizade, a compreensão, a ajuda em todos os momentos e a orientação em tempo integral. Espero um dia poder fazer por alguém o que fazem por mim!

Aos meus orientadores Prof. Dr. André Leandro da Silva (um grande amigo, simples, atencioso e prestativo, sempre!) e Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva pela confiança, paciência e ensinamentos.

A Ari Cruz Guedes pelo apoio a todos os alunos da pós-graduação.

A Andreza e Otávio, meus grandes amigos, do laboratório para a vida inteira.

A todos os servidores da UFCG - Campus Patos deixo meu “muito obrigado”, pela ajuda e ensinamentos durante esses dois anos.

Por fim, aos meus amigos de curso que me acompanharam de mãos dadas, poucos, mas que deixarão saudade. Em especial Amanda, Tiago, Newcélia, Patrícia e Joelson.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS, FIGURAS E GRÁFICOS	VII
Resumo geral	01
Abstract	02
 INTRODUÇÃO GERAL	 03
CAPÍTULO I - Micropartículas lipídicas contendo NNP com e sem adição de enxofre	05
Resumo	06
Abstract	07
1.Introdução	08
2. Material e métodos	09
3. Resultados e discussão	12
4. Conclusão	18
5. Referências Bibliográficas	19
 CAPÍTULO II – Micropartículas de Cera de Abelha Contendo Ureia na Dieta de Ovinos: Influência na Ingestão, Digestibilidade e Balanço de Nitrogênio	 21
Resumo	22
Abstract	23
1.	Introdução24
	
2. Material e Métodos	25
2.1. Local do experimento	25
	
2.2. Obtenção da ureia microencapsulada	25
2.3. Animais e manejo	25
2.4. Ensaio de digestibilidade <i>in vivo</i>	27
2.5. Balanço de nitrogênio	28
2.6 Análises estatísticas	28
3. Resultados e discussão	28
4. Conclusão	32
5. Referências Bibliográficas	33

LISTA DE TABELAS, FIGURAS E GRÁFICOS

CAPÍTULO I -

Micropartículas lipídicas contendo NNP com e sem adição de enxofre

Figura 1. Micrografias eletrônicas de varredura a) Cera de abelha, b) Ureia e c) sulfato de magnésio	13
Figura 2. Micrografias eletrônicas de varredura a) 2:1b)2:1S	13
Gráfico 1. Curvas termogravimétricas (Curvas TG)	14
Gráfico 2. Curvas de DSC	15
Gráfico 3. Espectrogramas FTIR da Ureia, Cera de abelha e Formulações (2:1; 2:1S)	17
Tabela 1. Dados extraídos da Curva termogravimétrica (Curva TG)	14
Tabela 2. Dados extraídos das Curvas de DSC	15
Tabela 3. Principais bandas observadas no espectrograma (Em cm^{-1})	17

CAPÍTULO II –

Micropartículas de Cera de Abelha Contendo Ureia na Dieta de Ovinos: Influência no Consumo, Digestibilidade e Balanço de Nitrogênio.

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais	26
Tabela 2. Composição bromatológica dos componentes das dietas experimentais	26
Tabela 3. Composição bromatológica das dietas experimentais em função do teor de ureia microencapsulada	27
Tabela 4. Valores médios de consumo dos nutrientes da dieta de ovinos recebendo adição crescente de ureia microencapsulada	29
Tabela 5. Valores médios dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca e de nutrientes em ovinos alimentados com adição crescente de ureia microencapsulada com cera de abelha na dieta	30
Tabela 6. Balanço aparente de nitrogênio em ovinos alimentados com dietas contendo inclusão crescente de ureia microencapsulada em cera de abelha	31

UREIA DE LIBERAÇÃO LENTA MICROENCAPSULADA COM CERA DE ABELHA NA DIETA DE OVINOS

Resumo geral

Objetivou-se avaliar a liberação lenta de fonte de nitrogênio não proteico para a dieta de ruminantes, através da microencapsulação de ureia com e sem enxofre, empregando cera de abelha como encapsulante e liofilização como método de secagem, bem como a ingestão de nutrientes, os coeficientes de digestibilidade, e o balanço de nitrogênio por ovinos recebendo dietas com concentrações crescentes de ureia microencapsulada em matriz lipídica de cera de abelha. Foram obtidos dois sistemas microencapsulados pela técnica de Liofilização [2:1 (cera:ureia) e 2:1S (cera:ureia com adição de fonte de enxofre)]. Os produtos foram avaliados quanto ao rendimento e eficiência de microencapsulação, além de caracterizados por técnicas Termogravimetria, Calorimetria exploratória diferencial, Espectroscopia na região de infravermelho com Transformada de Fourier, Microscopia eletrônica de varredura, teor de umidade, atividade de água e, por fim, um teste de digestibilidade *in vivo*. A formulação 2:1, sem adição de enxofre, exibiu os maiores valores de rendimento, maior eficiência de microencapsulação e maior estabilidade térmica, demonstrando a influência negativa da incorporação da fonte de enxofre no sistema microencapsulado. Para o ensaio de digestibilidade *in vivo*, a substituição da proteína verdadeira da soja pelo NNP microencapsulado até 4,5% não promoveu efeito negativo no consumo de matéria seca, nutrientes, nem no balanço de nitrogênio, mas promoveu incremento na digestibilidade da FDN e FDA das dietas estudadas. Não houve efeito negativo para. O sistema microencapsulado de liberação lenta permitiu a inserção de até 1,5% de ureia na dieta total, sem necessidade de adaptação prévia progressiva, nas condições do presente estudo. A obtenção de ureia microencapsulada utilizando a cera de abelha evidenciou o grande potencial desta matéria-prima para tal aplicação.

Palavras-chave: microscopia, matriz lipídica, amônia, nutrição

SLOW-RELEASE UREA MICROENCAPSULATED WITH BEESWAX IN SHEEP DIET

Abstract

This study aimed at evaluating the slow release of a non-protein nitrogen source in ruminants diet by the microencapsulation of urea with and also without a sulfur source, using beeswax as encapsulant and lyophilization as drying method, as well as the intake of nutrients, digestibility coefficients, and nitrogen balance in sheep fed diets with increasing concentrations of microencapsulated urea. Two microencapsulated formulations were obtained by lyophilization [2:1 (wax:urea) and 2:1S (wax:urea with addition of source of sulfur)]. The products were evaluated regarding microencapsulation yield and efficiency, as well as characterized by Thermogravimetry, Differential Scanning Calorimetry, Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Scanning Electron Microscopy, moisture content, water activity, and finally an *in vivo* digestibility test. The formulation 2:1 exhibited the highest microencapsulation yield and efficiency values, besides greater thermal stability, demonstrating the negative influence of the incorporation of the sulfur source to the system. The *in vivo* digestibility study showed that the replacement of true soybean protein with microencapsulated NPN until 4.5% did not present any negative effect on the dry matter, nutrients intake or nitrogen balance, but there was an increase in neutral and acid detergent fiber digestibility. The slow-release microencapsulated system development allowed the insertion of up to 1.5% of urea to the total diet without any prior adaptation, under the conditions of this study. The microencapsulated urea obtained by using the beeswax as encapsulant highlighted the great potential of this raw material to such use.

Keywords: microscopy, lipidic matrix, ammonia, nutrition

INTRODUÇÃO GERAL

A ureia é uma fonte de nitrogênio não proteico (NNP) bastante empregada na dieta de ruminantes, pois possui baixo custo por unidade de nutriente e é importante alternativa para substituir parcialmente a proteína verdadeira encontrada nas fontes vegetais convencionais, estes concorrentes com a alimentação humana. No entanto, ao ser ingerida pelo animal, a ureia é rapidamente hidrolisada, produzindo amônia ($N-NH_3$) e gás carbônico (AZEVEDO et al., 2008).

O pico de amônia no rúmen após alimentação depende das fontes de N presentes na ração. Quando ureia é fornecida, o pico de amônia ocorre, normalmente, 1 a 2 horas após a alimentação. Enquanto que para fontes de proteína verdadeira, esse pico ocorre em torno de 3 a 5 horas após a alimentação, variando em função da degradabilidade dessas fontes no rúmen (SANTOS & PEDROSO, 2011), a considerável atividade ureolítica do rúmen, somada à necessidade de adaptação dos animais à alimentação com ureia, têm motivado estudos para desenvolver produtos que possibilitem a liberação gradativa da ureia no ambiente ruminal. Um dos obstáculos a serem contornados é que as alternativas encontradas são geralmente mais caras do que a ureia (AZEVEDO et al., 2008).

Através de determinados processamentos industriais, pode-se reduzir a velocidade de degradação da ureia no rúmen e diversas tecnologias têm sido testadas nas últimas décadas, incluindo a amireia (BARTLEY & DEYOE, 1975), ureia tratada com formaldeído (PROKOP & KLOPFENSTEIN, 1977), proteção com gordura (FORERO et al., 1980), proteção com biureto (LÖEST et al., 2001), ureia líquida e cloreto de cálcio (CASS & RICHARDSON, 1994) e também ureia encapsulada com polímero (GALO et al., 2003). Produtos que embora cheguem ao objetivo de liberar a ureia mais lentamente, apresentam altos custos de produção.

Há uma grande quantidade de substâncias que podem ser usadas para promover o encapsulamento, denominadas agentes encapsulantes, entre eles a goma arábica, alginato de sódio, gelatina, albumina, caseína, cera de abelha, cera de carnaúba (SHAHIDI & HAN, 1993).

Devido à alta hidrofobicidade e excelente resistência à umidade, a cera de abelha é uma candidata favorável para o desenvolvimento de nanosistemas (SOUZA et al., 2017).

Diante do exposto, o objetivo com esta pesquisa foi avaliar a liberação lenta de fonte de nitrogênio não proteico para a dieta de ruminantes, por meio da microencapsulação de ureia enriquecida ou não com enxofre, empregando cera de abelha como encapsulante e liofilização como método de secagem.

CAPÍTULO I -

Micropartículas lipídicas contendo NNP com e sem adição de enxofre

Micropartículas lipídicas contendo NNP com e sem adição de enxofre

Resumo

Objetivou-se obter sistemas de ureia microencapsulada com o uso da cera de abelha, avaliar a influência da inclusão de fonte de enxofre na efetividade da proteção da ureia e caracterizar os sistemas microencapsulados obtidos. Foram obtidos dois sistemas microencapsulados pela técnica de Liofilização 2:1 (cera:ureia) e 2:1S (cera:ureia com adição de fonte de enxofre). Os produtos foram avaliados quanto ao rendimento e eficiência de microencapsulação, além de caracterizados por técnicas Termogravimetria, Calorimetria exploratória diferencial, Espectroscopia na região do infravermelho, Microscopia eletrônica de varredura, determinação de umidade e atividade de água. Ambas as formulações apresentaram excelentes resultados de rendimento e eficiência de microencapsulação, com valores de 92,53 (2:1) e 90,8% (2:1S); 99,6 (2:1) e 98,51% (2:1S), respectivamente. A formulação 2:1, sem adição de enxofre, exibiu os maiores valores de rendimento, maior eficiência de microencapsulação e maior estabilidade térmica, demonstrando a influência negativa da incorporação da fonte de enxofre no sistema microencapsulado. A obtenção de ureia microencapsulada utilizando a cera de abelha como encapsulante evidenciou o grande potencial desta matéria-prima para tal utilização, em que se recomenda, a partir do investigado no presente estudo, que a suplementação da fonte de enxofre seja feita à parte, visto que provocou maior exposição da fonte de nitrogênio, o que sugere uma proteção menos efetiva, em especial mediante a utilização desta em dietas que visam liberação gradual.

Palavras-chave: termogravimetria, ureia microencapsulada, microscopia eletrônica de varredura

Microparticles containing NPN with and without sulfur addition

Abstract

This study aimed at obtaining microencapsulated urea systems using beeswax, evaluating the influence in the urea protection of a sulfur source inclusion, besides characterizing all the microencapsulated systems developed. Two microencapsulated formulations were obtained by lyophilization [2:1 (wax:urea) and 2:1S (wax:urea with addition of source of sulfur)]. The products were evaluated regarding microencapsulation yield and efficiency, as well as characterized by Thermogravimetry, Differential Scanning Calorimetry, Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Scanning Electron Microscopy, moisture content, and water activity. Both formulations showed excellent yield and efficiency microencapsulation results, with values of 92.53 (2:1) and 90.8% (2:1S); 99.6 (2:1) and 98.51% (2:1S), respectively. The formulation 2:1 exhibited the highest microencapsulation yield and efficiency values, besides greater thermal stability, demonstrating the negative influence of the sulfur source incorporation to the system. The microencapsulated urea obtained by using the beeswax as encapsulant highlighted the great potential of this raw material to such use, in which the present study recommends that the supplementation of the sulfur source should be made separately, considering it caused an exposure of the nitrogen source, what suggests a less effective protection, particularly when used in diets aiming at slow release.

Keywords: thermogravimetry, microencapsulated urea, scanning electron microscopy

1. Introdução

A ureia apresenta-se como importante ingrediente da dieta quando se fala em relação custo/benefício, sendo encontrada com grande facilidade no mercado, apresentando alto poder amoniacal. Dentre as qualidades atribuídas à ureia, pode-se citar o fato da mesma poder ser degradada pelos microrganismos ruminais, principalmente em amônia e dióxido de carbono. Essa amônia pode ser utilizada pelos microrganismos para a síntese de sua própria proteína (proteína microbiana); para isso, sendo necessária energia proveniente dos carboidratos. Devemos levar em consideração, também, o tempo de adaptação da flora ruminal a novas dietas, bem como respeitar os índices de ureia indicados na alimentação dos ruminantes.

Geralmente, o teor de enxofre é baixo em rações com níveis elevados de nitrogênio não proteico, assim, a síntese microbiana de aminoácidos sulfurados (metionina, cisteína e cistina) pode ser prejudicada, limitando a utilização da ureia, tornando necessária a suplementação com enxofre em dietas com altos níveis de nitrogênio não proteico (PEREIRA et al., 2008).

Embora considerado um método relativamente novo, a microencapsulação já era definida nos anos 70 como a tecnologia de empacotamento com finas coberturas poliméricas aplicáveis em sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso, formando pequenas partículas denominadas microcápsulas, que podem liberar seu conteúdo sob velocidade e condições específicas (TODD, 1970).

Dentre os métodos para produção de sistemas microencapsulados, destaca-se a liofilização, também chamada de criodesidratação, criossecagem ou ainda *freeze-drying*, definida por Azeredo (2005) como uma técnica que utiliza baixas temperaturas, proporcionando a preservação do núcleo. Esta técnica baseia-se na desidratação do produto previamente congelado e posteriormente submetido ao processo de sublimação a vácuo. Um processo de microencapsulação pode ser realizado por meio de liofilização de uma emulsão do material do núcleo com um encapsulante. O método gera produtos de excelente qualidade, uma vez que diminui as alterações associadas a altas temperaturas.

Uma opção interessante com propriedades desejáveis a ser estudada como encapsulante para liberação lenta da ureia é a cera animal, em especial a cera de abelha, visto que pertence a uma classe de compostos que atendem requisitos para um bom

revestimento, devido à alta hidrofobicidade, excelente resistência à umidade, além de ponto de fusão de 65°C (SOUZA et al., 2017).

Quanto à cera de abelha, a composição é bastante complexa, sendo constituída por uma mistura de substâncias de caráter lipídico e, portanto, bastante hidrofóbico. Os ácidos graxos livres representam 12-15% da cera de abelha, sendo esta família de compostos, constituída por ácidos graxos de cadeia linear com um número par de átomos de carbono, na sua maioria por 20 a 36 átomos de carbono. O ácido graxo mais abundante na cera de abelha é o ácido tetracosanoico, representando aproximadamente 6% da cera de abelha (BARROS et al., 2009).

A microencapsulação do NNP com cera de abelha proporcionará uma lenta liberação do mesmo, diminuindo os riscos de intoxicação animal, enquanto que a adição de fonte de enxofre no sistema aumentará a disponibilidade do nitrogênio para a síntese da proteína microbiana.

Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho obter sistemas de ureia microencapsulada utilizando cera de abelha como material encapsulante, avaliar a influência da inclusão de fonte de enxofre e caracterizar as formulações desenvolvidas.

2. Material e métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Centro de Saúde e Tecnologia Rural/CSTR, município de Patos - PB, contando também com o suporte de laboratórios parceiros (UFC, UNESP).

Duas formulações microencapsuladas foram desenvolvidas, a formulação 2:1-Cera:Ureia, sem fonte de enxofre, e também 2:1S - Cera:Ureia, com fonte de enxofre (Sulfato de magnésio heptaidratado). A proporção fixa entre encapsulante e núcleo de 2:1 foi dada em m/m, respectivamente, enquanto a proporção da fonte de nitrogênio e enxofre foi 10:1 (também m/m), respectivamente. As formulações foram obtidas por emulsificação/liofilização e se diferenciaram entre si pela presença e ausência de fonte de enxofre, possibilitando a determinação da influência deste na taxa de incorporação da fonte de nitrogênio.

Para preparar as emulsões que resultaram nos produtos microencapsulados, utilizados nos experimentos e caracterizações iniciais, para cada sistema, conforme já explanado, ureia, a fonte de enxofre (Sulfato de magnésio heptaidratado) foram pesados

em balança analítica Adventurer AR2140 (Marca Ohaus, Parsippany, Estados Unidos®) em béqueres separados, dissolvidos em água até total dissolução. Em seguida, a cera de abelha foi pesada em outro béquer e fundida em banho maria, sob temperatura de 85 °C. Logo após, teve início o preparo propriamente dito das emulsões, que foi feito a quente, devido à rápida solidificação da cera, uma vez retirada da fonte de aquecimento.

Ao béquer contendo a cera fundida foi adicionada a lecitina de soja (Massa correspondente a 5% com base na massa de cera de abelha). A mistura foi feita em agitador mecânico e com auxílio de um misturador da marca Mondial. Antes de ser adicionada, a solução de ureia foi acrescida da solução de enxofre e ambas foram aquecidas até a mesma temperatura da cera fundida e, posteriormente, adicionadas lentamente à cera, seguida de agitação constante de 12000 rpm por 5 min. Por fim, as emulsões referentes às formulações 2:1 e 2:1S foram transferidas para recipientes plásticos e identificadas. Em seguida, as formulações foram congeladas em congelador horizontal a -25 °C por 24 h.

Após esse período, foram submetidas a secagem primária em liofilizador Alpha 1-4 LD Plus (Marca Christ, Osterode AM Harz, Alemanha®) sob pressão de 0,11 mbar e temperatura de -60 °C por 24 h e secagem secundária em estufa de circulação sob 55 °C por 6 h. Esses parâmetros foram estabelecidos a partir de testes prévios. O produto microencapsulado (2:1 e 2:1S) foi processado em triturador para obtenção de material homogêneo e posteriormente acondicionado a temperatura ambiente.

O rendimento da microencapsulação foi baseado nas massas de ureia, fonte de enxofre (Quando presente no sistema), cera de abelha e lecitina de soja (emulsificante) utilizada no preparo das emulsões e na massa final após secagem, calculado por meio da equação seguinte:

$$RM = (M_{\text{final}}/M_{\text{inicial}}) \times 100$$

Onde: RM = Rendimento da microencapsulação;

M_{final} : Massa do produto microencapsulado após secagem;

M_{inicial} : Massa seca de ureia, fonte de enxofre, cera de abelha e lecitina.

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

$$EM = (U_{\text{real}}/U_{\text{teórica}}) \times 100$$

Onde: EM = Eficiência da microencapsulação;

U_{real} = Teor real de ureia retido;

$U_{\text{teórica}}$ = Teor de ureia inserido.

A microestrutura das formulações de ureia microencapsulada foi estudada por Microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para obtenção das micrografias da ureia, a mesma foi previamente coberta por uma fina camada de ouro no metalizador SC-701 (Marca Sanyu electron, Tóquio, Japão®). Para tal, as amostras foram fixadas com fita de carbono, o tempo de metalização foi de 3 min, sob amperagem de 10 mA. As micrografias foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura Vega 3 (Marca Tescan, Kohoutovice, República Tcheca®), com voltagem de aceleração de 30 kV. Para obtenção das micrografias da cera de abelha e do sistemas microencapsulados, os mesmos foram previamente cobertos por uma fina camada de ouro no metalizador Q150R ES (Quorum, Lewes, Inglaterra®). Para tal, as amostras foram fixadas com fita de carbono, o tempo de metalização foi de 3 min, sob amperagem de 10 mA. As micrografias foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura SSX-550 (Shimadzu, Quioto, Japão®), com voltagem de aceleração de 20 kV.

As curvas TG foram obtidas em analisador térmico TGA/SDTA 851 (Marca Mettler Toledo), sob atmosfera inerte (Fluxo de 50 mL/min), taxa de aquecimento de 10°C/min, em uma faixa de temperatura entre 30 e 600°C, utilizando cadinho de platina contendo cerca de 3 mg de amostra. Já as curvas de DSC dos materiais foram obtidas em um equipamento DSC-50H (Marca Shimadzu), sob atmosfera inerte (Fluxo de 50mL/min), taxa de aquecimento de 10 °C/min, em uma faixa de temperatura entre 30 e 400°C, utilizando cadinho hermético de alumínio contendo cerca de 2,5 mg de amostra.

A determinação de umidade foi feita pelo método gravimétrico em estufa com circulação e renovação de ar TE-391/1 (Marca Tecnal) a 105°C até massa constante, enquanto a atividade de água foi verificada em medidor de atividade de água 3TE (Marca Aqualab) a 25°C.

Já as determinações de nitrogênio foram feitas de acordo com o método de Kjeldahl, descrito por AOAC (2000), utilizando destilador de nitrogênio TE-0363 (Marca Tecnal).

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um Espectrofotômetro FT-IR/NIR FRONTIER (Marca Perkin Elmer, Waltham, Estados Unidos®), utilizando acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR), empregando um cristal de seleneto de zinco (ZnSe), resolução de 4 cm^{-1} e média aritmética de quatro varreduras, na região entre 500 e 4000 cm^{-1} .

3. Resultados e discussão

Para averiguar a viabilidade da liofilização foi avaliado o rendimento do processo de obtenção das formulações microencapsuladas.

Na avaliação do rendimento, ambos sistemas apresentaram excelentes resultados, sendo de 92,53 e 90,80% para as formulações 2:1 e 2:1S, respectivamente. Esses resultados mostram que a técnica de liofilização é adequada para microencapsular ureia utilizando cera de abelha como material de parede, havendo pouca perda de material durante o processamento.

Apesar dos excelentes rendimentos e da diferença ter sido pouca entre as formulações, há ainda perdas prévias, ocorridas durante as transferências de recipientes da emulsão para liofilização, em virtude da viscosidade da amostra e da sua solidificação em temperatura ambiente.

Estes resultados mostraram-se superiores em relação ao mesmo método (liofilização) em trabalho feito por Gonsalves et al. (2009), onde foi feita microencapsulação de óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck, onde a quitosana foi utilizada como polímero formador de parede, que obteve rendimento de 82,81%, este considerado ótimo no mesmo trabalho. Tais resultados confirmam a adequação da liofilização como técnica de microencapsulação para os componentes (núcleo e encapsulante) do presente estudo.

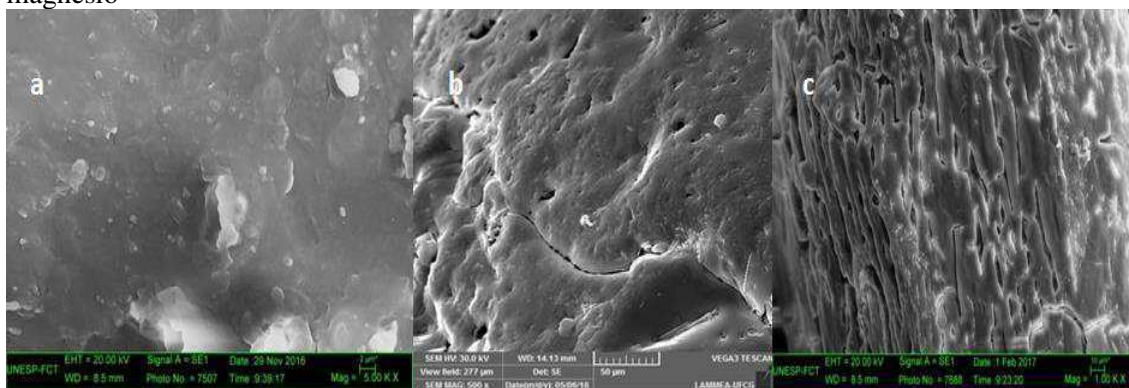
As determinações de nitrogênio permitiram estimar o teor equivalente de proteína bruta, determinar a porcentagem real de ureia nas formulações e, portanto, investigar a eficiência do processo.

Para as determinações de nitrogênio e proteína bruta para os sistemas microencapsulados foram obtidos os valores de 14,78% (N) $\pm 0,4$ e 92,37% (PB) $\pm 2,8$ para o sistema 2:1, enquanto que 2:1S apresentou valores de 14,62% (N) $\pm 0,4$ e 91,36% (PB) $\pm 2,5$.

Avaliando a eficiência da microencapsulação o sistema microencapsulado sem a adição de enxofre obteve eficiência de $99,60\% \pm 3,1$ e o sistema que continha fonte de enxofre $98,51\% \pm 2,7$, demonstrando a propriedade de retenção da cera de abelha como encapsulante para os núcleos estudados.

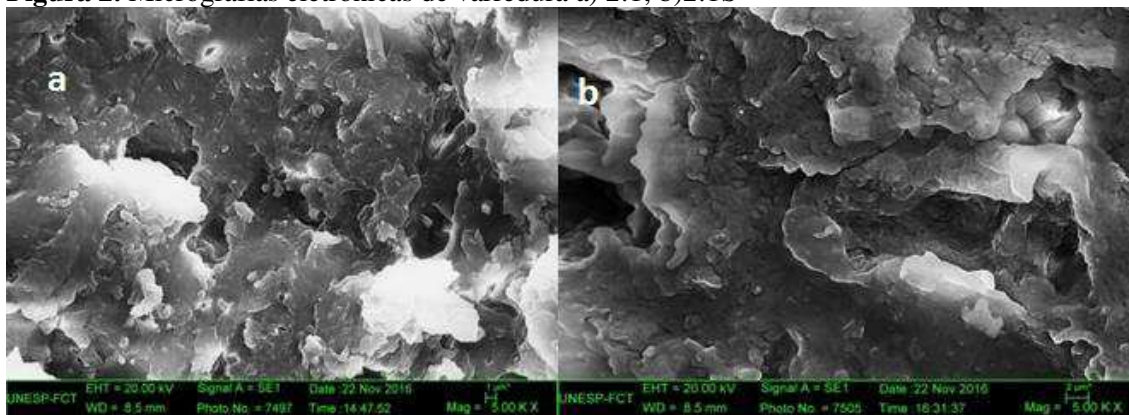
Os sistemas microencapsulados e seus componentes foram submetidos à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para averiguação da morfologia. As micrografias da cera de abelha, ureia e sulfato de magnésio encontram-se reunidas na Figura 1 abaixo, os sistemas microencapsulados na Figura 2.

Figura 1. Micrografias eletrônicas de varredura a) Cera de abelha, b) Ureia e c) sulfato de magnésio



Observou-se na cera de abelha (a) superfície pouco irregular, íntegra, selada, sem porosidade e lisa, entretanto, a ureia (b) e o sulfato de magnésio (c) apresentam superfície rugosa, apresentando fissuras e porosidade.

Figura 2. Micrografias eletrônicas de varredura a) 2:1, b)2:1S



O sistema 2:1 (Figura 2a) apresentou uma superfície bastante semelhante à da cera de abelha, indicando que a ureia encontra-se no interior da micropartícula, embora haja uma pequena quantidade de ureia exposta. Já no sistema 2:1S (Figura 2b), a

microestrutura nitidamente rugosa e com aglomerados, indica a presença considerável de ureia superficial, provavelmente devido à presença da fonte de enxofre, a qual diminuiu a efetividade da proteção, provocando exposição da fonte de nitrogênio.

Os dados obtidos a partir da curva termogravimétrica encontram-se no Gráfico 1 e Tabela 1 a seguir.

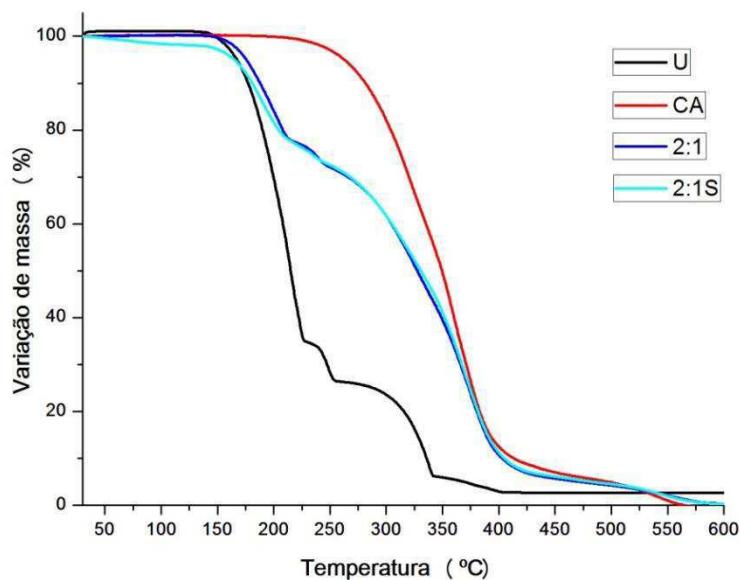


Gráfico 1. Curvas termogravimétricas (Curvas TG)

Tabela 1. Dados extraídos da Curva termogravimétrica (Curva TG)

MATERIAL	T _{onset} (°C)	T _{10%} (°C)	T _{20%} (°C)	T _{30%} (°C)	T _{50%} (°C)
U (Ureia)	170,5	176	188,43	198,42	213,46
CA (Cera de abelha)	294,1	281,03	303,47	321,10	349,95
2:1	174,7	186,58	207,42	265,12	327,60
2:1S	171,2	180,26	202,73	264,87	328,99

T_{onset} é o parâmetro mais utilizado para estimar a estabilidade térmica de um material e é considerado o ponto onde a degradação térmica se inicia. T_{10%}, T_{20%}, T_{30%} e T_{50%} são as temperaturas necessárias para que ocorressem 10, 20, 30 e 50% de perda de massa devido à decomposição térmica, respectivamente.

A cera de abelha apresentou temperatura inicial de degradação em 294 °C, enquanto a ureia em 170,5 °C.

Quando comparados à ureia isolada, observou-se uma melhora na estabilidade térmica da ureia nos sistemas microencapsulados, sendo mais alta a estabilidade térmica do sistema 2:1, o que corrobora o sugerido nas micrografias em relação à presença de ureia superficial para o sistema 2:1S, diminuindo, portanto, a efetividade da proteção.

A presença de cera de abelha ofereceu à película de fécula de mandioca (utilizado para a conservação de vegetais após sua colheita) uma tendência, ou seja,

melhora na estabilidade térmica, semelhante relatada por Jafari et al (2015); Rocca-Smith et al (2016); Zhu et al (2017).

Além de maior temperatura inicial de degradação, observou-se também que o sistema 2:1 propiciou uma perda de massa mais lenta, exigindo temperaturas superiores, em comparação à ureia isolada e também à formulação 2:1S, para que ocorressem perdas de 10, 20 e 30%. As formulações só apresentaram valores semelhantes para a perda de 50% de massa. Isso comprova que, de fato, o sistema que não recebeu enxofre apresenta pouca ureia superficial e proporcionou um sistema em que esta se encontra melhor protegida.

No tocante à Calorimetria exploratória diferencial (DSC), os dados extraídos das curvas de DSC encontram-se no Gráfico 2 e Tabela 2.

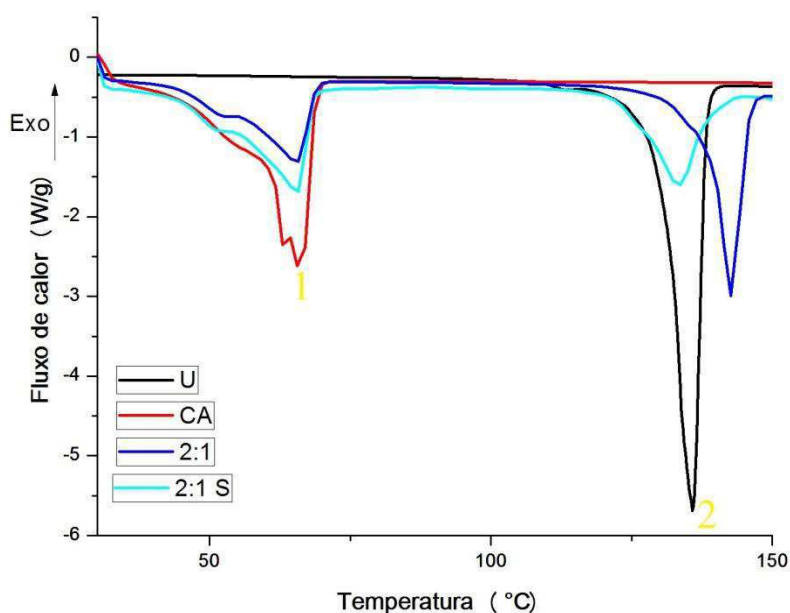


Gráfico 2. Curvas de DSC

Tabela 2. Dados extraídos das Curvas de DSC

MATERIAL	Tf – Cera de abelha (°C) – 1	Tf – Ureia (°C) – 2
U	-	135,83
CA	65,61	-
2:1	65,8	142,75
2:1S	65,75	133,75

Ureia, cera de abelha e as formulações apresentaram apenas eventos endotérmicos, dentro do intervalo de temperatura investigado. Esses eventos foram atribuídos à fusão da cera de abelha (Evento 1) e da ureia (Evento 2). A cera de abelha e

a ureia apresentaram temperatura de fusão em 65,61 e 135,83 °C respectivamente, valores estes em concordância com a literatura, em que, de acordo com Barros et al. (2009), o ponto de fusão ideal para a cera de abelha não adulterada encontra-se em torno de 64 °C, enquanto, conforme Malavolta (1981), o ponto de fusão da ureia é em torno de 132 °C.

Os resultados revelam que a temperatura de fusão dos sistemas microencapsulados não sofreu variação quando comparados à cera de abelha e que é seguro armazená-los ou utilizá-los em processamento que envolve calor até cerca de 65 °C.

Na faixa de temperatura em que a ureia funde, observou-se um aumento na temperatura de fusão da formulação 2:1 quando comparada à ureia livre. Isso indica que, mesmo já fundida, a cera conseguiu proteger a ureia, o que não ocorreu com tanta efetividade na formulação 2:1S devido a uma maior exposição de ureia, como já constatado anteriormente por MEV e TG.

Quanto ao teor de umidade, as formulações 2:1 e 2:1S apresentaram valores de $1,83 \pm 0,10$ e $1,72\% \pm 0,18$. Alimentos com alta umidade residual irão se deteriorar mais rapidamente se comparados aos alimentos com baixo teor de umidade residual, estudos mostram que é necessária uma umidade de 4% ou menos para alimentos em pó (ZAYED; ROOS, 2004). Ambas as formulações apresentaram valores satisfatórios.

Outro parâmetro importante na caracterização de um produto em pó refere-se à sua atividade de água. Os sistemas microencapsulados 2:1 e 2:1S apresentaram atividade de água de $0,52 (25 \text{ °C}) \pm 0,0015$ e $0,42 (25 \text{ °C}) \pm 0,0005$, respectivamente.

Segundo Troller (1980), valores baixo de 0,6 são considerados seguros quanto ao crescimento microbiano. Tendo em vista tal informação, os dois sistemas apresentaram valores adequados para um produto alimentício.

Outra análise de suma importância para averiguar sistemas microencapsulados é a Espectroscopia na região do infravermelho, visto que possibilita avaliar a compatibilidade química entre núcleo e encapsulante.

Os dados foram interpretados, tomando por base Rizzo (2008), Barros et al., (2016) e Tresintsi et al., (2014).

Os espectros de infravermelho dos materiais estudados encontram-se no Gráfico 3 e Tabela 3.

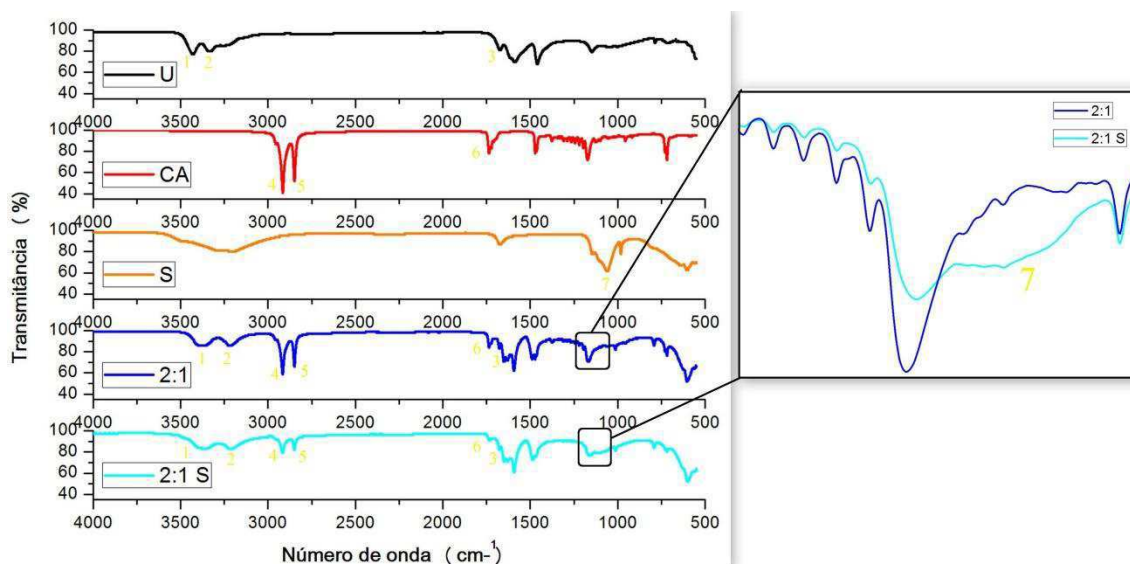


Gráfico 3 . Espectrogramas FTIR da Ureia, Cera de abelha e Formulações (2:1; 2:1S).

Tabela 3. Principais bandas observadas no espectrograma (Em cm^{-1}):

MATERIAL	1	2	3	4	5	6	7
U	3428	3330	1672	-	-	-	-
CA	-	-	-	2915	2847	1736	-
S	-	-	-	-	-	-	1110
2:1	3375	3216	1677	2915	2847	1736	-
2:1S	3361	3212	1675	2916	2848	1735	1110
Atribuição	N-H	N-H	C=O	C-H	C-H	C=O	SO ₄ ²⁻

As principais bandas de absorção típicas da ureia foram identificadas em 3428 e 3330 cm^{-1} , atribuídas à vibração assimétrica e simétrica da ligação N-H e em 1672 cm^{-1} , atribuída à ligação C=O. Já a cera de abelha apresentou bandas típicas de absorção em 2915 e 2847 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento da ligação C-H e em 1736 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C=O. Já a fonte de enxofre utilizada apresentou banda característica em 1110 cm^{-1} , atribuída ao íon SO₄²⁻ e estando em concordância, visto que o sulfato de magnésio heptaidratado foi utilizado no estudo.

A partir dos espectros de absorção dos sistemas microencapsulados foi possível observar que todas as principais bandas atribuídas à ureia e cera de abelha isoladas se mantiveram, atestando que a integridade de cada fase foi mantida, pois não são reativos, ou seja, a cera é uma opção adequada para encapsular a ureia, pois há compatibilidade química. As bandas localizadas em 3429 e 3332 cm^{-1} foram as únicas que apresentaram variação considerável nas formulações quando comparadas à ureia isolada, pois houve um deslocamento para uma região menor do espectro, além de um pequeno alargamento.

Isso indica uma possível ocorrência de interação do hidrogênio do grupo em questão (N-H), o que é aceitável, visto que a ureia sofre facilmente interações intermoleculares (Ponte de H). Essa interação não acarreta em nenhum problema para o estudo. O espectro de infravermelho da formulação 2:1S apresentou banda em 1110 cm^{-1} , atribuída ao íon sulfato, confirmando a presença deste no sistema. Esta banda não foi observada na formulação 2:1, conforme já se esperava.

4. Conclusão

Ambos os sistemas microencapsulados exibiram alta retenção de ureia, assim como excelentes valores de rendimentos, confirmando ser apropriado o emprego da cera de abelha e liofilização para a finalidade do presente estudo.

Entre as formulações averiguadas e mediante as constatações feitas, destaca-se o sistema 2:1, o qual exibiu os maiores valores de rendimento, maior eficiência de microencapsulação, maior estabilidade térmica e, conseqüentemente, uma melhor proteção para a ureia, ressaltando a influência negativa da incorporação da fonte de enxofre no sistema microencapsulado.

A obtenção de ureia microencapsulada utilizando a cera de abelha evidenciou o grande potencial desta matéria-prima para tal utilização, em que se recomenda, a partir do investigado no presente estudo, que a suplementação da fonte de enxofre seja feita à parte e não microencapsulada junto com a ureia, visto que provocou maior exposição da fonte de nitrogênio, o que sugere uma proteção menos efetiva, possível mais rápida taxa de liberação, o que é indesejável, principalmente mediante a utilização desta em dietas que visam liberação gradual.

5. Referências Bibliográficas

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 17th ed. Virginia, 2000.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara. v. 16, 89-97, 2005.

AZEVEDO, E. B.; PATIÑO, H. O.; SILVEIRA, A. L. F.; LÓPEZ, J.; BRÜNING, G.; KOZLOSKI, G. V. Incorporação de ureia encapsulada em suplementos proteicos fornecidos para novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, 38, 1381-1387, 2008.

BARROS, A. I. R. A; NUNES, F. H. F. M.; COSTA, M. M. F. D. **Manual de Boas Práticas na Produção de Cera de Abelha**. Lisboa: Princípios gerais, 2009.

BARROS, A.A.; SANTOS, R.; CARDOSO, G. Caracterização química e morfológica de mistura de ureia com vermiculita encapsulada em derivado celulósico. **Scientia Plena**, v.12 n.8, 2016.

BARTLEY, E. E.; DEYOE, C. W. Starea as a protein replacer for ruminants. A review of 10 years of research. **Feedstuffs**, 47, 42-44, 1975.

CASS, J. L.; RICHARDSON, C. R. In vitro ammonia release from urea/calcium compounds as compared to urea and cottonseed meal. **National Research Technology Report**. Texas Tech University, 1994.

FORERO, O.; OWENS, F. N.; LUSBY K. S. Evaluation of slow-release urea for winter supplementation of lactating range cows. **Journal of Animal Science**, 50, 532-538, 2001.

GALO, E.; EMANUELE, S. M.; SNIFFEN, C. J.; WHITE, J. H.; KNAPP, J. R. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 86, 2154-2162, 2003.

GONSALVES, J. K. M. C.; COSTA, A. M. B; DE SOUSA, D. P.; AVALCANTI, S. C. H.; NUNES, R. S. Microencapsulação do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck pelo método da coacervação simples. **Scientia Plena**, v. 5, p. 111102, 2009.

JAFARI, S. M.; KHANZADI, M.; MIRZAEI, H.; DEHNAD, D.; CHEGINI, F. K.; MAGHSOUDLOU, Y. Hydrophobicity, thermal and micro-structural properties of whey protein concentrate–pullulan–beeswax films. **International Journal of Biological Macromolecules**. 2015.

LÖEST, C. A.; TITGEMEYER, C. E.; LAMBERT, B. D.; TRATER, A. M. Branched-chain aminoacids for growing cattle limited-fed soybean hull-based diets. **Journal of Animal Science**, 79, 2747-2753, 2001.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: adubos e adubação**. 3.ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1981.

PEREIRA, O. G. et al. Consumo e digestibilidade dos nutrientes e desempenho de bovinos de corte recebendo dietas com diferentes níveis de ureia. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 552-562, 2008.

PROKOP, M. J.; KLOPFENSTEIN. T. J. Slow ammonia release urea. **Nebraska Beef Cattle Report**. 1997.

ROCCA-SMITH, J. R.; MARCUZZO, E.; KARBOWIAK, T.; CENTA, J.; GIACOMETTI, M.; SCAPIN, F.; VENIR, E.; SENSIDONI, S.; DEBEAUFORT, F. Effect of lipid incorporation on functional properties of wheat gluten based edible films. **Journal of Cereal Science**. 2016.

RIZZO, M. M., **Caracterização físico-química de materiais de esculturas de cera do Museu Alpino**. 2008. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SANTOS, F. A. P.; PEDROSO, A. M. **Metabolismo de proteínas**. In: Nutrição de Ruminantes. 2 ed. Jaboticabal. FUNEP. 2011.

SHAHIDI, S.; HAN, XIAO-QING. En capsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SOUZA, C.; FREITAS, A. P.; CAMPOS, P. M. B. G. Topical Formulation Containing Beeswax-Based Nanoparticles Improved In Vivo Skin Barrier Function. American Association of Pharmaceutical Scientists, 2017.

TODD, R. D. Microencapsulation and flavour industry. **Flavour Industry**, London, v. 1, n.11, p. 768-771, 1970.

TRESINTSI, S.; SIMEONIDIS, K.; PLIATSIKAS, N.; VOURLIAS, G.; PATSALAS, P.; MITRAKAS, M.; The role of SO₂ - 4 surface distribution in arsenic removal by iron oxy-hydroxides. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 213, p. 145-151, 2014.

TROLLER, J. A. Influence of water activity on microorganisms in foods. **Food Technology**, v. 34, p. 76-82, 1980.

ZAYED, G.; ROOS, Y.H. Influence of trehalose and moisture content on survival of *Lactobacillus salivarius* subjected to freeze-drying and storage. **Process Biochemistry**, v.39, p.1081-1086, 2004.

ZHU, J.; ZHANG, S.; ZHANG, B.; QIAO, D.; PU, H. LIU, S.; LI, L. Structural features and thermal property of propionylated starches with different amylose/amylopectin ratio. **106 International Journal of Biological Macromolecules**. 2017.

CAPÍTULO II –
Micropartículas de Cera de Abelha Contendo Ureia na Dieta de Ovinos: Influência
na Ingestão, Digestibilidade e Balanço de Nitrogênio

Micropartículas de Cera de Abelha Contendo Ureia na Dieta de Ovinos: Influência na Ingestão, Digestibilidade e Balanço de Nitrogênio

Resumo

O presente estudo propôs-se a avaliar a ingestão, digestibilidade dos nutrientes e o balanço de nitrogênio em ovinos recebendo dietas com níveis crescentes de inclusão de ureia microencapsulada em matriz lipídica de cera de abelha. Foi conduzido um ensaio de digestibilidade utilizando 12 ovinos, machos, inteiros, SRD, com peso médio de 30 kg \pm 6, os quais foram alojados em gaiolas de metabolismo. Este ensaio teve duração de 19 dias sendo 14 dias de adaptação às gaiolas e à dieta (não houve adaptação progressiva à ureia microencapsulada, os teores foram exatamente os fixados nas dietas experimentais) e 5 dias de coleta total de fezes e urina. Os tratamentos corresponderam às quatro dietas experimentais, com níveis crescentes de substituição proteica pelo material microencapsulado de 0%; 1,5%; 3% e 4,5% de ureia microencapsulada na dieta total (a ureia microencapsulada era composta por 2 partes de cera de abelha e 1 parte de ureia, ou seja, 1,5%; 3,0% e 4,5% de microencapsulado na dieta total correspondiam a 0,5%; 1,0% e 1,5% de ureia na dieta total). Foram determinados os teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral, matéria orgânica, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, nos alimentos oferecidos, sobras e fezes. Foi determinado também o teor de nitrogênio nas amostras de urina para determinar os efeitos da dieta sobre o balanço de nitrogênio. A substituição da proteína verdadeira da soja pelo NNP encapsulado em matriz lipídica de cera de abelha até 4,5% não promoveu efeito negativo ($P>0,05$) no consumo de MS e nutrientes das dietas. A substituição da proteína verdadeira da soja pelo NNP encapsulado em matriz lipídica de cera de abelha até 4,5% promoveu incremento na digestibilidade da FDN e FDA das dietas estudadas. Não houve efeito negativo para balanço de nitrogênio. A liberação lenta do sistema microencapsulado permitiu o teor de até 1,5% de ureia na dieta total sem adaptação prévia progressiva à ureia nas dietas, nas condições do presente estudo.

Palavras-chave: ureia de liberação lenta, partículas lipídicas, ensaio de digestibilidade *in vivo*

Microspheres of beeswax containing urea in the diet of sheep: Influence on intake, digestibility, and nitrogen balance

Abstract

This study aimed at evaluating intake, nutrient digestibility, and nitrogen balance in sheep fed diets containing increasing levels of microencapsulated urea in a beeswax matrix. It was performed a digestibility test using 12 non-castrated crossbred male sheep with mean weight of 30 kg \pm 6 kg and 18 months old, housed in metabolic cages. This test lasted 19 days and 14 days of adaptation to the cages and diet (there was no progressive adaptation to microencapsulated urea, the levels used were exactly those defined to the experimental diets) and 5 days of total collection of feces and urine. Treatments corresponded to the four experimental diets, with increasing levels of protein replacement with microencapsulated material of 1.5%; 3%, and 4.5% in the total diet (microencapsulated urea was composed by 2 parts of beeswax and 1 part of urea, what means that 1.5%; 3.0%, and 4.5% of microencapsulated material corresponded to 0.5%; 1.0%, and 1.5% of urea in the total diet, respectively). The content of dry matter, crude protein, ether extract, mineral matter, organic matter, neutral detergent fiber, and acid detergent fiber were determined in feed, scraps, and feces. It was also determined the content of nitrogen in the urine samples to investigate the effects of the diet on nitrogen balance. The replacement of true soybean protein with microencapsulated NPN until 4.5% did not present any negative effect on the dry matter, nutrients intake or nitrogen balance, but there was an increase in neutral and acid detergent fiber digestibility. The slow-release microencapsulated system development allowed the insertion of up to 1.5% of urea to the total diet without any prior progressive adaptation, under the conditions of this study.

Keywords: slow-release urea, lipid particles, *in vivo* digestibility test

1. Introdução

A ureia destaca-se como fonte de nitrogênio não proteico (NNP), sendo bastante utilizada na alimentação de ruminantes, apesar de sofrer limitações devido à sua baixa aceitabilidade, sua segregação quando misturada com outros ingredientes e sua alta toxicidade, que é agravada pela elevada degradabilidade no rúmen, devido à presença da urease.

De modo geral, a ureia não deve constituir mais de 3% da ração concentrada dos ruminantes e estes animais devem passar por um período de adaptação à dieta, desenvolvendo uma tolerância a esta substância. Esta tolerância é perdida caso o animal não receba a ureia por um dia ou mais (RADOSTITS, 2002).

Quando presente no rúmen, a ureia sofre ação da urease, produzindo amônia. De acordo com Smith (2006), a amônia produzida em excesso irá sobrecarregar os microrganismos ruminais, que não serão capazes de convertê-la em aminoácidos, como também o fígado, que não será capaz de detoxificar de forma eficiente o sangue, convertendo, novamente, a amônia em ureia para excreção. Os teores de amônia ao se elevarem no rúmen, elevam o pH ruminal, e com isso, propicia a transformação de íons amônia com carga positiva em íons de amônia de carga negativa, sendo o último rapidamente absorvido, aumentando assim a concentração de amônia no sangue.

Uma fonte de NNP com liberação lenta de amônia oferece vantagens por aumentar a disponibilidade da amônia na síntese microbiana e reduzir sua toxidez (BARTLEY; DEYOE, 1975).

A microencapsulação desempenha importante papel na indústria química, alimentícia, agropecuária, farmacêutica (DUBEY et al., 2009). Na indústria de alimentos, em especial, é uma técnica bastante utilizada para incorporação de compostos bioativos, como corantes naturais, compostos antimicrobianos, antioxidantes e minerais (MCCLEMENTS, 2014), além de possibilitar também a inserção de aditivos que alteram textura, melhoram a qualidade nutricional ou controlam certas propriedades (EZHILARASI, 2013).

Uma opção interessante com propriedades desejáveis a ser estudada como encapsulante para liberação lenta da ureia é a cera de abelha, visto que pertence a uma classe de compostos que atendem requisitos para um bom revestimento, pois exhibe

características como hidrofobicidade, resistência à umidade e adequado ponto de fusão permitindo homogeneidade no envolvimento (SOUZA et al., 2017).

A microencapsulação do NNP com será de abelha irá proporcionar uma liberação lenta da amônia, aumentando a disponibilidade da mesma na síntese microbiana e diminuindo a toxidez.

Desta forma, propôs-se com o presente estudo avaliar ingestão, digestibilidade dos nutrientes e o balanço de nitrogênio em ovinos recebendo dietas com níveis crescentes de substituição da fonte de nitrogênio por ureia microencapsulada em matriz lipídica de cera de abelha.

2. Material e Métodos

2.1. Local do experimento

Os sistemas microencapsulados foram processados no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Centro de Saúde e Tecnologia Rural/CSTR no município de Patos – PB.

O experimento foi desenvolvido na fazenda experimental NUPEÁRIDO, e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, localizada no município de Patos – PB, na mesorregião do sertão paraibano, que se caracteriza por apresentar um clima BSH (Köppen), com temperatura anual média máxima de 32,9 °C e mínima de 20,8 °C e umidade relativa de 61% (BRASIL, 1992).

2.2. Obtenção da ureia microencapsulada

De acordo com o já apresentado no capítulo I, a formulação 2:1, a qual não teve adição de fonte de enxofre, exibiu os maiores valores de rendimento, eficiência de microencapsulação e estabilidade térmica, tornando a ureia mais efetivamente protegida e, portanto, mais adequada para propiciar liberação gradual da mesma. Por esta razão, este sistema microencapsulado foi utilizado nesta segunda etapa do estudo.

2.3. Animais e manejo

Este estudo foi realizado em estrita conformidade com as recomendações contidas no Guia do Conselho Nacional de Controle de Experiências em Animais (CONCEA). O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentos com Animais da Universidade Federal de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil (Número de Permissão: 070/2016).

Foi conduzido um ensaio de digestibilidade utilizando 12 ovinos, machos, inteiros, SRD, com peso médio de 30 kg \pm 6, os quais foram alojados em gaiolas de metabolismo medindo 1,00 m de comprimento com 0,60 m de largura. Este ensaio teve duração de 19 dias sendo 14 dias de adaptação às gaiolas e à dieta e 5 dias de coleta total de fezes e urina.

Previamente ao início do experimento, os animais foram identificados, numerados, vermifugados, pesados, sorteados de acordo com os tratamentos e mantidos em baias individuais.

As dietas foram ajustadas para atender às exigências nutricionais para ovinos na faixa de 30 kg e ganho médio diário de 200 g segundo o NRC (2007), compostas de 60% de volumoso e 40% de concentrado (Tabela 1).

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais

	Teores de ureia microencapsulada nas rações experimentais			
	0%	1,5%	3%	4,5%
Feno de tifton	60,00	60,00	60,00	60,00
Farelo de soja	10,77	7,81	4,85	0,40
Milho moído	28,19	29,69	31,15	34,10
Encapsulado	0,00	1,50	3,00	4,50
Calcário calcítico	0,04	0,00	0,00	0,00
Ircarfós Ovino	1,00	1,00	1,00	1,00
TOTAL	100	100	100	100

As dietas foram compostas por Tifton 85 (*Cynodon spp.*), farelo de soja, milho moído, calcário calcítico e Ircarfós ovino 70, com níveis crescentes de substituição proteica pelo material microencapsulado (0,0%; 1,5%; 3% e 4,5% de ureia microencapsulada em matriz de cera de abelha) na dieta total. Os ingredientes (Tabela 2) e a ração de cada tratamento (Tabela 3) foram analisadas bromatologicamente.

Tabela 2. Composição bromatológica dos componentes das dietas experimentais

	MS%	Expressos em % da MS					
		PB	EE	FDN	FDA	MM	EB
Feno de Tifton	92,25	9,61	2,64	77,02	43,13	8,33	4,62
Farelo de Soja	90,71	48,86	5,49	19,76	9,52	7,01	4,35
Milho moído	88,86	9,39	3,01	15,83	4,30	1,51	4,84
Encapsulado	97,92	93,90	53,96	11,86	7,99	0,32	-

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; MM: matéria mineral; EB: energia bruta.

Tabela 3. Composição bromatológica das dietas experimentais em função do teor de ureia microencapsulada

DIETA	MS%	(% na MS) das dietas experimentais					
		PB	EE	FDN	FDA	MM	EB
0%	91,20	13,67	3,03	52,81	28,12	6,20	4,66
1,5%	91,28	13,77	3,70	52,63	28,02	6,00	4,60
3%	91,36	13,88	4,41	52,46	27,92	6,00	4,55
4,5%	91,41	13,42	5,00	52,22	27,74	5,55	4,49

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; MM: matéria mineral; EB: energia bruta.

2.4. Ensaio de digestibilidade *in vivo*

Os animais foram alimentados de acordo com os tratamentos, às 7 h e às 14 h, e a quantidade fornecida era registrada e ajustada diariamente de forma que as sobras fossem de aproximadamente 10% em relação ao consumo do dia anterior. Com água fornecida *ad libitum*.

Diariamente, o alimento oferecido, as sobras e fezes e urina eram pesados, individualmente, sendo também medido o volume de urina produzida. Diária e individualmente, foram retiradas: amostra do alimento oferecido, toda a sobra de alimento do dia anterior, 10% da quantidade total de fezes e 10% do volume de urina produzida.

Cada gaiola metabólica era equipada com um dispositivo para separação e coleta total de fezes e coleta total de urina. Para evitar a perda de compostos nitrogenados da urina por volatilização, foi colocada uma solução de ácido clorídrico à 10N, no recipiente antes da coleta, em volume correspondente a 10 mL da quantidade de urina produzida no dia anterior. As amostras diárias e individuais de alimento, sobras, urina e fezes foram resfriadas a temperatura de -25°C até o final do ensaio, quando então foram compostas para cada animal.

As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do CSTR da UFCG, seguindo as metodologias descritas por AOAC (2000). Foram determinados os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), nos alimentos oferecidos, sobras e fezes. Foi determinado também o teor de nitrogênio nas amostras de urina.

Os carboidratos totais foram calculados segundo metodologia descrita por Sniffen et al. (1992), sendo que $CHOT = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$ e os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos subtraindo-se dos CHOT a fração FDN.

A ingestão de nutrientes foi calculado pela diferença entre a quantidade do nutriente presente nos alimentos fornecidos e a quantidade do nutriente nas sobras. Posteriormente, calculou-se o consumo de cada nutriente digestível, multiplicando a quantidade de nutriente consumido pela sua digestibilidade e o resultado foi expresso em gramas/dia.

A digestibilidade dos nutrientes foi determinada segundo a equação: $\text{digestibilidade (\%)} = [\text{nutriente ingerido (g)} - \text{nutriente excretado nas fezes (g)} / \text{nutriente ingerido (g)}] * 100$ e O NDT dos alimentos foi calculado a partir da seguinte fórmula: $\text{NDT} = \text{PBD} + \text{CNFD} + \text{FDNpD} + 2,25 * \text{EED}$.

2.5. Balanço de nitrogênio

Para avaliar os seus efeitos sobre o balanço de nitrogênio, o teor de nitrogênio (N) na urina foi calculado pelo método Kjeldahl, descrito por AOAC (2000), e o balanço de N foi obtido utilizando-se a fórmula: $\text{N retido} = [(\text{N fornecido g} - \text{N das sobras g}) - (\text{N nas fezes g} + \text{N na urina g})]$. O nitrogênio absorvido foi calculado pela equação: $\text{N absorvido} = [(\text{N fornecido g} - \text{N das sobras g}) - (\text{N nas fezes g})]$ e o N ingerido pela equação: $\text{N ing} = [(\text{N fornecido g} - \text{N das sobras g})]$.

2.6 Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de regressão pelo Statistical Analysis Systems (2003), aplicando-se o teste Tukey a 5% de probabilidade.

3. Resultados e discussão

A substituição de parte do farelo de soja pela ureia microencapsulada em cera de abelha não influenciou ($P > 0,05$) nenhuma das variáveis de consumo nos diferentes tratamentos (Tabela 4).

Os resultados encontrados para CMS foram semelhantes 784,5; 787,7; 904,5 e 812,5 g/dia ($p > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 4), uma vez que os valores nutricionais das dietas foram próximos (Tabela 3), o que ocasionou consumos médios similares por animal por dia.

Esses dados corroboram com os encontrados por Azevedo et al. (2015), onde foi avaliado efeito da substituição da proteína bruta do farelo de soja pela uréia de liberação lenta (Optigen II, Alltech, Nicholasville, KY, EUA) sobre o desempenho, as

características de carcaça e o custo alimentar de 48 bovinos machos inteiros da raça Nelore, terminados em confinamento. Para os mesmos, é provável que a proteína microbiana proveniente do NNP fornecida pela ureia de liberação lenta tenha sido capaz de suprir as exigências de proteína metabolizável dos animais em terminação.

Benedetti et al. (2014), observaram efeito linear decrescente ($p < 0,10$) sobre CMS, ao avaliar a influência da substituição de 0, 33, 66 e 100% da PB do farelo de soja por ureia de liberação lenta, em dietas de terminação de bovinos de corte. Os autores atribuem tal resultado a alta digestibilidade do milho utilizado na formulação das dietas, a elevada superfície específica do alimento e a oferta da dieta apenas uma vez ao dia podem ter ampliado a disponibilidade da energia, o que não seria acompanhado pela assimilação de nitrogênio no rúmen, que, teoricamente, seria liberado gradativamente pela ureia de liberação lenta.

No presente estudo não houve diferença no consumo de proteína bruta entre os tratamentos. Demonstrando que a composição proteica da dieta influencia a quantidade de proteína bruta ingerida e não as fontes.

Tabela 4. Valores médios de consumo dos nutrientes da dieta de ovinos recebendo adição crescente de ureia microencapsulada

g/dia	Teor de ureia microencapsulada na ração				Linear	Quadrática
	0%	1,5%	3%	4,5%	P value	P value
Matéria seca	784,5	787,7	904,5	812,5	0,867	0,972
Proteína bruta	107,27	108,49	125,51	109,07	0,891	0,964
Extrato etéreo	23,77	29,14	39,89	40,63	0,221	0,482
Fibra em detergente neutro	414,3	414,6	474,5	424,3	0,886	0,975
Fibra em detergente ácido	220,6	220,7	252,5	225,4	0,890	0,975
Matéria mineral	48,64	47,26	54,27	45,10	0,959	0,970
Carboidratos totais	604,8	602,8	684,8	617,7	0,895	0,980
Carboidratos não fibrosos	190,6	188,2	210,3	193,4	0,915	0,988
Energia bruta	3656	3623	4116	3648	0,931	0,981

O encapsulamento do NNP em cera de abelha poderia ser um fator desfavorável ao consumo por fatores sensoriais como a palatabilidade, tais informações comprovam que o encapsulamento de NNP com utilização de cera de abelha não produziu fatores sensoriais que limitassem a resposta ao consumo nos tratamentos utilizados.

As médias para os coeficientes de digestibilidade total dos nutrientes das dietas encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Valores médios dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca e de nutrientes em ovinos alimentados com adição crescente de ureia microencapsulada com cera de abelha na dieta

%	Teor de ureia microencapsulada na ração				Linear	Quadrática
	0%	1,5%	3%	4,5%	P value	P value
Matéria seca	58,564	60,221	66,059	64,269	0,161	0,351
Proteína bruta	64,918	59,811	64,169	65,095	0,771	0,701
Extrato etéreo	38,01	34,32	46,70	27,77	0,626	0,592
Fibra em detergente neutro	49,532	57,023	59,202	62,247	0,031	0,095
Fibra em detergente ácido	30,518	31,488	40,967	41,393	0,004	0,024
Matéria mineral	29,082	34,883	39,086	34,815	0,261	0,256
Carboidratos totais	62,397	68,305	69,671	68,674	0,121	0,141
Carboidratos não fibrosos	90,364	93,160	93,286	82,775	0,057	0,000
Energia bruta	41,834	37,528	38,050	42,856	0,161	0,351
Nutrientes digestíveis totais	59,574	63,367	66,289	64,072	0,771	0,701

Os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB, EE, MM, CHOT, EB E NDT não tiveram diferença estatística entre as dietas experimentais (Tabela 5).

A digestibilidade da FDN mostrou resposta linear positiva ($Y = 50,95 + 2,68X$) e a digestibilidade da FDA mostrou resposta linear e quadrática ($Y = 39,31 + 4,63X$ e $Y = 39,36 + 4,51X + 0,253X^2$) em relação ao aumento do teor de ureia microencapsulada, possivelmente pela melhora na atividade dos microrganismos responsáveis pela fermentação da fibra no rúmen.

Corroborando com Oliveira Júnior et al. (2004), que constataram maior digestibilidade de FDN e FDA em novilhos canulados alimentados com a substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia (uréia de liberação lenta), entretanto, os demais coeficientes de digestibilidade (MS, MO, PB, EE, CNF) foram semelhantes entre os tratamentos.

A digestibilidade dos carboidratos não fibrosos no presente experimento mostrou efeito linear decrescente ($P < 0,1$) e efeito quadrático ($P < 0,05$) significativo ($Y = 93,29 - 1,51X$ e $Y = 89,96 + 5,14X - 1,478X^2$).

Na formulação das dietas com NNP microencapsulado, na substituição de parte do farelo de soja, foi acrescido milho. Essa maior quantidade de milho nestas dietas, 6%

a mais de milho da dieta com 4,5% de encapsulado em relação à dieta controle (Tabela 1), pode ter influenciado a digestibilidade dos CNF. O amido que escapa da digestão é excretado nas fezes e dependendo da digestibilidade, significa perdas em desempenho e representa prejuízo.

Esta mesma tendência foi encontrada por Gonçalves et al. (2014) onde foi avaliado consumo, digestibilidade, produção e composição do leite após substituição do farelo de soja por ureia convencional e protegida em vacas leiteiras. O tratamento controle promoveu maior digestibilidade das frações de CNF, sendo de 95,11%. A inclusão de ureia protegida afetou em comparação ao grupo controle a menor digestibilidade de CNF entre as demais dietas experimentais.

A substituição da proteína verdadeira da soja pelo NNP da ureia microencapsulada em cera de abelha não influenciou negativamente as variáveis para balanço de nitrogênio (Tabela 6).

Tabela 6. Balanço aparente de nitrogênio em ovinos alimentados com dietas contendo inclusão crescente de ureia microencapsulada em cera de abelha

Variável	Teor de ureia microencapsulada na ração				Linear P value	Quadrática P value
	0%	1,5%	3%	4,5%		
Nitrogênio ingerido g dia ⁻¹	18,04	18,40	21,29	19,61	0,7774	0,9498
g/kg ^{0,75} dia	1,25	1,40	1,49	1,34	0,7890	0,8569
Nitrogênio nas fezes g dia ⁻¹	4,79	5,45	4,69	5,67	0,8466	0,9800
Nitrogênio na urina g dia ⁻¹	6,80	7,27	6,53	6,83	0,9280	0,9949
Nitrogênio absorvido g dia ⁻¹	13,24	12,94	16,59	13,94	0,7516	0,9163
g/kg ^{0,75} dia	0,93	0,98	1,17	0,96	0,7637	0,7774
Nitrogênio retido g dia ⁻¹	6,44	5,66	10,06	7,10	0,5983	0,8107
g/kg ^{0,75} dia	0,44	0,41	0,71	0,48	0,5676	0,7056
N retido/ N ingerido	0,32	0,25	0,47	0,35	0,7250	0,9259
N retido/N absorvido	0,42	0,36	0,60	0,48	0,3558	0,6433

Como as dietas experimentais foram isoproteicas e não houve diferenças no consumo de MS, era esperada uma similaridade na ingestão do nitrogênio.

O Nitrogênio ingerido assemelha-se ao encontrado por Santos, et al. (2012), onde foi feito o balanço de nitrogênio em ovinos alimentados com dietas à base de

palma forrageira e diferentes teores de ureia, nas proporções de (0,0; 0,7; 1,4 e 2,1%), utilizando-se ovinos machos adultos com peso vivo médio de $44,50 \pm 6,83$ kg.

Não foi observado diferença ($P>0,05$) para a excreção de compostos nitrogenados na urina e nas fezes entre as dietas experimentais. Como a urina é a principal via de excreção do excesso de amônia ruminal, esse resultado sugere que, em nenhum dos tratamentos utilizados, houve excesso de produção de $N-NH_3$. Esses resultados também foram obtidos por Broderick e Reynal (2009), que relataram que o aumento na inclusão de ureia não alterou a excreção de compostos nitrogenados pela urina.

Referente ao teor de ureia em relação à dieta total, os teores de 1,5%, 3% e 4,5% de ureia microencapsulada em cera de abelha equivaliam a 0,5%, 1% e 1,5% de ureia em relação à dieta total respectivamente; visto que 2 partes do sistema microencapsulado era cera de abelha, ou seja, aproximadamente 33% de ureia no microencapsulado. Segundo Rindsig (1977), a suplementação com ureia não deve ultrapassar 1% da matéria seca total da dieta, com adaptação progressiva dos animais à fonte de NNP.

No presente estudo foi ofertado sem necessidade de adaptação progressiva prévia até 1,5% de ureia na dieta total de ovinos, onde os mesmos não apresentaram sinais clínicos de alcalose ruminal, o que comprova a sua lenta liberação. Não sendo necessário o tempo de adaptação, da dieta contendo ureia, o ganho de peso ou produção dos animais aumenta mais rápido, refletindo-se em ganhos econômicos para o produtor.

4. Conclusão

A substituição da proteína verdadeira da soja pelo NNP encapsulado em matriz lipídica de cera de abelha até 4,5% não promoveu afeito negativo no consumo de MS, nutrientes das dietas e balanço de nitrogênio.

A substituição da proteína verdadeira da soja pelo NNP encapsulado em matriz lipídica de cera de abelha até 4,5% promoveu incremento na digestibilidade da FDN e FDA das dietas estudadas.

A liberação lenta do sistema microencapsulado permitiu o teor de até 1,5% de ureia na dieta total sem adaptação prévia progressiva, nas condições do presente estudo.

5. Referências Bibliográficas

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 17th ed. Virginia, 2000.

AZEVEDO, O.H.; BARBOSA, F.A.; GRAÇA, D.S.; PAULINO, P.V.R.; SOUZA, R.C.; LAVALL, L.T.J.; BICALHO, F.L. Ureia de liberação lenta em substituição ao farelo de sojana terminação de bovinos confinados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 11, p. 1079-1086, 2015.

BARTLEY, E.E.; DEYOE, C.W. 1975. Starea as a protein replacer for ruminants - review of 10 years of research. **Feedstuffs**, v.47. 1975. p.42- 44.

BENEDETI, P.D.B.; PAULINO, P.V.R.; MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; MARTINS, T.S.; LISBOA, E.F.; SILVA, L.H.P.; TEIXEIRA, C.R.V.; DUARTE, M.S. Soybean meal replaced by slow release urea in finishing diets for beef cattle. **Livestock Science**, v.165, p.51-60, 2014.

BRASIL. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. Normas Climatológicas: 1961-1990. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1992. 84 p.

BRODERICK, G.A.; REYNAL, S.M. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.2822-2834, 2009.

DUBEY, S. C., BHAVANI, R.; SINGH, R. Development of Pusa 5SD for seed dressing and Pusa Biopellet 10G for soil application formulations of *Trichoderma harzianum* and their evaluation for integrated management of dry root rot of mungbean (*Vigna radiate*). **Biological Control**, v.50, p.231-242, 2009.

EZHILARASI, P. N.; INDRANI, D.; JENA, B. S.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Freeze drying technique for microencapsulation of *Garcinia* fruit extract and its effect on bread quality. **Journal of Food Engineering**, 17, 513-520, 2013.

GONÇALVES, A. C. de M.; TEIXEIRA, J. C.; SALVADOR, F. M. **Ureia na alimentação de ruminantes**. Disponível em: <http://www.uesc.br/cursos/pos_graduacao/mestrado/animal/bibliografia2011/joseaugusto_artigo2_ureia.pdf> Acesso em: 18 mai. 2016.

MCCLEMENTS, D.J. **Nanoparticle and microparticle-based delivery systems: encapsulation, protection and release of active compounds**. 548 p., CRC Press, 2014.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of small ruminants. 2007.

OLIVEIRA JUNIOR, R.C., et al. Digestibilidade de nutrientes em dietas de bovinos contendo ureia ou amireia em substituição ao farelo de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.2-8, 2004.

OURO FINO PARTICIPAÇÕES E EMPREENDIMENTOS S.A. **Composição alimentícia a base de ureia pecuária revestida para liberação ruminal sustentada e processo para sua preparação**. Patente, 2011. Disponível em: <<http://www.google.com/patents/WO2011116445A2?cl=pt>>. Acesso em: 15 de Maio de 2016.

RADOSTISTS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças de Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RINDSIG, R.B. Practical dairy goat feeding. **Dairy Goat Journal**, v.55, p.12-19, 1977.

SANTOS, F. M. S. C., et al. Balanço de Nitrogênio em Ovinos Alimentados com Dietas à Base de Palma Forrageira e Ureia. **Revista Científica de Produção Animal**, v.14, n.1, p.89-92, 2012.

SAS INSTITUTE. Sas user's guide: statistics. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2003.

SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3 ed. Barueri, SP: Manole. 2006.

SNIFFEN, C. J.; CONNOR, J. D.; Van SOEST, P. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3.562-3.577, 1992.

SOUZA, C.; FREITAS, A. P.; CAMPOS, P. M. B. G. **Topical Formulation Containing Beeswax-Based Nanoparticles Improved In Vivo Skin Barrier Function**. American Association of Pharmaceutical Scientists, 2017.