



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

Larissa Rayane Antunes

Recife – PE
2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

Relatório apresentado à Coordenação do curso de Bacharelado em Zootecnia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos da disciplina Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO).

Larissa Rayane Antunes

Recife – PE
2019

FOLHA DE APROVAÇÃO

A comissão de avaliação do ESO aprova o Estágio Supervisionado Obrigatório da discente Larissa Rayane Antunes por atender as exigências do ESO.

Recife, 28 de junho de 2019

Comissão de avaliação

Prof. Dr. Júlio César dos Santos Nascimento
(Departamento de Zootecnia/UFRPE)

Prof. Dr. Valdson José da Silva
(Departamento de Zootecnia/UFRPE)

Me. Hilton Nobre da Costa
(Departamento de Biologia/UFRPE)

DADOS DO ESTÁGIO

ESTABELECIMENTO: Universidade Federal Rural de Pernambuco

LOCAL DE REALIZAÇÃO: Laboratório de Nutrição Animal

PERÍODO: 01/04/2019 à 21/06/2019

CARGA HORÁRIA: 330 horas

ORIENTADOR: Júlio César dos Santos Nascimento

SUPERVISOR: Carlos Henrique da Silva Mendes

Carga horária total: 330 horas



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

LABORATÓRIO DE NUTRIÇÃO ANIMAL



DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins, que a estudante Larissa Rayane Antunes, aluna do curso de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), realizou o estágio supervisionado obrigatório no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) com carga horária total de 330h.

Recife, 18 de junho de 2019.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre se fazer presente durante toda minha caminhada, sempre estando ao meu lado. Sem ele tenho certeza de que nada seria.

A minha família, em especial aos meus pais, Luciana Maria de Silva e José Severino Antunes Filho, por serem meu suporte e me instigaram a sempre crescer, e por todo amor que dedicam a mim. Ao meu irmão, Matheus Henrique Antunes, que apesar de sermos muito diferentes, amo incondicionalmente, assim como aos meus pais.

A UFRPE pela oportunidade do curso e por ser minha segunda casa durante esses cinco anos.

Ao meu orientador, Prof. Júlio César dos Santos Nascimento, por toda ajuda e conhecimentos passados.

Aos técnicos do Laboratório de Nutrição Animal, Vanessa e Carlos, por me auxiliarem durante o período de estágio.

A todos os amigos e amigas que a graduação me deu, por serem parte importante da minha vida e da minha trajetória durante este tempo. Sou grata a todos.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, e que sempre torceram por mim. Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
1. APRESENTAÇÃO	9
1.1. Uso de insetos na alimentação animal	9
1.2. Ácido oxálico em ingredientes de origem vegetal.....	10
2. LOCAL	12
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO	14
3.1. Produção de baratas da espécie <i>N. cinerea</i> alimentadas com diferentes tipos de alimentos.....	14
3.1.1. Instalação do experimento	15
3.1.2. Manejo	17
3.1.2.1. Fornecimento de água.....	17
3.1.2.2. Fornecimento de alimento e ajuste de consumo	18
3.1.2.3. Mortalidade.....	19
3.1.3. Acompanhamento e registro de dados.....	19
3.2. Quantificação de ácido oxálico em ingredientes de origem vegetal.....	20
3.2.1. Metodologia para determinação de ácido oxálico	20
3.2.1.1. Ingredientes utilizados	21
3.2.1.2. Etapas.....	21
3.2.1.3. Quantificação de ácidos oxálicos totais	26
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vista aérea do Departamento de Zootecnia	12
Figura 2. Laboratório de Nutrição Animal (LNA)	12
Figura 3. <i>Nauphoeta cinerea</i>	14
Figura 4. Caixas de polipropileno	15
Figura 5. Abertura na tampa da caixa (“respirador”)	15
Figura 6. Placa de petri com algodão umedecido para fornecimento de água	16
Figura 7. Placa de petri para fornecimento de alimento	16
Figura 8. Parte interna da caixa	16
Figura 9. Pesagem das dietas experimentais em balança analítica	18
Figura 10. Pesagem de animais mortos	19
Figura 11. Amostras do material vegetal em erlenmeyers	22
Figura 12. Amostras em aquecimento para extração	22
Figura 13. Extrato vegetal não filtrado	22
Figura 14. Oxalato precipitado após adição de solução precipitante	23
Figura 15. Tubo a vácuo	23
Figura 16. Centrífuga	24
Figura 17. Amostras na centrífuga	24
Figura 18. Analito	24
Figura 19. Adição das soluções de HCl e de lavagem	24
Figura 20. Precipitado diluído em solução de H ₂ SO ₄	25
Figura 21. Titulação com KMnO ₄	25
Figura 22. Material titulado	25

1. APRESENTAÇÃO

O presente relatório corresponde as atividades realizadas durante o período de estágio supervisionado obrigatório, realizado no Laboratório de Nutrição Animal (LNA), no Departamento de Zootecnia/UFRPE. As atividades foram referentes ao acompanhamento do experimento realizado com baratas da espécie *Nauphoeta cinerea*, e às análises de ácido oxálico em diferentes ingredientes de origem vegetal, mais comumente utilizados na nutrição animal.

1.1. Uso de insetos na alimentação animal

O uso de insetos na alimentação animal é de grande interesse, uma vez que estudos mostram que há uma grande variedade de insetos benéficos e que são comestíveis, apresentando boas qualidades nutritivas.

Os insetos contêm quantidades satisfatórias de proteínas e lipídeos, e são ricos em sais minerais e vitaminas. Estudos mostram que a composição nutricional dos valores das proteínas na maioria das espécies de insetos tem alta qualidade e quantidade (RAMOS-ELORDUY et al., 2005), possuindo maiores níveis de proteína do que do farelo de soja, que é a principal fonte de proteína para formulação de dietas na alimentação animal.

A produção de insetos para alimentação animal é um nicho de mercado em crescimento. Cada vez mais os insetos vêm sendo testados e utilizados como fonte alternativa na alimentação de animais de produção, podendo substituir ingredientes proteicos que estão cada vez mais onerosos. À exemplo, o farelo de soja que é o principal ingrediente proteico utilizado na alimentação animal, sofre efeito da sazonalidade, que atrelada a demanda alimentícia humana e ao uso na produção animal, acaba limitando e encarecendo a produção.

Diante disso, a *Nauphoeta cinerea* Olivier (Blaberidae: Blattodea) é uma das espécies que vem sendo estudadas para utilização como fonte alternativa de proteína. No entanto, há necessidade de novas pesquisas a fim de investigar seu valor nutritivo, verificando através de sua composição a possibilidade de utilização como ingrediente na alimentação animal.

Desta forma, as atividades desenvolvidas durante o período de estágio, tiveram por objetivo estudar mais a fundo o potencial desses animais na nutrição animal.

1.2. Ácido oxálico em ingredientes de origem vegetal

O ácido oxálico encontra-se presente em inúmeros alimentos de origem vegetal, podendo estar em combinação com cátions, originando oxalatos solúveis, como os de potássio e de sódio, ou oxalatos insolúveis, principalmente os de cálcio, que podem formar cristais insolúveis e cálculos renais no organismo (OKE, 1978; ANDRADE et al. 2015).

Sendo assim, esses compostos podem ser considerados antinutricionais, ou seja, capazes de impedir o aproveitamento dos nutrientes no organismo animal. A presença de ácidos orgânicos, como o oxalato, pode reduzir a biodisponibilidade dos minerais.

Um dos principais alimentos utilizados na alimentação de ruminantes é a palma forrageira, que, no entanto, apresenta quantidades consideráveis de ácidos oxálicos. De acordo com Ben Salem et al. (2002), a presença de ácido oxálico nesse alimento forma sais insolúveis com o Ca e pode ter efeito sobre a ingestão e digestão em ovinos.

Segundo Nefzaoui e Ben Salem (2001) quantidades elevadas de oxalato de cálcio nos cladódios podem explicar o efeito laxativo da palma quando administrada aos animais. Por apresentar-se na forma seca é possível que a dietas a base de palma desidratada concentre a quantidade de oxalato de cálcio em sua composição, proporcionando um efeito mais severo quando comparado a dietas a base de palma in natura (LUCENA, 2011).

A alta ingestão de oxalato pode levar a intoxicação, provocando deficiências nutricionais, lesões renais, lesões no sistema nervoso central e até causar a morte do animal. À exemplo, os níveis considerados tóxicos para bovinos estão acima de 4% de oxalatos totais, com base na matéria seca e valores mais elevados do que este podem estar presentes em certas gramíneas tropicais. (RIBEIRO & MEDEIROS, 2005).

Em outros ingredientes vegetais, os efeitos causados no organismo animal devido a presença de ácido oxálico podem variar, a depender também da espécie animal que possa ingeri-lo.

Outra espécie vegetal que possui altos teores desse composto é a *Brachiaria humidicola* (gramínea forrageira), que uma vez consumida por equinos, o oxalato presente se liga ao Ca no intestino delgado formando oxalato de cálcio, tornando o Ca indisponível para os animais. Assim sendo, para manter a relação fisiológica normal (2:1) entre o Ca e P, o animal, por meio do paratormônio, começa a retirar Ca dos ossos e a lançá-lo na corrente sanguínea, provocando distúrbios na formação óssea, comumente conhecido como osteodistrofias (PUOLI FILHO et al., 1999). A mais notória é o hiperparatireoidismo nutricional secundário, conhecido também

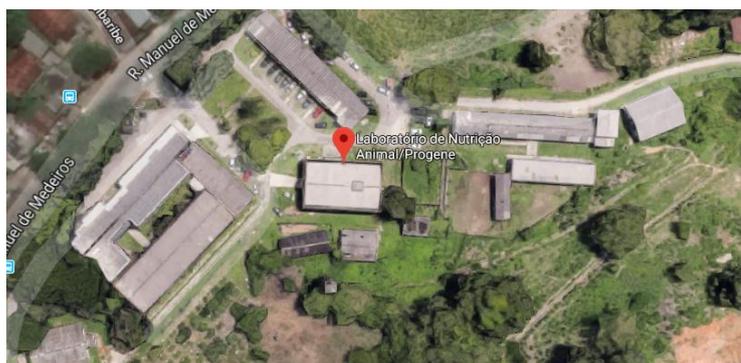
por osteodistrofia fibrosa ou cara inchada (Swartzman et al., 1978). De acordo com Arboitte & Menezes (2006), as forrageiras que apresentam níveis de oxalato superiores a 0,5% na matéria seca, podem ser consideradas como impróprias para equinos.

Na literatura, inúmeros são os trabalhos que descrevem os efeitos do oxalato no organismo animal, e como este composto pode afetar a produção. No entanto, a grande maioria das pesquisas é realizada com forrageiras, estudando seus efeitos em animais ruminantes, ou em equinos. Sendo assim, é difícil encontrar dados referentes a outros tipos de alimentos, e aos efeitos que esses ácidos podem causar em outras espécies. Desta forma, o intuito das análises realizadas durante o período de estágio foi quantificar os teores de ácido oxálico em diferentes espécies vegetais, sejam elas utilizadas como concentrados ou volumosos, para quaisquer que sejam as espécies de animais de produção.

2. LOCAL

O estágio foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Figura 1), localizada na cidade de Recife-PE, no Bairro de Dois irmãos, durante o período de 01 de abril à 21 de junho do ano de 2019, perfazendo uma carga horária de 330 horas.

Figura 1. Vista aérea do Departamento de Zootecnia



Fonte: Google Maps

O LNA (Figura 2) está localizado no município de Recife, que está disposto nas seguintes coordenadas geográficas: latitude 8° 04'03''S; longitude 34°55'00'' O; e com altitude média em relação ao nível do mar de 4 metros. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo As' – tropical quente e úmido, com verão seco e chuvas de outono-inverno. Apresenta temperatura média anual de 25°C e umidade relativa do ar média anual de 80%, com baixas amplitudes térmicas.

Figura 2. Laboratório de Nutrição Animal (LNA)



Fonte: Acervo pessoal

O LNA é utilizado para análises referentes a nutrição animal, onde são realizadas a grande maioria das análises dos experimentos realizados no Departamento de Zootecnia, dentre elas são realizadas as Análises Bromatológicas, que incluem: Matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), fibra bruta (FB), lignina (LIG), extrato etéreo (EE), carboidratos, nitrogênio amoniacal, entre outras. Além da avaliação da digestibilidade e degradabilidade dos alimentos e contagem e identificação de protozoários de líquido ruminal.

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO

Durante o estágio foram acompanhadas as atividades referentes ao experimento com baratas da espécie *N. Cinerea*, incluindo manejo alimentar, acompanhamento do comportamento dos insetos e registro de dados para fins experimentais. Concomitantemente, foram realizadas as atividades referentes às análises laboratoriais para determinação de ácido oxálico em ingredientes de origem vegetal comumente utilizados na alimentação animal, testando a metodologia de Moir (1953), bem como a tabulação e análise dados.

3.1. Produção de baratas da espécie *N. cinerea* alimentadas com diferentes tipos de alimentos

A *N. cinerea* (Figura 3) é uma espécie de barata possivelmente nativa do Leste da África, se distribuindo para outras regiões do mundo através do comércio (OLIVIER, 1789). Esses insetos são onívoros, com hábito noturno, e quando adultos apresentam dimensões entre 25-29 mm de comprimento, coloração acinzentada matizada, com asas manchadas que não cobrem o abdômen. Esta espécie é popular como alimento vivo, principalmente para répteis, aves e aracnídeos, além de ser muito utilizada como isca para pescaria. Também são utilizadas para enriquecimento de rações para animais silvestres e exóticos, sendo vastamente utilizadas, também, na indústria Pet Food, por serem muito palatáveis e com alto valor nutricional, podendo chegar a ter 70% de PB, com perfil de aminoácidos de alta digestibilidade (SCHICKLER, 2013).

Figura 3. *Nauphoeta cinerea*



Fonte: <http://g1.globo.com/natureza/noticia/2012/11/pesquisadores-brasileiros-estudam-enzimas-de-baratas-para-obter-etanol.html>

3.1.1. Instalação do experimento

O experimento com as baratas da espécie *N. cinerea* foi instalado, inicialmente, no LNA, passando posteriormente a ser realizado nas instalações anexas ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal (BIOPA).

Os animais foram distribuídos em caixas de polipropileno atóxico (Figura 4), devidamente higienizadas, com dimensões de 40,8 cm x 29 cm x 12,6 cm. Como pode ser visto na Figura 5, foram feitas aberturas nas tampas, informalmente chamadas de “respirador”, para que ocorra renovação do ar, onde essas aberturas são cobertas por tecido do tipo voil, para evitar que os animais escapem. O “respirador” tem por função evitar o acúmulo de umidade dentro das caixas, impedindo assim a formação de gotículas de água no ambiente, que podem umedecer o alimento.

Figura 4. Caixas de polipropileno



Fonte: Acervo pessoal

Figura 5. Abertura na tampa da caixa (“respirador”)



Fonte: Acervo pessoal

Cada caixa continha duas placas de petri, sendo uma para fornecimento de alimento, e outra para o fornecimento de água, como demonstrado nas Figuras 6 e 7.

Figura 6. Placa de petri com algodão umedecido para fornecimento de água



Fonte: Acervo pessoal

Figura 7. Placa de petri para fornecimento de alimento



Fonte: Acervo pessoal

Esses animais possuem o corpo revestido por células que são sensíveis à luz, sendo assim, eles ainda podem se proteger de ameaças se escondendo em locais mais escuros (FERNANDES et al. 2016). Por este motivo, foram dispostos alguns pedaços de caixas confeccionadas de papelão reciclado (Figura 8), que são comumente utilizadas para comercialização de ovos, com o intuito de fornecer abrigo aos insetos, visto que eles têm baixa tolerância a luminosidade. Essa baixa tolerância é também conhecida como fototropismo negativo.

Figura 8. Parte interna da caixa



Fonte: Acervo pessoal

A temperatura do laboratório era controlada por um termo higrômetro (medidor de temperatura e umidade), variando de 25°C à 32°C ao longo do dia. As baratas são insetos com grande capacidade adaptativa, sobrevivendo às mais diversas condições ambientais, adaptando-se à temperatura ambiente (FERNANDES et al. 2016; RODRIGUES 2015).

Para fins experimentais, foi utilizado em média 40 g de cinéreas adultas por caixa, entre machos e fêmeas, de forma a padronizar os tratamentos. Os animais foram distribuídos em 5 tratamentos, com 4 repetições cada, sendo eles:

- T1 (controle): Ração para frangos de corte;
- T2: Farelo de biscoito;
- T3: Farelo de moringa;
- T4: Torta de moringa;
- T5: Farelo de resíduo de acerola.

Antes da distribuição dos tratamentos, os animais passaram por um período de adaptação ao ambiente, de três dias, em que foi fornecido a dieta controle para todas as caixas, que é o alimento fornecido normalmente na empresa onde são produzidos e comercializados.

3.1.2. Manejo

Segundo Fernandes et al (2016), esses animais possuem grande capacidade reprodutiva e adaptativa, conseguindo sobreviver por até um mês sem ingerir alimento ou água. Experimentalmente, o manejo dos animais durante a pesquisa consistia basicamente em fornecimento de água e alimento, e verificação da mortalidade.

3.1.2.1. Fornecimento de água

O fornecimento de água se dava a cada três dias, sendo fornecida em uma placa de petri contendo algodão umedecido, para que assim evitasse possíveis afogamentos. O intervalo de tempo entre o fornecimento e reposição da água foi determinado a partir da observação e verificação diária das caixas, durante um período adaptativo de três dias, em que se observou que o algodão já havia perdido boa parte da sua umidade após este tempo.

3.1.2.2. Fornecimento de alimento e ajuste de consumo

O fornecimento das dietas experimentais ocorria a cada três ou quatro dias. A quantidade de sobras e de alimento fornecido eram pesados em balança analítica, e os dados registrados em planilhas, para que posteriormente possa ser determinado o consumo.

O alimento era fornecido em placas de petri, na quantidade de 4 g, sendo esse valor determinado a partir da observação do consumo de alimento pelos animais, ao longo da primeira semana de experimento. Os ingredientes foram pesados em balança analítica (Figura 9), inicialmente fornecendo 7 g por caixa, e após três dias foram pesadas as sobras, que estavam em grande quantidade. A partir disso, o mesmo procedimento foi repetido, no entanto, fornecendo-se 5 g de alimento, e após a pesagem das sobras, foi observado que ainda havia grande quantidade resíduo. Sendo assim, o valor de 4 g de alimento por caixa foi determinado, tendo em vista uma quantidade de sobras suficiente para que os animais tivessem alimentação à vontade.

Figura 9. Pesagem das dietas experimentais em balança analítica



Fonte: Acervo pessoal

É importante que a quantidade de alimento fornecido seja suficiente para alimentar todos os animais da caixa, e que ainda haja sobras, pois, o consumo é variável, a depender também da taxa de reprodução. Mesmo não sendo um parâmetro a ser avaliado, era perceptível a grande quantidade de ninfas nas colônias, o que indica uma acelerada taxa de reprodução.

3.1.2.3. Mortalidade

As baratas são animais que possuem alta resistência e adaptabilidade às mais variadas condições ambientais, podendo sobreviver dias sem água ou comida. Nesse contexto, Koehn e Bayne (1989) argumentam que a alta resistência ao estresse está associada ao uso eficiente de recursos metabólicos para crescimento e reprodução, especialmente quando estes recursos são limitados, justificando assim essa característica.

O tempo de vida médio de uma cinérea é de cerca de 1 ano. A morte desses animais pode se dar por diversos motivos, sejam eles ambientais ou fisiológicos. Para controle das condições experimentais, os dados referentes a taxa de mortalidade eram observados diariamente. Os animais mortos foram pesados (Figura 10), registrando-se o peso e a quantidade de insetos mortos por caixa em uma planilha.

Figura 10. Pesagem de animais mortos



Fonte: Acervo pessoal

3.1.3. Acompanhamento e registro de dados

Para determinação dos parâmetros de produção, todos os dados referentes ao consumo de alimentos foram registrados, com o intuito de determinar ao final do experimento qual tratamento apresentou melhores resultados, assim como os dados referentes ao comportamento e mortalidade. Além disso, será avaliada a composição química dos insetos, para determinar se houve alguma influência da dieta no seu organismo.

Medrado et al. (2018), determinou a composição química de farinhas de diferentes espécies de insetos, encontrando para a *N. cinerea* os valores de: 93,98% de matéria seca (MS),

3,77% de matéria mineral (MM), 26,77% de extrato etéreo, e 78,93% de proteína bruta (PB). Estes resultados demonstram o alto potencial que esses insetos têm para compor as dietas para as espécies de animais de produção. É com este intuito que pesquisas desse tipo vem sendo realizadas.

Ao completar um mês de experimento foram coletadas três baratas de cada caixa para que fosse realizada a coleta do intestino médio, a fim de determinar se houve ou não influência dessas dietas na digestão desses alimentos. O procedimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia de Insetos (LAFI), na UFRPE, mas não foi possível acompanhá-lo.

3.2. Quantificação de ácido oxálico em ingredientes de origem vegetal

O conhecimento da presença de fatores antinutricionais (capazes de interferir na digestibilidade, absorção e utilização de nutrientes pelos animais) e/ou tóxicos, que possam afetar o valor nutricional dos alimentos se faz cada vez mais necessário, tendo em vista que esses compostos podem causar danos à saúde animal. À exemplo disso, os oxalatos, que podem ser encontrados em ingredientes de origem vegetal, são capazes de precipitar com o cálcio, formando cristais insolúveis e cálculos renais nos indivíduos (ANDRADE et al. 2015).

3.2.1. Metodologia para determinação de ácido oxálico

Na literatura, há diversas metodologias que podem ser utilizadas para determinar o teor de ácidos oxálicos totais em vegetais, elas se diferem em algumas etapas, ou apenas nos reagentes utilizados. Para as análises realizadas durante este período de estágio, a metodologia escolhida foi a de Moir (1953). Este método consiste basicamente nas etapas de: extração, filtragem, precipitação, centrifugação, diluição e titulação com permanganato de potássio (KMnO_4), podendo ser considerada uma metodologia trabalhosa e um pouco ultrapassada, tendo em vista que existem métodos mais precisos.

Até o ano de 1977, os procedimentos mais comuns para a determinação de ácido oxálico eram a titulação por KMnO_4 , alguns métodos colorimétricos e a cromatografia por papel, todos envolvendo, basicamente, os mesmos passos: extração do ácido oxálico da matriz vegetal com ácido clorídrico (HCl) ou carbonato de sódio (Na_2CO_3) e precipitação do oxalato de cálcio, seguido pelo tratamento do precipitado com ácido sulfúrico (H_2SO_4) diluído para formar solução de ácido oxálico (NAPPI et al. 2006). Sendo assim, o ácido oxálico é quantificado por

um dos seguintes métodos: potenciometria com eletrodo de quinidrona (QUATROCCHI, 1992), titulação com solução padronizada de KMnO_4 (MOIR, 1953) ou colorimetricamente pela conversão do ácido oxálico a ácido glicólico e derivação com o ácido 2,7-dissulfônico-3,6-diidroxinaftaleno (ZAREMBSKI & HODGKINSON, 1962). Apesar de haverem técnicas mais avançadas, elas eram utilizadas em pequena escala.

Atualmente, existem metodologias mais modernas que foram desenvolvidas ao longo dos anos, como: técnicas enzimáticas (POTZNY et al. 1983), cromatografia gasosa (SARKAR & MALHOTRA, 1979) e de cromatografia líquida (BUSHWAY et al. 1984; LIBERT, 1981; WILSON et al., 1982), estas se tornaram as técnicas de escolha, sempre que possível.

3.2.1.1. Ingredientes utilizados

Os ingredientes vegetais utilizados durante as análises foram selecionados com base nos alimentos com maior potencial para serem utilizados na nutrição animal. São eles:

- Milho;
- Grão de soja;
- Farelo de soja;
- Grão de trigo;
- Farelo de trigo;
- Gérmen de trigo;
- Aveia;
- Farelo de aveia;
- Torta de moringa;
- Farelo de moringa;
- Farelo de biscoito.

3.2.1.2. Etapas

Seguindo a metodologia descrita por Moir (1953), as atividades desenvolvidas durante o estágio foram divididas da seguinte forma:

- **Extração de ácido oxálico da matriz vegetal:**

Cada amostra possuía duas repetições, e para isso foram pesadas 2,5 g de cada ingrediente em balança analítica, colocadas em erlenmeyers de 250 ml (Figura 11), ao qual foi adicionado 220 ml de HCl 0,25N, sendo posteriormente aquecidos em placa aquecedora elétrica à 100°C por aproximadamente 1 hora (Figura 12).

Figura 11. Amostras do material vegetal em erlenmeyers



Fonte: Acervo pessoal

Figura 12. Amostras em aquecimento para extração



Fonte: Acervo pessoal

Após o tempo determinado, as amostras eram retiradas da placa aquecedora e permaneciam esfriando em temperatura ambiente, por aproximadamente 2 horas (Figura 13). Após esse intervalo de tempo, era adicionado mais solução de HCl, até que completasse 250 ml. A partir disso, eram filtrados 5 ml do extrato vegetal, em papel filtro quantitativo, e acondicionados em tubos, sendo o restante do material descartado.

Figura 13. Extrato vegetal não filtrado



Fonte: Acervo pessoal

- **Precipitação:**

Após a etapa de extração foi adicionado, utilizando uma pipeta, 1 ml de solução precipitante para cada amostra e repetições, para que assim precipitasse os ácidos oxálicos presentes no material vegetal. A solução precipitante utilizada era composta por cloreto de sódio e acetato de cálcio. O material foi colocado em um refrigerador *overnight*, para que ocorresse a precipitação do oxalato.

- **Centrifugação:**

No dia seguinte, após a extração e adição da solução precipitante, seguido da noite no refrigerador, o oxalato precipitado (Figura 14) foi transferido para tubos que são utilizados para coleta de sangue (Figura 15). Os tubos a vácuo utilizados foram os do tipo ativador de coágulo (tampa vermelha), pois não possuem nenhum tipo de substância que possa interferir nas análises.

Figura 14. Oxalato precipitado após adição de solução precipitante



Fonte: Acervo pessoal

Figura 15. Tubo a vácuo



Fonte: <https://www.dsylab.com.br/>

Os tubos contendo o oxalato precipitado foram colocados em uma centrífuga (Figura 16 e 17) por 5 minutos, com rotação de 2500 rpm, para que fosse possível dissociar a parte líquida, da parte sólida (analito). Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado, com auxílio de uma pipeta, restando apenas a parte sólida (oxalato) (Figura 18).

Figura 16. Centrífuga



Figura 17. Amostras na centrífuga



Figura 18. Analito



Fonte: Acervo pessoal

Em seguida, foram adicionadas à parte sólida 2,5 ml de solução de HCl 0,25N, e 2,5 ml de solução de lavagem (álcool e amônia) (Figura 19). Os tubos foram levados novamente à centrífuga por 5 min, com rotação de 2500 rpm.

Figura 19. Adição das soluções de HCl e de lavagem



Fonte: Acervo pessoal

Novamente, a parte sólida foi separada da parte líquida, retirando-se a porção sobrenadante. Para que restasse apenas o analito, os tubos foram levados à estufa de 55°C por uma hora. De acordo com a metodologia de Moir (1953), o material deve ser aquecido à 100°C por 30 minutos, no entanto, devido ao material do qual os tubos utilizados são compostos, uma adaptação foi necessária, evitando assim que derretessem.

- **Diluição:**

O precipitado aquecido foi transferido para erlenmeyers de 50 ml, e diluído em 5ml de solução de H₂SO₄ 2N, para posterior titulação.

Figura 20. Precipitado diluído em solução de H₂SO₄



Fonte: Acervo pessoal

- **Titulação:**

Com auxílio de uma bureta graduada, o material diluído foi titulado com solução de KMnO₄ 0,02N, a fim de determinar a quantidade de oxalatos totais.

Figura 21. Titulação com KMnO₄



Fonte: Acervo pessoal

Figura 22. Material titulado



Fonte: Acervo pessoal

3.2.1.3. Quantificação de ácidos oxálicos totais

Para determinação da porcentagem de oxalatos totais, foi utilizada a seguinte fórmula, descrita por Moir (1953):

$$\% \text{ Oxalatos totais} = \text{Volume de KMnO}_4 \times 1,801$$

Foram realizadas análises de MS, seguindo a metodologia descrita por Detmann et al. (2012), a fim de determinar a porcentagem de oxalatos totais com base na MS, e a quantidade desses ácidos em g/kg de MS e mg/kg de MS.

A tabela 1 contém os resultados obtidos para oxalatos totais, através das análises utilizando a metodologia de Moir (1953).

Tabela 1. Quantidade de ácidos oxálicos totais presente em ingredientes de origem vegetal

Ingrediente	% de oxalatos totais	% de oxalatos totais na MS	g/kg de MS	mg/kg de MS
Farelo de moringa	3,3018	3,7166	37,166	37166
Torta de moringa	0,3001	0,3257	3,257	3257
Aveia	0,6604	0,7377	7,377	7377
Farelo de aveia	1,0806	1,2131	12,131	12131
Grão de trigo	0,4202	0,4761	4,761	4761
Gérmen de trigo	0,2401	0,2631	2,531	2531
Farelo de trigo	0,1801	0,2034	2,034	2034
Farelo de biscoito	0,1801	0,1893	1,893	1893
Grão de soja	3,9622	4,3912	43,912	43912
Farelo de soja	3,9022	4,6738	46,738	46738
Milho	0,1801	0,2040	2,040	2040

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As atividades desenvolvidas durante o período de estágio, me permitiram um maior contato com áreas ao qual não tinha conhecimento. Apesar de ser um nicho em crescimento, tanto para a alimentação humana quanto animal, e provavelmente o futuro, no que diz respeito à nutrição, o uso de insetos para este fim não é abordado durante o curso de graduação em Zootecnia. Vale ressaltar, que até mesmo o conhecimento sobre morfologia e fisiologia desses animais é apenas o que trazemos da educação básica, ou que temos interesse em pesquisar. Sendo assim, ao longo deste estágio pude aprender muitas coisas à respeito da *N. cinerea* e outros insetos, as quais não tinha conhecimento, e que hoje posso dizer que seria uma área com a qual trabalharia, tendo em vista que, apesar de serem necessárias mais pesquisas a fim de determinar o real potencial desses insetos para alimentação animal, é uma ótima opção como alimento alternativo.

No que diz respeito às análises de oxalato, pude perceber que, apesar de ter uma grande quantidade de pesquisas sobre esses ácidos, e qual a influência deles no organismo animal, a grande maioria trata apenas de plantas forrageiras e animais ruminantes, com exceção dos equinos. Creio que, é de grande importância estudar outros ingredientes vegetais, e se esses compostos causam algum efeito negativo no organismo de outras espécies animais. Quanto a metodologia utilizada, é trabalhosa, e pouco precisa, se comparada a outras técnicas mais atuais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, V. T. et al. Efeito de fatores antinutricionais encontrados nos alimentos alternativos e seu impacto na alimentação de não ruminantes – revisão. **Revista eletrônica Nutritime**, online, Viçosa, v. 12, n. 6, p. 4393-4399, 2015.
- ARBOITTE, M.Z.; Menezes, L.F.G de. **Polígrafo de Disciplina de Equideocultura. Departamento de Zootecnia – UFSM**. 2006.
- BEN SALEM, H.; NEFZAOU, A.; BEN SALEM, L. Supplementation of *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage-based diets with barley or shurbs from arid areas (*Opuntia ficus-indica* F. *Inermis* and *Atriplex nummularia* L.) on growth and digestibility in lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.96, p.15-30.2002.
- BUSHWAY, R. J.; BUREAU, J. L.; MCGANN, D. F. Determinations of organic acids in potatoes by high performance liquid chromatography. **J. Food Sci.**, v. 49, n. 1, p. 75-77, 1984.
- DETMANN, E. et al. **Métodos para análises de alimentos – INCT – Ciência Animal**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 214p. 2012.
- FERNANDES, I. S. et al. Mito ou verdade: baratas *Nauphoeta cinerea* (Oliver, 1789) conseguem sobreviver decapitadas e sem alimento?. **Sinapse múltipla**, Minas Gerais, v. 5, n. 2, p. 99, 2016.
- KOEHN, R. K.; BAYNE, B. L. Towards a physiological and genetical understanding of the energetics of the stress response. **Biological journal of the linnean society**, London. v. 37, p. 157-171, 1989.
- LIBERT, B. Rapid determination of oxalic acid by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 210, n. 3, p. 540-543, 1981.
- LUCENA, R. B. **Utilização da palma forrageira (*nopalea cochenillífera salm-dyck*) nas formas in natura e desidratada: consumo, digestibilidade, balanço hídrico e absorção dos minerais em ovinos**. Dissertação. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2011.
- MEDRADO. M. L. R. et al. **Composição química de farinhas de diferentes espécies de insetos como ingrediente para ração animal**. In: 28º Congresso Brasileiro de Zootecnia (ZOOTEC), 2018.
- MOIR, K. W. Determination of oxalic acid in plant. Queensland. **Journal of Agriculture Science**, v. 10, n. 1, p. 1-3, 1953.
- NAPPI et al. Validação de métodos para determinação dos ácidos fítico e oxálico em multimistura. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 811-820, 2006.
- NEFZAOU, A., BEN SALEM, H. *Opuntia* spp. **A strategic fodder and efficient tool to compact desertification in Twana region**. In: Mondragón-Jacobo, C., Pérez-González, S. (Eds.), *Cactus (Opuntia spp) as Forage, Plant Production and Protection Paper*, FAO Rome, Italy v. 169. 2001.
- OKE, O.L. Problems in the use of cassava as animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 3, p. 345-380, 1978.

OLIVIER, G.A. **Entomologie, ou histoire naturelle des insectes, avec leurs caracteres génériques et spécifiques, leur description, leur synonymie et leur figure enluminée. Coléoptères.** Paris. (Baudouin), 1789.

POTEZNY, N.; BAIS, R. J.; O'LOUGHLIN, P. I.; EDWARDS, J. B.; ROFE, A. M. Urinary oxalate determination by use of immobilized oxalate oxidase in a continuous-flow system. **Am. J. Clin. Chem.**, v. 29, n. 1, p. 16-20, 1983.

PUOLI FILHO, J. N. P. et al. Suplementação mineral e mobilização de cálcio nos ossos de eqüinos em pastagem de *Brachiaria humidicola*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.34, n.5, p.873-878, 1999.

QUATROCCHI, O. A.; ANDRIZZI, S. A.; LABA, R. F. **Introducción a la HPLC: aplicación y práctica.** Buenos Aires: Artes Gráficas Farro, p. 301-328, 1992.

RAMOS-ELORDUY, J. **Insects: a hopeful food source.** Ecological implications of minilivestock, p. 263-291, 2005.

RIBEIRO, C. B.; MEDEIROS, S. R. **Presença e quantificação de oxalato em gramíneas tropicais.** Embrapa Gado de Corte, 2005.

RODRIGUES, P. V. **Influência da urease de *Canavalia ensiformis* sobre o sistema cardiovascular de *Nauphoeta cinerea*.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, 2015.

SARKAR, S. K.; MALHOTRA, S. S. Gas-liquid chromatographic method for separation of organic acids and its application of pine needle extracts. **J. Chromatogr.**, v. 171, p. 227-232, 1 april 1979.

SCHICKLER, G. **Barata cinerea, 2013.** Disponível em: <<http://www.nutrinsecta.com.br/artigos/barata-cinerea-nauphoeta-cinerea/>> Acesso em: 17 de junho de 2019.

SWARTZMAN, M.S.; HINTZ, H.F.; SCHRYVER, H.F. Inhibition of calcium absorption in ponies fed diets containing oxalic acid. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.39, n.10, p.1621-1623, 1978.

WILSON, C. W.; SHAW, P. E.; KNIGHT Jr., R. J. Analysis of oxalic acid in carambola (*Averrhoa carambola* L.) and spinach by high-performance liquid chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, v. 30, n. 6, p. 1106-1108, 1982.

ZAREMBSKI, P. M.; HODGKINSON, A. The determination of oxalic acid in food. **Analyst** (London), v. 87, n. 1038, p. 698-702, 1962.