



Universidade Federal
de Campina Grande

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

MICROESFERAS DE CERA DE CARNAÚBA CONTENDO UREIA NA DIETA DE
OVINOS: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO, CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E
PERFIL METABÓLICO

ANTONIO JOELSON NETTO

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 CIENCIA ANIMAL
MESTRADO EM ZOOTECNIA

MICROESFERAS DE CERA DE CARNAÚBA CONTENDO UREIA NA DIETA DE
OVINOS: OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO, CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E
PERFIL METABÓLICO

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

Antonio Joelson Netto

Orientador: Prof. Dr Aderbal Marcos de Azevedo Silva

Co-orientador: Prof. Dr. André Leandro da Silva

Patos, 2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

J64m Joelson Netto, Antonio

Microesferas de cera de carnaúba contendo uréia na dieta de ovinos: obtenção, caracterização, consumo, digestibilidade e perfil metabólico / Antonio Joelson Netto. – Patos, 2018.

42f. : il.

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

“Orientação: Prof. Dr. Aderbal Marcos de Azevedo Silva”.

“Co-orientação: Prof. Dr. André Leandro da Silva”.

Referências.

1. Encapsulante. 2. Liberação gradativa. 3. Liofilização.
4. Micropartículas. 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: "Microesfera de cêra de carnaúba contendo ureia na dieta de ovinos: obtenção, caracterização, consumo, digestibilidade e perfil metabólico"

AUTOR: ANTONIO JOELSON NETTO

ORIENTADOR: Prof. Dr. ADERBAL MARCOS DE AZEVÊDO SILVA

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

André Leandro da Silva

Prof. Dr. André Leandro da Silva
Presidente

Tatiana Gouveia Pinto Costa

Prof^a. Dra. Tatiana Gouveia Pinto Costa
1^o Examinadora

Leilson Rocha Bezerra

Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra
2^o Examinador

Patos - PB, 26 de fevereiro de 2018



Prof. Dr. José Fabio Paulino de Moura
Coordenador

PPGZ/CS/STR/UFCC
MPL 614/2013 1306939
Prof. Dr. José Fabio Paulino de Moura
Coordenador

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e a possibilidade de empreender esse caminho evolutivo, por propiciar tantas oportunidades de estudos e por colocar em meu caminho pessoas amigas e preciosas.

A minha avó, Dona Neuza, por ter cuidado de mim até os dias de hoje, por sempre me ajudar desde criança a seguir o caminho certo.

A toda a minha família, especialmente minha noiva, Ayane Brito, que sempre esteve do meu lado me dando força, incentivo e me ajudando nas horas mais difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Aderbal, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

Ao meu Co-orientador Dr. André por tantos ensinamentos, humildade e paciência que teve comigo, pessoa de um coração inexplicável. Os seus ensinamentos foram muito além dos conteúdos da sala de aula. Um agradecimento carinhoso por todos os momentos de compreensão e competência.

Ao Prof. Dr. Jaime, Prof. Dr. Fernando Vaz e Prof. Dr. Morais pela contribuição dada na elaboração da dissertação.

À Prof^a. Dr^a Selma Elaine Mazzetto e Prof. Dr. Diego Lomonaco, Universidade Federal do Ceará, Laboratório de Produtos e Tecnologia em Processos, pelas análises de Espectroscopia na região do Infravermelho, Calorimetria exploratória diferencial e Termogravimetria.

Ao Prof. Dr. Deuber Agostini, Universidade Estadual Paulista, Laboratório de Eletrofiação e Tecnologia, pela Microscopia eletrônica de varredura.

À Prof^a. Dr^a Mônica Tejo, UFCG-Pombal, Laboratório de Tecnologia de Grãos Cereais, pela determinação de atividade de água.

À equipe de servidores o laboratório de Nutrição Animal, Otávio e Andreza, por toda paciência que teve comigo, carinho e atenção.

Aos meus amigos da graduação e mestrado que contribuíram para realização desse projeto Àthila, Vinícius, Ariádne, Amanda, e todos aqueles que mesmo na distância torceram por mim.

A todos os professores do PPGZOO/CSTR por todo ensinamento proporcionado nesses dois anos de mestrado.

A Ari, pela competência, responsabilidade e principalmente pela amizade que teve comigo. Sempre paciente e prestativo.

Enfim, a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para que este percurso pudesse ser concluído.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - Microencapsulação de ureia em matriz lipídica de cera de carnaúba ..	16
Resumo	17
Abstract.....	17
1. Introdução	8
2. Material e Métodos	10
2.1 Local do experimento	10
2.2 Obtenção dos sistemas microencapsulados	10
2.3 Avaliação do processo de microencapsulação.....	11
2.3.1 Rendimento de microencapsulação	11
2.3.2 Eficiência de microencapsulação.....	11
2.4 Avaliação e caracterização dos sistemas microencapsulados.....	12
2.4.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	12
2.4.2 Termogravimetria (TG)	12
2.4.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	13
2.4.4 Avaliação da umidade e atividade de água.....	13
2.4.5 Análise de nitrogênio nos sistemas microencapsulados	13
2.4.6 Espectroscopia na região de infravermelho (FTIR)	13
3. Resultados e discussão	14
4. Conclusão	22
5. Referências bibliográficas	23
CAPÍTULO 2: Ureia microencapsulada com cera de carnaúba na dieta de ovinos: consumo, digestibilidade e perfil metabólico.	26
Resumo	27
Abstract.....	27
1. Introdução	28
2. Material e métodos	29
2.1 Local do experimento	29
2.2 Animais, manejo e delineamento experimental.....	30
3. Resultados e discussão	33
4. Conclusão	39
5. Referências bibliográficas	39

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Rendimento das formulações microencapsuladas (2:1 e 4:1).	14
Figura 2. Micrografias eletrônicas de varredura: a) Cera de Carnaúba, b) Ureia e c) Ureia microencapsulada.....	16
Figura 3. Espectrogramas FTIR da Ureia, Cera de Carnaúba e Formulações (2:1 e 4:1).....	18
Figura 4. Curvas termogravimétricas (TG) da Ureia, Cera de Carnaúba e Formulações (2:1 e 4:1).....	20
Figura 5. Curvas de DSC da Ureia, Cera de Carnaúba e Formulações (2:1 e 4:1).....	21
Tabela 1. Quantificação do nitrogênio total, proteína bruta, teor teórico de ureia, teor real médio de ureia e eficiência da encapsulação.	15
Tabela 2. Valores obtidos para umidade após o preparo e após 6 meses de estocagem e atividade de água da Ureia, Cera de Carnaúba e Formulações (2:1 e 4:1)	17

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Proporção percentual dos ingredientes e composição química das dietas experimentais.....	32
Tabela 2. Valores médios do consumo (g/dia) dos nutrientes para ovinos alimentados com níveis de inclusão de ureia microencapsulada na dieta.....	34
Tabela 3. Valores médios de coeficientes de digestibilidade dos nutrientes em ovinos alimentados com níveis de inclusão de ureia microencapsulada na dieta.....	45
Tabela 4. Valores de ureia sérica, proteínas totais e albumina, e excreção de ureia e creatinina na urina de ovinos alimentados com níveis de inclusão de ureia microencapsulada na dieta.....	46

CAPÍTULO 1 - Microencapsulação de ureia em matriz lipídica de cera de carnaúba

Microencapsulação de ureia em matriz lipídica de cera de carnaúba

Resumo

A ureia é amplamente utilizada na dieta de ruminantes como fonte de nitrogênio não proteico (NNP) em substituição parcial às fontes de proteína verdadeira, devido seu baixo custo por unidade de nutriente e alta capacidade de disponibilizar amônia como fonte de nitrogênio para produção de proteína microbiana. No entanto, há uma preocupação quanto a sua utilização em níveis elevados na dieta animal, devido o baixo aproveitamento do nitrogênio amoniacal, e principalmente pela possibilidade de intoxicação do rebanho. O presente estudo propôs-se a obter e caracterizar microesferas de cera de carnaúba contendo ureia. Os sistemas microencapsulados foram investigados quanto a rendimento e eficiência de microencapsulação, além de caracterizados por técnicas de Termogravimetria, Calorimetria exploratória diferencial, Espectroscopia na região do Infravermelho, Microscopia eletrônica de varredura, determinação de umidade e atividade de água,. As formulações (2:1) e (4:1) apresentaram altos índices de retenção de ureia, além de bons rendimentos, atestando a adequação da escolha da cera de carnaúba e também da técnica de liofilização para obter os sistemas microencapsulados. A cera de carnaúba proporcionou a inibição da higroscopicidade da ureia, prevenindo sua petrificação durante armazenamento e, portanto, facilitando sua homogeneização com os demais ingredientes da dieta. Desta forma, a partir das constatações feitas, a cera de carnaúba apresenta-se como um encapsulante promissor para obtenção de micropartículas contendo ureia para possível liberação lenta, em que, de acordo com o presente estudo, entre as duas formulações desenvolvidas, recomenda-se a UM2 (2:1), visto que apresentou melhor rendimento e é o sistema com maior conteúdo de ureia, proporcionando maior aporte de nitrogênio não proteico (NNP) de liberação lenta para o animal.

Palavras chave: encapsulante, liberação gradativa, liofilização, micropartículas

Abstract

Urea is widely used in the diet of ruminants as a source of non-protein nitrogen (NNP) in partial substitution to true protein sources, due to its low cost per unit of nutrient and

high capacity to provide ammonia as a source of nitrogen for the production of microbial protein. However, there is a concern about its use at high levels to the animal diet, due to the low utilization of ammoniacal nitrogen, and mainly due to the possibility of intoxication of the herd. The present study aimed obtaining and characterizing urea-containing carnauba wax microspheres. The microencapsulated systems were investigated in terms of microencapsulation efficiency and yield, and also characterized by techniques of Thermogravimetry, Differential scanning calorimetry, Fourier transform infrared Spectroscopy, Scanning electron microscopy, moisture content, and water activity. The formulations presented high urea retention rates, as well as good yields, attesting the adequacy of carnauba wax and also the lyophilization technique to obtain the microencapsulated systems. Carnauba wax provided the inhibition of the hygroscopicity of urea, preventing its petrification during storage, facilitating its homogenization with other ingredients of the diet. Carnauba wax is a promising encapsulant for the production of urea microparticles for possible slow release, in which, according to the present study, between the two formulations developed, it is recommended the formulation UM2 (2:1), since it presented better yield and is the system with higher content of urea, providing a higher supply of slow release non-protein nitrogen (NPN) to the animal.

Key words: encapsulating, slow release, lyophilization, microparticle

1. Introdução

A ureia é amplamente utilizada na dieta de ruminantes como fonte de nitrogênio não proteico (NNP) em substituição parcial às fontes de proteína verdadeira, devido seu baixo custo por unidade de nutriente e alta capacidade de disponibilizar amônia como fonte de nitrogênio para produção de proteína microbiana. No entanto, há uma preocupação quanto a sua utilização em níveis elevados na dieta animal, devido o baixo aproveitamento do nitrogênio amoniacal, e principalmente pela possibilidade de intoxicação do rebanho.

A alta hidrólise ruminal, associada à necessidade de adaptação dos animais à alimentação com ureia, tem impulsionado o desenvolvimento de produtos que liberem os níveis de amônia mais lentamente no rúmen, aumente a produção de proteína microbiana com redução dos casos de intoxicação (AZEVEDO et al., 2008). Diante disto, a tecnologia de microencapsulação de alimentos torna-se uma opção interessante por permitir maior sincronização das taxas de degradação deste composto no rúmen, mantendo os níveis de nitrogênio amoniacal constantes durante um longo período, e consequentemente, maior aproveitamento do alimento pelo animal.

A técnica de microencapsulação refere-se a uma tecnologia de embalagens de sólidos, líquidos, ou materiais gasosos em pequenas cápsulas, que tem como principal função, liberar seu conteúdo em taxas controladas durante períodos prolongados e em condições específicas (NEDOVICA et al., 2011). Trazendo para a área de nutrição animal, essa tecnologia pode permitir aumentar a atividade da microflora ruminal e melhorar a eficiência no uso da ureia em dietas de ruminantes.

Dentre os métodos para produção de sistemas microencapsulados destaca-se a liofilização também chamada de criodesidratação, criossecação ou ainda *freeze-drying*, por preservar as características do produto de modo particular. É uma tecnologia de secagem que se constitui na remoção da água através da sublimação. Segundo Garcia (2009) esse método tem maior eficiência quando comparado com outros meios de desidratação, frente características como contração do produto, perda de voláteis, decomposição térmica, ações enzimáticas e desnaturação de proteínas.

Dentro da tecnologia de microencapsulação, um grande desafio é a escolha correta do material encapsulante. Devido às suas propriedades físicas e químicas favoráveis, biodegradabilidade e possibilidade de produção em larga escala no nordeste brasileiro, a cera de carnaúba apresenta-se como uma opção interessante para ser

investigada como material encapsulante. A carnaubeira (*Copernicia prunifera*) é uma planta resistente à seca oriunda do nordeste brasileiro, predominando nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. Além da infinidade de aplicações, a extração da cera não causa danos ao meio ambiente, pois as folhas retiradas na colheita são repostas no ano seguinte, atendendo também as exigências de alguns mercados por produtos de qualidade e base natural (FEITOSA, 2015).

A cera obtida da folha da carnaubeira é considerada seu principal produto. É quimicamente classificada como lipídio simples, saturado, hidrofóbica, de fácil manuseio, e não é tóxica aos animais. A cera de carnaúba pode ser utilizada em diversas áreas. Na medicina é utilizada no revestimento de capsulas, cera dental, produtos para tratamento de pele e cabelo. Componente na fabricação de papel carbono, lápis de cera, cola, grafite. Na informática, é componente na confecção de chips, tonners de impressoras e código de barras. Outras indústrias utilizam a cera de carnaúba nas áreas: alimentícia (polimento de frutas e queijos, goma de mascar, doces, refrigerantes) e automobilística (capa de assento de automóveis e polimento de pinturas) (OLIVEIRA, 2002).

O emprego de recursos naturais regionais (Cera de carnaúba) como matriz lipídica na microencapsulação de ureia para utilização na dieta de ruminantes é uma alternativa na produção animal, principalmente no semiárido nordestino, onde se tem alta disponibilidade desse produto, levando em conta ainda a relevância de explorar sustentavelmente o potencial tecnológico da biodiversidade e reduzir os riscos com a intoxicação de ureia pelo rebanho.

Embora a microencapsulação seja uma tecnologia muito inovadora é ainda pouco explorada comercialmente na área das Ciências Agrárias. Faz-se necessário identificar materiais para aplicações comerciais, em busca de encontrar alternativas viáveis para solucionar dificuldades na incorporação de alguns alimentos na dieta dos animais.

Dessa forma, o presente estudo propôs-se a obter e caracterizar microesferas de cera de carnaúba contendo ureia.

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 (Patos) no Centro de Saúde e Tecnologia Rural / CSTR no município de Patos – PB. Contando também com parceria de laboratórios da UNESP (Presidente Prudente), UFC (Fortaleza) e UFCG (Pombal).

2.2 Obtenção dos sistemas microencapsulados

Duas formulações de ureia microencapsulada em matriz lipídica de cera de carnaúba foram desenvolvidas, em que as proporções (m/m) entre encapsulante e núcleo foram de 2:1 e 4:1, respectivamente. A escolha da proporção entre cera de carnaúba e ureia, assim como as condições de preparo dos sistemas microencapsulados, foram definidas em testes prévios e de acordo com estudo realizado por Medeiros et al. (2017).

Para preparar as emulsões que resultaram nos produtos microencapsulados utilizados nos experimentos e caracterizações iniciais, as respectivas massas de ureia correspondentes a cada formulação foram pesadas em balança analítica Adventurer AR2140 (Marca Ohaus, Parsippany, Estados Unidos®) em béqueres separados, dissolvidos com água destilada até total dissolução. Em seguida, a cera de carnaúba foi pesada em béqueres diferentes 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 em banho maria sob temperatura de 85 °C, devido à rápida solidificação da cera, uma vez que seja retirada do aquecimento.

Ao béquer contendo a cera fundida foi adicionado à lecitina de soja (volume correspondente a 5% com base na massa de cera de carnaúba), um estabilizante e emulsificador próprio para formulação de emulsões do tipo fase aquosa dispersa em fase oleosa (A/O), alvo do estudo. A mistura foi feita com auxílio de um bastão de vidro. Antes de ser adicionada, a solução de ureia foi aquecida até a temperatura da cera fundida e, posteriormente, adicionada lentamente à cera, sob agitação constante durante 20 min, com bastão de vidro. As emulsões foram transferidas para recipientes plásticos, identificadas, congeladas em freezer horizontal a -25 °C por 24 h. Após esse período, as emulsões congeladas foram submetidas à secagem principal em liofilizador Alpha 1-4

LD Plus (Marca Christ, Osterode AM Harz, Alemanha®), sob pressão de 0,11 mbar e temperaturas de -60 °C por 24 h, seguida de secagem complementar em estufa a 55°C por 6h.

Por fim, caracterizou-se a ureia microencapsulada, como novo produto, por meio das seguintes etapas.

2.3 Avaliação do processo de microencapsulação

2.3.1 Rendimento de microencapsulação

O rendimento de microencapsulação foi baseado nas massas de ureia, lecitina de soja e cera de carnaúba utilizada no preparo das emulsões e na massa final após secagem, calculado por meio da equação seguinte:

$$\mathbf{RE = (M_{final}/M_{inicial}) \times 100}$$

Onde: RE = Rendimento da microencapsulação M_{final} : Massa do produto microencapsulado após secagem; $M_{inicial}$ = Massa seca de ureia, cera de carnaúba e lecitina.

2.3.2 Eficiência de microencapsulação

A eficiência de microencapsulação avaliou a capacidade de retenção de ureia pela matriz de cera de carnaúba 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:

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

Onde: EM = Eficiência da microencapsulação; U_{real} : Teor real de ureia retido; $U_{teórica}$: Teor de ureia inserido.

2.4 Avaliação e caracterização dos sistemas microencapsulados

2.4.1 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 carnaúba e dos 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.

2.4.2 Termogravimetria (TG)

As curvas TG foram obtidas em analisador térmico TGA/SDTA 851 (Marca Mettler Toledo, Columbus, Estados Unidos®), 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 alumina (óxido de alumínio) contendo cerca de 5 mg de amostra.

O parâmetro utilizado para determinação da temperatura inicial de degradação foi o T_{onset} segundo Haines (2002), obtido pela intersecção de uma tangente traçada entre as linhas de base horizontais superior, inferior e a parte íngreme da curva sigmoidal, caracterizada como o ponto que melhor representa a temperatura de degradação de um composto.

2.4.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas de DSC dos materiais foram obtidas em um equipamento DSC-50H (Marca Shimadzu, Quioto, Japão®), sob atmosfera inerte (Fluxo de 50 mL/min), taxa de aquecimento de 10 °C/min em uma faixa de temperatura entre 30 e 150 °C, utilizando cadinho hermético de alumínio contendo cerca de 5 mg de amostra.

2.4.4 Avaliação da umidade e atividade de água

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

2.4.5 Análise de nitrogênio nos sistemas microencapsulados

As análises de nitrogênio, parâmetro que foi utilizado para determinação de carga, foram feitas de acordo com o método de *Kjeldahl*, descrito por AOAC (2012).

O teor de nitrogênio foi calculado a partir da equação 1 a seguir:

$$\text{Equação 1. } \% \text{Nit} = V \times N \times F \times 0,014 \times 100 / m$$

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

2.4.6 Espectroscopia na região de infravermelho (FTIR)

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

As duas formulações 2:1 e 4:1 obtidas serão mencionadas como ME2 e ME4, respectivamente.

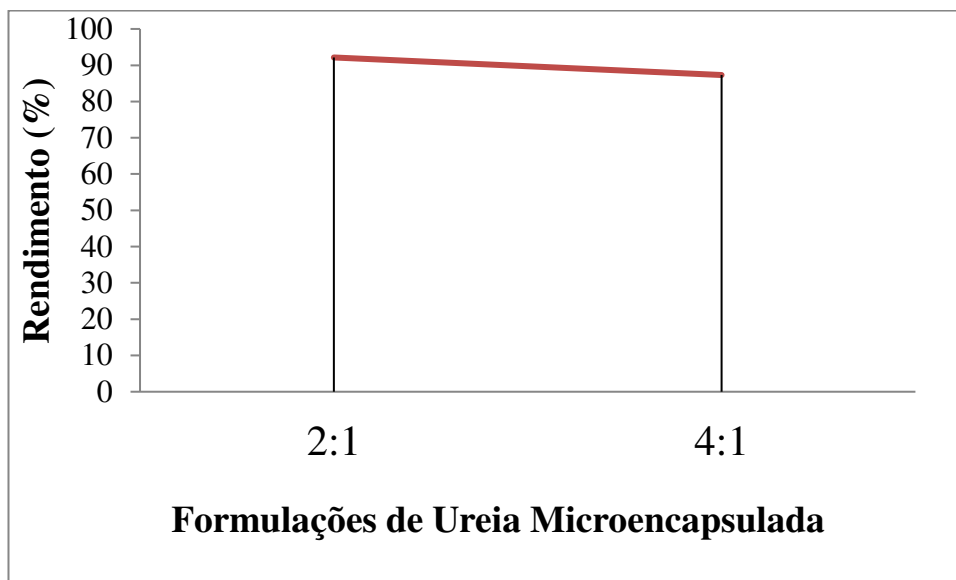


Gráfico 1: Rendimento das formulações microencapsuladas (2:1 e 4:1).

Observou-se que houve um pequeno decréscimo no rendimento conforme aumento do teor da cera, mas que todas as formulações microencapsuladas (UMs) apresentaram resultados satisfatórios, com valores de 92,1 e 87,5% para (UM2) e (UM4), respectivamente. O menor valor de rendimento foi observado para o sistema 4:1. Isso pode ser explicado devido à maior quantidade de cera de carnaúba utilizada no processo, o que gera maior perda de material durante o preparo das formulações, já que a cera tem certa facilidade de se aderir aos recipientes durante o processamento, devido à sua viscosidade.

Rutz et al. (2017) avaliaram a microencapsulação de óleo de palma com quitosano, xantano e pectina, utilizando o método complexo de coacervação, seguido de atomização e liofilização. Os autores verificaram que entre os métodos utilizados, a liofilização resultou em menores perdas de carotenoides e maior rendimento de encapsulação.

Através da eficiência de microencapsulação (EM) pode-se obter informações sobre a porcentagem de ureia (U) que foi retida na matriz lipídica da cera de carnaúba

(CC). A Tabela 1 apresenta as porcentagens da eficiência de microencapsulação determinadas nas formulações estudadas.

Tabela 1: Quantificação do nitrogênio total, proteína bruta, teor teórico de ureia, teor real médio de ureia e eficiência da encapsulação.

Formulação UMs	Ntotal (%)	Proteína bruta (%)	Teor teórico de Ureia (%)	Teor real médio de Ureia (%)	Eficiência da encapsulação (%)
2:1	14,66± 0,07	91,62± 0,43	33,33	33,01± 0,155	99,0± 0,424
4:1	8,87± 0,353	55,46± 0,219	20,00	19,90 ± 0,141	99,5± 0,707

Constatou-se que ambas as formulações apresentaram quase 100% de eficiência de encapsulação. Estes resultados indicam que a cera de carnaúba como material encapsulante de ureia possui alta capacidade de retenção, contribuindo para maior disponibilidade de nitrogênio não proteico (NNP) na dieta animal.

Os resultados de eficiência de microencapsulação foram bastante próximos para ambas as formulações, apresentando valores de 99 e 99,5% para ME2 e ME4, respectivamente. Esses resultados são superiores aos encontrados por Madureira et al. (2015) avaliando a produção de micropartículas lipídicas compostas por cera de carnaúba como encapsulante, lecitina de soja como tensoativo e ácido rosmarínico como núcleo, onde obtiveram valores de eficiência de encapsulação situando-se numa faixa de 80 a 90%.

Da mesma forma, Silva (2014) avaliando micropartículas compostas de cera de carnaúba a partir do método de dispersão a quente, utilizado para encapsular Vitamina D3, alcançou eficiência de encapsulação de apenas 63%.

Portanto, apesar de existirem vários materiais naturais ou sintéticos que podem ser empregados no processo de microencapsulação como material de parede ou recheio, é necessária a escolha apropriada e concentração adequada dos mesmos, assim como os métodos e condições de processamento para maior eficiência do produto microencapsulado.

Para um melhor conhecimento das amostras em termos de estrutura, comportamento térmico e características físicas e químicas, foram realizados alguns ensaios de caracterização.

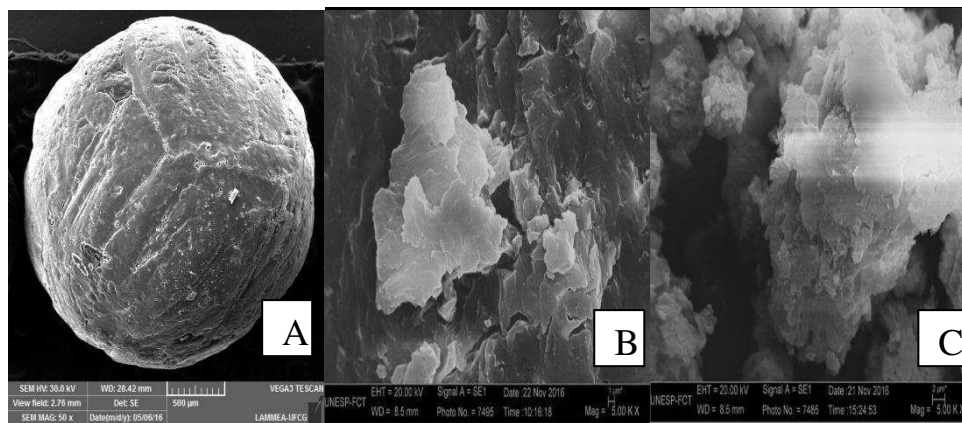


Figura 2. Micrografias eletrônicas de varredura: a) Ureia, b) Cera de carnaúba c) Ureia microencapsulada.

Observou-se que a ureia de forma isolada apresentou superfície rugosa, porosa e com fissuras. Já a cera de carnaúba apresentou uma superfície lisa, íntegra e sem porosidade. Os dois sistemas microencapsulados apresentaram microestrutura semelhante entre si, por esta razão foi escolhida uma micrografia com melhor nitidez para representá-los. Pode-se observar nos sistemas microencapsulados uma microestrutura que se assemelha à da cera de carnaúba, apresentando uma superfície lisa e sem porosidade. O fato da cera de carnaúba ser a predominantemente a fase externa visível confirma a ocorrência do processo de microencapsulação e da proteção da ureia.

Por outro lado, Leonel (2008) avaliou micropartículas de lipídios preparadas por *spray-cooling* compostas por gordura vegetal hidrogenada como material encapsulante, lecitina de soja como tensoativo e solução de glicose como núcleo, e observou que os sistemas microencapsulados apresentaram uma morfologia com superfície rugosa, porosa e com fissuras, diferente dos resultados obtidos nesta pesquisa.

Pode-se ainda observar que a morfologia dos sistemas microencapsulados apresentou uma forma irregular. Esse resultado é característico do processo de liofilização. Aquino et al. (2008) compararam alguns constituintes de gemas de ovo de avestruz desidratadas pelas técnicas de *spray-drying* (Atomização) e pela metodologia de liofilização em relação à morfologia das micropartículas. Os autores verificaram que as micropartículas liofilizadas mostraram-se mais irregulares que as atomizadas. Da mesma forma, Rutz et al. (2017) avaliaram a microencapsulação de óleo de palma, utilizando método de liofilização e verificaram que as micropartículas liofilizadas tinham forma irregular.

O teor de água é de grande importância na produção de alimentos, pois têm influência direta no controle da taxa de deterioração por microrganismos, reações

enzimáticas e químicas que ocorrem durante a armazenagem (FELLOWS, 2006). A determinação da umidade e atividade de água foram feitas nos materiais isolados e nos sistemas microencapsulados imediatamente após liofilização, sendo que a determinação de umidade foi repetida após 6 meses de estocagem sob temperatura de 26 °C e 42% de umidade.

Tabela 2. Valores obtidos para umidade após o preparo e após 6 meses de estocagem e atividade de água da Ureia, Cera de Carnaúba e Formulações 2:1 e 4:1.

Ingrediente	Umidade (%)		Atividade de água (Aw)/Temperatura (°C)
	Após preparo	Após 6 meses de estocagem	
Ureia	4,75 ±0,08	7,07 ±2,08	0,605 ± 0,004/ 26,6 ±0,122
Cera de Carnaúba	<1%		-
(2:1)	3,1±0,12	3,1± 0,11	0,431± 0,002 / 25,4± 0,12
(4:1)	1,5 ± 0,15	1,5± 0,16	0,415 ± 0,018/ 25,3 ± 0,31

Observou-se que ambas os sistemas apresentaram baixa umidade. No entanto, houve diminuição no teor de umidade quando se aumentou a quantidade de cera de carnaúba no produto microencapsulado, com valores de umidades menores para UM4, provavelmente devido à alta hidrofobicidade da cera.

Outra questão que pode-se verificar é que mesmo após 6 meses de armazenamento não houve diferença para o teor de umidade nas formulações, o que significa que a associação da cera de carnaúba foi eficiente para inibir a higroscopicidade da ureia, assim como atesta que a ureia superficial é mínima (exposta). Isso pode ser explicado devido à cera de carnaúba ser uma matriz altamente lipofílica e também contém 5% de resinas, o que permite que quase nenhuma água penetre nos poros da estrutura lipídica (MADUREIRA et al., 2015).

Dessa forma, esses resultados indicam uma maior praticidade no uso na ureia microencapsulada com cera de carnaúba na mistura ou formulação de ração com diversas fontes de concentrados e volumosos, visto que, devido à baixa umidade, não haverá problema de petrificação, garantindo maior homogeneidade com os demais componentes da dieta, sem prejudicar a qualidade da mesma.

Em relação aos resultados de atividade de água, todas as formulações apresentaram valores que indicam um sistema microbiologicamente estável e seguro,

sem risco de deterioração. Estando de acordo com Gock et al. (2003) que encontraram valor mínimo da Aw para germinação de microrganismos de 0,7.

A Espectroscopia na região do infravermelho possibilitou confirmar a presença de núcleo e encapsulante, assim como avaliar a compatibilidade química entre eles. A interpretação dos espectros foi baseada na metodologia de Bleyan et al. (2015), Barros et al. (2016) e Medeiros et al. (2017).

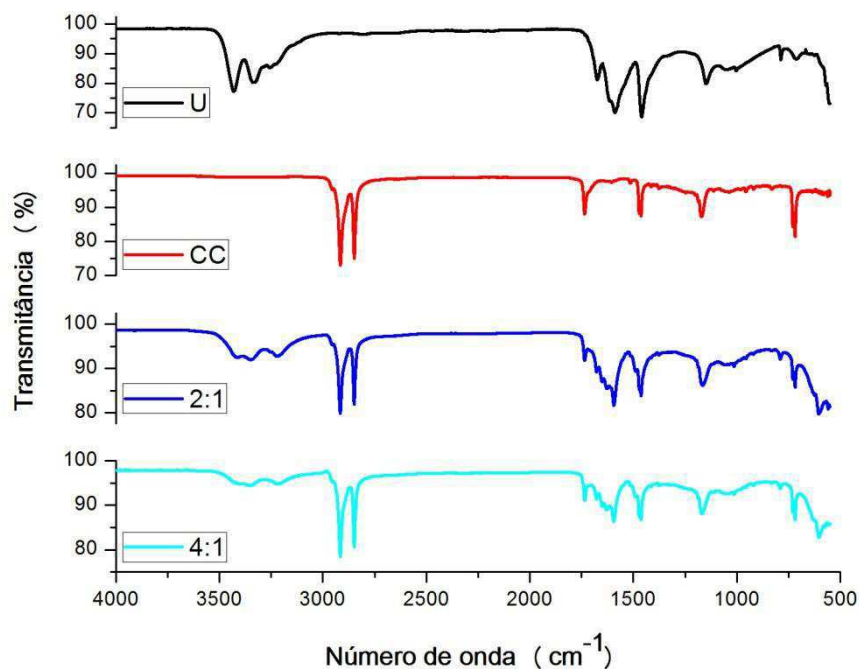


Figura 3. Espectrogramas FTIR da Ureia, Cera de Carnaúba e Formulações (2:1 e 4:1).

As principais bandas de absorção típicas da ureia foram identificadas em 3429 e 3332 cm^{-1} , que correspondem à vibração assimétrica e simétrica do grupo N-H e em torno de 1673 cm^{-1} , atribuída ao alongamento de vibração dos grupos C=O da ureia (Figura 3). A banda apresentada em 1590 cm^{-1} está relacionado com o alongamento das ligações N-H. a banda em 1462 cm^{-1} corresponde à ligação C-N; a banda em 1150 cm^{-1} é devido ao estiramento simétrico de N-H. Esses resultados são característicos da estrutura da ureia e estão em conformidade com os já descritos na literatura (MADHURAMBAL et al., 2010) e (FERNANDES et al., 2015).

Em relação à cera de carnaúba, em 2915 e 2847 cm^{-1} podem ser vistas duas bandas típicas relacionadas ao estiramento simétrico e assimétrico de ligações C-H, atribuídas às estruturas alifáticas compostas por carbonos primários e secundários.

A banda intensa em 1734 cm^{-1} foi atribuída à ligação C=O, enquanto as bandas em 1465 e 730 cm^{-1} referem-se à ligação CH₂ e C-C, respectivamente. Essas bandas são semelhantes às encontradas por Feitosa (2015).

A partir dos espectros de absorção dos sistemas microencapsulados foi possível observar que as principais bandas atribuídas à ureia (U) e cera de carnaúba (CC) 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} correspondem, respectivamente, à vibração assimétrica e simétrica da ligação N-H da ureia (isolada). Esta foi a única banda que apresentou variação considerável quando comparadas a ureia isolada à ureia microencapsulada, pois houve um deslocamento para uma região menor do espectro, além de um pequeno alargamento. Isso indica ocorrência de interação do grupo em questão (N-H), o que é aceitável, visto que a ureia sofre facilmente interações intermoleculares de H (Ponte de H). Logo, esse tipo de evento não influencia nenhum problema para esta pesquisa.

Os conhecimentos das propriedades térmicas podem levar à melhoria no processo de utilização do produto microencapsulado, e entender suas formas de liberação em condições de ambiente específica. Através das Curvas termogravimétricas (TG) foi possível observar as variações na massa em função da temperatura das amostras isoladas e microencapsuladas (Figura 4).

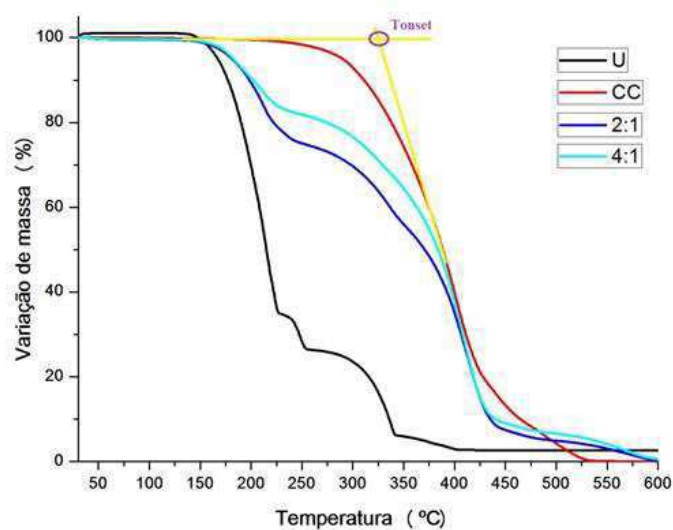


Figura 4. Curvas termogravimétricas (TG) da Ureia (U), Cera de Carnaúba (CC) e Formulações (2:1; 4:1).

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, exemplificado no gráfico para a cera de carnaúba.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar que a ureia (U) de forma isolada apresentou início de degradação térmica em $170,5^{\circ}\text{C}$, concordando com os resultados encontrados por Fernandes et al. (2015). Já a cera de carnaúba (CC) mostrou estabilidade térmica até $328,5^{\circ}\text{C}$. Estes valores são semelhantes aos encontrados por Feitosa (2015).

Em relação às amostras microencapsuladas (ME2 e ME4), as temperaturas iniciais de degradação observadas foram $176,35^{\circ}\text{C}$ e $176,55^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Dessa forma, pode-se constatar que a inclusão de ureia na matriz lipídica da cera de carnaúba proporcionaram maior estabilidade térmica do que na ureia de isolada, reafirmando sua capacidade de proteção ao núcleo e armazenamento em temperaturas mais elevadas.

Além disso, foi possível observar uma pequena diferença entre as curvas TG dos sistemas microencapsulados, em que para ME4 observou-se um início de degradação numa temperatura mais elevada, sugerindo que quanto maior o nível de inclusão da cera de carnaúba no sistema, maior a estabilidade térmica do produto microencapsulado.

Para este estudo, a informação mais relevante fornecida pela curva de DSC é a temperatura de fusão, devido ao fato do material encapsulante ser um cerídeo.

As curvas de (DSC) possibilitaram determinar a temperatura de fusão (Eventos endotérmicos), fornecendo informações, inclusive, acerca da estabilidade e das adequadas condições de armazenamento do material, assim como o grau de pureza dos materiais utilizados nas formulações.

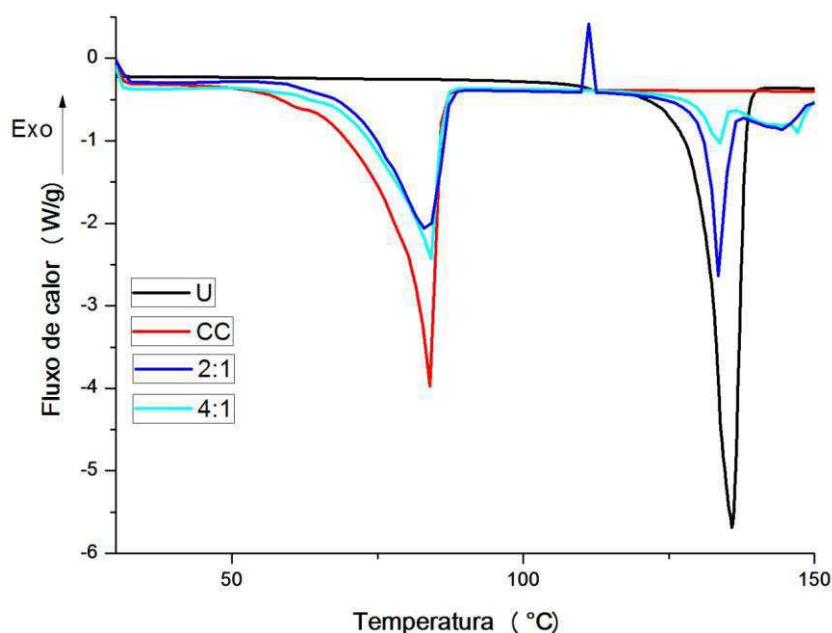


Figura 5. Curvas de DSC da Ureia (U), Cera de Carnaúba (CC) e Formulações (2:1; 4:1).

As curvas de DSC apresentaram eventos endotérmicos para ureia (U), cera de carnaúba (CC) e formulações microencapsuladas (2:1 e 4:1), atribuídos à fusão (Figura 5). No entanto, observou-se um pequeno pico exotérmico em torno de 112 °C para a formulação 2:1, possivelmente atribuído a alguma impureza, visto que nenhuma das fases isoladas e nem o outro sistema microencapsulado apresentou-o.

A ureia (U) apresentou ponto de fusão em 135,87 °C, estando de acordo com os resultados encontrados na literatura, que são entre 125 e 150 °C (FERNANDES et al., 2015). Da mesma forma, a cera de carnaúba (CC) apresentou ponto de fusão em 83 °C, similar aos encontrados por Rizzo (2008), Lacerda et al. (2009), Milanovic et al. (2010) e Leite et al. (2011), em que o ponto de fusão para a cera de carnaúba foi entre 83 e 84°C.

Esses resultados revelam que não há evidências de misturas na cera de carnaúba analisada neste estudo, isso porque quando um sólido é impuro o mesmo funde-se em

uma temperatura mais baixa e em uma faixa mais ampla do que o mesmo composto puro. O evento endotérmico da fusão é geralmente único e estreito para amostras puras, já para misturas, o evento torna-se largo, podendo apresentar mais de um evento consecutivo (FEITOSA, 2015).

Avaliando as curvas de DSC referentes às formulações, identificou-se dois eventos endotérmicos, em 83,64 °C e 133,40 °C para ME2, e 84,13 °C e 133,74 °C para ME4, referentes à fusão da cera de carnaúba (CC) e da ureia (U), respectivamente. Analizando os dados, pode-se constatar que os eventos de fusão observados para os sistemas microencapsulados foram próximos aos encontrados ao para a cera de carnaúba (CC) e ureia (U) isoladas. Esses resultados revelam que é seguro armazenar as formulações microencapsuladas ou utilizá-las em processamento que envolve calor até cerca de 83°C, atestando também a compatibilidade química entre cera e ureia, sem ocorrência de reação ou interação indesejável entre ambas, conforme já observado nos resultados de Espectroscopia no infravermelho.

4. Conclusão

As formulações apresentaram altos índices de retenção de ureia, além de bons rendimentos, atestando a adequação da escolha da cera de carnaúba e também da técnica de liofilização para obter os sistemas microencapsulados. A cera de carnaúba proporcionou a inibição da higroscopicidade da ureia, prevenindo sua petrificação durante armazenamento e, portanto, facilitando sua homogeneização com os demais ingredientes da dieta. Desta forma, a partir das constatações feitas, a cera de carnaúba apresenta-se como um encapsulante promitente para obtenção de micropartículas contendo ureia para possível liberação lenta, em que, de acordo com o presente estudo, entre as duas formulações desenvolvidas, recomenda-se a ME2 (2:1), visto que apresentou melhor rendimento e é o sistema com maior conteúdo de ureia, proporcionando maior aporte de nitrogênio não proteico (NNP) de liberação lenta para o animal.

5. Referências bibliográficas

AQUINO, A.A.; BOTARO, G.B.; IKEDA, S.F.; RODRIGUES, M.H.P.; MARTINS, F.M.; SANTOS, V.M. Efeito de níveis crescentes de ureia na dieta de vacas em lactação sobre a produção e a composição físico-química do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.881-887, 2008.

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**, v.38, n.5, p. 1381-1387, 2008.

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.

BLEYAN, D.; SVOBODA, P.; HAUSNEROVA, B. Specific interactions of low molecular weight analogues of carnaúba wax and polyethylene glycol binders of ceramic injection moulding feedstocks. **Ceramic international**, v.41, p.3975-3982, 2015.

FEITOSA, J. P. M. **Avaliação do uso de diferentes tipos de cera de carnaúba como aditivo para misturas morna**. 107 f. Tese (doutorado em química)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

FELLOWS P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e prática**. Tradução: Florencia Cladera Oliveira et al – 2º edição – Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERNANDES, B.S.; PINTO, J.C.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E.C.M.; FIALHO, R.L. Free-Radical polymerization of urea, acrylic acid, and glycerol in aqueous solutions. **Polymer Engineering and Science**, p.1219-1229, 2015.

GARCIA, L. P. **Liofilização aplicada a alimento**. 45p. (Graduação Bacharelado em Química de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas. 2009.

HAINES, P.J. **Principles the Thermal Analysis and Calorimetry**, The Royal Society of Chemistry, 2002.

JORES, K.; MEHNERT, W.; DRESHSLER, M.; BUNJES, H.; JOHANN, C.; MÄDER, K. Investigations on the structure of solid lipid nanoparticles (SLN) and oilloaded solid lipid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field-flow fractionation and transmission electron microscopy. **Journal of Controlled Release**, v. 95, p. 217- 227, 2004.

JUNIOR, T.V.; PARRA. F.D. PITOMBO. M.N.R. Influência da taxa de congelamento no comportamento físico-químico e estrutural durante a liofilização da albumina bovina. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 42, n. 1, 2006.

LACERDA, S.P.; CERIZE, N.N.P.; RÉ, M. I. Preparation and characterization of carnauba wax nanostructured lipid carriers containing benzophenone-3. **International Journal of Cosmetic Science**, v.33, p.312–321, 2011.

LEITE, L. F. M.; FILHO, L. R. S.; ASSUMPÇÃO, D. F.; NASCIMENTO, L. A. H.; MARTINS, A. T.; CRAVO, M. C. C. **Composição e processo de preparação de ligante asfáltico modificado por cera de origem natural**. Brasil. PI0901484-5 A2, 2011.

LEONEL, A. J. **Produção e caracterização de partículas lipídicas constituídas por ácidos graxos, gordura vegetal hidrogenada e lecitina na encapsulação de um composto hidrofílico de baixa massa molar**. Tese de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, da universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.

MADUREIRA. R.A; CAMPOS. A.D; FONTE. P.A; NUNES. S.B, REIS. F.C; GOMES. M.A. C; PINTADO. M.M. Caracterização de nanopartículas lipídicas sólidas produzidas com cera de carnaúba para administração oral de ácido rosmarínico. **The Royal Society of Chemistry**, v. 5, p. 22665–22673, 2015.

MADHURAMBAL, G.; MARIAPPAN, M.; MOJUMDAR, S. C. TG–DTA, UV and FTIR spectroscopic studies of urea–thiourea mixed crystal. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 100, n. 3, p. 853-856, 2010.

MILANOVIC, J.; MANOJLOVIC, V.; LEVIC, S.; RAJIC, N.; NEDOVIC, V.; BUGARSKI, B. Microencapsulation off lavores in carnaúba wax. **Sensors**, v.10, p. 901-912, 2010.

NEDOVICA,V.; KALUSEVICA, A.; MANOJLOVICB,V.;LEVICA,S.; BUGARSKIB, B.An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1 p. 1806 -1815, 2011.

OLIVEIRA, F. F. Contribuição da análise térmica no desenvolvimento de formulações de batons. Instituto de Química – USP (Dissertação de Mestrado), 2002.

RIZZO, M. DE M. **Caracterização físico-química de materiais de esculturas de cera do museu alpino**. Dissertação de Mestrado, São Paulo, São Paulo, 2008.

RUTZ,K.J.;BORGES,D.C.;ZAMBIAZI,C.R.; CRIZEL-CARDOZO,M.M; KUCK,C.L.; NOREÑA, Z.P.Z. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. **Food Chemistry**, v. 220, p. 59–66, 2017.

SILVA, GRYELE KAREN PIVA. **Micropartículas sólidas lipídicas: estudo de variáveis operacionais e encapsulação de vitamina D3**. 38f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

CAPÍTULO 2: Consumo, digestibilidade e perfil metabólico de ovinos alimentados com ureia microencapsulada com cera de carnaúba

Consumo, digestibilidade e perfil metabólico de ovinos alimentados com ureia microencapsulada com cera de carnaúba

Resumo

As fontes de nitrogênio mais utilizadas em dietas para ruminantes são os farelos de grãos oleaginosos e os produtos capazes de fornecer nitrogênio na forma não proteica (NNP), como a ureia. É sabido que a proteína das sementes de oleaginosas, por exemplo, é considerado o nutriente mais oneroso na dieta de ruminantes. Objetivou-se avaliar a influência da inclusão de ureia microencapsulada com cera de carnaúba em substituição parcial ao nitrogênio do farelo de soja na dieta de ovinos sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes e perfil metabólico. Foram utilizados 12 ovinos (SRD) machos, não castrados com peso médio de $30 \text{ kg} \pm 0,6 \text{ kg}$ e 18 meses de idade. O arranjo experimental utilizado foi o delineamento inteiramente ao acaso (DIC), onde os animais foram distribuídos em 4 tratamentos, sendo diferentes níveis de inclusão de ureia microencapsulada com cera de carnaúba em substituição ao nitrogênio do farelo de soja (0%, 1,5%, 3,0% e 4,5%), com base na matéria seca (MS), e 3 repetições (número de animais). A substituição parcial da ureia microencapsulada pelo nitrogênio do farelo de soja afetou positivamente o consumo de nutrientes por ovinos, sem afetar a digestibilidade. A inclusão de ureia microencapsulada na dieta permitiu menor concentração desta no sangue e na urina, mas não influenciou as concentrações de albumina, proteínas totais e creatinina. A ureia microencapsulada com cera de carnaúba pode substituir parcialmente o farelo de soja em até 4,5% na matéria seca da dieta total, sem apresentar sinais clínicos de intoxicação aos animais, nas condições deste estudo.

Palavras chave: amônia ruminal; nitrogênio não proteico; liberação controlada; metabolismo.

Abstract

The sources of nitrogen most used in ruminant diets are oleaginous grain bran and products capable of supplying nitrogen in non-protein form (NNP), such as urea. It is known that oilseed protein, for instance, is considered the most expensive nutrient in the ruminant diet. The objective of this study was to evaluate the influence of the inclusion of microencapsulated urea with carnauba wax in partial replacement with soybean meal nitrogen in the diet of sheep on the consumption, nutrient digestibility, and metabolic profile. Twelve non-castrated crossbred male sheep with mean weight of $30 \text{ kg} \pm 0.6 \text{ kg}$

and 18 months old were used. The experimental arrangement was the completely randomized design, where the animals were distributed in 4 treatments, with different levels of inclusion of microencapsulated urea with carnauba wax replacing nitrogen from soybean meal [0%, 1.5 Dry matter (DM), and 3 replicates (number of animals)]. The partial replacement of the microencapsulated urea by the nitrogen of the soybean meal affected positively the nutrient intake by sheep, without affecting the digestibility. The inclusion of microencapsulated urea in the diet allowed a lower concentration of urea in the blood and urine, but did not influence the concentrations of albumin, total proteins, and creatinine. Microencapsulated urea with carnauba wax can partially replace soybean meal up to 4.5% in the dry matter of the total diet, without showing clinical signs of intoxication to the animals, under the conditions of this study.

Keywords: ruminal ammonia; non-protein nitrogen; controlled release; metabolism.

1. Introdução

As fontes de nitrogênio mais utilizadas em dietas para ruminantes são os farelos de grãos oleaginosos e os produtos capazes de fornecer nitrogênio na forma não proteica (NNP), como a ureia. É sabido que a proteína das sementes de oleaginosas, por exemplo, é considerado o nutriente mais oneroso na dieta de ruminantes. Dessa forma, a utilização da ureia como fontes nitrogênio não proteico se destaca por permitir maximizar a produção, e ao mesmo tempo, diminuir os custos com a aquisição de insumos para alimentação do rebanho.

O uso da ureia como fonte de nitrogênio não proteico (NNP) é uma prática usual há anos e que se perpetua, graças a seu alto poder amoniacal, ser acessível, de fácil manuseio e pela ótima relação custo/benefício, que pode ser aproveitada pelos microrganismos ruminais, através de suas enzimas ureases, para maximizar a produção de proteína microbiana (PAULA et al., 2009).

No entanto, o desempenho animal pode ser comprometido quando há situações de elevada participação do nitrogênio não proteico (NNP) na dieta dos ruminantes. Quando fornecida de maneira excessiva, a ureia, que apresenta rápida hidrólise ruminal, libera maior quantidade de amônia no rúmen. Quando os níveis de amônia absorvidos pelo rúmen ultrapassam o limite do fígado de biotransformá-la em ureia novamente,

ocorre acúmulo da mesma na corrente sanguínea, causando intoxicação e com possibilidade de levar o animal ao óbito (AZEVEDO et al., 2008).

Pesquisas têm comprovado que o pico de amônia no rúmen quando a ureia é fornecida, 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. Quando a velocidade de degradação da proteína no rúmen excede a velocidade de utilização dos compostos nitrogenados para a síntese microbiana, o excesso de amônia produzido no rúmen atravessa a parede ruminal e pode ser perdido via urina, na forma de ureia (AZEVEDO et al., 2015).

Dessa forma, a utilização da ureia de liberação lenta pode ser uma fonte alternativa de nitrogênio não proteico (NNP) na dieta de ruminantes. A tecnologia de microencapsulação permite maior controle da liberação de ureia no ambiente ruminal, promovendo um aumento na atividade dos microrganismos ruminais e maior eficiência na utilização da ureia, além de possibilitar menores riscos de casos de intoxicação, aumentar o espaço para inclusão de ingredientes na dieta e conseqüentemente, maximizar o desempenho animal.

Devido sua alta capacidade de proteção e retenção, alta disponibilidade no mercado e não ser tóxica aos animais, a cera de carnaúba se destaca como material encapsulante da ureia, para ser utilizada na dieta de ruminantes. Além disto, é um produto natural e nativo da caatinga. A cera de carnaúba é um composto inerte à saúde ruminal e animal, considerada de alta hidrofobicidade, sendo capaz de inibir a higroscopicidade da ureia e melhorar sua utilização na dieta animal, assim como, permitir sua qualidade nutricional em longos períodos de armazenamento.

Dentro deste contexto, objetivou-se avaliar a influência da inclusão de ureia microencapsulada com cera de carnaúba em substituição parcial ao nitrogênio do farelo de soja na dieta de ovinos sobre o consumo, digestibilidade dos nutrientes e perfil metabólico.

2. Material e métodos

2.1 Local do experimento

O ensaio experimental foi desenvolvido no Setor de Caprinos e Ovinos da Fazenda Experimental NUPEÁRIDO e nos laboratórios de Nutrição animal (LANA) e Patologia clínica, ambos do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade

Federal de Campina Grande – UFCG no município de Patos – PB, cujo clima local é classificado como quente e seco, tendo duas estações bem definidas (seca e chuvosa), com precipitação, temperatura e umidade relativas médias anuais de 500 mm, 29 °C e 60%, respectivamente.

2.2 Animais, manejo e delineamento experimental

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).

A partir dos resultados obtidos no capítulo anterior, por apresentar maior rendimento e quantidade de ureia no sistema, utilizou-se a ureia microencapsulada na proporção (2:1), cera de carnaúba e ureia, respectivamente, correspondente a 33% do valor real médio de ureia.

Foram utilizados 12 ovinos (SRD) machos, não castrados com peso médio de 30 kg \pm 0,6 kg e 18 meses de idade. Ao início do experimento, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais, providas de cochos e bebedouros, recebendo água e ad libitum.

Inicialmente os animais foram pesados, identificados, vermifugados e vacinados. Posteriormente foram submetidos a um período de 15 dias de adaptação ao manejo experimental e às instalações, e 6 dias de coletas de dados, perfazendo 21 dias de experimentação.

O arranjo experimental utilizado foi o delineamento inteiramente ao acaso (DIC), onde os animais foram distribuídos em 4 tratamentos, sendo diferentes níveis de inclusão de ureia microencapsulada com cera de carnaúba em substituição ao nitrogênio do farelo de soja (0%, 1,5%, 3,0% e 4,5%), com base na matéria seca (MS), e 3 repetições (número de animais).

As dietas experimentais, isoproteicas, foram ajustadas conforme o NRC (2007) para ganho de peso corporal médio de 200 g/dia composta de 60% de volumoso e 40% de concentrado, constituída de farelo de soja, ureia microencapsulada, farelo de milho, feno de tifton 85, Calcáreo calcítico e Ircafós Ovino 70. A (Tabela 1) apresenta a participação dos ingredientes (%) e composição química das dietas experimentais (%MS). A ração foi fornecida diariamente, às 8:00h e às 16:00h, em forma de ração completa,

50% pela manhã e 50% à tarde, calculada conforme a quantidade de sobras referente ao dia anterior, mantida em torno de 10%.

A partir do 16º dia, diária e individualmente, foram retiradas todas as sobras de alimento oferecido no dia anterior, formando-se amostras compostas individuais, que foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas, 10% da quantidade total de fezes e 10% do volume de urina produzida, para análises laboratoriais. Para se evitar a perda de compostos nitrogenados da urina, por volatilização, foi colocada uma solução de HCl a 10 N, no recipiente antes da coleta, em volume correspondente a 10 mL da quantidade de urina produzida no dia anterior. As amostras de fezes e urinas foram mantidas em congelador -20 °C até o final do ensaio, quando então, foram compostas por animal, e submetidas às análises químicas.

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG no município de Patos – PB, segundo metodologias descritas por AOAC (2001) e Van Soest, et al. (1991). Nas amostras da dieta, sobras e fezes foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), e fibra em detergente ácido (FDA), enquanto nas amostras de urina, o teor de nitrogênio total.

O consumo dos nutrientes foi calculado pela diferença entre a quantidade do nutriente presente nos alimentos fornecidos e sua quantidade presente nas sobras, expressando o resultado em g dia⁻¹. A digestibilidade dos nutrientes foi obtida segundo a equação: Digestibilidade (%) = [nutriente ingerido (g) – nutriente excretado nas fezes (g) / nutriente ingerido (g)] x 100.

Durante o período de coleta, foram realizadas coleta *spot* de urina, obtidas no 17º e 20º dias do período experimental, aproximadamente 4 horas após a alimentação matinal, durante micção espontânea. Uma alíquota de 10 mL foi filtrada em gaze, e diluída em 40 mL de H₂SO₄ 0,036 N, segundo padronização de CHEN et al., (1995). As amostras foram armazenadas a -20 °C (VALADARES et al.,1999) para posteriores análises de ureia e creatinina.

Para as análises bioquímicas do nitrogênio total na urina, as amostra foram encaminhadas para o Laboratório de Patologia Clínica do HV/UFCG e foram efetuadas por meio de processo cinético em analisador semiautomático Bioplus 2000 com kits comerciais para avaliar a concentração de Creatinina. Já a avaliação da concentração de

ureia foi realizada por meio de processo cinético, em analisador automático Cobas C-111 (Roche).

Para avaliação dos parâmetros séricos foram colhidos 5 ml de sangue por venopunção jugular nos animais de cada tratamento e acondicionado em frascos sem anticoagulante, em seguida por processo de centrifugação (centrifuge model 90-1, Coleman Equipamentos para Laboratório Comp. E Imp. Ltda, Brasil) em 3000 rpm/15 min foi obtido soro e armazenado em tubos na geladeira a -20 °C, para posteriormente serem medidas as concentrações de ureia plasmática, proteína total e albumina.

As variáveis bioquímicas foram mensuradas por meio do uso de kits comerciais de ureia (Ureal Urea, Roche Diagnostics GmbH, Germany) proteínas totais (Labtest, Brasil) e albumina (ALB2-Albumin BCG, Roche Diagnostics GmbH, Germany) utilizado em analisador bioquímico semiautomático (Bio-200, Bioplus Produtos para Laboratórios Ltda., Brasil).

Os resultados obtidos foram interpretados estatisticamente por regressão, adotando-se o nível de 5% de significância, utilizando o programa estatístico SAS (2003).

Tabela 1: Participação dos ingredientes (%) e composição química da dieta dos animais (%MS).

Ingredientes (g/Kg)	Ureia Microencapsulada			
	0%	1,5%	3%	4,5%
Feno de tifton 85	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
Ureia encapsulada	0,00	1,50	3,00	4,50
Calcáreo calcítico	0,04	0,00	0,00	0,00
Ircafós Ovino 70	1,00	1,00	1,00	1,00
Composição química (g/Kg)				
Matéria Seca	91,20	91,21	91,23	91,22
Proteína Bruta	13,05	13,05	13,05	13,06
Fibra em Detergente Neutro	53,24	53,00	52,74	52,47
Fibra em Detergente Ácido	27,85	27,63	27,41	27,11

Cinzas	16,29	15,15	13,99	12,89
Estrato Etéreo	4,88	4,77	4,66	4,55
Carboidratos Não Fibrosos	66,29	65,15	63,99	64,21
Nutrientes Digestíveis Totais	62,65	62,97	63,27	64,24
Cálcio	0,45	0,43	0,42	0,41
Fósforo	0,38	0,37	0,35	0,41

3. Resultados e discussão

A inclusão de ureia microencapsulada aumentou linearmente o consumo de (MS), (MO), (PB), (FDN), (CNF) e (FDA) (Tabela 2), atingindo 1167,34; 1023,43; 153,25; 607,41; 286,29; 313,28 g/dia, respectivamente, a 4,5% de inclusão da ureia microencapsulada. Estes resultados divergiram dos encontrados por Geron et al. (2016) que avaliaram a inclusão de 0,0%; 0,4%; 0,8%; e 1,2%; de ureia de liberação lenta (ULL) na alimentação de ovinos e verificaram que a inclusão de ULL não alterou o consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e carboidratos não fibrosos (CNF). Já Sinclair et al. (2012) ao substituir o farelo de soja por ureia de liberação lenta (ULL) em dietas de vacas leiteiras, observaram que houve aumento linear no consumo de proteína bruta (PB), de acordo com os níveis crescentes de ureia de liberação lenta. Resultado semelhante a este estudo.

O maior consumo de nutrientes nos tratamentos com inclusão de níveis crescentes de ureia microencapsulada possivelmente ocorreu por causa da maior disponibilidade de nitrogênio degradável no rúmen, que permitiu maior atividade dos microrganismos na fermentação da fibra. O suprimento constante de NH_3 no rúmen de liberação gradativa promoveu uma maior e constante produção de nitrogênio na forma amoniacal NH_3 no ambiente ruminal, com maior sincronismo dos nutrientes da dieta, refletindo em maior atividade dos microrganismos ruminais, e na taxa de passagem do alimento, podendo explicar o aumento no consumo (MS), (MO), (PB), (FDN), (CNF) e (FDA) neste estudo (Tabela 2).

No entanto, os níveis de ureia microencapsulada não tiveram efeito sobre o consumo de (EE) e (NDT) (Tabela 2). O mesmo foi relatado por Freire et al. (2012) onde avaliaram a inclusão níveis crescentes de ureia de liberação lenta (ULL) na dieta de ovinos confinados e não observaram efeito sobre o consumo de (NDT). Da mesma

forma, Pereira et al. (2008) não observaram influência de níveis crescentes (0%; 0,5%; 1,0% e 1,5%) de ureia para bovinos de corte sobre o consumo de (EE) e (NDT).

Segundo Silva et al. (2007), o consumo de nutrientes digestíveis totais está relacionado negativamente ao consumo de fibra em detergente neutro e positivamente ao consumo de carboidratos não fibrosos

Tabela 2: Valores médios de consumo (g/dia) dos nutrientes em ovinos alimentados com níveis de inclusão de ureia microencapsulada na dieta.

Variáveis	Níveis de Inclusão de Ureia				Prob	Equação	EPM	R ²
	Microencapsulada (%)							
	0	1,5	3	4,5				
	Consumo (g/dia)							
MS	1000,3	1004,01	1071,08	1167,34	0,007	Y=968,960+39,733X	69,031	0,528
MO	910,68	908,35	952,05	1023,43	0,039	Y=891,333+25,464X	62,424	0,359
PB	131,67	133,74	142,53	153,25	0,008	Y=129,270+4,901X	8,633	0,521
EE	53,07	49,86	49,20	47,31	0,15	Y=49,861	3,525	0,195
CNF	235,25	240,08	259,82	286,29	0,002	Y=229,429+11,524X	15,798	0,642
FDN	510,60	522,61	554,45	607,41	0,007	Y=500,427+21,484X	36,695	0,536
FDA	262,75	271,83	283,66	313,28	0,007	Y=258,368+10,895X	18,873	0,529
NDT	666,44	656,92	690,29	735,51	0,067	Y=687,289	45,404	0,296

Prob=Probabilidade, EPM= Erro padrão da média, MS= Matéria seca PB= Proteína bruta, EE= Estrato etéreo, CNF= Carboidratos não fibrosos, FDN= Fibra em detergente neutro, FDA= Fibra em detergente ácido, NDT= Nutrientes digestíveis totais.

A inclusão de ureia microencapsulada na dieta não influenciou a digestibilidade para todos os nutrientes avaliados (Tabela 3). Resultados semelhantes aos encontrados por Benedeti et al. (2014), que avaliaram a influência da substituição (0, 33, 66 e 100%) do farelo de soja por ureia de liberação lenta (ULL) em dietas de terminação de bovinos de corte e não observaram efeito sobre a digestibilidade de (MS), (MO), (PB) e (FDN).

No entanto observou-se um pequeno aumento na digestibilidade da proteína bruta (PB) com elevação dos níveis de ureia microencapsulada na dieta, com menor digestibilidade para o tratamento controle que não recebeu ureia microencapsulada, com a média de (74,12) (Tabela 3).

Da mesma forma, Antunes et al. (2016) avaliando a inclusão de ureia de liberação lenta (ULL) (0, 33, 66 e 100%) em substituição do farelo de soja na dieta de bovinos não encontraram efeitos sobre a digestibilidade (MS), (PB), (EE), (FDN) e (CNF), porém houve aumento na digestibilidade da proteína bruta (PB) com a elevação da

ureia na dieta. Esse comportamento pode ser explicado devido à maior solubilidade da ureia em relação ao farelo de soja. Estudos mostram que quando a ureia é ingerida pelos ruminantes, 100% do seu nitrogênio é degradável a nível ruminal, diferente do que ocorre com o farelo de soja, onde parte da proteína bruta pode escapar da fermentação ruminal, podendo ou não ser aproveitada completamente no intestino.

Já para a digestibilidade de extrato etéreo (EE) houve uma diminuição quando se aumentou os níveis de inclusão da ureia microencapsulada na dieta, com a menor média (48,52) para o tratamento que recebeu (4,5%) de ureia microencapsulada (Tabela 3). Este resultado pode ser explicado devido menor consumo de extrato etéreo por esses animais (Tabela 2) e por motivo do farelo de soja ser uma fonte rica em lipídeos.

De acordo Pessoa et al. (2009) os efeitos positivos da inclusão de ureia na dieta de ruminantes sobre a digestibilidade dos nutrientes dependem da capacidade dos microrganismos ruminais em assimilar os produtos finais da fermentação.

De maneira geral, estes resultados demonstram que a ureia microencapsulada com cera de carnaúba responde de forma similar ao farelo de soja sobre a digestibilidade dos nutrientes, nas condições deste estudo.

Tabela 3: Valores médios dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes em ovinos alimentados com níveis de inclusão de ureia microencapsulada na dieta.

Variáveis	Níveis de Inclusão de Ureia				Prob	Equação	EPM	R ²
	Microencapsulada (%)							
	0	1,5	3	4,5				
	Digestibilidade (%)							
MS	67,33	67,56	68,27	67,48	0,9316	Y=67,662	5,130	0,0008
MO	67,24	67,64	67,23	67,33	0,9921	Y=67,360	4,971	0,0001
PB	74,12	74,54	79,32	78,01	0,3739	Y=76,498	6,841	0,0797
EE	53,00	50,79	50,65	48,52	0,6751	Y=50,742	6,781	0,0183
CNF	82,61	83,20	83,22	83,04	0,7377	Y=83,020	1,466	0,0117
NDT	69,90	69,67	70,07	67,64	0,6218	Y=69,320	4,851	0,0253
FDN	48,38	49,95	49,31	49,51	0,8685	Y=49,289	6,271	0,0029
FDA	36,90	36,19	36,85	36,85	0,9402	Y=36,208	7,337	0,0006

Prob=Probabilidade, EPM= Erro padrão da média, MS= Matéria seca PB= Proteína bruta, EE= Extrato etéreo, CNF= Carboidratos não fibrosos, FDN= Fibra em detergente neutro, FDA= Fibra em detergente ácido, NDT= Nutrientes digestíveis totais.

Tabela 4: Valores ureia, proteínas totais e albumina sérica, e excreção de ureia e creatinina na urina de ovinos alimentados com níveis de inclusão de ureia microencapsulada na dieta.

Variáveis	Níveis de Inclusão de Ureia				Prob	Equação	EPM	R ²
	Microencapsulada (%)							
	0	1,5	3	4,5				
Concentrações (mg/dL)								
US	26,97	26,2	23,45	19,76	0,001	Y=27,748-1,625X	1,491	0,8002
Concentrações (g/dL)								
PTS	6,17	6,04	6,18	6,08	0,316	Y=6,208	0,787	0,1001
ALBS	2,62	2,19	2,77	2,68	0,286	Y=2,560	0,265	0,1127
Concentrações (mg/dL)								
UU	61,93	61,76	59,14	58,29	0,0006	Y=62,314-0,904X	1,066	0,708
CU	1,67	1,47	1,47	1,43	0,756	Y=1,508	0,287	0,0098

Prob= Probabilidade, EPM= Erro Padrão da Média, US Ureia sérica, PTS= Proteínas totais sérica, ALBS= Albumina sérica, UU= ureia na urina, CU= Creatinina na urina.

Observa-se na (Tabela 4) que as médias dos tratamentos para a concentração de ureia sérica (US), apresentaram comportamento linear decrescente, atingindo valores de 26,97; 26,2; 23,45; e 19,76; mg/dL para os níveis de (0%), (1,5%), (3%) e (4,5%) de ureia microencapsulada, respectivamente.

Como observado, os valores expressos em mg/dL de ureia sérica foram menores que os obtidos por Zieger et al. (2012) que encontraram as médias de (63,82) e (62,45) mg/dL de ureia sérica em ovinos alimentados com 1% de ureia encapsulada na dieta total. De acordo com Kaneko et al. (2008) todos os tratamentos avaliados neste estudo apresentaram níveis médios de ureia sérica dentro dos padrões fisiológicos (17 a 42,8 mg/dL) para ovinos.

Dessa forma, constatou-se que houve um melhor aproveitamento do nitrogênio amoniacal pelos animais que receberam maiores níveis de ureia microencapsulada (Tabela 4). Isso ocorre devido à ureia, na forma microencapsulada, permitir menor taxa de liberação de amônia, proporcionando maior utilização desta pelas bactérias a nível ruminal.

Houve redução nas concentrações de ureia sérica (US) mesmo com incremento de porcentagens maiores de ureia microencapsulada na dieta (Tabela 4), diferente dos resultados encontrados por Alves et al. (2012) que usou uma associação de farelo de vagem de algaroba e níveis crescentes de ureia convencional, o qual obteve aumentos lineares crescente na concentração de ureia sérica.

Dessa forma, confirma-se que a concentração de ureia sérica em ruminantes está diretamente relacionada ao consumo de diferentes fontes de compostos nitrogenados, e que a ureia microencapsulada apresenta resultados contraditórios à ureia convencional e do farelo de soja.

De acordo com Azevedo et al. (2008), ao ser ingerida pelo animal, a ureia é rapidamente hidrolisada, produzindo amônia ($N-NH_3$) e gás carbônico (CO_2). Esta amônia quando não utilizada pelos microrganismos ruminais, ocorre acúmulo da mesma na corrente sanguínea causando intoxicação e com possibilidade de levar o animal ao óbito. Dentro deste contexto, confirma-se que não houve nenhum caso clínico de intoxicação por parte desses animais mantidos nas condições do experimento.

A concentração de proteínas totais sérica não foi influenciada pelos níveis de inclusão da ureia microencapsulada na dieta e apresentou valores médios de 6,17; 6,04; 6,18; e 6,08; g/dL para os tratamentos (0%), (1,5%), (3%) e (4,5%), respectivamente (Tabela 4).

De forma geral, as proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que sua concentração está diretamente relacionada como estado nutricional do animal e com a funcionalidade hepática. Segundo Kaneko et al. (2008) calcula-se que dietas com menos de 10% de proteína na matéria seca (MS) podem causar diminuição dos níveis proteicos no sangue. De acordo com os mesmos autores todos os tratamentos avaliados neste estudo apresentaram níveis médios de proteínas totais séricas dentro dos padrões fisiológicos (6,0 a 7,9 g/dL) para ovinos.

Com relação à concentração de albumina sérica (ALBS) analisada, observou-se que não houve efeito dos níveis de inclusão da ureia microencapsulada na dieta (Tabela 4). Os tratamentos estudados apresentaram valores médios de albumina sérica de 2,62; 2,19; 2,77; e 2,68; g/dL para os níveis (0%), (1,5%), (3,0%) e (4,5%) de inclusão de ureia microencapsulada na dieta, respectivamente.

Resultados inferiores aos encontrados por Ziguer et al. (2012) que observaram valores médios de albumina sérica de 26,82 g/dl em cordeiros alimentados com 1% de ureia de liberação lenta (ULL) na matéria seca da dieta.

Caldeira (2005) explica que quando os animais cujas funções hepática e renal estão normais, menores níveis de albumina sérica, indicam carências alimentares de proteína no passado recente do animal. Por outro lado, níveis elevados de albumina sérica poderão ser originados por uma desidratação do animal, o que conduz à sua concentração no sangue. O atendimento das necessidades em aminoácidos dos animais

permite atingir níveis máximos de síntese de albumina, refletindo em concentrações séricas tendencialmente máximas dentro do intervalo de referência para espécie.

As excreções de ureia na urina apresentaram comportamento linear decrescente, atingindo valores de 61,93; 61,76; 59,14; e 58,29; mg/dL respectivamente, para os tratamentos contendo (0%), (1,5%), (3%) e (4,5%) de ureia microencapsulada (Tabela 4). Segundo Van Soest. (1994), ao chegar ao fígado, a amônia proveniente dos compostos nitrogenados da diet é convertida em ureia por meio de um processo enzimático conhecido como ciclo da ureia. Parte dessa ureia volta ao rúmen por difusão, outra parte é reciclada via saliva. Quando em excesso, o nitrogênio advindo da ração é excretado na urina na forma de ureia. Por outro lado, quando o nível de ingestão de compostos nitrogenados é adequado, grande proporção do nitrogênio metabolizado pelo animal é reciclada para o rúmen, via saliva ou por difusão através da parede ruminal, e pequena quantidade de nitrogênio é convertida em ureia e excretada via urina.

A menor concentração de ureia na urina foi observada no tratamento com 4,5% de inclusão de ureia microencapsulada (Tabela 4). A partir disto, pode-se afirmar que a ureia, quando liberada lentamente no rúmen, permite melhor aproveitamento do nitrogênio amoniacal pelos microrganismos ruminais e conseqüentemente proporciona menores excreções de nitrogênio na forma de ureia pela urina.

Diferente da ureia, a excreção de creatinina na urina parece não ser influenciada pela fonte ou nível de compostos nitrogenados na dieta. Os níveis de ureia microencapsulada não tiveram efeito sobre as concentrações de creatinina na urina (CU) (Tabela 4). Esses resultados estão de acordo com Rennó et al. (2008) que avaliaram a inclusão de níveis crescentes de ureia na dieta de ovinos e observaram que a excreção de creatinina não foi influenciada pela inclusão de ureia na dieta.

Observa-se na (Tabela 4) que os valores de creatinina expressos em m/dL foram 1,67; 1,47; 1,47; e 1,43; para os níveis de inclusão de (0%), (1,5%), (3%) e (4,5%) de ureia microencapsulada na dieta, respectivamente. Resultados inferiores aos encontrados por Fischer et al. (2016) que observaram valores para excreção de creatinina de 3,0 mg/dl em vacas alimentadas com altos níveis de proteína na dieta. De acordo Leal et al.(2007), as diferenças notadas devem-se à diferença entre o peso corporal desses animais, pois o que determina a excreção de creatinina é a proporção de tecido muscular, que é diferente em cada fase de desenvolvimento do animal.

4. Conclusão

A substituição parcial da ureia microencapsulada pelo nitrogênio do farelo de soja afetou positivamente o consumo de nutrientes por ovinos, sem afetar a digestibilidade. A inclusão de ureia microencapsulada na dieta permitiu menor concentração desta no sangue e na urina, mas não influenciou as concentrações de albumina, proteínas totais e creatinina. A ureia microencapsulada com cera de carnaúba pode substituir parcialmente o farelo de soja em até 4,5% na matéria seca da dieta total, sem apresentar sinais clínicos de intoxicação aos animais, nas condições deste estudo.

5. Referências bibliográficas

ALVES, M.E.; PEDREIRA, S.M.; PEREIRA, L.M. A.; ALMEIDA2, P.J.P.; NETO, G.J. G; FREIRE, R.D.L. Farelo da vagem de algaroba associado a níveis de ureia na alimentação de ovinos: balanço de nitrogênio, N-ureico no plasma e parâmetros ruminais. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, n. 3, p. 287-295, 2012.

ANTUNES, S.P.A.; JÚNIOR, R.R.V.; CASTRO MENEZES, C.C.G.; RUAS, M.R.J.; SOUZA, M.S. V; MARIZ, S.D.L. SILVA, P.J.J.; SILVA, A.D. Nitrogênio não proteicoem substituição ao farelo de soja na dieta de vacas F1 Holandês x Zebu. **Revista brasileira de ciências Veterinárias**, v. 23, n. 3-4, p. 174-179, 2016.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC., 2002. Official methods of analysis. 12th Ed. Arlington, VA, USA.

AZEVEDO, E. B.; PATIÑO, H. O.; SILVEIRA, A. L. F.; LÓPEZ, J.; BRÜNING, G.; KOZLOSKI, G. V. Incorporação de uréia encapsulada em suplementos protéicos fornecidos para novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p. 1381-1387, 2008.

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

BENEDETI, P.D.B.; PAULINO, P.V.R.; MARCONDES, M.I. Soybean meal replaced by slow release urea in finishing diets for beef cattle. **Livestock Science**, v.165, p.51-60, 2014.

CALDEIRA, R. M. Monitoring the adequacy of feeding plan and nutritional status in ewes. **Revista Portuguesa de ciências veterinárias**, v.100, p. 125-139, 2005.

CHEN, X.B.; MEJIA, A.T.; KYLE, D.J.; ORSKOV, E.R. Evaluation of the use of purine derivative: creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal Agriculture Science.**, v.125, n.1, p.137-143, 1995.

FREIRE, R.D.L. MOREIRA, S.B. PEREIRA, M.M; FERREIRA, N.D.; SANTOS, J.R.; PEDREIRA5, S.M.; SILVA, O.G.H.; PEIXOTO5, M.A.C. Ureia de Liberação Lenta em Dietas de Ovinos Confinados: Consumo e Digestibilidade dos Nutrientes, **Revista científica de produção animal**, v.14, n.1, p.77-80, 2012.

FISCHER, D.T.; FRAGA3, R.D.; KLEMMANN, H.P.A.; COSTANTIN, S.B. CRISTIANE BECK, C; LUCIANA, MV. **Níveis de ureia, creatinina e glicose sanguínea e urinária de vacas holandesas submetidas à dieta com alta proteína**, XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, UNIJUÍ, 2016.

GERON, V.J.L.; AGUIAR, C.S.; CARVALHO, H.T.J.; JUFFO, D,G.; SILVA,P.A.; NETO;,S.L.E.; COELHO,M.C.K; GARCIA,J; DINIZ, C.L.; PAULA, H.J.E. Effect of slow release urea in sheep feed on intake, nutriente digestibility, and ruminal parameters. **Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 2793-2806, 2016.

GOCK, M.A.; HOCKING, A.D; PITT, J.I; POULOS, P.G. Influence of temperature, water activity and pH growth of some xerophilic fungi. **Internacional journal of food Microbiology**, v.81, p.11-19, 2003.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 357p, 2006.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic, 2008.LEAL, T. L.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M. I.; DETMANN, E.; BARBOSA, A. M.; CHIZZOTTI, M. L; PAIXÃO, M. L. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.896-904, 2007.

LIMA, H.L.; GOES, R.H.T.B.; CERILLO, S.L.M.; OLIVEIRA, E.R.; BRABES, K.C.S. TEODORO, A.L. Nutritional value of Marandu grass, under grazing by three sampling methods., **Acta Science Animal Science**, v.34, p.379-384, 2012.

PAULA, A.A.G.; FERREIRA, R.N.; ORSINE, G.F.; GUIMARÃES, O.L.; OLIVEIRA, R.E. Ureia polímero e ureia pecuária como fontes de nitrogênio solúvel no rúmen: parâmetros ruminal e plasmático. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2009.

PEREIRA, P.G. O; SOUZA, G.V.; FILHO, V.C.S.; PEREIRA, H.D.; RIBEIRO, GK.; CECON, R.P. 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.

PESSOA, R.A.S.; LEÃO, M.I.; FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; QUEIROZ, A.C. Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com palma forrageira, bagaço de cana-de-açúcar e ureia associadas a diferentes suplementos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 5, p. 941-945, 2009

RENNÓ, N.L.; FILHO, V.C.S.; PAULINO, F.M.; LEÃO, I.M. VALADARES, D.F.R.; RENNÓ, P.F.; PAIXÃO, L.M. Níveis de ureia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.556-562, 2008.

SILVA, M. M. C.; RODRIGUES, M. T.; BRANCO, R. H. L. Suplementação de lipídios em dietas para cabras em lactação: consumo e eficiência de utilização de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.257-267, 2007.

STAPLES, C.R. **Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements**. In: Proc. 4th Annu. Florida Ruminant Nutr. Symp., Univ. Florida, Gainesville, p. 37-51, 1993.

SOUSA, V.L. S; ALMEIDA, R; SILVA, D.F.F. S; PIEKARKI, P.R. B; JESUS, C.P. Substituição parcial de farelo de soja por uréia protegida na produção e composição de leite. **Arquivo Brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v.62, n.6, p.1415-1422, 2010.

VALADARES, R.F.D., BRODERICK, G.A., VALADARES FILHO, S.C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.11, p.2686-2696. 1999.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, end nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

ZIGUER, A.E.; ROLL, B.F.V.; BERMUDEZ, F.R.; MONTAGNER, P.; PFEIFER, M.F.L.; DEL PINO, B.A.F.; CORRÊA, N.M.; DIONELLO, L.J.N. Desempenho e perfil metabólico de cordeiros confinados utilizando casca de soja associada a diferentes fontes de nitrogênio não proteico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.2, p.449-456, 2012.