

AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE MINERAL *IN VITRO* PARA UTILIZAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS.

ANDREZA EBERSOL DOS ANJOS^{1,2,3}; THAÍS CASARIN DA SILVA^{1,3}; KAREN CRUZ FREITAS^{1,3}; ANTONIO AMARAL BARBOSA^{1,3}; RUBENS ALVES PEREIRA¹; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ^{1,3,4}

¹Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) –

²andrezaanjos2014@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

⁴josianeofeijo@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A vida produtiva da vaca leiteira é marcada por diversos desafios, dentre eles destaca-se o período de transição que abrange três semanas pré-parto e três semanas pós-parto (GRUMMER, 1995). Neste período ocorrem mudanças fisiológicas, comportamentais e nutricionais devido ao desenvolvimento fetal e a futura lactogênese (HERDT et al., 2000). O alto requerimento nutricional coincide com o balanço energético negativo (BEN), caracterizado pela redução na ingestão de matéria seca, podendo não atender as necessidades nutricionais. (CAMPOS et al., 2007). Como consequência, rotas metabólicas são utilizadas pelo organismo a fim de suprir o desequilíbrio energético, podendo levar a transtornos metabólicos e disfunção imune no período pós-parto (KEHRLI et al., 2006).

Uma das ferramentas utilizadas na prevenção do BEN e dos transtornos que este acarreta, é a suplementação mineral no período pós-parto (SILVEIRA et al., 2012). Entretanto, para um efeito a longo prazo são necessárias diversas aplicações, acarretando em maior necessidade de manejo, consequentemente predispondo ao estresse. Desta maneira, cresce a demanda por tecnologias que permitam a manutenção da produtividade, saúde animal e lucratividade do sistema, destacando-se a necessidade de utilização de substâncias que facilitem e aumentem a obtenção de energia (GRUMMER, 1993; LÓPEZ et al., 2004).

Como alternativa, são utilizados hidrogéis termossensíveis, constituídos de biomateriais poliméricos biodegradáveis que servem como veículos de fármacos. De acordo com a temperatura de exposição, pode sofrer transição do estado aquoso para o de hidrogel insolúvel. São liberados de forma sustentada, ou seja, capazes de liberar grande quantidade do fármaco, de forma lenta e controlada sem ultrapassar os níveis aceitáveis (ZHU, 2002), reduzindo assim a necessidade de reaplicações.

Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver e avaliar *in vitro* géis termossensíveis de liberação controlada do mineral X.

2. METODOLOGIA

Devido a propriedade intelectual envolvida no projeto, os nomes dos polímeros e do mineral em questão, serão mantidos em sigilo e citados como polímeros termossensíveis A e B e mineral X.

Foram desenvolvidas quatro formulações com polímeros termossensíveis A e B e diferentes níveis de inclusão do mineral X. As duas primeiras eram compostas por 29% do polímero termossensível A, a diferença entre elas se dava nos níveis de inclusão do mineral X, de 500 e 750 mg, respectivamente. Já a terceira e a quarta formulações eram ambas compostas por 29% do polímero termossensível A e 15% do polímero termossensível B e seus níveis de inclusão mineral eram de 500 e 750 mg, respectivamente.

A fim de analisar a temperatura de geleificação, erosão do gel e taxa de liberação do mineral X, os polímeros foram diluídos em água a 4°C, por aproximadamente 24 horas até serem completamente dissolvidos. Em seguida foram adicionadas as respectivas inclusões minerais.

A temperatura de geleificação foi determinada através do método de inversão do tubo, conforme descrito por DEWAN et al. (2015). Foram utilizados tubos de ensaio com 13mm de diâmetro onde a solução foi colocada em banho-maria com temperatura de 4°C. A cada dois minutos, a temperatura do meio era elevada em 2°C até o momento em que a solução passasse do estado líquido para o de gel e então, era determinada a temperatura de geleificação.

Para a análise de erosão, os tubos de ensaio eram previamente pesados e repletos de solução tampão BPS (tampão fosfato-salino) de pH 7,4, com intuito de não saturar o meio (*Sink Condition*). Posteriormente, eram colocados em banho-maria a 37°C e a cada 24 horas era retirado o meio e feita a pesagem dos géis para verificar a o perfil de erosão.

Sendo assim, a cada intervalo entre as pesagens o meio de liberação proveniente dos tubos era submetido a análise em espectrofotômetro (Femto 700 Plus), com 254 nm de comprimento de onda a fim de analisar o perfil de liberação mineral através de cálculo baseado na absorbância gerada. A curva de calibração foi elaborada com concentrações conhecidas do fármaco.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das análises supracitadas de inversão do tubo foi possível observar que as formulações III e IV, contendo dois tipos de polímeros (A e B) em sua composição foram as que obtiveram uma maior temperatura de geleificação quando comparadas às formulações I e II, formuladas apenas com polímeros do tipo A (Tabela 1). Isso demonstra que a presença do polímero B pode ser responsável pela elevação do ponto de geleificação. Entretanto, todas as formulações testadas apresentaram temperaturas inferiores a 37,8°C, temperatura fisiológica de bovinos (ROBINSON, 1999; FEITOSA, 2005). Visto que a solução só deve se tornar sólida depois de aplicada no animal, este fator dificulta o manejo a campo, sendo necessário um maior cuidado com a aplicação e conservação da mesma.

Tabela 1: Temperatura de geleificação das diferentes formulações testadas através do método de inversão do tubo.

Formulações		Temperatura de geleificação (°C)
I	29% 500	18
II	29% 750	17
III	29% 15% 500	32
IV	29% 15% 750	31

Quanto a erosão dos géis nas diferentes formulações (Figura 1), foi possível observar que o diferencial entre eles se deu a partir das 24 horas, antes deste período a liberação foi praticamente igual para todos. Podemos observar que as formulações I e II obtiveram liberação mais gradual e duradoura se comparadas as formulações III e IV, indicando que o polímero adicional B utilizado como modulador de temperatura, pode ter afetado a estrutura da matriz do gel, acelerando assim sua velocidade de erosão e consequente liberação mineral. Visto que quanto maior for sua duração, mais positivo será devido ao período de déficit energético se estender após o parto (MAGGIONI et al., 2008).

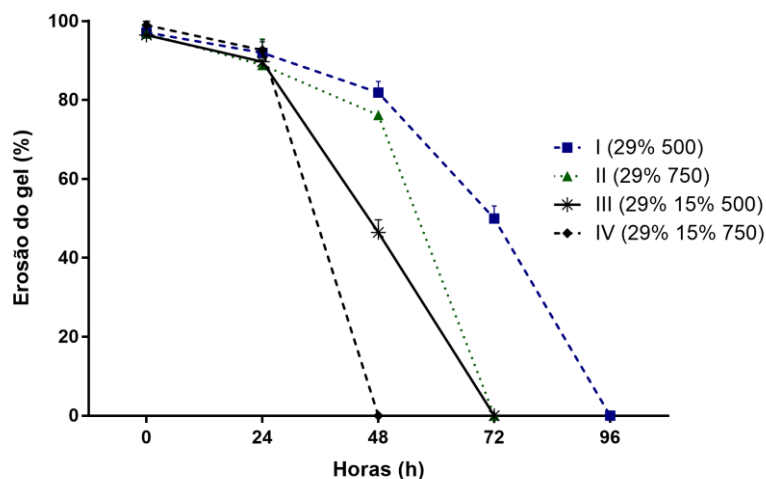


Figura 1: Perfil de erosão dos géis ao longo de 96 horas de duração.

Quanto ao perfil de liberação do mineral X, podemos observar na figura 2 que apenas uma das formulações se manteve por 96 horas (formulação I), mas como visto anteriormente na tabela um, a mesma não obteve temperatura de geleificação adequada para ser testada *in vivo*, tornando-se inviável. Apesar de nenhuma das outras formulações terem se mantido por 96 horas, a alta liberação inicial é um fator positivo quando se deseja a recuperação rápida de um animal em situação energética crítica (BUTLER, 2005).

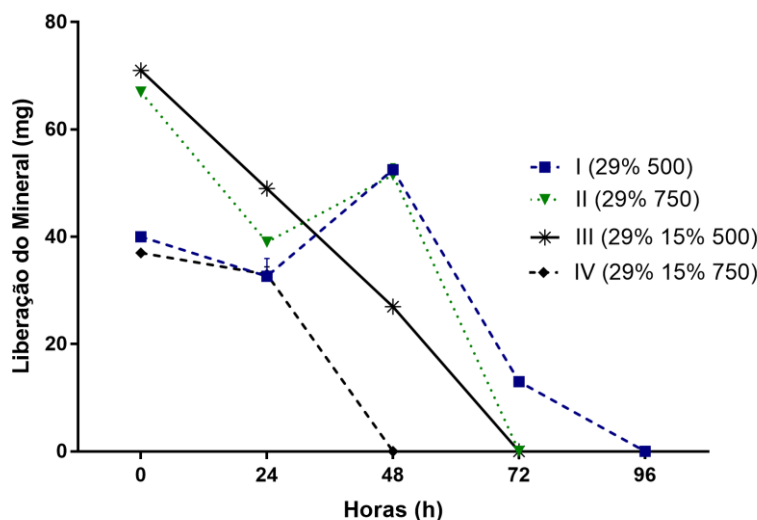


Figura 2: Taxa de liberação do mineral X ao longo de 96 horas de duração.

Segundo JEONG et al. (2012), quando em conjunto os polímeros formam micelas que mudam sua conformação de acordo com a temperatura, se tornando um gel ou não. Quanto maior concentração de polímeros, mais lenta é a taxa de liberação do fármaco associado, podendo ser manipulada através da mistura de excipientes. Sendo assim, a adição destes componentes se torna um potencial item a ser inserido em novos estudos, bem como alterações nas formulações testadas, a fim de obter ponto de geleificação e taxa de erosão adequada.

4. CONCLUSÕES

Estes são estudos preliminares, para que alguma formulação seja administrada *in vivo*, é necessário ter a certeza que todos os testes *in vitro* foram satisfatórios, o que neste estudo não ocorreu. Sendo assim, novos testes estão sendo realizados com diferentes proporções de polímeros, afim de obter um produto passível de transferência tecnológica e com isso ter alternativas para o mercado na suplementação mineral.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Ciênc. Anim. Bras.**, v.8, p.241-249, 2007.

BUTLER, W.R. Nutrition, negative energy balance and fertility in the postpartum dairy cow. **Cattle Practice**, v.13, p.13-18. 2005.

DEWAN, M. et al. Effect of methyl cellulose on gelation behavior and drug release from P based ophthalmic formulations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 706 - 710, 2015.

FEITOSA, A.N. **Manejo Nutricional de gado de leite submetido em condições de estresse calórico**. 2005. Trabalho de Conclusão de Curso. Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3882, 1993.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v.73, p. 2820 - 2833, 1995.

JEONG, B.; SUNG, W. K.; YOU HAN, B. **Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels**. Advanced Drug Delivery Reviews. Isevier B.V., 2012.
KEHRLI, J., M., NEIL, J., BURVENICH, C., GOFF, J., LOPPOLIS, J., REINHARDT, T. Energy and Protein Effects on the Immune System : Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition Gene Expression, Immunology and Stress. **Wageningen Academic Pub**, p. 455 – 471, 2006.

LÓPEZ, S. E.; LÓPEZ, J.; STUMPF JUNIOR, W. Parâmetros séricos de vacas leiteiras na fase inicial de lactação suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v. 12, n. 3, p. 96 - 102, 2004.

MAGGIONI, D., ROTTA, P.P., ITO, R.H. **Efeito da nutrição sobre a reprodução de ruminantes: uma revisão**. PUBVET, 3 mar, 2008. Acessado em 6 set. 2019. Online. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/material/Rotta174.pdf>

SILVEIRA, M.F. et al . Metabólitos sanguíneos de vacas de corte suplementadas ou não com sais de cálcio de ácidos graxos durante o período pré e/ou pós-parto. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte , v. 64, n. 6, p. 1418-1426, 2012 .

ZHU, Y. **Properties of polymeric drug delivery systems prepared by hot-melt extrusion**. 2002. 226f. Tese (Doutorado) - Faculty of the Graduate School of the University of Texas.