



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

**ÓLEO DE BURITI (*Mauritia Flexuosa* L.) MICROPARTICULADO EM SISTEMA
MATRICIAL DE CERA DE CARNAÚBA VISANDO PROTEÇÃO NO RÚMEN**

JOANA ANGÉLICA MATIAS DE LIMA

PATOS-PB

2021

JOANA ANGÉLICA MATIAS DE LIMA

**ÓLEO DE BURITI (*Mauritia Flexuosa* L.) MICROPARTICULADO EM SISTEMA
MATRICIAL DE CERA DE CARNAÚBA VISANDO PROTEÇÃO NO RÚMEN**

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. André Leandro da Silva

PATOS-PB

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

L732o Lima, Joana Angélica Matias de.
Óleo de Buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) microparticulado em sistemas matricial de cera de carnaúba visando proteção no rúmen / Joana Angélica Matias de Lima. - Patos, 2021.
59 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Saúde Animal) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2021.

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

Referências.

1. Nutrição Animal. 2. Microencapsulação. 3. Compostos Bioativos. 4. Lipídeos. I. Silva, André Leandro da. II. Título.

CDU 591.53(043)



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: Óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) microparticulado em sistema matricial de cera de carnaúba visando à proteção do ambiente rúmen"

AUTORA: JOANA ANGÉLICA MATIAS DE LIMA

ORIENTADOR: Dr. ANDRÉ LEANDRO DA SILVA

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

Dr. André Leandro da Silva
 UAMV-UFCG
 Presidente

Dra. Tatiana Gouveia Costa Pinto
 DMV/IFPB
 1º Examinadora

Leilson Rocha Bezerra
 UAMV-UFCG
 2º Examinador

Patos - PB, 31 de agosto de 2021

Dr. José Fábio Paulino de Moura



Prof. Coordenador
 Coordenador PPGCA/STRUFCG
 Mat. SIAPE1506999

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Arnaud Simião de Lima (in memória) e Joana Matias de Lima, pois tudo que sou é graças a todo esforço que fizeram para que alcançasse este objetivo. E a minha filha Ana Júlia que é o meu combustível e a minha fortaleza.

"Até aqui o Senhor nos
ajudou".

1 Samuel 7:12

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre ser meu guia, minha rocha e sempre está presente em minha vida.

Ao meu pai *Arnaud Simião de Lima* (in memoriam), que infelizmente não está mais entre nós, para compartilhar de tamanha felicidade da realização desse sonho. Obrigada por tudo! Saudades eternas!

A minha mãe *Joana Matias* por todo apoio, confiança e educação, pois confiou em mim e me deu esta oportunidade de concretizar e encerrar mais um ciclo da minha vida.

Ao meu companheiro de vida, *Davi da Silva*, por toda paciência e ajuda, o seu apoio foi essencial. A minha filha *Ana Júlia* tudo é para você e por você, você é o combustível da minha vida!

As minhas irmãs, *Clara Riquele e Claudia Matias* que de forma direta ou indireta me ajudaram e apoiaram durante toda essa trajetória.

As minhas amigas *Ana Célia e Karina Alencar* por todos os momentos compartilhados juntos e toda ajuda no decorrer desta caminhada, do IFCE para a vida, nosso sonho agora é realidade!

Ao meu orientador, *Prof. Dr. André Leandro da Silva*, que acreditou e investiu tempo e saber nesta empreitada de fazer de mim uma Mestre, obrigada por toda disponibilidade, por todo apoio em todos os momentos, você é luz!

Aos professores e servidores da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CSTR, que ao longo do curso ajudaram de alguma maneira. A todos os meus sinceros agradecimentos! Em especial, ao *Prof. Dr. José Morais Filho*, pelas análises estatísticas, por todos os conselhos, conversas e ensinamentos dados.

Aos meus colegas do curso de pós-graduação em ciência animal pela amizade, troca de conhecimentos e experiências. Em especial, *Myrla Kristy, Layse Medeiros, Thiago Feitosa*.

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

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

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

Sem vocês nada disso seria possível, obrigado por tudo!

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS	16
LISTA DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS	17
CAPÍTULO I.....	22
Microesferas lipídicas contendo óleo de buriti obtidas por Fusão-emulsificação	22
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1. Desenvolvimento dos sistemas microencapsulados lipídicos contendo óleo de buriti como núcleo e cera de carnaúba como agente encapsulante	27
2.2. Rendimento e eficiência da microencapsulação	28
2.3. Termogravimetria (TG), Curvas termogravimétricas derivadas (DTG).....	29
2.4. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	29
4. CONCLUSÃO.....	34
5. REFERÊNCIAS.....	35
CAPÍTULO II.....	38
Cinética de degradabilidade <i>in situ</i> , parâmetros ruminais e sanguíneos de ovinos recebendo dieta à base de microesferas de cera de carnaúba contendo óleo de buriti	38
Resumo.....	39
Abstract	40
1. INTRODUÇÃO.....	41
2. MATERIAL E MÉTODOS	43
2.1. Local do experimento	43
2.2. Degradabilidade <i>in situ</i>	43
2.3. Parâmetros ruminais	45
2.4. Parâmetros sanguíneos.....	46
2.6. Delineamento experimental e análise estatística	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4. CONCLUSÃO.....	58
5. REFERÊNCIAS.....	59
ANEXO 2 – Patente	64

LISTA DE SIGLAS

ALB	Albumina
AST	Aspartato aminotransferase
AOAC	Association Of Official Analytical Chemists
cm	Centímetro
°C	Grau Celsius
COL	Colesterol
CEUA	Comitê de Ética em Experimentos com animais
dL	Decilitro
DTG	Termogravimetria derivada
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
EM	Eficiência de microencapsulação
Eq	Equação
g	Grama
h	Hora
kd	Taxa de passagem
kg	Quilograma
m/m	Massa/Massa
m/v	Massa/Volume
mg	Miligrama
mL/min	Mililitro por minuto
mg/dL	Miligrama por decilitro
M	Molaridade
MF	Massa final do produto microencapsulado
MI	Massa inicial de cera de carnaúba e óleo de buriti
MS	Matéria seca
np	Número de protozoários
ns	Não significativo
NRC	National Research Council
PB	Proteína bruta
pH	Potencial hidrogeniônico
RM	Rendimento de microencapsulação
rpm	Rotação por minuto
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão de patrimônio e conhecimento Tradicional Associado
T _o	Temperatura inicial de degradação
TG	Termogravimetria
TNT	Tecido não tecido
TRI	Triglicerídeo
OB10	Micropartículas de cera de carnaúba com 10% de óleo de buriti
OB20	Micropartículas de cera de carnaúba com 20% de óleo de buriti
OB30	Micropartículas de cera de carnaúba com 30% de óleo de buriti
U/L	Unidade de massa atômica por litro de sangue
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
Oereal	Teor real de óleo retido
Oeteórica	Teor de óleo inserido
μL	Microlitro

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

CAPÍTULO I

Figura 1. Rendimento de microencapsulação dos sistemas microencapsulados contendo óleo de buriti e cera de carnaúba	32
Figura 2. Curvas termogravimétricas (TG).	34
Figura 3. Termogravimétricas derivadas (DTG).....	35
Tabela 1. Dados extraídos das curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC). 37	

CAPÍTULO II

Tabela 1. Proporção química dos ingredientes das dietas experimentais utilizadas na alimentação dos ovinos.....	46
Tabela 2. Proporção dos ingredientes e composição química da dieta experimental dos ovinos.	46
Tabela 3. Dados do teste in situ da concentração de óleo em função do tempo para OB10, OB20 e OB30.....	48
Figura 1. Cinética de degradabilidade do óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba.....	48
Figura 2. Comportamento do pH ruminal de ovinos alimentados com óleo de buriti microencapsulado.	49
Figura 3. Comportamento da temperatura ruminal de ovinos alimentados com óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba.....	49
Figura 4. Comportamento da temperatura ruminal de ovinos alimentados com óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba.....	50
Figura 5. Contagem de Protozoários (1mL) do fluido ruminal de ovinos usando óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba.	50
Figura 6. Micrografias eletrônicas de varredura a) OB10, b) OB20 e c) OB30.....	53
Tabela 4. Parâmetros bioquímicos usando microesferas de cera de carnaúba contendo óleo de buriti na alimentação de ovinos fistulados no rúmen.	51

RESUMO GERAL

O uso de lipídeos é uma estratégia comum na dieta de ruminantes, devido ao aumento da densidade energética. No entanto, há limitações no seu uso direto. Objetivou-se através da técnica de Fusão-emulsificação a formação de sistemas microencapsulados contendo óleo de buriti (OB) em diferentes concentrações 10 (OB10), 20 (OB20) e 30% (OB30) (m/m) como núcleo e a cera de carnaúba (CC) como material de parede. Os sistemas microencapsulados foram caracterizados quanto a rendimento de microencapsulação (RM), eficiência da microencapsulação (EM) e por técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Avaliou-se também quanto ao comportamento *in situ*, utilizando dois ovinos fistulados no rúmen, machos, da raça Santa Inês com peso médio de $45,9 \pm 5,93$ kg e idade de 2 anos. A técnica *in situ* foi conduzida em sacos de tecido-não-tecido [(TNT-100g/m² (polipropileno)] com dimensões de 4,5x4,5 cm contendo 3 g de amostra e os tempos de incubação foram 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 h, para os quais foram investigados também parâmetros ruminais e sanguíneos. Os valores de RM foram de 97,89; 97,36; 97,87% e de EM foram de 36 ± 1 ; $50,4 \pm 1,84$ e $61,33\% \pm 1,52\%$, respectivamente, para OB10, OB20 e OB30. A T_o extraída da curva TG foi 224 e 254 °C para OB e CC, respectivamente, enquanto para OB10, OB20 e OB30 foram 237, 240 e 236 °C, respectivamente, indicando melhora na estabilidade térmica do óleo após microencapsulação de forma semelhante para todos os níveis de óleo, evidenciando uma maior resistência que pode se repetir também no ambiente ruminal. A utilização de microesferas não interferiu de forma negativa nos constituintes bioquímicos do sangue. O uso da cera de carnaúba como encapsulante de óleo de buriti mostrou-se uma alternativa propícia para promover efeito sobrepassante no rúmen, evitando a toxicidade do uso direto devido aos ácidos graxos presentes no óleo aos microrganismos, facilitando e melhorando sua administração, já que o óleo pode ser manuseado como se fosse um sólido, além de proteção dos compostos bioativos, com utilização em maiores quantidades deste ingrediente aos ruminantes de forma segura.

Palavras-chave: microencapsulação, compostos bioativos, lipídeos.

GENERAL ABSTRACT

The use of lipids is a common strategy in ruminant diets, due to the increase in energy density. However, there are limitations to its direct use. The objective of the Fusion-emulsification technique was used to form microencapsulated systems containing buriti oil (OB) at different concentrations 10 (OB10), 20 (OB20) and 30% (OB30) (w/w) as core and wax of carnauba (CC) as a wall material. The microencapsulated systems were characterized for microencapsulation yield (MY), microencapsulation efficiency (ME) and by scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetry (TG), derivative thermogravimetry (DTG) and differential scanning calorimetry (DSC) techniques. It was also evaluated for *in situ* behavior, using two male Santa Inês rumen fistulated sheep with an average weight of 45.9 ± 5.93 kg and age of 2 years. The *in situ* technique was conducted in non-woven fabric bags [(TNT-100g/m² (polypropylene)] with dimensions of 4.5x4.5 cm containing 3 g of sample and the incubation times were 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 h, for which ruminal and blood parameters were also investigated. MY values were 97.89; 97.36; 97.87% and ME values were 36 ± 1 ; 50.4 ± 1.84 ; $61.33\% \pm 1.52\%$, respectively, for OB10, OB20 and OB30. The T_0 extracted from TG curve was 224 and 254 °C for OB and CC, respectively, while for OB10, OB20 and OB30 was 237, 240 and 236 °C, respectively, indicating an improvement in the thermal stability of the oil after microencapsulation in a similar way for all oil levels, showing a greater resistance that can also be reproduced in the ruminal environment of microspheres did not interfere in a negative way in the biochemical constituents of the blood. The use of carnauba wax as an encapsulant to buriti oil proved to be a suitable alternative to promote adequate bypass effect in the rumen, avoiding the toxicity of direct use due to the fatty acids present in the oil to microorganisms, facilitating and improving its administration, since the oil can be handled as if it were a solid, in addition to protecting bioactive compounds, with use in larger quantities of this ingredient to ruminants safely.

Keywords: microencapsulation, bioactive compounds, lipids.

INTRODUÇÃO GERAL

No atual cenário do agronegócio, diversas cadeias produtivas conseguiram estabilização e obter bons desempenhos. Com isto, a ovinocultura vem revelando sua importância e notoriedade (SOUZA E BARROS, 2017), assim como o contínuo desenvolvimento de forma gradativa e pontual, onde foi difundida nas regiões semiáridas do Nordeste, mostrando importância econômica. Os custos em torno da alimentação são os principais entraves responsáveis por dificultar a expansão da criação, com isto, há uma busca constante para aumentar a eficiência alimentar desses animais, pautada em proporcionar redução dos custos e maior lucratividade.

A pesquisa na área de nutrição animal exerce imprescindível papel, fornecendo informações dos ingredientes empregados na alimentação animal, predizendo sua composição, proporcionando um melhor desempenho, conciliando com uma melhor produtividade e diminuindo os custos.

As fontes lipídicas são alternativas alimentares que vêm sendo utilizadas nas dietas de ruminantes com a finalidade de aumentar a densidade energética, substituindo parcialmente ingredientes de alto valor agregado. O óleo de buriti é um lipídeo cuja composição apresenta ácidos graxos, principalmente os insaturados, que poderá ser incorporado na dieta para redução do incremento calórico e conseqüentemente melhorar o desempenho, características de carcaça, reduzir a produção de gases entéricos e aumentar a eficiência alimentar pelos animais (AUGUSTO et al., 2016).

Há uma gama de metodologias e técnicas que estão sendo estudado atualmente, o método *in situ* é utilizado para auxiliar na elucidação dos fenômenos ocorridos no rúmen bem como os processos fermentativos, degradabilidade do alimento e cinética de fermentação, estimando o consumo de alimentos pelos animais (BERCHIELLI et al., 2011).

A adaptação dos animais à dieta com fontes lipídicas e à quantidade utilizada nas dietas é de extrema importância, já que a utilização de forma exacerbada pode alterar o ambiente ruminal, causando aumento na taxa de passagem, causar efeito tóxico direto dos ácidos graxos aos microrganismos, reduzindo a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e celulose (PALMQUIST; MATTOS, 2011). Uma busca importante seria a proteção e a liberação do óleo no sítio de ação específica, o

que pode ser possível graças à tecnologia de microencapsulação, em que agentes encapsulantes naturais podem ser estudados visando efeito sobrepassante no rúmen, em que a cera de carnaúba surge como uma alternativa, devido às suas propriedades e características físico-químicas.

Quando comparada com outras ceras, a mesma apresenta menor viscosidade, mais elasticidade e mais resistência a deformações e ataques de agentes biológicos, características das quais a torna um material adequado para atuar como material de parede na tecnologia de microencapsulação. Segundo Inácio (2017), a mesma apresenta-se como um produto amplamente usado na formação de revestimentos convencionais e nanoestruturas, podendo ser estudada e analisada em diferentes formulações, com concentrações diversas, além de ter a função de promover barreiras que atuam como efeito antimicrobiano e antifúngico, a cera de carnaúba é inerte à ação de microrganismos.

O processo da microencapsulação se baseia em vários métodos e a técnica de fusão-emulsificação é adequada quando se deseja obter micropartículas lipídicas contendo um determinado núcleo, consistindo na fusão prévia do lipídio e incorporação do princípio ativo por dissolução ou por dispersão.

Desta forma, a microencapsulação de óleo de buriti utilizando cera de carnaúba como material de parede pode possibilitar sua liberação em condições específicas na dieta de ruminantes, permitindo melhor aproveitamento, inclusive de seus compostos bioativos, facilmente degradados no rúmen.

CAPÍTULO I

**Microesferas lipídicas contendo óleo de buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) obtidas
por Fusão-emulsificação**

Microesferas lipídicas contendo óleo de buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) obtidas por Fusão-emulsificação

Resumo

O uso de lipídeos é uma estratégia comum na dieta de ruminantes, devido ao aumento da densidade energética. No entanto, há limitações no seu uso, com intuito de evitar comprometimento das funções do rúmen. Objetivou-se através da técnica de Fusão-emulsificação a formação de sistemas microencapsulados contendo óleo de buriti (OB) em diferentes concentrações 10 (OB10), 20 (OB20) e 30% (OB30) (m/m) como núcleo e a cera de carnaúba (CC) como material de parede. Em seguida os sistemas microencapsulados foram caracterizados quanto a rendimento de microencapsulação (RM), eficiência da microencapsulação (EM) e por técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), termogravimetria (TG), termogravimetria derivada (DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os sistemas microencapsulados apresentaram RM de 97,89; 97,36; 97,87 % e EM de 36; 50,4 e 61,3%, respectivamente, para OB10, OB20 e OB30. A T_0 extraída da curva TG foi 224 e 254 °C para OB e CC, respectivamente, enquanto para OB10, OB20 e OB30 foram 237, 240 e 236 °C, respectivamente, indicando melhora na estabilidade térmica do óleo após microencapsulação de forma semelhante para todos os níveis de óleo, evidenciando uma maior resistência que pode se reproduzir também no ambiente ruminal. Os resultados obtidos comprovam que a Fusão-emulsificação apresentou-se como uma técnica adequada para microencapsulação de óleo de buriti, assim como a cera de carnaúba apresentou-se como um bom agente encapsulante para a aplicação pretendida no presente estudo.

Palavras-chave: microesferas, eficiência, microencapsulação, óleo vegetal.

Lipid microspheres containing buriti oil (*Mauritia Flexuosa* L.) by Fusion-emulsification

Abstract

The use of lipids is a common strategy in ruminant diets, due to the increase in energy density. However, there are limitations in its use, in order to avoid compromising the functions of the rumen. The objective of the Fusion-emulsification technique was used to form microencapsulated systems containing buriti oil (OB) at different concentrations 10 (OB10), 20 (OB20) and 30% (OB30) (w/w) as core and wax of carnauba (CC) as a wall material. Then the microencapsulated systems were characterized for microencapsulation yield (MY), microencapsulation efficiency (ME) and by scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetry (TG), derivative thermogravimetry (DTG) and differential scanning calorimetry (DSC) techniques. The microencapsulated systems had a yield of 97.89; 97.36 and 97.87%, and ME of 36; 50.4 and 61.3%, respectively, for OB10, OB20 and OB30. The T_o extracted from TG curve was 224 and 254 °C for OB and CC, respectively, while for OB10, OB20 and OB30 was 237, 240 and 236 °C, respectively, indicating an improvement in the thermal stability of the oil after microencapsulation in a similar way for all oil levels, showing greater resistance that can also be reproduced in the ruminal environment. The results obtained prove that the Fusion-emulsification is an adequate technique for microencapsulation of buriti oil, as well as carnauba wax presented can be a good encapsulating agent for the intended application in the present study.

Keywords: microspheres, efficiency, microencapsulation, vegetal oil.

1. INTRODUÇÃO

A microencapsulação é uma tecnologia que se baseia na formação de partículas de diversos tamanhos, onde um componente ativo é protegido por uma camada de material, com o intuito de preservar e proteger uma substância.

Segundo a literatura especializada, esta técnica vem sendo explorada há muitos anos, nos diversos ramos da ciência, sendo bastante difundida no ramo alimentício, devido à capacidade de proporcionar uma boa estabilidade e boa qualidade ao produto final (KESHANI et al., 2015).

Técnicas de microencapsulação têm despertado cada vez mais interesse do setor de alimentação e saúde animal, já sendo utilizadas para vários tipos de aditivos, como ácidos, algumas enzimas, probióticos e até vitaminas utilizadas nas rações, especialmente quando submetidas à peletização ou extrusão, com isto, ainda há uma necessidade de melhor exploração das técnicas voltadas para o ramo da nutrição animal (PIVA et al., 2007).

A escolha do método que será empregado na microencapsulação deve ser favorável às características e composição química do composto que será protegido (RODRÍGUEZ et al., 2016), onde o sistema microencapsulado deve resistir, sem liberar seu conteúdo precocemente, considerando ainda a funcionalidade que o material ativo deve fornecer ao produto final, o mecanismo de liberação do encapsulante e do seu respectivo núcleo, tamanho de partícula desejado, propriedades físico-químicas, entre outros (ARANHA, 2015; MÜLLER, 2011).

Há uma diversidade de materiais que são utilizados como encapsulantes, cada um com suas peculiaridades, sendo a cera de carnaúba uma alternativa interessante, a depender do que se pretende alcançar. A cera de carnaúba é obtida da palmeira Carnaubeira ou Carnaúba (*Copernicia prunifera*) a partir da extração e processamento do pó cerífero das palhas, o seu uso como encapsulante é importante por ser um produto natural, biodegradável e de fácil aquisição. Além disso, a cera de carnaúba permite a proteção do óleo de buriti promovendo sua liberação programada, diminuindo também os efeitos da degradação oxidativa.

Dentre os diversos métodos de microencapsulação, destaca-se a técnica de Fusão-emulsificação devido a sua simples execução e baixo custo, sendo apropriada para casos em que o agente encapsulante é um lipídeo, propiciando a obtenção de micropartículas lipídicas com fácil incorporação de um determinado núcleo, como o

óleo de buriti, possibilitando a busca de alternativas viáveis para solucionar dificuldades na incorporação de alguns alimentos na dieta dos animais ou para o desenvolvimento de alimentos funcionais, bem como sua liberação em condições específicas de interesse.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Desenvolvimento dos sistemas microencapsulados lipídicos contendo óleo de buriti como núcleo e cera de carnaúba como agente encapsulante

As três formulações de óleo de buriti microencapsulado em matriz lipídica de cera de carnaúba foram desenvolvidas considerando o proposto por Carvalho Neto (2019), com modificações, pela técnica de Fusão-emulsificação com incorporação inicial de 10, 20 e 30% do óleo (m/m). Para preparar as dispersões que resultaram nos produtos microencapsulados, as respectivas massas de óleo correspondentes a cada formulação foram pesadas em balança analítica Adventurer AR2140 (Marca Ohaus, Parsippany, Estados Unidos®).

Em seguida, a cera de carnaúba foi também pesada separadamente e fundida em banho maria, sob temperatura de 90 °C. Posteriormente, o óleo adicionado lentamente à cera, sob agitação constante até total homogeneidade. Em paralelo, 200 mL de água destilada foram aquecidos em chapa aquecedora até a mesma temperatura em que a cera foi fundida (90 °C). Na água foi adicionado o agente tensoativo Tween 80 (volume de 2,5% com base no volume de água destilada).

A mistura de óleo de buriti e cera de carnaúba (Ainda fundida) foi adicionada lentamente à água quente, sob agitação constante de 500 rpm para obtenção de uma emulsão do tipo óleo em água, em que há formação de gotículas de cera contendo óleo dispersas no meio aquoso. Após adição de todo o conteúdo, a emulsão permaneceu sob agitação por 3 min. As micropartículas lipídicas contendo o óleo foram finalmente obtidas por meio da diminuição da temperatura, com adição de água fria (4 °C) para provocar a solidificação da cera.

Por fim, as partículas lipídicas obtidas foram separadas por peneiramento e submetidas à lavagem com água destilada para remoção do tensoativo remanescente. Para a eliminação do excesso de água, o material foi submetido à secagem convencional em estufa de circulação e renovação de ar sob temperatura de 40 °C por 5 h. O produto microencapsulado foi macerado com almofariz e pistilo até obtenção de pó homogêneo e acondicionado em temperatura ambiente.

2.2. Rendimento e eficiência da microencapsulação

O rendimento de microencapsulação se baseia nas massas da mistura de cera de carnaúba e óleo de buriti antes e após o processo de microencapsulação, calculado por meio da equação (1) seguinte:

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

Onde: RM = Rendimento de microencapsulação; MF: Massa final do produto microencapsulado após microencapsulação; MI = Massa inicial da mistura de cera de carnaúba e óleo de buriti.

A eficiência de microencapsulação avaliou a capacidade de retenção do óleo retido pela matriz de cera de carnaúba e foi determinada com base no teor de óleo de buriti inserido e no teor retido após o processo. A eficiência foi calculada por meio da equação seguinte:

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

Onde: OE_{real} = Teor real de óleo de buriti retido; e OE_{teórica} = Teor de óleo de buriti inserido.

O teor de óleo retido foi determinado por Espectrofotometria com base no proposto por Hentschel e colaboradores (2008), com modificações, através da quantificação dos carotenoides totais, em que inicialmente o óleo foi extraído das micropartículas utilizando hexano, com posterior leitura da absorbância a 450 nm em espectrofotômetro visível digital microprocessado 0898DRM (Quimis Aparelhos Científicos LTDA, Diadema, Brasil), utilizando o próprio óleo como padrão para obtenção da curva analítica ($y = 0,1831x - 0,0569$; $R^2 = 0,9939$). A análise foi feita em triplicata.

2.3. Termogravimetria (TG) e Termogravimetria derivada (DTG)

As curvas TG foram obtidas em analisador térmico TGA/SDTA 851 (Marca Mettler Toledo), sob atmosfera de ar sintético (50 mL/min), taxa de aquecimento de 10 °C/min, entre 30 e 600 °C, utilizando cadinho de platina contendo cerca de 5 mg de amostra. As curvas TG e DTG foram plotadas e as informações extraídas utilizando o OriginPro 8.

O parâmetro utilizado para avaliar a estabilidade térmica foi a T_0 , a partir do proposto na ASTM E 2550-17, definida como o ponto em que ocorre uma deflexão (desvio) devido ao início da perda de massa. A temperatura T_0 é determinada na curva TG (Ou DTG) traçando uma linha de base extrapolada, observando o ponto em que ocorre a deflexão. A T_0 foi determinada tanto na curva TG como na DTG.

2.4. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas em um equipamento DSC-50H (Marca Shimadzu), sob atmosfera de ar sintético (50 mL/min), taxa de aquecimento de 10 °C/min, entre 30 e 450 °C, utilizando cadinho hermético de alumínio contendo cerca de 5 mg de amostra. Para avaliação dos eventos nas curvas DSC foram consideradas as temperaturas de pico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por conveniência, óleo de buriti, cera de carnaúba e as micropartículas com inserção de 10, 20 e 30% de óleo serão mencionados como OB, CC, OB10, OB20 e OB30, respectivamente.

Todos os sistemas microencapsulados apresentaram bons rendimentos, com valores de 97,89; 97,36 e 97,87% para OB10, OB20 e OB30, respectivamente. Esses resultados comprovam que a técnica de Fusão-emulsificação é adequada para encapsular o óleo de buriti com cera de carnaúba como material de parede, não havendo perdas expressivas durante o processamento dos materiais.

Esses resultados são superiores em relação à mesma técnica (Fusão-emulsificação) utilizada por Carvalho Neto et al., (2019) na microencapsulação de metionina em matriz de cera de carnaúba, obtendo rendimento de 82,33% e 78,5%.

A eficiência de microencapsulação foi de 36 ± 1 ; $50,4\pm 1,84$ e $61,33\pm 1,52$ para OB10, OB20 e OB30, com teores reais retidos de OB correspondentes a $3,56\pm 0,1$; $11,44\pm 0,37$ e $22,59\pm 0,45$, respectivamente, onde foi observado maior retenção de óleo em OB30.

Na Figura 1 encontram-se as curvas termogravimétricas (TG) do óleo de buriti, cera de carnaúba e sistemas microencapsulados.

A partir da análise conjunta das curvas TG (Figura 1) e DTG (Figura 2), observou-se que OB, CC e os sistemas microencapsulados apresentaram três eventos de degradação, os quais podem ser bem observados nas curvas DTG (Figura 2).

No caso de OB, as etapas de degradação estão relacionadas à decomposição de ácidos graxos insaturados, como ácido oleico e tocoferóis, que se degradam primeiro, com posterior decomposição de ácidos graxos saturados e demais constituintes do óleo vegetal, conforme descrito por Facciolongo (2018) e Moura (2019).

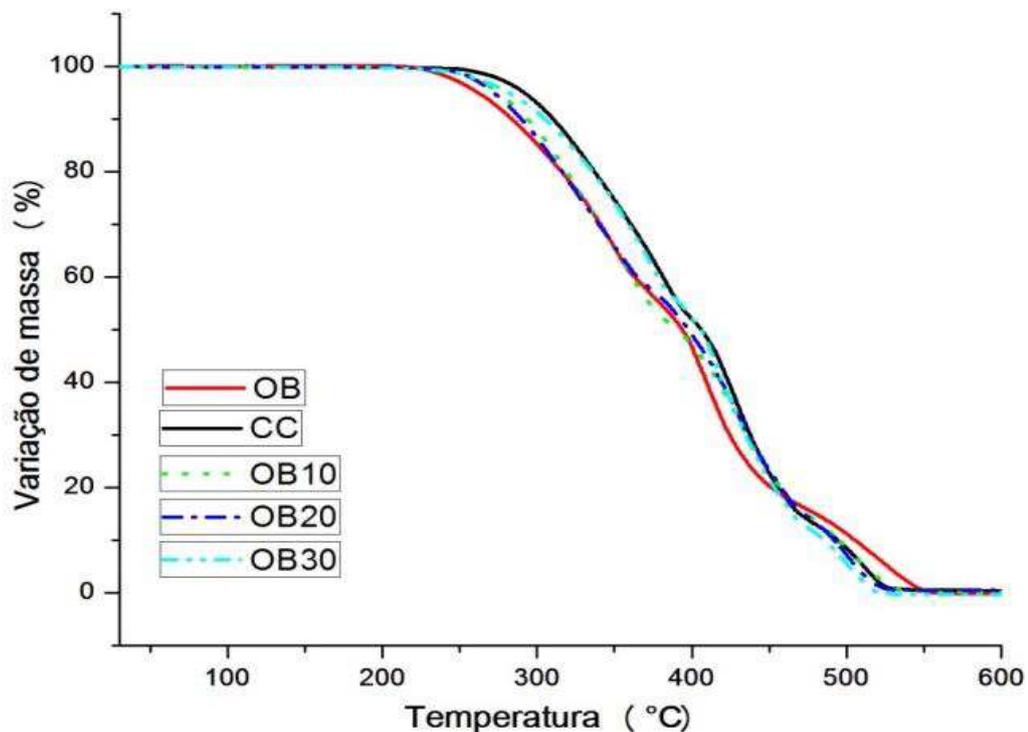


Figura 1. Curvas termogravimétricas (TG) para óleo de buriti (OB), cera de carnaúba (CC) e sistemas microencapsulados (OB10, OB20 e OB30).

A T_0 extraída da curva TG foi 224 e 254 °C para OB e CC, respectivamente, enquanto para OB10, OB20 e OB30 foram 237; 240 e 236 °C, respectivamente, indicando melhora na estabilidade térmica do óleo após microencapsulação de forma semelhante para todos os níveis de óleo.

Na Figura 2 encontram-se as curvas termogravimétricas derivadas (DTG) do óleo de buriti, cera de carnaúba e sistemas microencapsulados.

Ao analisar a T_0 extraída da curva DTG, os valores foram 199 e 236 °C para OB e CC, respectivamente, enquanto para OB10, OB20 e OB30 foram 222, 220 e 210 °C, reforçando a melhora na estabilidade térmica do óleo após microencapsulação, porém sendo possível constatar que o aumento do teor de óleo nos sistemas antecipou o início da reação da degradação térmica. Isso provavelmente ocorreu porque quanto menor o teor de óleo, melhor estará distribuído na matriz lipídica, promovendo uma proteção mais efetiva deste.

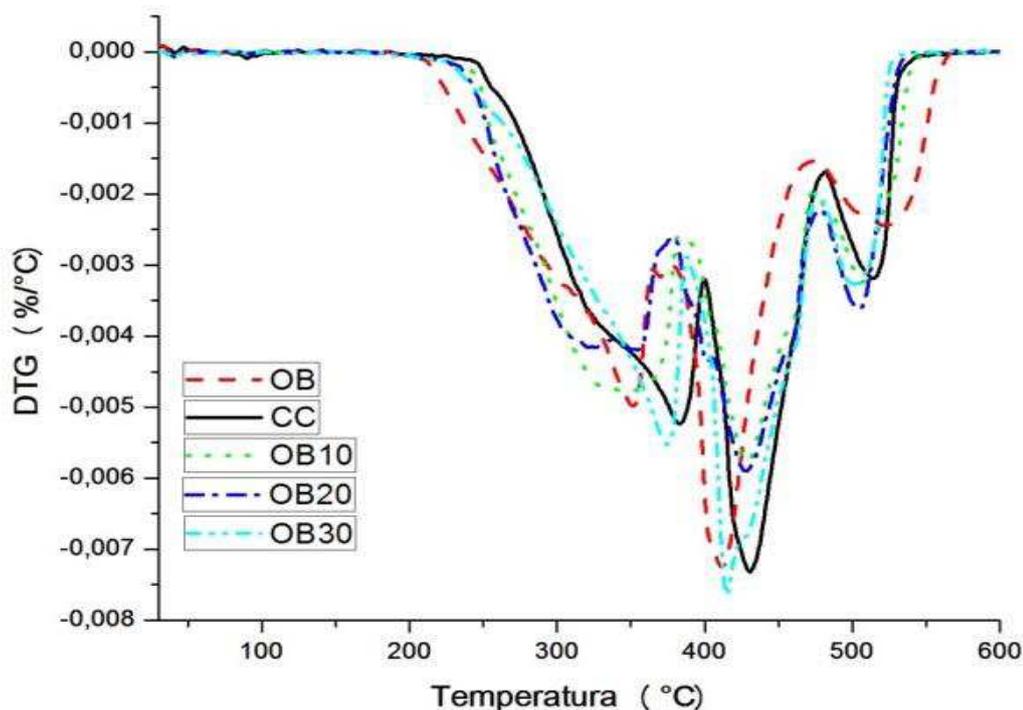


Figura 2. Curvas termogravimétricas derivadas (DTG) para óleo de buriti (OB), cera de carnaúba (CC) e sistemas microencapsulados (OB10, OB20 e OB30).

Na Figura 3 encontram-se as curvas de DSC do óleo de buriti, cera de carnaúba e sistemas microencapsulados.

A partir das curvas de DSC foi observado que CC apresentou evento endotérmico com pico em 84 °C relacionado à sua fusão, corroborando com Pereira (2019), onde afirma que obteve ponto de fusão de 85,39 °C. Esta temperatura de fusão se manteve semelhante para CC nos sistemas microencapsulados, confirmando compatibilidade química com o óleo, observando que não reage com o mesmo, mas apenas protege-o, não comprometendo sua liberação quando de interesse.

Já OB apresentou evento endotérmico em 271 °C, atribuído à sua degradação térmica. O evento de degradação observado para o óleo livre não foi identificado na curva de DSC para nenhum dos sistemas microencapsulados, sugerindo que houve deslocamento deste para uma maior faixa de temperatura, degradando-se simultaneamente com a cera, confirmando a proteção do óleo após microencapsulação, conforme também indicado nas curvas TG/DTG.

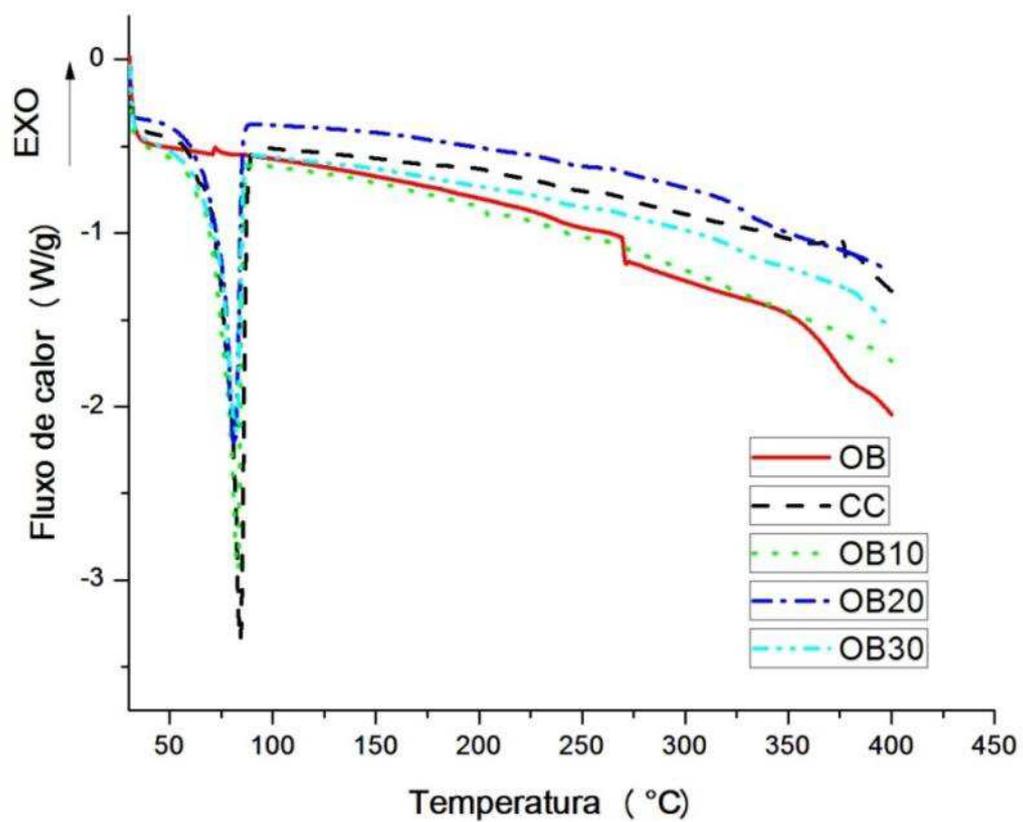


Figura 3. Curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para óleo de buriti (OB), cera de carnaúba (CC) e sistemas microencapsulados (OB10, OB20 e OB30).

4. CONCLUSÃO

A obtenção de microesferas lipídicas contendo óleo de buriti utilizando cera de carnaúba como agente encapsulante demonstrou resultados satisfatórios. Todas as formulações apresentaram bons rendimentos e eficiência de microencapsulação, indicando a adequação do encapsulante e técnica de microencapsulação escolhidos. As caracterizações evidenciaram que o óleo de buriti após microencapsulação adquire proteção frente à temperatura, proteção esta que pode possibilitar efeito sobrepassante no rúmen, o que será investigado no capítulo seguinte. Entre as formulações verificadas, houve similaridade na maior estabilidade térmica, destacando-se o OB30, o qual exibiu maior eficiência de microencapsulação, maior quantidade de OB retido, o que pode refletir em uma possível melhor proteção no ambiente ruminal.

5. REFERÊNCIAS

- Anwar, S. H.; KUNZ, B. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. *Journal of Food Engineering*, v. 105, n. 2, p. 367–378, 2011.
- Aranha, C. P. M. Microencapsulação por gelificação iônica e interação eletrostática do corante de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.). Tese de Doutorado. PPG em Engenharia e Ciência de Alimentos, UNESP-IBILCE, São José do Rio Preto. 2015.
- Bataglion, G. A.; SILVA, F. M. A.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* l. f.) by ultra- 67 higt performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Research International*. v. 66, p. 396-400, 2014.
- Batista, K. S.; Pontes, A. L. S.; Aquino, J.S. Estabilidade térmica de blends de óleo de soja (*glycine max* (l.) merrill) e óleo de buriti (*mauritia flexuosa*). In: anais do simpósio latino americano de ciências de alimentos. Campinas. 2015.
- Carvalho Neto, J. P. ROCHA, L.S. MOURA, A.L. Methionine microencapsulated with a carnauba (*Copernicia prunifera*) wax matrix for protection from degradation in the rumen. *Livestock Science*, v. 228, p. 53-60, 2019.
- Chikwanha, O. C.; VAHMANI, P.; MUCHENJE, V.; DUGAN, M. E.; MAPIYE, C. Nutritional enhancement of sheep meat fatty acid profile for human health and wellbeing. *Food Research International*, v. 104, p. 25-38, 2018.
- Constant, P.B.L.; STRINGHETA, P.C. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Bol. SBCTA*, v.36, n.1, p.12-18, 2002.

- Facciolongo, A. M.; Lestingi, A.; Colonna, M. A.; Nicastro, F.; Marzo, D.; Toteda, F. Effect of diet lipid source (linseed vs. soybean) and gender on performance, meat quality and intramuscular fatty acid composition in fattening lambs. *Small ruminant research*, v. 159, p. 11-17, 2018.
- Hentschel, A.; Gramdorf, S.; Muller, R. H.; Kurz, T. β -Carotene-loaded nanostructured lipid carriers. *J Food Sci.* v. 73, n. 1, p. 1-6, 2008.
- Inácio, A. G. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de chia microencapsulado. Dissertação Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Campo Mourão, p. 51, 2017.
- Keshani, S. et al. Spray drying: An overview on wall deposition, process and modeling. *Journal of Food Engineering*, v. 146, p. 152-162, 2015.
- Müller, S. P. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. Dissertação de Mestrado. PPG em Tecnologia de Alimentos, UFPR, Curitiba. 2011.
- Nunes, G. L. et al. Microencapsulação de culturas probióticas: princípios do método de spray drying. *Ciência e Natura*, Santa Maria v.37, p. 132-141. 2015.
- Pacheco, K.; Santana, R.M.C.; Martins, V. Influência da incorporação da cera de carnaúba nas propriedades do compósito de polipropileno reforçado com casca de arroz. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2019.
- Panesar, P. S.; KAUR, R.; SINGLA, G.; SANGWAN, R. S. Bio-processing of agro industrial wastes for production of food-grade enzymes: progress and prospects. *Applied Food Biotechnology*, v.3, n.4, p.208-227, 2016.
- Piva, A., Pizzamiglio, V., Morlacchini, M., Tedeschi, M., & Piva, G. Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. *Journal of Animal Science*, 486-493. 2007.

Rodríguez, J.; MARTÍN, M. J.; RUIZ, M. A.; CLARES, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food Research International*, v.83, p.41-59, 2016.

CAPÍTULO II

Avaliação *in situ*, parâmetros ruminais e sanguíneos de ovinos recebendo dieta à base de microesferas de cera de carnaúba contendo óleo de buriti (*Mauritia Flexuosa* L.)

Avaliação *in situ*, parâmetros ruminais e sanguíneos de ovinos recebendo dieta à base de microesferas de cera de carnaúba contendo óleo de buriti (*Mauritia Flexuosa* L.)

Resumo

O uso de lipídeos é uma estratégia comum na dieta de ruminantes, devido ao aumento da densidade energética. Com isso, há limitações no seu uso direto, com intuito de evitar comprometimento das funções do rúmen. Objetivou-se avaliar o óleo de buriti em três sistemas microencapsulados com cera de carnaúba e inserção de 10 (OB10), 20 (OB20) e 30% (OB30) de óleo, quanto a comportamento *in situ*, pH, temperatura ruminal, contagem de protozoários no fluído ruminal e parâmetros sanguíneos. Para a avaliação *in situ* utilizaram-se dois ovinos, machos, fistulados no rúmen, peso médio de $48,9 \pm 5,23$ e idade de 2 anos. O período experimental foi composto por 24 dias, sendo 15 dias para adaptação às instalações e às dietas e 9 dias para coleta de dados. Através do teste *in situ*, avaliou-se o comportamento do óleo de buriti após microencapsulação, comprovando proteção e o possível efeito sobrepassante no rúmen para posterior liberação no sitio de ação específico. Houve elevação na densidade populacional de protozoários presentes no ambiente ruminal quando receberam o óleo microencapsulado, o que favoreceu pH e temperatura ruminal dentro dos valores de referência. A utilização de microesferas não interferiu de forma negativa nos constituintes bioquímicos do sangue. O uso da cera de carnaúba como encapsulante de óleo de buriti é uma alternativa propícia para promover efeito sobrepassante no rúmen, evitando a toxicidade do uso direto devido aos ácidos graxos presentes no óleo aos microrganismos, facilitando e melhorando sua administração, já que o óleo pode ser manuseado como se fosse um sólido, além de proteção dos compostos bioativos, com utilização em maiores quantidades deste ingrediente aos ruminantes de forma segura.

Palavras-chave: bioquímica, pH ruminal, temperatura ruminal, protozoários.

***In situ* evaluation, ruminal and blood parameters of sheep fed a diet based on carnauba wax microspheres containing buriti oil (*Mauritia Flexuosa* L.)**

Abstract

The use of lipids is a common strategy in ruminant diets, due to the increase in energy density. However, there are limitations in its direct use, in order to avoid compromising the functions of the rumen. The objective of this study was to evaluate buriti oil in three microencapsulated systems with carnauba wax and insertion of 10 (OB10), 20 (OB20) and 30% (OB30) oil, regarding *in situ* behavior, pH, ruminal temperature, counting of protozoa in rumen fluid and blood parameters. For *in situ* test, two rumen fistulated male sheep, mean weight of 48.9 ± 5.23 and age of 2 years were used. The experimental period consisted of 24 days, with 15 days for adaptation to the facilities and diets and 9 days for data collection. The *in situ* test indicated that the microencapsulated systems were efficient in the protection of buriti oil, proving the protection and possible bypass effect in the rumen for subsequent release in the specific action site. There was an increase in the population density of protozoa present in the rumen environment when they received the microencapsulated oil, which favored ruminal pH and temperature within the reference values. The use of microspheres did not interfere negatively with the blood's biochemical constituents. The use of carnauba wax as an encapsulant of buriti oil is a favorable alternative to promote an overpassing effect on the rumen, avoiding the toxicity of direct use due to the fatty acids presented in the oil to microorganisms, facilitating and improving its administration, as the oil can be handled as if it were a solid, in addition to protecting bioactive compounds, with the use of greater amounts of this ingredient to ruminants in a safe way.

Keywords: biochemistry, rumen pH, rumen temperature, protozoa.

1. INTRODUÇÃO

Os ruminantes são pouco toleráveis a limites altos de gordura em suas dietas, no que se refere ao teor de lipídeos em dieta exclusiva de forragens, o percentual desse nutriente é baixo, na ordem de 1 a 4%. Enquanto na oferta de uma dieta à base de grãos, esse valor passa para 5 a 6% (VAN SOEST, 1994).

Nesse caso, os lipídeos passam a desempenhar um papel energético importante para o animal, com o intuito de aumentar a densidade energética da dieta e a eficiência alimentar (Valinote et al., 2005).

Há uma crescente valorização econômica de alguns óleos vegetais extraídos de frutos, buscando um melhoramento tecnológico da cadeia produtiva de cultivo, incluindo melhorias na metodologia de extração e a caracterização de suas propriedades físico-químicas, contribuindo para desenvolver o interesse industrial.

O óleo de buriti é composto basicamente de tocoferóis, carotenoides (principalmente β -caroteno), ácidos graxos com predominância do oleico, palmítico, e antioxidantes. Constitui uma das principais fontes de pró-vitamina A encontrada na biodiversidade brasileira, fato que colabora para sua utilização (CORDEIRO, 2015).

Segundo Ribeiro (2010), o β -caroteno apresenta vários benefícios à saúde, atuando contra radicais livres que mediam diferentes tipos de danos celulares que, por sua vez, têm implicação no desenvolvimento de várias doenças degenerativas.

De acordo com NRC (2001) a quantidade de utilização dos lipídeos na dieta é de até 7%, sendo um fator limitante para sua utilização, com isso, a microencapsulação do óleo de buriti é uma possibilidade que pode ser empregada com o intuito de proteger os compostos bioativos presentes no óleo dos efeitos deletérios da exposição ao meio ambiente, podendo ser aplicada para retardar a liberação de compostos no sistema digestivo, liberando-a no sítio de ação específico.

Fundamentado nisso, a cera de carnaúba é um agente encapsulante que tem a finalidade de proteger o ingrediente ativo e disponibilizá-lo em tempo, local e condições desejados para sua devida degradação.

Há inúmeras técnicas disponíveis para estudar as taxas de degradação ruminal dos alimentos, a incubação *in situ* é uma das mais vantajosas, pois avalia a degradação nas condições reais do ambiente ruminal (ORSKOV et al., 1980), com essa técnica é possível investigar a eficiência na utilização dos lipídeos, minimizando

os riscos, causados pelo aumento da taxa de passagem e, por conseguinte, possibilitando a sua inclusão na dieta visando gerar bom desempenho animal.

O rúmen apresenta características peculiares, que o torna um ecossistema microbiano estável, e ao mesmo tempo dinâmico, possuindo uma população microbiana estabelecida, os protozoários foram os primeiros microrganismos descritos no rúmen, são em tamanho os maiores, com tal característica os mesmos representam expressivamente a microbiota ruminal (VALE 2016).

Para que os microrganismos ruminais desenvolvam adequadamente e possam degradar de forma eficiente, o hospedeiro deve oferecer condições fisiológicas adequadas como pH, temperatura, anaerobiose, substrato e taxa de passagem do alimento pelo trato digestivo. O pH ruminal depende em parte da dieta, e é um indicador bastante sensível de anormalidades. Pode ser afetado devido ação dos microrganismos, uma vez que eles necessitam que a faixa de pH esteja propícia para o seu crescimento (VAN SOEST 1994).

Desta forma, objetivou-se avaliar *in situ* três sistemas microencapsulados lipídicos de cera de carnaúba contendo óleo de buriti em diferentes concentrações, além de investigar a influência nos parâmetros ruminais e sanguíneos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento

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

O projeto desenvolveu-se após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentos com Animais (Protocolo CEUA 35/2020), do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, da Universidade Federal de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil.

2.2. Avaliação *in situ*

Para a avaliação *in situ* foram utilizados dois ovinos, machos, da raça Santa Inês com peso médio de $48,9 \pm 5,23$ kg e idade de 2 anos, fistulados no rúmen, alojados em baias individuais providas de comedouro e bebedouros e distribuídos em galpão coberto.

O período experimental foi composto por 24 dias, sendo 15 dias para adaptação às instalações e às dietas e 9 dias para coleta de dados. As fontes volumosas utilizadas foram feno de capim Tifton 85 (*Cynodon spp.*) e o concentrado à base de milho, farelo de soja, sal mineral e óleo de buriti. Durante o período de adaptação às dietas, o volumoso foi fornecido *ad libitum* e o concentrado ofertado de forma gradual. O concentrado foi calculado de acordo com a NRC (2007) em 100 kg da seguinte forma: As dietas foram formuladas com proporção volumoso:concentrado 60:40 para manutenção.

Os tempos de incubação foram 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 48 e 72 h. A técnica *in situ* realizou-se em sacos de tecido-não-tecido [(TNT - 100g/m^2 -(polipropileno))] com dimensões de 4,5x4,5 cm, fechados a quente em máquina seladora. Cada saco com aproximadamente 3 g de amostra contendo material microencapsulado (cera de carnaúba e óleo de buriti).

Os sacos foram incubados de forma crescente e por etapas, de modo a serem removido um por vez a fim de reduzir interferência durante a manipulação no

ambiente ruminal. As etapas de incubação consistiam de acordo com os tratamentos dos sistemas microencapsulados OB10, OB20, OB30. Para todos os sistemas a incubação ocorreu em quadruplicada, totalizando uma quantidade de 216 sacos.

Tabela 1. Proporção química dos ingredientes da dieta experimental utilizada na alimentação dos ovinos.

Item	Ingredientes			
Composição química (g/kg MS)	Feno de Tifton-85	Farelo de soja	Milho moído	Óleo de buriti
Matéria seca (g/kg de MN)	872	887	874	939
MM	60.3	64.8	15.4	-
Proteína bruta	54.1	450	81.0	10.6
Extrato etéreo	10.8	14.4	30.0	994
FDN _{cp}	728	73.6	128	-
FDA	371	36.3	13.0	-

Tabela 2. Proporção dos ingredientes e composição química da dieta experimental dos ovinos.

Ingredientes	Proporção dos ingredientes g/kg MS
Milho moído	260
Farelo de soja	100
Ureia	5,0
Sal mineral	15,0
Óleo de buriti	20,0
Feno de Tifton-85	600
Nutrientes	Composição química (g/kg MS)
Matéria seca (g/kg de MN)	878
Matéria mineral	62,0
Proteína bruta	112

Extrato etéreo	35,6
Fibra em detergente neutro	478
Carboidratos não fibrosos	266
Nutrientes digestíveis totais	658

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 posteriormente colocados em estufa com ventilação forçada, a 55 °C durante 72 h.

2.3. Parâmetros ruminais

Para os parâmetros ruminais toda amostragem do conteúdo ruminal foi feita durante as coletas dos sacos, do teste de degradabilidade, para cada tempo de incubação do microencapsulado: 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 48 e 72 h.

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

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

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

cada quadrante. Os resultados finais da contagem foram calculados pela fórmula 7 abaixo:

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

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

2.4. Parâmetros sanguíneos

O procedimento de coleta de sangue dos dois animais realizou-se por punção da veia jugular após a alimentação para a análise do teor albumina (ALB), creatinina (CRE), aspartato aminotransferase (AST), colesterol (COL) e triglicerídeos (TRI), Gama-glutamil transpeptidase (GGT) por meio de tubos Vacutainer (BD – Becton, Dickinson and Co., Franklin Lakes, NJ, EUA) com capacidade para 4,0 mL. As coletas aconteceram ao tempo de 4 h de incubação dos sistemas microencapsulados.

O soro foi obtido por centrifugação dos tubos por 5 min a uma velocidade de 2500 rpm, identificado, armazenado em réplicas em minitubos *Eppendorf* de 1,5 mL e congelado para análise. Os parâmetros sanguíneos foram analisados com kits comerciais (Labtest) por colorimetria. As análises foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Patos – Paraíba.

2.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foram obtidas micrografias para os três sistemas microencapsulados no último tempo do teste *in situ* (72 h). Cada material foi depositado em uma fita dupla face de carbono e as micrografias foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo QUANTA 200, Marca FEI Company), com tensão de aceleração entre 5-15 kV, utilizando detectores de elétrons secundários retroespalhados.

2.6. Delineamento experimental e análise estatística

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

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

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

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados a seguir dizem respeito aos sistemas microencapsulados OB10, OB20, OB30, cujo teor real de óleo retido (definido no Capítulo I) corresponde, respectivamente, a $3,56\pm 0,1$; $11,44\pm 0,37$ e $22,59\%\pm 0,45$.

Na Tabela 3 e Figura 1 a seguir encontram-se os dados da cinética de degradabilidade do óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba.

Tabela 3. Dados do teste *in situ* da concentração de óleo em função do tempo para OB10, OB20 e OB30.

Tempo (h)	Tratamentos		
	OB10	OB20	OB30
0	0,42 ^a	3,13 ^a	3,51 ^a
1	0,50 ^a	2,86 ^a	2,69 ^{ab}
3	0,58 ^a	2,58 ^{ab}	3,07 ^{ab}
6	0,42 ^a	2,26 ^{ab}	3,02 ^{ab}
9	0,58 ^a	2,15 ^{ab}	2,31 ^{ab}
12	0,63 ^a	1,71 ^b	2,69 ^{ab}
24	0,50 ^a	1,71 ^b	1,93 ^b
48	0,38 ^a	1,93 ^{ab}	2,04 ^b
72	0,38 ^a	1,49 ^b	1,93 ^b

Médias com letras minúsculas diferentes dentro do mesmo tratamento (coluna) diferem entre si ($p < 0,05$).

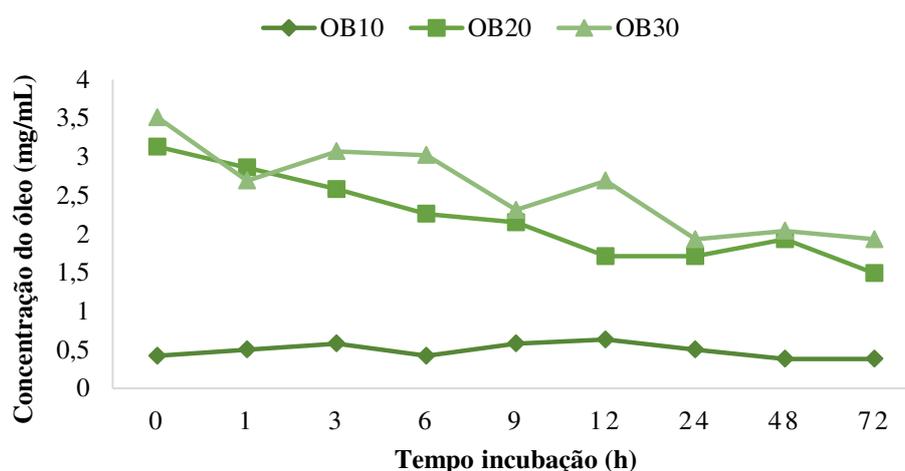


Figura 1. Cinética de degradabilidade do óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba.

Na avaliação *in situ* do óleo de buriti microencapsulado observou-se que em OB10 não houve diferença significativa nos valores médios de concentração de óleo ao longo do tempo, indicando uma proteção que favorece o efeito sobrepassante. Enquanto para OB20, houve discreta diminuição da concentração de óleo a partir de 3 h, mantendo-se e atingindo diminuição com diferença significativa a partir de 12 h, praticamente mantendo-se até 72 h. Já OB30 manteve-se estável até 12 h, apresentando menor valor a partir de 24 h, sem diferença significativa até 72 h.

Esses resultados atestam a proteção do óleo de buriti pela matriz de cera de carnaúba frente às condições do ambiente ruminal para todos os tratamentos, em especial OB10, o qual se manteve constante durante o intervalo de tempo estudado. Essa proteção mais efetiva para OB10 se justifica por ser este o sistema microencapsulado com menor teor inserido de óleo, o que permite melhor distribuição na matriz cerídea e, portanto, influenciando na proteção, assegurando que menos material esteja mais próximo à superfície, suscetível à degradação. Reforça-se que mesmo tendo sofrido algum grau de degradação no ambiente ruminal, OB20 e OB30 mantiveram boas concentrações de óleo remanescente mesmo após 72 h no ambiente ruminal, o que já otimiza a utilização do óleo de buriti em comparação à sua forma livre.

Estudo realizado por Pereira et al., (2020) ao analisar o óleo de buriti e o índice de qualidade nutricional e efeito antioxidante e antidiabético do óleo, observou que o óleo de buriti contém significante teor de carotenoides totais (999,60 µg/g de óleo), dos quais 31,81 % corresponde ao β-caroteno (317,99 µg/g de óleo). Os teores de flavonoides e antocianinas totais encontrados no óleo foram de 59,86 e 6,40 µg/g, respectivamente, onde o mesmo apresenta-se como uma boa fonte de compostos bioativos, os quais podem atribuir boa estabilidade oxidativa e propriedades funcionais como alimento, o que torna a sua proteção no ambiente ruminal bastante desejável para conservação de compostos de interesse e promoção do efeito sobrepassante. Os presentes resultados confirmam as características promissoras do óleo de buriti protegido em matriz de cera de carnaúba no tocante a esta proteção.

Na Figura 2 estão os resultados de pH dos sistemas microencapsulados, em que houve interação significativa entre tratamentos e tempos estudados. Segundo Silveira et al., (2016) o pH ruminal varia de acordo com a dieta e com o tempo após a alimentação.

Homem Jr. et al., (2010), trabalhando com ovinos Santa Inês, avaliando três dietas, sendo uma controle, sem inclusão de fonte de lipídio, e duas com inclusão de grãos de girassol ou gordura protegida, em relação aos valores de pH, observou que não houve diferença nos valores de pH, apresentando valor mínimo duas horas após a alimentação, com exceção da dieta com gordura protegida, onde o valor mínimo de pH foi observado oito horas após a alimentação. Fato do qual justifica os valores observados no presente estudo no tempo de 9 h, onde o aumento dos ácidos graxos voláteis oriundos da dieta proporciona diminuição do pH.

Com isso, a utilização das microesferas contendo óleo de buriti em seu interior não causou intervenção no pH ruminal.

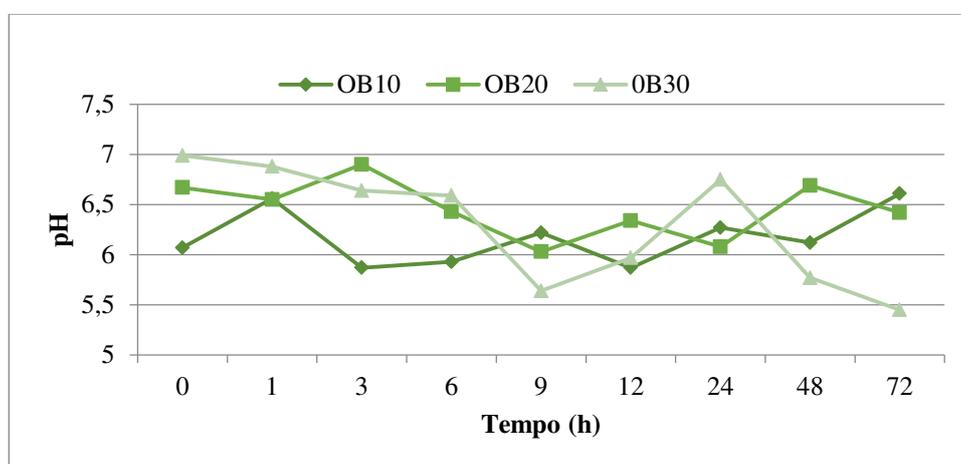


Figura 2. Comportamento do pH ruminal em função do tempo (h) de ovinos alimentados com óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba (OB10, OB20 e OB30).

Maiores valores médios de pH (variando de 6,88 a 6,99) foram obtidos no tempo de 1 h. De acordo com Millen et al., (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. Com isso, os AGV produzidos e o lactato são constantemente absorvidos pelo epitélio ruminal e o pH ruminal permanece estável. Todos os tratamentos mantiveram-se com valores de pH dentro dos considerados normais.

Nas Figuras 3 e 4 estão os resultados de temperatura dos sistemas microencapsulados.

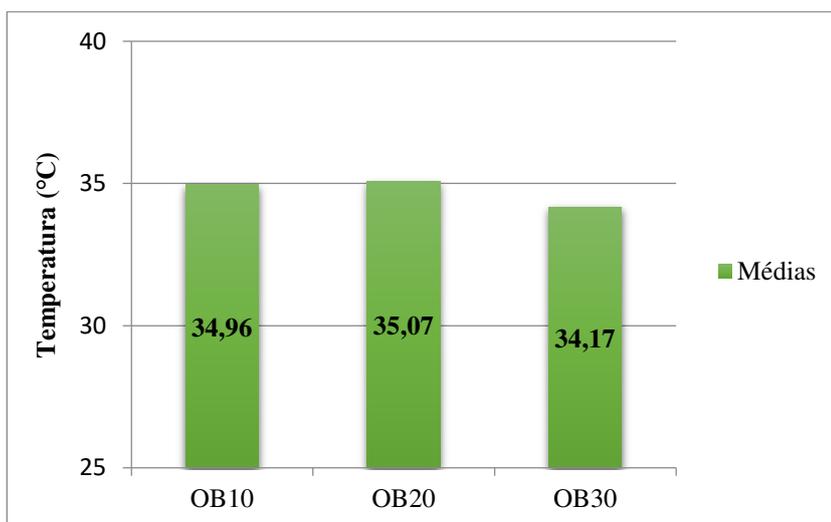


Figura 3. Comportamento da temperatura ruminal de ovinos alimentados com óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba (OB10, OB20 e OB30).

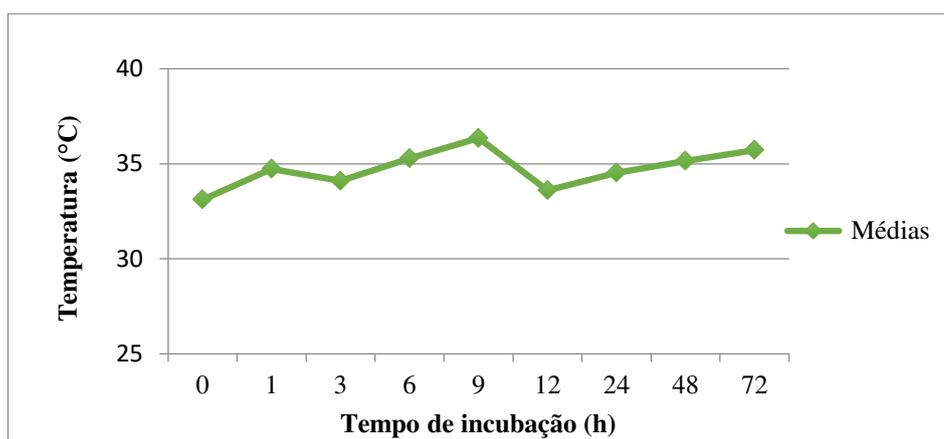


Figura 4. Comportamento da temperatura ruminal em função do tempo (h) de ovinos alimentados com óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba (OB10, OB20 e OB30).

Não foram observadas diferenças significativas entre os valores médios de temperatura ($P < 0,05$) do fluido ruminal entre os tratamentos com óleo de buriti microencapsulados com cera de carnaúba. Segundo Nagaraja (2016) a temperatura permanece relativamente constante ($36-40^{\circ}\text{C}$). No presente estudo observam-se temperaturas abaixo das faixas preconizadas, provavelmente devido à quantidade de água ingerida, que pode promover diminuição da temperatura do rúmen, como também a composição da dieta, sendo responsável por afetar tal parâmetro.

O alimento ingerido fornece a energia e outros nutrientes necessários para o crescimento e atividade microbiana. A motilidade retículo-ruminal normal ajuda a misturar os conteúdos, possibilitando o contato entre os microrganismos e o substrato fresco. A absorção, juntamente com o efeito tampão das secreções salivares, auxilia na regulação do pH ruminal.

A Figura 5 destaca a quantidade média de protozoários presentes no fluido ruminal.

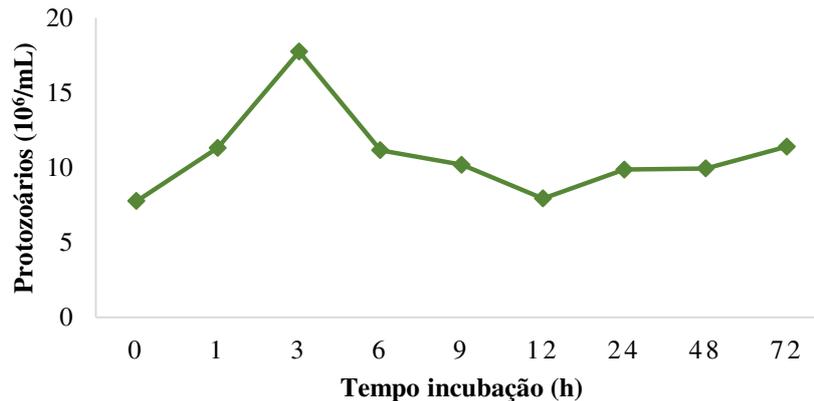


Figura 5. Contagem de Protozoários ($10^6/\text{mL}$) do fluido ruminal em função do tempo (h) de ovinos usando óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba (OB10, OB20 e OB30).

O rúmen contém diferentes reinos e classes de microrganismos, como protozoários, fungos, bactérias, os quais estabelecem diversas interações em um complexo ecossistema (FRANZOLIN, 1996; NASROLLAHI 2019).

Observou-se que houve variação na contagem de protozoários ao longo do tempo, com os menores valores observados nos tempos de 0 e 12 h e os maiores em 3 h, com valores intermediários nos tempos 24 e 48 h. A quantidade de protozoários no ambiente ruminal cresceu conforme aumento do óleo entre os tratamentos, esse fato se explica no Capítulo I, em que através das caracterizações, OB30 expressou possuir maior quantidade de óleo de buriti presente no sistema, com isso, conseqüentemente, implicou em maior estímulo no crescimento microbiano.

A Figura 6 demonstra a contagem de protozoários ($10^6/\text{mL}$) em relação aos tratamentos.

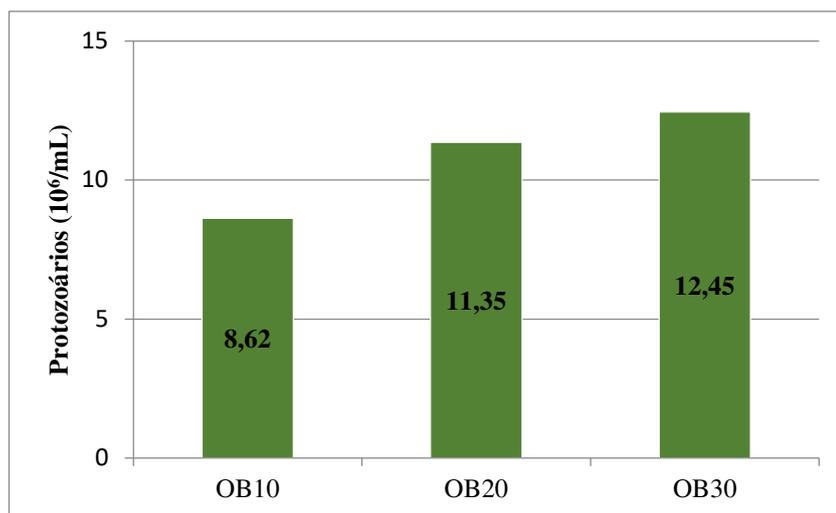


Figura 6. Contagem de Protozoários ($10^6/\text{mL}$) do fluido ruminal de ovinos usando óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba (OB10, OB20 e OB30).

Observou-se na variação do número de protozoários que não houve interações significativas entre os tratamentos estudados ($P < 0,05$) e tempos de incubação, já em relação às médias entre os tratamentos foram observados valores de 8,62; 11,35 e 12,45 protozoários ($10^6/\text{mL}$) para OB10, OB20 e OB30, respectivamente, constatando-se que a inclusão dos sistemas microencapsulados favoreceu a elevação da densidade populacional de protozoários do rúmen diretamente proporcional ao teor de óleo presente.

Segundo Kumar (2017), dietas ricas em óleo costumam fazer com que a população dos protozoários decresça significativamente, reduzindo também a atividade celulolítica, onde neste estudo mostrou-se um comportamento inverso, com isto comprova a eficiência da microencapsulação em proteger o óleo de buriti das condições ruminais.

Estudos metabólico-nutricionais têm sido empregados para estabelecer, por meio de dosagens sanguíneas, o grau de adequação fisiológica dos animais às principais vias metabólicas relacionadas com energia, proteína e minerais (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003). Até o momento, indicadores metabólicos têm sido amplamente empregados na avaliação da condição nutricional dos rebanhos e com o uso rotineiro dos parâmetros sanguíneos, a tendência, nos próximos anos, é expandir o uso desses indicadores bioquímicos para determinação dos níveis ideais de nutrientes e para estudos da capacidade fisiológica adaptativa dos animais, identificando as diferentes rotas metabólicas e taxas de utilização de cada nutriente

(proteico, energético e mineral), específicas para a condição sexual, fase de vida e nível nutricional (GONZÁLEZ et al., 2006).

A avaliação dos parâmetros bioquímicos é uma ferramenta para avaliação do status metabólico dos animais, tais informações são essenciais para o fomento da eficiência produtiva e fundamental para entender as modificações ocorridas no perfil metabólico-hormonal, no intuito de auxiliar na monitorização das condições corporais e nutricionais dos animais.

Na Tabela 4 estão os parâmetros bioquímicos para os respectivos tratamentos OB10; OB20 e OB30, em que a albumina (ALB) apresentou valores de 1,51; 1,57 e 1,87 g/dL, respectivamente, com discretas diferenças entre os tratamentos. Segundo González; et al., (2006) os níveis de albumina indicam, por meio de alterações lentas, o teor proteico da dieta fornecida ao animal. Para que sejam observadas alterações significativas na sua concentração, é necessário um período de pelo menos 30 dias (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Segundo Silva (2019) o intervalo definido para o metabólito albumina encontra-se entre 1,1 a 5,2 mg/dL. Com tais dados neste experimento não houve alterações significativas do metabólito devido ao consumo de óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba para ovinos.

As concentrações séricas de ureia mantiveram-se dentro dos valores de referência (17 a 43 mg/dL) segundo (KANEKO et al., 2008), com isso, possivelmente a inclusão do OB não afetou a função renal dos animais (BRAUN et al., 2010).

Em adição, acredita-se que a produção de amônia ruminal manteve-se normal, fazendo com que os teores de ureia sanguínea permanecessem normais. Essa afirmação é suportada em razão da existência de uma correlação positiva entre a ureia sanguínea e a amônia ruminal (KOZLOSKI, 2017).

O aspartato aminotransferase (AST) apresentou valores dentro dos limites bioquímicos normais preconizados por (VARANIS, 2018), que compreende (43 a 132U/L). O gama glutamil transferase (GGT) compreende valores de referência (20 a 53U/L), segundo (KANEKO et al., 2008), onde neste trabalho apresenta-se dentro dos limites normais.

A AST e GGT são enzimas usadas para monitorar a presença de alguma injúria hepática. Situações em que há aumento dessas enzimas no plasma sanguíneo

devem ser investigadas de maneira mais aprofundada, pois o aumento pode ser um indício da ocorrência de alguma lesão hepática (HOFFMAN & SOLTER, 2008).

Como no presente experimento os valores dessas duas enzimas permaneceram dentro dos valores de referência, sugere-se que o óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba presente na dieta dos animais não causou nenhuma toxicidade hepática.

A fosfatase alcalina (ALP U/L) se manteve dentro dos valores preconizados por (KANEKO et al., 2008) que corresponde a (68 a 387 U/L), assim como as enzimas anteriores, a fosfatase alcalina também reflete o funcionamento hepático, portanto, valores altos podem indicar a ocorrência de hepatopatias.

Metabólito/Unidade	Tratamentos			EPM ¹
	OB10	OB20	OB30	
ALB (g/L)	1,51 A	1,57 A	1,87 A	0,28
URE (mg/dL)	17,80 A	19,70 A	20,25 A	1,77
AST (U/L)	43,75 A	42,10 A	46,35 A	7,23
GGT (U/L)	23,35 A	29,35 A	35,90 A	3,36
ALP (U/L)	167,15 AB	151,20 B	181,70 A	289,36
BT (mg/dL)	0,02 A	0,04 A	0,07 A	0,01
BD (mg/dL)	0,01 A	0,04 A	0,07 A	0,01
BI (mg/dL)	0,01 A	0,00 A	0,00 A	2,93
GLI (mg/dL)	29,35 A	24,00 A	24,75 A	1,08
COL (mg/dL)	47,20 A	51,50 A	60,75 A	4,60
TRI (mg/dL)	25,00 A	13,85 B	16,40 B	1,36

¹Média e erro padrão; As médias seguidas das diferentes letras diferem do teste de Tukey quando $P > 0,05$.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos, para os respectivos tratamentos OB10; OB20 e OB30.

Os níveis de óleo de buriti microencapsulado com cera de carnaúba na dieta de ovinos não influenciaram as concentrações séricas de bilirrubinas total (BT), direta (BD) e indireta (BI) ($P > 0,05$). A média encontrada está dentro dos parâmetros estipulados por (KANEKO et al., 1997) para ovinos variaram de 0,1 a 0,5 mg/dL e de 0,00 a 0,15 mg/dL para a bilirrubina total e direta, respectivamente.

Dessa maneira, afirma-se que, nesta pesquisa, a inclusão do material microencapsulado OB10; OB20 e OB30 não provocaram alterações hepatocelulares ou obstrução biliar nos animais.

Em valores absolutos, a glicose (GLI) apresentou valores menores (29,35; 24,00; 24,75 mg/dL) quando comparados com intervalos referências segundo (KANEKO et al. 2008), que são de 50 a 80 mg/dL). Mediante esses resultados, pode-se afirmar que os animais apresentaram leve hipoglicemia, embora a glicose plasmática não seja um bom indicador do estado nutricional energético decorrente da insensibilidade da glicemia às mudanças nutricionais e à sua sensibilidade ao estresse, a manutenção da concentração de glicose plasmática se relaciona a estabilidade glicêmica, visto que os carboidratos da dieta são quase totalmente utilizados no rúmen (GRESSLER et al., 2015).

Para os valores de colesterol (COL) houve incremento conforme aumento do teor de OB presente em cada sistema microencapsulado, corroborando o descrito por Lehninger et al., (2006), que sugere que o incremento de EE nas dietas eleva as concentrações plasmáticas de colesterol, resultado observado nesta pesquisa. Apesar de o colesterol ter aumentado com os níveis de óleo de buriti, sendo de 47,20; 51,50 e 60,75 mg/dL para OB10, OB20 e OB30, respectivamente, este intervalo está dentro dos valores de referência para ovinos, de 49 a 76 mg/dL (KANEKO et al., 1997).

Esse acréscimo não chegou a ser um fator relevante para ocasionar alterações. Wittwer (2000) sugere que os níveis de colesterol plasmático são uma boa ferramenta de avaliação do balanço energético, além de ser também um indicativo da atividade tireoidiana.

As concentrações de triglicérides (TRI) foram 25,00; 13,85; 16,40 mg/dL, corroborando com os valores de referência, segundo (KANEKO et al. 2008) corresponde de (9 a 30 mg/dL), confirmando que a inclusão do material microencapsulado não alterou o equilíbrio fisiológico, onde os demais parâmetros sanguíneos mantiveram-se nas concentrações indicadas para a espécie.

Segundo Santos et al., (2015) é possível observar que os resultados encontrados devem levar em consideração os animais, as raças e idades distintas, os estados, as condições ambientais que são ofertadas, havendo variações entre essas respostas, porém, todos eles se enquadram no intervalo de normalidade definido neste estudo. De forma geral, os valores se mantiveram intermediários, mas dentro dos valores de referência, de acordo com Varanis (2018), não havendo diferença significativa dos parâmetros em relação aos tratamentos estudados.

Os sistemas microencapsulados foram investigados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para verificação da microestrutura após a digestão,

onde foi escolhido o último tempo de 72 h para análise. As micrografias dos sistemas microencapsulados estão dispostas na Figura 11.

As micrografias após incubação foram avaliadas com base em Netto et al., (2019) e Medeiros et al. (2019) que estudaram a microestrutura da cera de carnaúba e de micropartículas lipídicas dela contendo ureia.

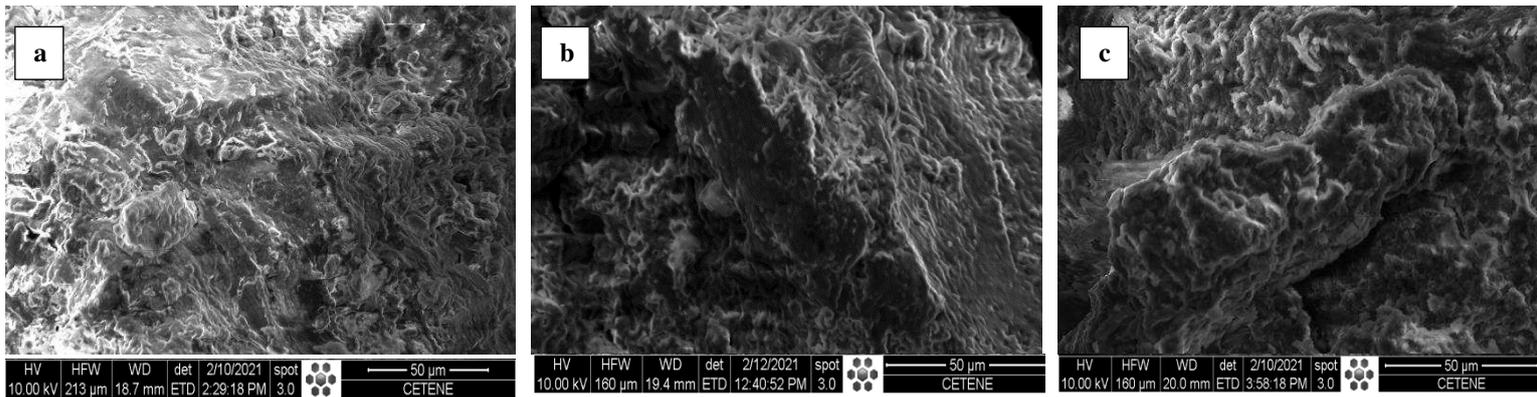


Figura 11. Micrografias eletrônicas de varredura para a) OB10, b) OB20 e c) OB30.

OB10, OB20 e OB30 apresentaram microestrutura semelhante entre si, sem poros, fissuras, com superfície áspera similar para os três materiais em comparação à cera de carnaúba antes da incubação, conforme descrita pelos autores anteriormente citados. A aspereza é mais aparente em OB20 e OB30, os quais contêm maior incorporação de óleo de buriti. Esses resultados estão em concordância com a cinética de degradação *in situ* do óleo de buriti, sugerindo que a superfície menos áspera pode indicar menor presença de óleo superficial ou vice-versa, o que explica o comportamento de OB10 durante a incubação, em que não houve diferença significativa na concentração de óleo em função do tempo, provavelmente por uma melhor distribuição deste no interior da matriz encapsulante.

4. CONCLUSÃO

O uso da cera de carnaúba como encapsulante de óleo de buriti mostrou-se uma alternativa propícia para promover efeito sobrepassante no rúmen, preservando e evitando a toxicidade do uso direto devido aos ácidos graxos presentes no óleo aos microrganismos, facilitando e melhorando sua administração, já que o óleo pode ser manuseado como se fosse um sólido, além de proteção dos compostos bioativos, com utilização em maiores quantidades deste ingrediente aos ruminantes de forma segura. Outra constatação positiva foi a elevação da densidade populacional de protozoários, favorecendo também adequados pH e temperatura ruminais. A utilização de microesferas não interferiu de forma negativa nos constituintes bioquímicos do sangue. Desta forma, considerando o presente estudo em sua totalidade e o promissor destaque dos três materiais microencapsulados, recomenda-se a formulação OB30, a qual possibilita a incorporação de maior quantidade de óleo de buriti dentre as proporções estudadas, mantendo os benefícios do efeito sobrepassante possibilitado pela matriz de cera de carnaúba.

5. REFERÊNCIAS

- Augusto, D.A. Planejamento agregado na indústria de nutrição animal sob incertezas. *Revista Production*, v. 26, p.12-27, 2016.
- BRAUN, J.P. & LEFEBVRE, H.P. Kidney function and damage. In: Elsevier (ed.) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6 ed. San Diego: California, p. 485-528, 2010.
- Carvalho Neto, J. P. ROCHA, L.S. MOURA, A.L. Methionine microencapsulated with a carnauba (*Copernicia prunifera*) wax matrix for protection from degradation in the rumen. *Livestock Science*, v. 228, p. 53-60, 2019.
- Cordeiro, L. M. C.; ALMEIDA, C. P.; IACOMINI, M. Unusual linear polysaccharides: (1→5)- α -l-Arabinan, (1→3)-(1→4)- α -d-glucan and (1→4)- β -d-xylan from pulp of buriti (*Mauritia flexuosa*), an edible palm fruit from the Amazon region. *Food Chemistry*, v. 173, p. 141-146, 2015.
- Cornacchia, L. ROOS, Y. H. Stability of β -carotene in protein-stabilized oil-in-water delivery systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 59, p. 7013-7020, 2011.
- Franzolin, R.; Dehority, B. A. Efeitos do pH ruminal e ingestão alimentar da deufaunação em ovinos sob rações concentradas. *Rev. Bras. de Zootecnia*, Viçosa, v. 25, n. 6, p. 1207-1215, 1996.
- González, F. H. D. Uso de perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: González, F. H. D.; Barcellos, J. O.; Ospina, H.; Ribeiro, L. A. O. (Eds). *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

- González, F.H.D.; SILVA, S.C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
- Greco, L.F., Neves Neto, J.T., Pedrico, A., Ferrazza, R.A., Lima, F.S., Bisinotto, R.S., Martinez, N., Garcia, M., Ribeiro, E.S., Gomes, G.C., Shin, J.H., Ballou, M.A., Thatcher, W.W., Staples, C.R., Santos, J.E.P. Effects of altering the ratio of dietary n fatty acids on performance and inflammatory responses to a lipopolysaccharide challenge in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2015.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. Academic Press, San Diego. 916p. 2008.
- Kozloski, G. V. Bioquímica dos ruminantes. 3 ed. Santa Maria: UFSM. p. 280, 2017.
- Kumar, M. By pass fat in animal feeding - A review. *J. Entomol. Zool. Stud.* 2251-2255. 2017.
- Medeiros, T. T. B. de; Silva, M. de A. S.; Silva, A. L. da; Bezerra, L. R.; Agostini, D. L. da S.; Oliveira, D. L. V. de; Mazzetto, S. e; Kotzebue, L. R. V.; Oliveira, J.R.; Souto, G. S. B.; Carvalho, A. de B.; Netto, A. J.; Oliveira, R. L. Carnauba wax as a wall material for urea microencapsulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, September 2018.
- Millen, D.D., Arrigoni, M.B., Pacheco, R.D.L. Rumenology. Springer International Publishing, Cham, Switzerland. 2016.
- Nagaraja, T. G. Microbiology of the Rumen. Em D. Millen, M. Arrigoni, & R. Pacheco, Rumenology (pp. 39-62). Switzerland: Springer. 2016.
- Nasrollahi, S. M.; Zali, A.; Ghorbani, G. R.; Kahyani, A.; Beauchemin, K. A. Short communication: Blood metabolites, body reserves, and feed efficiency of high-

producing dairy cows that varied in ruminal pH when fed a high-concentrate diet. *J. Dairy Sci.*, v. 102, n. 1, p. 672–677, 2019.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washinton, D.C.: 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washinton, D.C.: 2007.

Ørskov, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, v. 92, p. 449-453, 1980.

Pereira, F.; T. Efraim C.; Cáritas de J. S.; Mendonça, R. M.; Mendes R.O.; Óleo de Buriti: índice de qualidade nutricional e efeito antioxidante e antidiabético. *Revista Virtual de Química*. vol. 14, n. 1, p. 1-100 2020.

Ribeiro, B. D. Aplicação de Tecnologia Enzimática na Obtenção de β -Caroteno a partir de Óleo de Buriti (*Mauritia vinifera*). Dissertação de Mestrado. PPG em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, UFRJ, Escola de Química, Rio de Janeiro. 2010.

Santos, R. P.; SOUZA, L. F.; SOUZA, J. T. L.; ANDRADE, M. E. B.; MACEDO JUNIOR, G. L.; SILVA, S. P. Parâmetros sanguíneos de cordeiros em crescimento filhos de ovelhas suplementadas com níveis crescentes de propilenoglicol. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 10, n. 3, p. 473-478, 2015.

Silva, J. S. C.; GUARANÁ, E. L. S.; LEMOS, V. F.; SOARES, P. C.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Metabolismo energético, proteico e mineral de ovelhas Santa Inês hígdas e com mastite subclínica. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 09, p. 1087- 1096, 2019.

- 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. Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. *Ciência Rural*, v.36, n.3, 2016.
- Souza, L. E. S.; BARROS, R. A. A. Territorialidade Econômica da Pecuária em Manuel Correia de Andrade. *Economia-Ensaios*, Uberlândia, v.32, n.1, p.113-130, 2017.
- Vale, F.C. Taxonomia e morfologia de protozoários ciliados endossimbiontes de ruminantes domésticos no Brasil. Dissertação de Mestrado (Comportamento e Biologia Animal). Universidade Federal de Juiz de Fora. 2016.
- Van Soest, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. New York: Cornell University Press, ed. 2, p. 476, 1994.
- Varanis, L. F. M. Prospecção de metabólitos sanguíneos referenciais para ovinos em distintas categorias. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 90f. Dissertação Mestrado. 2018.
- Wittner, F. Empleo de los perfiles metabólicos en el diagnóstico de desbalances nutricionales en el ganado. *Buiatria*. 2:16-20, 1995.
- Wittwer, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. Doze leituras em bioquímica clínica veterinária, p. 58, 2000.

6. ANEXOS – ANEXO 1



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 Sr.: André Leandro da Silva

Protocolo CEUA/CSTR N° 35/2020

CERTIDÃO

Certificamos para os devidos fins que o projeto intitulado "*Óleo de buriti microparticulado em sistema matricial de cera de carnaúba visando à proteção frente ao ambiente ruminal*", 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, 15 de março de 2021

Prof. Dr. Valdir Moraes de Almeida

UFCG / Campus Patos

SIAPE 1408222

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

ANEXO 2 – Patente

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT****Número do Processo:** BR 10 2020 017062 7**Dados do Depositante (71)****Depositante 1 de 1****Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - PB**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica**CPF/CNPJ:** 05055128000176**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa**Endereço:** AV. APRIGIO VELOSO, 882 - UNIVERSITÁRIO**Cidade:** Campina Grande**Estado:** PB**CEP:** 58429900**País:** Brasil**Telefone:** (83) 2011601**Fax:** (83) 21011601**Email:** niti@ufcg.edu.br**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 21/08/2020 às 09:40. Petição 870200104994

ANEXO 3 - Patente

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** MICROESFERAS LIPÍDICAS CONTENDO ÓLEO DE BURITI**Resumo:** A presente invenção engloba a obtenção de sistemas microencapsulados lipídicos, através da microencapsulação de óleo de buriti utilizando a cera de carnaúba como material encapsulante, pela técnica de FusãoEmulsificação (Melt emulsification), 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 líquido (Óleo de buriti) como se fosse sólido, além de possibilitar a ocorrência de liberação programada, propiciando proteção frente à biodigeração ruminal, com disponibilização no sítio de interesse, diminuindo riscos, custos e acarretando em melhor aproveitamento de seu potencial nutricional.**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 21/08/2020 às 09:40, Petição 870200104994

ANEXO 4 – Patente

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 6**Nome:** ANDRÉ LEANDRO DA SILVA**CPF:** 05647461425**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Fiscal:** Professor do ensino superior**Endereço:** Rua São Cristóvão, 486, Jardim Santa Cecília**Cidade:** Patos**Estado:** PB**CEP:** 58708-115**País:** BRASIL**Telefone:** (83) 996 291742**Fax:****Email:** andre.leandro@ufcg.edu.br**Inventor 2 de 6****Nome:** JOANA ANGÉLICA MATIAS DE LIMA**CPF:** 04396503300**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Fiscal:** Mestrando**Endereço:** Rua Livreiro José Osmar**Cidade:** Crato**Estado:** CE**CEP:** 63113-330**País:** BRASIL**Telefone:** (88) 981 202368**Fax:****Email:** angelicamatias01@gmail.com**Inventor 3 de 6****PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 21/08/2020 às 09:40, Petição 870200104994