

**COMPORTAMENTO DE BORDER COLLIE EM GAIOLA E ENSAIO DE  
DIGESTIBILIDADE DE ALIMENTOS SUPLEMENTADOS COM  
DIFERENTES FONTES DE ÓLEO**

**MARCELO LOBO PAES**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
ABRIL - 2012**



**COMPORTAMENTO DE BORDER COLLIE EM GAIOLA E ENSAIO DE  
DIGESTIBILIDADE DE ALIMENTOS SUPLEMENTADOS COM  
DIFERENTES FONTES DE ÓLEO**

**MARCELO LOBO PAES**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologia Agropecuária da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
como parte das exigências para obtenção  
do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Humberto Pena Couto

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
ABRIL - 2012

**COMPORTAMENTO DE BORDER COLLIE EM GAIOLAS E ENSAIO DE  
DIGESTIBILIDADE DE ALIMENTO SUPLEMENTADO COM DIFERENTES  
FONTES DE ÓLEO**

**MARCELO LOBO PAES**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologia Agropecuária da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
como parte das exigências para obtenção  
do título de Doutor em Ciência Animal.

**Aprovada em 03 de Abril de 2012**

**Comissão examinadora:**

---

Prof. (a) Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares (Doutora, Zootecnia) - UENF

---

Prof. (a) Isabel Candia Nunes da Cunha – (Doutora, Medicina Veterinária) - UENF

---

Prof. José Tarcísio Lima Thiebaut – (Doutor, Ciência Animal) - UENF

---

Prof. (a) Mariana Duran Cordeiro - (Doutora, Produção Animal) - UFES

---

Prof. Humberto Pena Couto  
“Orientador”

Ao

meu pai e à minha mãe  
que foram o início de  
tudo;

Aos

meus avós, *in memoriam*,  
por permanecerem vivos  
no meu coração e  
presentes nas minhas  
ações;

Aos

meus cães, *in memoriam*,  
Chiquita, Crystal, Popó e  
Zandor, pivôs dessa  
empreitada de estudo.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) e ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), pelo oferecimento deste curso;

A FAPERJ pela concessão de bolsa de estudo;

Ao professor Humberto Pena Couto pela por acreditar no trabalho;

Ao professor José Tarcísio Lima Thibeaut, amigo, incentivador, mentor, clarividência aos propósitos dos meus estudos;

José Frederico Straggiotti Silva pelo apoio oferecido em momento muito oportuno;

A Joaquim Adão Cesar (Canil Avaré BC) e Jorge Luiz Ferreira de Oliveira (Treinador) por, tão prontamente, apoiarem e incentivarem o trabalho, da doação de animais, transmissão de conhecimentos, troca de idéias, treinamento e, principalmente, a amizade, obrigado!

A Associação Sudeste de Pastoreio (ASP); pela cadela Beka, a Wallace Amaral (Sítio do Vale Suíço), pelo cão Rico, a João Victor (Canil Casa Rural) por Haruck "*in memoriam*", a Ivan Alabar Pedrosa (Cinotec), a bela Selva, Marcus "Hillander", Bob e Boiadeiro e, Jamil Cesar Ribeiro de Queiroz, entusiasmo contagiante, grato pelo apoio;

A todos os cães que participaram diretamente deste projeto: Cindy, Feja, Lara, Gracy e Haruck "*in memoriam*"; Joe, Tex, Boiadeiro, Bob, Selva, Beka, Troia e S2, muito obrigado por ter conhecido vocês e por toda ajuda que prestaram até que tudo se acertasse e tornasse possível de execução. Vocês foram o motivo pelo qual funcionou. Com vocês pude quase, faltou, porém, a melhor forma de recompensá-los.

A Candida Fonseca Vilaça Lobo, mãe querida, alegre e presente, fonte divina de amor;

A Adhemar de Lopes Paes Filho, meu pai, por todas as visitas, sua presença e suas palavras, ótimos momentos!

Aos meus irmãos Arthur, Daniel e Juliana, pelo estímulo, vocês são demais;

A Marcela de Azevedo Silva, meu amor, minha alegria, bonita, companheira, dedicada, excitante e espontânea, leal, meiga, presente, sincera, viva!

A Isabel Cristina Ribeiro de Azevedo Silva & família, pela acolhida em terra desconhecida;

Ao amigo Israel Pereira da Silva, desde o “início dos tempos”!

Ao casal de amigos, mais que especiais, Paula Bortot e Thiago Ribeiro, sempre presentes, da festa ao trabalho, ou, vice e versa, como preferir, sempre juntos, superamos todas as barreiras. Obrigado por existirem e permanecerem em minha vida;

Àqueles que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

“Elevo os meus olhos para os montes; de onde me vem o socorro?”.  
“O meu socorro vem do Senhor, que fez os céus e a terra”.  
“Não deixará vacilar o teu pé; aquele que te guarda não dormitará”.  
“Eis que não dormitará nem dormirá aquele que guarda a Israel”.  
“O Senhor é quem te guarda; o Senhor é a tua sombra à tua mão direita”.  
“De dia o sol não te ferirá, nem a lua de noite”.  
“O Senhor te guardará de todo o mal; ele guardará a tua vida”.  
“O Senhor guardará a tua saída e a tua entrada, desde agora e para sempre”.

Salmo 121

## RESUMO

PAES, Marcelo Lobo; M. S., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Abril de 2012. Comportamento de Border Collie em gaiola e ensaio de digestibilidade de alimentos suplementados com diferentes fontes de óleo. Professor Orientador: Humberto Pena Couto.

Um grande número de cães é mantido em laboratório para fins de pesquisa. Alguns protocolos de pesquisa requerem o alojamento individual em canil e gaiolas, por longos períodos. No entanto, o efeito do período de restrição ainda está a ser estudado. Até o momento, a influência do tempo de confinamento sobre o comportamento canino foi especificamente abordada. Este trabalho examinou a influência comportamental do confinamento de cães em um centro de pesquisa. Oito cães adultos da raça Border Collie foram observados e alocados aleatoriamente em dois grupos: canil ou gaiola. O efeito do tipo de habitação e do sexo foi analisado. Os animais instalados tanto em canis como nas gaiolas mostraram um nível significativamente maior do comportamento parado e da posição deitado. A proporção média referente ao comportamento e as posições foram semelhantes em ambas às instalações, tanto para fêmeas quanto para machos. Em conclusão, cães Border Collie adultos, fêmeas e machos, podem ser instalados individualmente em baias e gaiolas durante todo o período de adaptação e coleta. Logo após, foram comparados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de quatro rações secas extrusadas para cães, cada um formulado com um dos ingredientes fontes de

gordura dietética em estudo: óleo de soja (OS); óleo de frango (OF); óleo de canola (OC) e óleos de peixe (OP). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 4 repetições. Utilizou-se o esquema fatorial com 2 sexos e 4 alimentos, portanto, 8 tratamentos. Em ambos os casos, optou-se para o estudo dos rações considerando 3 contrastes ortogonais ou linearmente independentes. As rações tanto com a inclusão de gordura animal como vegetal apresentaram valores elevados dos CDA, mas as variáveis analisadas (MS, MO, PB e EE) não apresentaram diferenças significativas. As quatro fontes de gordura estudadas apresentaram bons CDA e, portanto, podem ser utilizados em rações para cães adultos.

Palavras-chave: Alimento; Bem-estar; Cães; Digestibilidade; Gordura; Laboratório

## **ABSTRACT**

A large number of dogs are maintained in the laboratory for research purposes. Some research protocols require accommodation in individual kennels and cages for long periods. However, the effect of restriction period is still being studied. To date, the influence of the confinement time on canine behavior was specifically addressed. This study examined the behavioral influence of the confinement of dogs at a research center. Eight adult dogs breed Border Collie were observed and randomized into two groups: kennel or cage. The effect of housing type and sex was analyzed. The animals in kennels as well installed in cages showed a significantly higher level of behavior and stopped lying position. The average ratio for the behavior and positions were similar in both facilities, both for males and for females. In conclusion, dogs Border Collie adults, males and females, can be installed individually in pens and cages throughout the adjustment period and collection. Soon after, we compared the apparent digestibility coefficients (ADCs) of four diets dry extruded dog, each formulated with ingredient sources of dietary fat in the study: soybean oil (SO); chicken oil (FO), oil canola (OC) and fish oil (FO). The experimental design was completely randomized with 4 replications. We used a factorial with 2 sex food and 4, so 8 treatments. In both cases, it was decided to study the diets considering three orthogonal contrasts or linearly independent. The diets with the inclusion of both animal fat and vegetable showed elevated levels of CDA, but the variables analyzed (DM, OM, CP and EE) showed no significant differences. The four sources of fat studied showed good CDA and therefore may be used in diets for adult dogs.

Keywords: Food; Welfare; Dogs; Digestibility; Fat; Laboratory

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	17
2.1. O BORDER COLLIE .....	17
2.2. ALIMENTAÇÃO DE CÃES ADULTOS EM MANTENÇA .....	18
2.3. GORDURAS DIETÉTICAS.....	21
2.3.1. DIGESTÃO .....	24
2.3.2. ABSORÇÃO .....	27
2.3.3. LIPOPROTEÍNAS.....	28
2.4. TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES.....	33
2.4.1. MOAGEM.....	34
2.4.2. EXTRUSÃO .....	38
2.4.3. REVESTIMENTO .....	40
2.5. FONTES DE GORDURA DIETÉTICA.....	45
2.5.1. DIGESTIBILIDADE DA GORDURA DIETÉTICA .....	47
2.5.2. ANTIOXIDANTES.....	53
2.6. BEM-ESTAR E COMPORTAMENTO DOS ANIMAIS DE LABORATÓRIO.....	55
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60
4.1. COMPORTAMENTO DE BORDER COLLIES INSTALADOS NA BAIA E GAIOLA .....	78
4.1.2. INTRODUÇÃO .....	79
4.1.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	81

4.1.4.1. LOCAL DE ESTUDO .....	81
4.1.4.2. ANIMAIS.....	82
4.1.4.3. PROCEDIMENTOS .....	82
4.1.4.4. A ANÁLISE DOS DADOS .....	83
4.1.5. RESULTADOS.....	83
4.1.5.1. EFEITO DO SEXO SOBRE O COMPORTAMENTO ANIMAL .....	83
4.1.5.2. EFEITO DA INSTALAÇÃO SOBRE O COMPORTAMENTO ANIMAL.....	86
4.1.6. DISCUSSÃO .....	90
4.1.7. CONCLUSÕES .....	98
4.1.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	99
4.2. DIGESTIBILIDADE DE DIFERENTES FONTES DE ÓLEO UTILIZADAS NA ADIÇÃO FINAL DE RAÇÕES INDUSTRIALIZADOS PARA CÃES EM MANUTENÇÃO.....	103
4.2.3. INTRODUÇÃO .....	104
4.2.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	106
4.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	110
4.2.6. CONCLUSÕES .....	117
4.2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	118

## 1. INTRODUÇÃO

A relação entre o homem e os animais está presente desde o início da humanidade, influenciando nos rumos da evolução nas duas espécies.

No passar dos séculos e através de civilizações e continentes, os animais têm contribuído de forma contínua para a melhoria da vida humana, principalmente após o processo de domesticação, o qual impôs mudanças profundas e contribuiu na ampliação das funções atribuídas aos animais domésticos. Os cães devem ter sido a primeira espécie domesticada, cuja evolução concebeu a criação de diversas raças, utilizadas para esporte, lazer e recreação, em diversos países, tendo implicações ecológicas e sociológicas.

O Border Collie é uma raça da espécie canina desenvolvida na região de fronteira anglo-escocesa para o pastoreio de gado. Considerada a mais difundida dentre aquelas pertencentes à família dos Collies, destaca-se por sua versatilidade, útil no *agility*, *canicross* e pastoreio. Devido à facilidade ao condicionamento e imensa capacidade de compreensão as solicitações humanas, corresponde também como animal para companhia, esporte e lazer. No Brasil, se observa uma procura aumentada por esta raça, tornando comum sua presença em lojas de animais e residências, aumentando a preocupação com o bem-estar, longevidade e saúde.

Considerando que o manejo nutricional é uma das práticas mais importantes para a manutenção do estado sadio dos animais domésticos, a atenção de responsáveis por cães pelo alimento ofertado se elevou nos últimos anos. Os

alimentos industrializados para animais de estimação são normalmente comercializados em lojas de animais e supermercados, amplamente consumidos na forma de croquete (seca) ou em forma de conserva (úmido).

Na indústria de alimentos para animais, as matérias-primas constituem importante elo com a qualidade e a segurança dos produtos, pois os alimentos são formulados de acordo com os requisitos específicos da categoria animal a que se destina. O balanço dos valores da energia e proteína é que constitui o fundamento da moderna técnica de alimentação, sendo conveniente garantir quantitativa e qualitativamente o conteúdo proteico dos alimentos compostos, mas também os valores energéticos, frequentemente subestimados. Porém, tem-se aumentado o número de ingredientes que vem sofrendo uma extração prévia de gordura. Primeiramente foram às tortas de oleaginosas, as farinhas de peixe e de carne, incluindo-se, recentemente, os farelos de arroz, milho e trigo (óleo de germe).

Produzidos em grandes quantidades e processados para fins alimentares, em muitas partes do mundo os óleos constituem um importante excedente pelo consumo humano e são vantajosamente utilizados pela indústria da nutrição animal. No setor de *petfood*, o teor de inclusão deste ingrediente varia de 6 - 12% do alimento formulado, tornando-o um importante componente das dietas para animais de companhia. A gordura dietética, adicionada ao alimento processado na forma de óleo, após a extrusão, adiciona textura aos alimentos, melhora a palatabilidade, fornece ácidos graxos essenciais e serve como portador das vitaminas lipossolúveis e, assim, providenciam importantes substratos para os processos celulares, durante todos os estágios da vida.

O conteúdo calórico deste ingrediente constitui o principal atrativo para o seu uso na alimentação animal, capaz de aumentar a eficiência alimentar e melhorar o rendimento nutritivo. Estudar a digestibilidade de diferentes fontes de óleo pode ajudar a compreender o aproveitamento por parte dos cães e contribuir na escolha do ingrediente a ser utilizado para a adição final em alimentos completos para cães.

O método de coleta total de excretas (fezes e urina) é o mais utilizado para determinar a digestibilidade de nutrientes, assim como, os valores de energia digestível e metabolizável das rações ou de algum ingrediente específico. O ensaio envolve um período de adaptação dos animais aos alimentos e instalações e outro para coleta, com duração mínima total de 10 dias em confinamento individual, na baía ou gaiola, o que pode ter implicações no bem-estar animal.

Considerando que o comportamento animal é um dos principais fatores que podem influenciar o resultado de um experimento, mensurá-lo torna-se fundamental para entender o universo artificial em que eles estão contidos. A análise e descrição comportamental é parte essencial da pesquisa, cujo conhecimento poderá contribuir na compreensão dos aspectos etológicos da espécie em questão, necessários para gerar obrigações éticas que favoreçam o bem-estar dos animais de laboratório.

O objetivo deste trabalho foi observar o comportamento de Border Collies instalados em baias e gaiolas e avaliar a digestibilidade aparente de alimentos industrializados suplementados com quatro diferentes fontes de óleo: duas de origem vegetal (óleo de soja [OS] ou canola [OC]) e duas de origem animal (óleo de frango [OF] ou peixe [OP]), para Border Collie.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. O Border Collie

Pertencente à seção 1: grupo de cães pastores, o Border Collie é a raça mais difundida dentre aquelas da família Collie, com aparência diferente, padronizada devido à introdução do colar branco na altura do pescoço, em decorrência da mistura com outras raças.

A nomenclatura racial é devida ao local onde a raça se desenvolveu, região dos vales dos *Borders*, fronteira entre a Inglaterra e a Escócia, (AKC, 2010). Apresenta estatura média, pelagem densa e dupla, com os pelos podendo ser curto ou longo. Embora se permita a capa de coloração única ou com várias cores, o preto e branco é o mais comum (AKC, 2010). A cor dos olhos varia de marrom profundo para âmbar ou azul e, ocasionalmente, a heterocromia. Alguns exemplares têm orelhas totalmente caídas ou eretas, enquanto outros possuem os dois tipos, ocorrendo ainda orelhas semieretas.

Desenvolvida para a condução de rebanhos, a raça resulta da seleção pelo homem a partir de cães nórdicos que guardavam os rebanhos de renas, levados para as Ilhas Britânicas pelos Vikings, cruzados com as raças pastoreiras locais (GRANDJEAN, 2001), provavelmente os Collies Landrace, um tipo encontrado amplamente nas ilhas britânicas. Inicialmente criada para o trabalho com ovelhas, muitos dos melhores Border Collies podem ser rastreados até um cão conhecido

como *Old Hemp* (MCCULLOCH, 1952). A chegada da raça à Nova Zelândia estimulou a utilização junto ao gado bovino.

O número de pessoas que optam em se responsabilizar por um animal de estimação cresce a cada ano, existindo cerca de 21 milhões de cães com endereço fixo no Brasil (ANFAL, 2003). Devido a sua versatilidade, a raça Border Collie, animal de comportamento extremamente acrobático, atlético e energético, está se tornando cada vez mais popular como animal de companhia, esporte e lazer. Assim, a função inicial do cão como caçador, guardião e pastoreio diminuiu gradualmente em importância, a favor do papel de animal para companhia (HART e HART, 1985). Porém, devido à sua herança de trabalho, pode se tornar exigente quando mantidos como animais de estimação. A necessidade de estimulação mental e do exercício físico com seres humanos ou outros cães estimula sua utilização em esportes caninos, principalmente em demonstrações de “agility”, onde sua agilidade e velocidade são bem utilizadas (ABCA, 2010), o que pode ser uma ferramenta útil para a manutenção destes cães como animais de companhia.

## **2.2. Alimentação de cães adultos em manutenção**

Segundo CASE *et al.* (1998), define-se como estado de manutenção a situação do cão que atinge seu tamanho adulto e que não esteja em gestação, lactação ou em trabalho. Considerando que o propósito da alimentação animal é oferecer, através do alimento, substâncias necessárias para suportar a vida, cães em manutenção devem ingerir diariamente a energia requerida para suportar o equilíbrio energético, através de um longo período de tempo (BLAXTER, 1989), capaz de sustentar o metabolismo basal.

A taxa metabólica basal é a energia requerida para um animal instalado em um ambiente aclimatizado manter a homeostase no estado pós-absortivo (BLAXTER, 1989), o qual varia com qualquer fator que afete a produção de calor. O incremento calórico é um dos fatores que alteram esse valor, o qual se refere à diferença entre a taxa metabólica basal e aquela quando em descanso, porém alimentado.

Em cães, o peso corpóreo pode variar de 1 a 100 Kg e, portanto, considerações alométricas para o peso corporal metabólico são de importância

soberana para a espécie. Fisiologicamente, os requerimentos energéticos de animais com pesos amplamente diferentes não são relacionados diretamente pelo peso corporal, porém está estreitamente relacionada com o peso corporal elevado a certa potência,  $W^b$ , onde  $W$  equivale a peso em quilogramas (Kg) e  $b$  é um expoente calculado de dados experimentais. Assim, BRODY *et al.* (1934, citado por BORGES e NUNES, 1998) encontraram que a produção do calor basal para manutenção de animais de sangue quente, variando em tamanho de macacos a elefantes, deverá ser descrito pela expressão  $Y = 70 \times W^{0,73}$ , onde  $Y$  equivale a calorias por um período de 24 horas e  $W$  equivale ao peso corporal em Kg. Após serem facilmente recalculados por calculadoras e computadores, KLEIBER (1961, citado por NRC, 2006) argumenta que devido a grande variação no tamanho corpóreo, resultados usando a expressão  $Y = 70 \times W^{0,75}$ , não deverá diferir significativamente daqueles utilizados por BRODY, sendo de uso mais simples. Embora HEUSNER (1982) argumente que o expoente sugerido por KLEIBER (1961, citado por NRC, 2006) seja um artefato estatístico e sugira o valor de 0,67 para predizer a relação de energia para massa entre espécies, este expoente descreve a relação massa e superfície corporal em corpos que são geometricamente similares. Entretanto, cães de variadas raças e pesos corpóreos não o são (KIRKWOOD, 1985). Assim, com o aumento da dimensão, os cães tornam-se relativamente mais estreitos no quadril. O cérebro e vários órgãos viscerais, incluindo o fígado e o trato gastrintestinal tornam-se relativamente menores com o aumento do peso na maturidade (MEYER *et al.*, 1993), uma tendência que também ocorre entre espécies mesmo se não estão nas mesmas taxas (KIRKWOOD, 1985). O volume sanguíneo, a massa do coração e até mesmo o ritmo cardíaco mudam com o tamanho dos cães, em taxas similares àquelas vistas em uma variedade de espécies (KIRKWOOD, 1985). Todos estes achados sugerem que o expoente da massa interespecie da equação de KLEIBER ( $b = 0,75$ ) deve ser mais adequado para descrever a relação entre massa e energia em cães, quando comparado ao expoente da massa interespecie sugerido por HEUSNER (1982).

O NRC de 1974 adotou a equação de BRODY para estimar o consumo de energia (BORGES e NUNES, 1998), a partir de um número pequeno de observações (COWGILL, 1928; ABRAMS, 1962, citados por NRC, 2006) e parcialmente baseado nos cálculos de ARNOLD e ELVEHJEM (1939, citado por NRC, 2006). Entretanto, o NRC (2006) sugere o cálculo do requerimento de energia

para manutenção de cães através da equação  $132 \text{ Kcal} \times \text{PC}^{0,75}$ . Porém, devido aos baixos valores para o requerimento energético reportados em estudos calorimétricos diretos e indiretos (BURGER e JOHNON, 1991; MAENNER, 1991; WALTERS *et al.*, 1993) esta equação tem sido questionada. Entretanto, um grande número de dados relativamente novos (RAINBIRD e KIENZLE, 1990; KIENZLE e RAINBIRD, 1991; FINKE, 1991, 1994; BALLEVRE *et al.*, 1994) demonstram que a equação é válida para cães jovens mantidos em canil.

O ponto em questão deve ser que existe uma considerável variação individual, mesmo entre cães mantidos sob as mesmas condições e, assim, os efeitos da raça, idade e ambiente no requerimento de energia, provavelmente não são totalmente aditivos. Outros efeitos no requerimento energético em animais de estimação estão ligados à atividade (PATIL e BISBY, 2001) e as diferenças na capacidade digestiva entre raças (ZENTEK e MEYER, 1993).

De acordo com KIENZLE e RAINBIRD (1991), a maioria das raças de cães em manutenção possui exigência energética de 132 kcal por kg de peso corpóreo (PC)<sup>0,75</sup>/dia. Assim, as exigências para um cão adulto em manutenção, são de 3,28g / Kg BW<sup>0,75</sup> para proteína bruta (PB); 1,8g / Kg BW<sup>0,75</sup> para o extrato etéreo (EE); 0,13g / Kg BW<sup>0,75</sup> para o cálcio (Ca) e 0,10g / Kg BW<sup>0,75</sup> para o fósforo (P) (NRC, 2006).

Atualmente, o grande enfoque está no valor energético e conteúdo proteico dos alimentos, principalmente o equilíbrio em relação aos aminoácidos essenciais. Embora estes nutrientes sejam importantes em termos quantitativos na dieta e na representação de custos (MEJIA e FERREIRA, 1996), os fatores que podem interferir na digestibilidade da energia também devem receber atenção, incluindo a qualidade e quantidade da fibra (FORTES, 2001; EARLE *et al.*, 1998; BURROWS *et al.*, 1982), o porte do animal (ZENTEK e MEYER, 1995), o nível de óleo na ração (KANE *et al.*, 1981; DONZELE *et al.*, 1998), o processamento, a granulometria e os fatores antinutricionais do alimento, assim como, a reação de Maillard (AMARAL, 2002; MENDES, 2002). Segundo MORRIS e ROGERS (1994), os pontos básicos de orientação para o balanceamento de alimentos comerciais completos poderiam ser a biodisponibilidade, composição e necessidade de nutrientes biodisponíveis dos ingredientes. Este conceito é geralmente definido como o grau de absorção de um nutriente a partir de uma fonte particular ingerida, sendo utilizada no metabolismo animal e gerando a medida da digestibilidade “aparente”. Assim, o balanceamento

dos nutrientes, a palatabilidade, a digestibilidade e o conteúdo de energia metabolizável são alguns pontos necessários para obtenção de um alimento com qualidade (CARCIOFI *et al.*, 1998).

### 2.3. Gorduras dietéticas

As gorduras são um importante componente dos alimentos para animais de companhia e pertencem a um grupo mais amplo de compostos conhecidos como lipídeos, biomoléculas compostas por carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O), fisicamente caracterizadas por ser insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos (AMABIS, 2004). Suas principais funções biológicas incluem o armazenamento de energia e a composição estrutural das membranas celulares, além de servir como importantes moléculas de sinalização (FAHY *et al.*, 2009; SUBRAMANIAN *et al.*, 2011). Elas também servem como carreadores para vitaminas lipossolúveis e assim providenciam substratos importantes para os processos celulares durante todos os estágios da vida, além da provisão de AGEs.

Embora os termos "óleo", "gorduras" e "lipídeos" sejam usados para referenciar às gorduras, em temperatura ambiente normal, chama-se óleo quando no estado líquido e gordura no estado sólido dependendo da sua estrutura e composição. Os lipídeos são as gorduras líquidas e sólidas, juntamente com outras substâncias afins, geralmente num contexto médico ou bioquímico.

Os lipídeos biológicos se originam de dois tipos distintos de subunidades bioquímicas, os grupos cetoacil e isopreno (FAHY *et al.*, 2009). Usando essa abordagem, os lipídeos podem ser divididos em oito categorias: ácidos graxos, glicerolipídeos, glicerofosfolipídeos, esfingolipídeos, sacarolipídeos, policetídeos (derivado da condensação de subunidades cetoacil), além dos lipídeos de esterol e prenol (derivado da condensação de subunidades de isopreno). Os lipídeos ainda podem ser baseados em glicerol ou não. Aqueles baseados em glicerol incluem os lipídeos simples, tais como os triacilgliceróis hidrofóbicos (glicerolipídeo) e os compostos lipídicos (glicerofosfolipídeos e glicolipídeos), mais polares. O colesterol e seus ésteres de ácidos graxos são lipídeos não baseados em glicerol e esta categoria também inclui as ceras, os cerebrosídeos, terpenos, esfingomielinas e vários esteróis.

Nos alimentos, a maior parte da gordura está sob a forma de colesterol, fosfolipídeos e triglicerídeos e consistem de ácidos graxos livres e aqueles ligados tanto a uma cadeia de glicerol – triacilglicerol, incluindo os fosfolipídeos, como a um álcool animal ou vegetal - colesterol ou retinol.

Em mamíferos, os ácidos graxos podem ser saturados ou insaturados, com ou sem duplas ligações, respectivamente. Entretanto, todos são moléculas de hidrocarbonetos com cadeia linear, geralmente derivados dos fosfolipídeos ou triglicerídeos, com uma cauda alifática longa (cadeia de hidrocarbonetos), saturada ou insaturada, arranjo que confere à molécula uma extremidade polar hidrofílica e uma extremidade não polar hidrofóbica, insolúvel em água. Aqueles denominados saturados e monoinsaturados podem ser derivados a partir do alimento ou sintetizados pelo organismo animal, enquanto os ácidos graxos insaturados são mais comumente encontrados na gordura vegetal, com suas duplas ligações na configuração *cis* ou *trans*, dependendo da fonte.

A biossíntese e degradação dos ácidos graxos ocorrem, preferencialmente, no fígado e, em pequena proporção, nos adipócitos. Além dos intermediários e das enzimas, o compartimento celular destas vias metabólicas também são diferentes: retículo endoplasmático liso e mitocôndria, respectivamente. Embora os mamíferos utilizem várias vias biossintéticas tanto para quebrar, como para sintetizar lipídeos, eles não podem criar insaturações além da posição  $\Delta$ -9, sendo os ácidos graxos que as possuem chamados de essenciais (AGEs), devendo ser obtidos a partir do alimento. Assim, os humanos e outros mamíferos possuem um requisito dietético para certos AGEs, tais como o ácido linoleico  $\omega$ -6 (18: 2, 9, 12) (LA) e o ácido linolênico  $\omega$ -3 (18: 3, 9, 12, 15) (ALA), porque eles não podem ser sintetizados a partir de precursores simples na dieta (STRYER *et al.*, 2004), necessários para muitos processos biológicos, não apenas como fonte de energia. Os efeitos das gorduras  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 na saúde, em grande parte, são explicados pelas diferentes atividades de cada família (DE CATERINA E BASTA, 2001; FUNK, 2001; PIOMELLI, 2000; SOBERMAN E CHRISTMAS, 2003), sobre tudo nas membranas externas celulares, as quais contêm fosfolipídeos, onde estão contidos dois ácidos graxos, sendo que alguns destes são PUFAs com 20 carbonos - ácido araquidônico (AA, 20:4  $\omega$ -6), ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5  $\omega$ -3) e o ácido dihomo – gama - linolênico (DGLA, 20:3  $\omega$ -6). Em resposta a uma variedade de sinais inflamatórios, os AGEs são clivados a partir do fosfolipídio e lançado como ácidos graxos livres.

Em seguida, o AGE é oxigenado para se obter os eicosanóides, por meio de duas vias: (a) oxidação pela enzima ciclo – oxigenase (COX), a qual remove duas ligações duplas  $C = C$ , conduzindo - os para as séries tromboxano (TX), prostaglandina (PG) e prostaciclina (PGI) e (b) oxidação pela enzima lipoxigenase, que não remove nenhuma dupla ligação  $C = C$  e o conduz as moléculas graxas de sinalização chamadas leucotrienos (LK). Outros ácidos graxos que são apenas “condicionalmente essenciais” incluem o ácido gama – linolênico (Omega - 6), ácido láurico (saturado) e ácido palmitoléico (monoinsaturado).

Os ácidos graxos são uma importante fonte de combustível, pois podem ser metabolizados por muitos tipos de células para produzir grandes quantidades de adenosina trifosfato (ATP). As células do coração e do músculo esquelético utilizam preferencialmente este nutriente, mesmo com a possibilidade de usar a glicose na produção de energia, enquanto o cérebro não pode utilizá-lo desta forma, se baseando em moléculas de cetona ou glicose (CAMPBELL e FARRELL, 2006). Os ácidos graxos, incluindo os AGEs, servem para funções estruturais e o seu grau de saturação transmite propriedades físicas específicas para as membranas celulares.

Em nutrição, gordura poli-insaturado ou ácido graxo poli-insaturado (PUFA), é aquele com a presença de mais que uma ligação dupla entre carbonos da molécula representativa, ou seja, a molécula é capaz de receber dois ou mais átomos de hidrogênio que não fazem parte da estrutura naquele momento. A falta dos átomos de hidrogênio na superfície da molécula, tipicamente reduz a força intermolecular do composto, causando, assim, o ponto de fusão, tornando-o significativamente menor. Esta propriedade pode ser observada através da comparação dos óleos vegetais insaturados, que permanecem líquidos, mesmo a temperaturas relativamente baixas, enquanto às gorduras mais saturadas, tais como banha ou manteiga, estão principalmente no estado sólido à temperatura ambiente. As gorduras *trans* são mais semelhantes à gordura saturada do que as gorduras *cis* em muitos aspectos, incluindo o fato de que eles se solidificam a uma temperatura mais baixa do que as gorduras *cis*.

Os PUFAs podem assumir uma conformação *cis* ou *trans*, dependendo da geometria da ligação dupla, todavia, servem como precursores de prostaglandinas e outros eicosanóides, os quais são reguladores psicológicos poderosos das funções celulares.

### 2.3.1. Digestão

Os cães estão bem preparados para digerir diferentes fontes de gordura dietéticas de forma altamente eficiente. Entretanto, o processo de digestão do lipídio está integrado sob a ação de várias lipases. Embora a massa de triacilglicerol seja hidrolisada via lipase pancreática, este fenômeno é dependente da ação da lipase gástrica, colipase e vários outros fatores (BEGTSSON-OLIVECRONA et al., 1994).

A digestão da gordura dietética (hidrólise mediada por lipase) e sua absorção é um processo de passos múltiplos que requer coordenação intrínseca de três estágios reconhecidos no trato gastrintestinal superior (MASKELL e JOHNSON, 1993) – luminal, mucosal e secretório (dentro da circulação portal e linfática). Cada um contribui com a sua cota para o ambiente digestivo total.

A fase luminal inicia com hidrólise pré-duodenal da gordura ingerida em controle das lipases lingual e gástrica, enzimas que são ativas no pH gástrico. Primeiro, a lipase gástrica é liberada e atua sobre uma ampla faixa de pH (CARRIERE ET AL., 1991, 1992), parecendo atacar qualquer gotícula de lipídio, cuja ação resulta na hidrólise de alguns triglicerídeos para diacilglicerol e ácidos graxos. Esta hidrólise gástrica facilita a emulsificação dos lipídeos e os prepara para a digestão intestinal. A presença destas lipases varia um pouco, dependendo da espécie animal. A lipase lingual se origina na área orofaríngea e tem sido descrita em ratos, no homem e em ruminantes (NELSON et al., 1977). Entretanto, somente traços da atividade da lipase lingual têm sido encontrados em cães adultos (IVERSON et al., 1991). Apesar da digestão de algumas gorduras dietéticas começarem na boca, onde a lipase lingual quebra alguns lipídeos de cadeias curtas em diglicerídeos, esse processo é bem menos importante, permanecendo desconhecido se a atividade da lipase lingual deve ser maior em filhotes de cães recém-nascidos.

Os cães apresentam lipase gástrica ativa (NELSON et al., 1977; HAMOSH, 1984; CARRIERE et al., 1992; DESCROIZ-VAGNE et al., 1993; KNOSPE e PLENDL, 1997; VAGANAY et al., 1998), apresentando maior atividade na área da cárdia e curvatura maior, sendo menor no antro e na curvatura menor do estômago (IVERSON et al., 1991). Entretanto, as gorduras e os ácidos graxos não são solúveis em água e, por isso, não são transportados facilmente. Desta forma, o revolvimento e a mistura que ocorrem na porção distal do estômago apresentam maior

significância, pois quebram os lipídeos em pequenas gotículas, aumentando a área superficial total disponível para as enzimas digestivas. Embora o processo de emulsificação seja inibido por pH baixo, as proteínas dietéticas atuam como agentes emulsificantes, possibilitando que aproximadamente 10% dos triglicerídeos do alimento sejam hidrolisados a glicerol e ácidos graxos livres pela lipase gástrica, secretadas pelas células do fundo (HAMOSH, 1994).

Embora a hidrólise de triacilgliceróis ocorra até certa extensão no estômago dos cães, o principal órgão responsável por digerir e absorver os lipídeos da dieta, a fim de entregá-los para o organismo como lipoproteína rica em triglicerídeos é o intestino. Durante o período pós-prandial, a gordura dietética estimula a síntese e secreção do suco biliar (a bile ou bilis), produzida no fígado, armazenada e concentrada na vesícula biliar, constituída por compostos orgânicos e inorgânicos, nas seguintes proporções: água (85%), sais biliares (10%), muco e pigmentos (3%), gorduras (1%), sais inorgânicos (0,7%) e colesterol (0,3%).

Nos vertebrados, a molécula do colesterol é o constituinte mais importante das membranas celulares. Porém, mesmo que a maioria dos tecidos do organismo sintetize colesterol continuamente, nenhum deles o cataboliza. Assim, torna-se necessário que o organismo disponha de meios apropriados para provocar a eliminação do excesso de colesterol sérico. Então, ao alcançar o fígado, o colesterol é quimicamente convertido em seus derivados hidrossolúveis, os sais biliares, que são posteriormente secretados com a bile e eliminados, como o próprio colesterol, passando a formar um complexo micelar constituído por sais biliares – lecitina - colesterol.

Os sais biliares e a bilirrubina, ambos produzidos no fígado, são dois dos mais importantes solutos orgânicos que constituem a bile, compostos que criam condições propícias de solubilização para eliminar do organismo seu precursor e, assim, atuam diretamente no transporte das moléculas de colesterol. Os sais biliares estão ligados em forma peptídica com a glicina e/ou a taurina, em uma proporção de 3:1. Este tipo de conjugação se dá no hepatócito via CoA e tem por objetivo proporcionar um aumento da solubilidade dos sais biliares em sistemas aquosos, pois abaixa sua constante de dissociação (pK). Os valores de pK para estes conjugados são mais baixos do que o pH do conteúdo intestinal e, por esta razão, os ácidos biliares existem no nosso organismo sob a forma de sais de sódio ou potássio, sendo denominados sais biliares. Estes compostos químicos apresentam

dupla atividade, ou seja, uma porção da sua molécula interage de forma efetiva com a água (fração hidrofílica) ao passo que a outra porção o faz de forma débil (fração hidrofóbica). No caso dos sais biliares, as hidroxilas (radicais OH) e a cadeia lateral são hidrofílicas, ao passo que a estrutura esteroide é hidrofóbica. Assim, criam um ambiente propício no lúmen jejunal para favorecer a solubilização das gorduras dietéticas, atuando como detergentes, permitindo que o processo de digestão das mesmas se realize com máximo aproveitamento. Por tanto, a maior parte da digestão de triglicerídeos começa com a emulsificação das gorduras pelos ácidos biliares, criando partículas minúsculas, solúveis em água, que podem ser digeridas pelas enzimas pancreáticas.

As proteínas dietéticas e os produtos de degradação da lipase (fosfolipídeos, ácidos graxos e monoglicerídeos) são compostos anfipáticos que auxiliam os sais biliares no processo de emulsificação. Então, para facilitar o transporte, sais biliares, lecitina e colesterol, oriundos da bile, combinam-se com as gorduras parcialmente digeridas, para formar micelas, pois, em condições basais, o pH alcalino do intestino delgado (ID), devido à secreção de bicarbonato das glândulas epiteliais e do suco pancreático, torna-se capaz de iniciar uma agregação molecular. Como um passo inicial da digestão da gordura dietética, a combinação de sais biliares e produtos lipolíticos (mono e diacilgliceróis) presentes no intestino participam da emulsificação adicional de triacilglicerídeos, requerendo somente baixas forças de cisalhamento para formação (LINTHORST et al., 1977). Desta forma, quando alcançam o lúmen intestinal, os sais biliares, formam micelas anfipáticas que emulsificam as gorduras, ajudando na sua digestão e absorção.

As micelas são mistas, formadas pela incorporação de sais biliares e colipase com ácidos graxos e acilgliceróis, resultando na formação de um substrato devidamente ativado para a ação da lipase pancreática nos triacilgliceróis. Colesterol, ésteres de colesterol e outros ésteres (ésteres de retinol) e fosfolipídeos todos participam na formação da micela. As ligações éster dos ácidos graxos destas moléculas também são hidrolisadas em diferentes graus. Os triacilgliceróis são quebrados em ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis. A criação desta fase, responsável pela solubilização dos compostos de gordura, acelera a reação lipolítica no sentido de sua completa realização. Assim, os lipídeos do alimento, principalmente os triglicerídeos, são hidrolisados pelas enzimas pancreáticas -

lipase, colipase e fosfolipase A<sub>2</sub>. Então, combinados com os produtos da bile, aumentam a disponibilidade da gordura já digerida pela lipase pancreática.

### 2.3.2. Absorção

A absorção dos produtos hidrolisados da digestão de gorduras ocorre no enterócito do intestino delgado.

Contendo ácidos biliares, monoglicerídeos, diglicerídeos e AG de cadeia longa, as micelas, são solúveis em água e facilitam a transferência de AG livres e monoglicerídeos para a borda em escova das células intestinais. As micelas penetram nos espaços entre os vilos em constantes movimentos. Os monoglicerídeos e os ácidos graxos difundem-se das micelas para as membranas das células epiteliais, o que é possível porque os lipídeos são também solúveis na membrana da célula epitelial. Isto geralmente assume que a maioria da captação dos lipídeos ocorre por difusão passiva. Entretanto, algum componente deste também pode ser mediado por transportador. Todas as membranas biológicas, incluindo o enterócito intestinal, possui uma camada de água relativamente imperturbável através do qual os solutos devem se mover por difusão; esta camada é referida como a camada de água imperturbável, a qual consiste de uma série de ambientes aquosos progressivamente agitados que se estendem a partir da membrana da borda em escova até que se combine com a massa em fase aquosa (THOMPSON e WILD, 2001). Portanto, para ocorrer a absorção do lipídio micelar, produtos lipídicos devem difundir-se através desta camada para atravessar a membrana intestinal com borda em escova. Este processo ocorre tanto por difusão passiva quanto por mecanismos mediados por proteínas. Movimentos de lipídeos através da membrana da borda em escova, mediados por proteínas, incluem lipídeos ligados a proteínas para ambos, os ácidos graxos de cadeia longa e média, tanto quanto para colesterol (THOMSON e WILD, 2001).

No citosol dos enterócitos, os ácidos graxos são ligados a proteínas de ligação e, assim como os monoglicerídeos, são captados pelo retículo endoplasmático liso da célula, usados para formar novos triglicerídeos, em uma reação de reesterificação, na qual o glicerol volta a se unir com os ácidos graxos, para formar gordura. Similarmente, o colesterol é ligado a uma proteína e também

deve tornar-se esterificado com um ácido graxo pela ação da acil-colesterol transferase. Este processo é ativo, consome energia e resulta na produção de quilomícrons solúveis na água, os quais são revestidos de proteínas e constituídos por triglicerídeos, colesterol e apoproteínas. Tais reesterificações ajudam a manter uma gradiente de concentração para absorção adicional.

Comparado com outras espécies, os cães apresentam um nível mais elevado de lipase gástrica. Os triglicerídeos de cadeia média (TCM) são solúveis em água, e, portanto, não necessitam de sais biliares para emulsificação. Os AG de cadeia mais curta, como os que se encontram em TCM, podem passar por um processo digestivo e de absorção mais simples. Enquanto os triglicerídeos de cadeia longa (16 ou mais carbonos) são digeridos de forma limitada pela lipase gástrica, os TCM (cadeia de até 12 carbonos) são rapidamente hidrolisados em AG livres e diglicerídeos, os quais são depois digeridos no ID e absorvidos, via sistema porta. A causa dessa diferença reside no fato de que os ácidos graxos de cadeia curta são mais hidrossolúveis e, em grande parte, não são convertidos a triglicerídeos pelo retículo endoplasmático (HAMOSH, 1994). Estas características levam à difusão desses ácidos graxos de cadeia curta das células do epitélio intestinal diretamente para o sangue, no capilar das vilosidades intestinais. Assim, os triglicerídeos de cadeia curta e média podem ser absorvidos para a corrente sanguínea ao longo da mucosa gástrica. No sangue, ligam-se a albumina e são levados para o fígado, onde serão oxidados como fonte de energia. Isso é fundamental em animais recém-nascidos e pode ser importante em certos tipos de doenças gastrintestinais que comprometem a digestão normal de gordura. Além disso, após a absorção, os TCM são, sobretudo, oxidados para energia, em vez de serem armazenados no tecido adiposo. Assim, os TCM podem constituir uma fonte de energia alternativa em animais cuja absorção ou digestão de gorduras esteja comprometida (LAFLAMME, 2008).

### **2.3.3. Lipoproteínas**

Embora alguma porção de ácidos graxos passe diretamente para dentro da circulação portal, a forma mais importante de circulação das gorduras refere-se às lipoproteínas. Grande parte dos ácidos graxos, colesterol e fosfolídeos absorvidos,

em conjunto com as apoproteínas sintetizadas nos enterócitos em resposta para o conteúdo de gorduras dietéticas, formam os quilomícrons, uma lipoproteína sintetizada por enterócitos em resposta ao conteúdo de gorduras dietéticas (BAUER, 2000). Então, ligados pela  $\beta$  – lipoproteína, estas minúsculas partículas serão transportadas pelos lactíferos das vilosidades, os vasos quilíferos intestinais e, através do ducto linfático torácico, os quilomícrons são transferidos para o sangue circulante. A secreção para dentro dos lactíferos difere de outros nutrientes que, pela corrente sanguínea do sistema porta, são transportados diretamente para o fígado.

Os quilomícrons que alcançam a circulação sistêmica encontram a enzima lipoproteína lipase (LPL) - responsável por degradar os triglicerídeos e liberar os ácidos graxos, virando quilomícron remanescente, então metabolizado no fígado. As partículas que sobram dão origem as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), habilitadas para transportar, dentro da corrente sanguínea, uma solução à base de água, produtos endógenos, tais como as gorduras e o colesterol. Assim, o VLDL nascente, liberado pelo fígado, circula no sangue contendo apolipoproteína B100, apolipoproteína C1 (apoC1), apolipoproteína E (apoE), colesterol, ésteres de colesterol e triglicerídeos.

A lipoproteína de alta densidade (HDL) recebe parte do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL), o qual transporta colesterol e triglicerídeos do fígado e intestino delgado às células e tecidos que estão necessitando destas substâncias. No mesmo momento, a HDL libera apoproteínas para LDL, facilitando, assim, a volta deste ao fígado, evitando que o mesmo fique na circulação sanguínea. Através de um receptor específico, a LDL é levada para uma célula hepática por endocitose, onde os conteúdos são armazenados, utilizados para a estrutura da membrana celular ou convertidos em outros produtos, tais como hormônios esteróides ou ácidos biliares.

Como continua a circular no sangue, a HDL também adiciona apolipoproteína C-II (apoC-II) e apoE ao VLDL nascente, que neste ponto torna-se uma VLDL madura. Uma vez em circulação, a VLDL madura irá entrar em contato com a LPL nos leitos capilares do corpo (tecido adiposo, muscular cardíaco e esquelético). A LPL irá remover triglicerídeos da VLDL para armazenamento ou produção de energia. A VLDL se reunirá com HDL, quando a apoC-II será transferida de volta para a HDL, porém mantendo a apoE. A HDL também transfere

ésteres de colesterol para a VLDL, em troca de fosfolipídeos e triglicerídeos, através da transferência via proteína de transferência de éster de colesterol (CETP).

Devido à ação das enzimas LPL e CETP, uma quantidade maior de triglicerídeos é removida do VLDL e a composição das moléculas muda, tornando-se lipoproteína de densidade intermédia (IDL), que podem ser reconhecidas por receptores nas células do fígado devido à apolipoproteína B-100 (apo B-100) e apoE, sendo endocitadas. No entanto, cerca de 50% das IDLs perdem a apoE e quando seu conteúdo de colesterol torna-se maior do que o conteúdo de triglicerídeos, torna-se a lipoproteína de baixa densidade (LDL), com apoB-100, como a apolipoproteína primária. Através de um receptor específico, a LDL é levada para uma célula hepática onde sofre endocitose e os seus conteúdos são armazenados, utilizados para a estrutura da membrana celular ou convertidos em outros produtos, tais como hormônios esteroides ou ácidos biliares. Todos os AG com mais de 16 carbonos de comprimento são absorvidos e transportados dessa forma (GERMAN e ZENTEK, 2006).

As micelas de sais biliares continuam no quimo, onde são reutilizadas para a incorporação dos produtos da digestão de gorduras. Então, a bile liberada no duodeno, após a refeição, não estará irreversivelmente perdida nas fezes e, em condições normais, ao alcançar o íleo terminal, estará destinada a ser reabsorvida pela circulação entero – hepática. Através de um eficiente sistema de transporte para a circulação sistêmica, o organismo é capaz de remover 95% dos sais biliares que atingem esta porção do intestino, transportando-os para a circulação portal. No retorno ao fígado, serão novamente secretados na bile, tornando possível reciclar os sais biliares e controlar a excreção do colesterol. Os sais biliares participam da circulação entero - hepática sob 2 formas de estrutura química: (a) sais biliares primários (ácido cólico e quenodesoxicólico) e (b) sais biliares secundários (ácido deoxicólico e litocólico) - formados no íleo terminal a partir dos sais biliares primários, decorrentes de uma mudança estrutural denominada 7- $\alpha$  desidroxilação, devido à ação das bactérias componentes da microflora normal, em especial as anaeróbias. Assim, ao atingir o íleo terminal, cerca de 25% dos sais biliares primários conjugados com taurina ou glicina sofrem desconjugação, sendo que a maior parte é reabsorvida e retorna ao fígado, sendo novamente conjugada com glicina e/ou taurina, sequenciando o seu ciclo diário de circulação. Desta forma, somente 5% dos sais biliares sintetizados no fígado são eliminados nas fezes.

#### 2.3.4. Controle hormonal

Durante o período pós-prandial, receptores duodenais respondem à presença de gordura dietética no intestino delgado (ID), produzindo hormônios que estimulam a liberação da bÍlis e da lipase pancreática, principais responsáveis pela degradação das gorduras em ácidos graxos. As células endócrinas dispersas na mucosa do intestino proximal são estimuladas a secretar enterogastronas - hormônios secretados pela mucosa do duodeno, em resposta aos lipÍdeos alimentares, capazes de inibir o movimento caudal do conteúdo de quimo, desencadeando reflexos neurais capazes de inibirem o esvaziamento gástrico. Assim, torna-se possível que cheguem ao duodeno somente quantidades de gordura que possam ser digeridas e absorvidas facilmente, sem sobrecarregar o sistema.

Entre as enterogastronas, a secretina destaca-se como o hormônio que controla a homeostase da água por todo o corpo e, separadamente, as secreções dentro do duodeno. Produzida pelas células S presentes nas criptas duodenais de Lieberkühn (HAMOSH, 1994), a secretina é liberada na circulação e/ou lúmen intestinal, em resposta ao baixo pH do duodeno, quando este varia entre 2 e 4,5 - dependendo da espécie (WILLIAN e GANONG, 2003). Seu efeito consiste em regular o pH do conteúdo duodenal, tanto através do controle da secreção do ácido gástrico, quanto do aumento de bicarbonato da solução aquosa das células centro acinar e do epitélio nos ductos intercalares do pâncreas, devido ao efeito tampão deste soluto. Desta forma, a secretina aumenta o bicarbonato na solução aquosa do pâncreas e do epitélio no ducto biliar. Uma vez que as células pancreáticas centro acinar possuem receptores de secretina em sua membrana plasmática, este hormônio se liga a estes receptores estimulando a atividade da adenilato ciclase, que catalisa a conversão de ATP para adenosina monofosfato cíclico (cAMP). O cAMP atua como segundo mensageiro na transdução de sinal intracelular e leva a um aumento na liberação de carbonato, levando a promoção do crescimento normal e a manutenção do pâncreas. A secretina também aumenta a secreção de água e bicarbonato das glândulas de Brunner, presentes no duodeno, a fim de amortecer a entrada dos prótons provindos do quimo ácido (HALL e GUYTON, 2006). Além disso, ela neutraliza os picos de concentração sanguínea de glicose, desencadeando um aumento na liberação da insulina pelo pâncreas, logo após a ingestão de glicose. Embora a secretina libere gastrinas a partir de gastrinomas, ela

inibe a liberação de gastrina a partir do estômago normal, reduzindo a secreção ácida do estômago por inibir a liberação da gastrina a partir de células G estomacais (PALMER e PENMAN, 2010). Este efeito ajuda a neutralizar o pH dos produtos da digestão que entram no duodeno a partir do estômago, favorecendo a ação das enzimas digestivas do pâncreas (amilase e lipase pancreática), que apresentam ótima função em pH levemente básico (HAMOSH, 1994). Com o intuito de induzir a secreção das enzimas digestivas e biliares do pâncreas e da vesícula, respectivamente, a secretina aumenta os efeitos da colecistocinina (CCK), um hormônio peptídeo do sistema gastrointestinal, responsável por estimular a digestão de gorduras e proteínas. Ambas as enzimas, secretina e o CCK, de forma conjunta, catalisam a digestão de carboidratos, gorduras e proteínas, além de provocarem o aumento da contração do esfíncter pilórico, impedindo o refluxo gastroduodenal.

Anteriormente chamado pancreozimina, a CCK é sintetizado pelas células I do epitélio da mucosa do intestino delgado e a secreção provoca a liberação da biliar e de enzimas digestivas para o duodeno. Este hormônio atua em um número de processos fisiológicos, incluindo a digestão e a saciedade, atuando como um supressor da fome (HALL e GUYTON, 2006). Enquanto a liberação da CCK pode ser inibida pelo hormônio somatostatina, a presença de gordura no quimo que alcança o intestino delgado estimula sua síntese e secreção. Entretanto, a gordura deve estar em uma forma absorvível para liberar CCK. Assim, enquanto os ácidos graxos e seus monoglicerídeos, contendo oito ou mais átomos de carbono, são o estímulo mais potente para sua liberação, os triglicerídeos são ineficazes (HAMOSH, 1994).

A CCK é um fraco estimulador fisiológico da água e do bicarbonato pancreáticos, porém é um importante inibidor do esvaziamento gástrico, razão pela qual as refeições gordurosas esvaziam-se mais lentamente. Entretanto, este hormônio é um estímulo potente para a secreção de enzimas pancreáticas, a contração da vesícula biliar e o relaxamento do esfíncter de Oddi, resultando na liberação da biliar para a parte duodenal do intestino.

## 2.4. Tecnologias de produção de rações

As estimativas de ANFALPET (2006) indicam uma população de 28,8 e 13,08 milhões de cães e gatos domiciliados no Brasil, respectivamente, sendo que apenas 40% deste contingente consome alimento industrializado, sugerindo um enorme potencial de crescimento do consumo para o mercado de *petfood*, o qual pode atingir 3,6 milhões de toneladas ao ano. O mesmo estudo apontou que em 1994, a produção anual registrada foi de 220.000 toneladas e, em 2005, produziu-se 1,3 milhões de toneladas de alimentos, mercado que registrou índice de crescimento de cerca de 5% naquele ano, apresentando ainda potencial de crescimento para cerca de três milhões de toneladas ao ano (BAZOLLI, 2005). A produção prevista para 2006 era de 1.687.400 toneladas, com movimentação de dois bilhões de reais (ANFALPET, 2006).

Com o intuito de acompanhar a evolução do mercado, a tendência atual é buscar maneiras cada vez mais saudáveis de alimentar os animais de estimação, aliando-se os conhecimentos modernos sobre nutrição às avançadas tecnologias de processamentos industriais (TARDIN, 2002). Atualmente os alimentos fabricados, diferentes daqueles produzidos inicialmente - peletizados e pouco palatáveis, são extrusados e apresentam melhor digestibilidade, palatabilidade e metabolização dos nutrientes (PRADA, 2002).

Alimentos completos para cães devem garantir todos os níveis nutricionais necessários à correta alimentação diária do animal saudável. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, publicou a Instrução Normativa número 09, fixando os padrões e a qualidade desses produtos, os quais podem ser divididos em alimentos secos, semiúmidos e úmidos (BRASIL, 2002). Estes produtos diferem entre si quanto ao teor de umidade e ao processamento tecnológico (BORGES e NUNES, 1998), classificação que possui um contrassenso nutricional implícito (CARCIOFI, 2004), pois os alimentos industrializados para cães podem ser classificados segundo: (a) função – completos, complementares ou especiais; (b) tipo de processamento – úmido, semiúmido ou seco e (c) segmentação de mercado – econômico, *premium* e *super premium* (SÁ FORTES, 2005), possibilitando a existência de uma infinidade de produtos disponíveis no mercado, os quais refletem os métodos de comercialização utilizados e sua qualidade (BORGES *et al.*, 2002).

HUBER *et al.* (1986) relataram que alimentos comerciais para cães que possuíam os mesmos valores dos nutrientes expressos nos rótulos, apresentaram coeficientes de digestibilidade variáveis e quando o alimento não estava adequado às exigências nutricionais foi consumido pelo animal por falta de opção e pela presença de flavorizantes (TARDIN, 2002). Ensaios experimentais têm demonstrado que os nutrientes e o coeficiente de digestibilidade dos alimentos classificados como econômicos são inferiores aqueles classificados como padrão ou *premium* (CASE *et al.*, 1998), não sendo recomendado para animais em crescimento ou gestação. Sua fórmula variável utiliza uma gama de ingredientes como eventuais substitutos, devido ao custo da matéria-prima e disponibilidade dos ingredientes (PRADA, 2002). No Brasil, o segmento de *petfood* utiliza por ano 2,05 milhões de toneladas de arroz, carnes, leite e outros ingredientes para alimentar os animais de companhia (ANFALPET, 2006). Então, o conhecimento do impacto dessas manipulações sobre a formulação deverá ser uma preocupação constante do formulador (RIBEIRO, 2002). De forma adicional, uma proporção variável das proteínas incluídas nos alimentos comerciais pode ser indigerível devido aos métodos de processamento, os quais puderam ocasionar mudanças na biodisponibilidade de certos. Assim, o processamento das farinhas de origem animal também pode comprometer a qualidade da proteína destes ingredientes, diminuindo a qualidade do produto (PARSONS, 2000). O alimento seco (teor máximo de 12% de umidade) é produzido pelo processo de extrusão e representa mais de 90% do volume de vendas, sendo que aproximadamente 40% da produção brasileira referem-se a produtos econômicos, estando o restante dividido entre produtos padrão, *premium* e *super-premium* (HERBÁRIO, 2006).

#### **2.4.1. Moagem**

O fabricante de alimentos para animais de companhia tem como objetivo produzir alimentos com a melhor relação custo x benefício. Toda a gestão do processo deve estar voltada para atender o produto final com qualidade, visando esta finalidade (KERSTEN *et al.*, 2005).

Segundo BELLAVER e NONES (2000), a moagem e a mistura dos ingredientes são os pontos referenciais de uma fábrica de ração. A redução do tamanho das partículas proporciona uma mistura homogênea dos ingredientes e facilita sua extrusão (FRAILHA, 2005), influenciando diretamente na produção de um produto que apresente máxima digestibilidade nutricional e satisfaça adequadamente os processos subsequentes da produção de rações (COUTO, 2008).

O principal método de redução do tamanho das partículas é a moagem com moinhos de martelo (COWELL *et al.*, 2000), o qual consiste basicamente em um conjunto de facas rombas, denominados de martelos. Esses martelos possuem alguns milímetros de espessura. São perfilados paralelamente uns aos outros e fixos a um eixo de alta rotação. Ao redor desse sistema é fixada uma peneira. Os diâmetros dos furos das peneiras variam, dependendo da característica final desejada do produto. O sistema de martelos e peneira está contido na câmara de moagem (ALLES, 2003).

Os ingredientes que serão moídos entram na câmara de moagem por ação da gravidade, encontrando os martelos que estão em alta rotação. Esse contato irá reduzir o material ao estado semi - moído ou moído, dependendo da característica do ingrediente utilizado. Isso ocorre devido ao grande diferencial de velocidade entre os martelos e o material que entra. Além disso, o material será propelido diretamente para a peneira. Após essa primeira ação, as partículas que restam igualam sua velocidade à dos martelos.

O atrito gerado entre os ingredientes e a peneira irá proporcionar a redução do tamanho das partículas, tornando possível a elas, passar pelos forames da peneira, impulsionadas pela força centrífuga (OWENS e HEIMANN, 1994). A indústria de alimentos para cães utiliza, em geral, a moagem dos ingredientes a 1,6 mm (ROKEY e HUBER, 1994).

Um fator importante na produtividade dos moinhos é a relação entre a área útil da peneira e a potência do motor (POZZA *et al.*, 2005). Para exemplificar essa relação, utilizando-se um moinho com motor de 100 cv de potência e uma peneira com furos de 1,6mm, pode-se, por exemplo, ter peneira com área de 1000 pol<sup>2</sup> e 30% de área perfurada, proporcionando uma relação de 300pol<sup>2</sup> de área perfurada para cada 100 cv. Em uma segunda situação, pode-se ter uma peneira com 2000 pol<sup>2</sup> e com os mesmos 30% de área perfurada, obtendo-se uma relação de 600 pol<sup>2</sup>

de área perfurada para cada 100 cv. A segunda situação resulta em aumento na capacidade de saída do ingrediente da câmara do moinho, aumentando significativamente a produção (ALLES, 2003). Assim, a velocidade periférica e a configuração dos martelos do moinho influenciarão a eficiência na moagem. Quanto maior a velocidade periférica, maior o impacto com o ingrediente, portanto menor o tamanho das partículas e maior a eficiência do moinho. A configuração dos martelos terá influência na limpeza das aberturas e, portanto, no aumento da área de saída do material (OWENS e HEIMANN, 1994).

O alimentador tem um papel crucial na produtividade. Ele deve proporcionar a entrada constante e uniforme dos ingredientes na câmara do moinho e também a correta distribuição dos ingredientes em toda a área da peneira (ALLES, 2003).

A relação entre a moagem dos ingredientes e o aproveitamento dos nutrientes foi estudada em diversas espécies animais (DAHLKE *et al.*, 2001; LEANDRO *et al.* 2001 e SOARES *et al.*, 2003), porém, não foram encontrados na literatura estudos que demonstrem a influência da moagem na resposta digestiva e metabólica de cães FAHEY JR. (2003).

Estudos com seres humanos demonstraram que o grau de moagem dos ingredientes amiláceos influencia na sensação de saciedade, na insulinemia e glicemia pós - prandiais (PEREIRA *et al.*, 2002). HEATON *et al.* (1988) estudaram a influência do trigo e milho, nas formas integrais, quebrado, moído grosseiramente e moído finamente e da aveia nas formas integrais, moídas grosseiramente e moída finamente, sobre a glicemia pós-prandial em seres humanos. Eles perceberam que quanto menor o tamanho da partícula do milho e do trigo, maior o pico glicêmico e a resposta insulínica. Esse comportamento não foi observado para a aveia, provavelmente devido às diferenças nas propriedades físicas de suas fibras. HOLT e MILLER (1994) encontraram resultados semelhantes ao demonstrarem maiores respostas glicêmicas para dietas à base de trigo mais finamente moído. Em um estudo com seres humanos portadores de ileostomia, MUIR e O'DEA (1993) notaram que a quantidade de amido não digerido presente no íleo terminal era significativamente maior nos pacientes que ingeriram a dieta com arroz integral, comparado com os pacientes que ingeriram a dieta com arroz moído. Então, a moagem também pode interferir na glicemia pós-prandial.

Adicionalmente, estudos com animais de produção demonstraram a importância da moagem no aproveitamento dos nutrientes para aves e suínos (DAHLKE *et al.*, 2001; BASTOS *et al.*, 2005). Com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas peletizadas sobre o desempenho e características de carcaça da tilápia do Nilo, SOARES *et al.* (2003) utilizaram dietas moídas em peneiras com furos de 0,50; 0,75; 1,00 e 1,50 mm, observando que a redução do tamanho das partículas possui efeito quadrático no peso final médio, percentagem de ganho de peso, comprimento total final, conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica. DALHKE *et al.* (2001) notaram que a diminuição do diâmetro geométrico médio em dietas para frangos de corte melhorou linearmente o ganho de peso e o consumo de alimento, enquanto a conversão alimentar melhorou de forma quadrática.

A eficiência do processo de moagem pode variar dependendo do ingrediente utilizado, área útil da peneira, da velocidade periférica dos martelos, da configuração dos martelos e da velocidade do alimentador.

O ingrediente utilizado tem uma influência direta na produtividade e consumo de energia dos moinhos de martelo. HEALY *et al.* (1994) observaram que a energia consumida para a moagem do grão de milho a 500  $\mu\text{m}$  foi superior à energia gasta para a moagem do sorgo na mesma granulometria. Enquanto para moer uma tonelada de milho foram gastos 15,7 kWh, para moer o sorgo foram gastos 3,8 kWh. A mesma relação foi encontrada para a produtividade dos moinhos, sendo que, em uma hora, foram moídas 0,63 toneladas de milho e 2,37 toneladas de sorgo. Quando compararam a moagem do sorgo e do milho em diferentes granulometrias, obtiveram os maiores ganhos de peso com o milho moído a 700 $\mu\text{m}$  e o sorgo a 500 $\mu\text{m}$ .

No entanto, estima-se que 3% de toda a energia consumida no mundo sejam gastas para a redução do tamanho de partículas, incluindo minérios e insumos para as indústrias química, farmacêutica e alimentícia (TAVARES, 2001). HEALY *et al.* (1994) estudaram a influência da redução do tamanho da partícula na produtividade e consumo de energia. Os resultados demonstraram que a energia elétrica gasta para a moagem do grão de milho a 900  $\mu\text{m}$  foi de 5,3 kWh/t, com uma produção de 1,76 t/h. Com a redução do tamanho da partícula para 300  $\mu\text{m}$  ocorreu aumento no consumo de energia elétrica para 24,5 kWh/t e uma redução na produção de ração para 0,65 t/h. POZZA *et al.* (2005) mensuraram o consumo de

energia gasta em 10 granjas de suínos, produtoras de ração e observaram que os gastos variaram entre seis e 20 kWh/t. Esses resultados demonstraram a necessidade de aperfeiçoar a moagem de forma a maximizar o aproveitamento do alimento e racionalizar o uso da energia. Então, apesar da moagem proporcionar uma mistura homogênea dos ingredientes, facilitar o processo de extrusão e melhorar a qualidade final dos produtos, ela é também responsável por uma grande parcela do custo de produção dos alimentos extrusados.

#### **2.4.2. Extrusão**

Entre os processos empregados industrialmente para produção de alimentos industrializados para cães destaca-se a extrusão termoplástica.

O processo de extrusão *H.T.S.T.* – *hight temperature, short time* (sigla em inglês que significa: altas temperaturas, tempos curtos) é uma tecnologia que teve origem na indústria de plásticos e muitos dos modelos e teorias foram desenvolvidos com polímeros (HARPER, 1981). O sistema consiste, fundamentalmente, em um alimentador, um pré-condicionador, a extrusora e a matriz, sendo que cada componente é desenvolvido para desempenhar uma função específica no processo de cozimento e formação do produto (RESCHSTEINER, 2005).

O alimentador proporciona a entrada, em fluxo contínuo e controlado, da mistura seca dos ingredientes para o pré-condicionador e, conseqüentemente, para o canhão da extrusora (HAUCK, 1994). No pré-condicionador, água e vapor são adicionados à mistura de ingredientes. Essa mistura é então homogeneizada por um sistema de barras cilíndricas com pás dispostas radialmente, transformando-a em uma massa. O objetivo do pré-condicionador é aumentar a umidade e temperatura da massa e, conseqüentemente, aumentar a estabilidade da extrusora e a qualidade do produto final. Ele reduz também o desgaste das roscas da extrusora, feitas de aço inox. A umidade desta massa é mantida geralmente entre 10 a 25% e a temperatura entre 70 a 90° C.

Após sair do pré-condicionador, a massa entra na extrusora. A extrusora consiste em um tubo com um sistema de rosca-sem-fim, denominado canhão da extrusora. Esse sistema de rosca irá comprimir a massa, gerando energia mecânica. O atrito causado pela ação da rosca criará energia térmica, elevando a temperatura

da massa e proporcionando o cozimento do amido. A escolha da velocidade de rotação e da configuração da rosca irá influenciar a energia mecânica aplicada à massa (CHUANG e YEH, 2004 e DING *et al.*, 2004). Além disso, pode-se injetar vapor de água diretamente no canhão da extrusora, aumentando ainda mais a temperatura da massa (ABECASSIS *et al.*, 1994). O aumento da umidade proporcionado pelo vapor auxilia também a redução da fricção da massa e o aumento da produção, reduzindo o desgaste mecânico das peças. No final do canhão da extrusora, a pressão pode chegar a 37 atmosferas, a temperatura a 150° C e umidade a 28% (RIAZ, 2003).

A matriz da extrusora é a última parte do sistema de extrusão, possuindo duas funções. A primeira é proporcionar restrição para a saída do produto e, assim, gerar a pressão necessária para a aplicação da energia mecânica. A segunda função é dar o formato final da partícula, por meio do formato do orifício da matriz e da velocidade de corte das facas (COWELL, 2000).

Durante o processo de extrusão ocorre a destruição irreversível da estrutura cristalina do grão de amido, processo de ruptura das regiões cristalinas no grânulo, seguida pela perda de integridade (MITCHELL e AREAS, 1992), culminando com a gelatinização do amido, processo que torna a superfície da molécula mais susceptível a ação enzimática. Esta é a principal mudança que ocorre no amido durante o processo de extrusão e, para que ela ocorra, torna-se necessário a conjunção de fatores tais como umidade, calor, energia mecânica, modificação de pH e pressão (HAUCK, 1994).

Considerando que os grãos, cuja composição possui cerca de 50 a 90% de amido, são os ingredientes mais utilizados na indústria de alimentos para cães, a extrusão possui função essencial (CRANE *et al.*, 2000). Este tipo de processamento influenciou a digestibilidade dos nutrientes (HOLSTE *et al.*, 1989) e, assim, os alimentos industrializados como arroz instantâneo, flocos de milho, batata frita e batata instantânea produziram maior curva glicêmica do que o milho, arroz e batata cozidos de forma caseira para seres humanos, com os alimentos industrializados tendo maior digestão *in vitro* do amido (BRAND *et al.*, 1985).

FADEL *et al.* (1988) estudaram o efeito da extrusão sobre a digestibilidade da cevada em suínos e observaram que a extrusão proporcionou melhora significativa na digestibilidade ileal do amido, entretanto, não ocorreu diferença na digestibilidade total. Essa diferença entre a digestibilidade ileal e total do carboidrato

pode ser devido à fermentação, no intestino grosso, do amido que escapou à digestão enzimática no intestino delgado. O amido fermentado no intestino grosso leva ao aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta e redução do pH fecal (CUMMINGS e ENGLYST, 1995, FAO, 1998).

Em relação ao aproveitamento dos amidos em gatos, KIENZLE (1993) observou que a digestibilidade do amido de uma dieta contendo milho cru foi de 72%. Quando o milho foi cozido, a digestibilidade aparente do amido foi de 100%, demonstrando, assim, que o cozimento aumenta a suscetibilidade do grânulo de amido à ação enzimática intestinal.

JOUGLIN *et al.* (1992) compararam a digestibilidade de cães para quatro carboidratos, nas formas crua e gelatinizada. Foram utilizadas oito dietas contendo: amido de trigo, milho, batata e mandioca. O processo de gelatinização resultou na melhora significativa da digestibilidade de todos os alimentos. WOLTER *et al.* (1998) compararam a digestibilidade ileal, para cães, de dois carboidratos em suas formas crua e gelatinizada. Eles utilizaram quatro dietas contendo: amido de trigo, trigo gelatinizado, mandioca e mandioca gelatinizada. O processo de gelatinização não demonstrou efeito expressivo sobre a digestibilidade ileal do amido de trigo, com 99,4% de digestibilidade para o amido cru e 98,0% para o gelatinizado. Para o amido de mandioca, contudo, a gelatinização melhorou significativamente a digestão ileal, elevando-a de 57,6% para 97,4%.

A influência do tipo de alimento industrializado sobre a resposta pós-prandial de glicose em cães foi estudada por HOLSTE *et al.* (1989). Os autores compararam alimentos seco, semi-úmido e úmido. Os resultados indicaram diferença significativa no alimento semi-úmido que gerou uma onda pós-prandial de glicose e insulina mais elevada que a das outras duas dietas.

### **2.4.3. Revestimento**

A gordura é um componente importante da dieta e pode também proporcionar variações no sabor e textura para produtos alimentares, dependendo do tipo e / ou a forma de adição. Tem cerca de duas vezes a densidade calórica de proteínas e carboidratos e, portanto, uma boa fonte de calorias. Muitas gorduras são também muito sabor atraente como aditivos alimentares.

Os alimentos expandidos para cães são tipicamente preparados a partir de uma mistura contendo farináceo de amido, gordura, proteína, vitaminas e minerais, fibras e, preferencialmente, também cores e sabores. Durante o processo de extrusão, água suficiente é adicionada à mistura farinácea, para aumentar o teor de humidade para cerca de 20 a 35%. Então, a mistura é submetida ao calor e a pressão, sendo expandida na extrusora. Após a extrusão, no momento da passagem forçada pela matriz, parte da água é esguichada para fora do extrusado, causando a expansão e a secagem parcial do produto. O extrusado é cortado em *Kibble* ao sair da extrusora - um componente do alimento de cães ou gato, como croquetes. A secagem adicional, em um forno, reduz ainda mais o teor de humidade para cerca de 8 a 10%.

Convencionalmente, o conteúdo de gordura dos *kibbles*, em alimentos caninos produzidos desta maneira, deve ser aumentado para um nível desejado, pelo revestimento da superfície com gordura, tais como o sebo. Embora uma extrusora de dupla rosca possibilite uma adição de 20% de gordura durante a extrusão de alimentos para animais, em modelos de canhões extrusores com rosca única, esta quantidade é limitada em cerca de 12% de gordura durante a extrusão, sendo que sua adição, além de cerca de 6 a 8%, provocou graves problemas no produto, como a aglutinação e a coloração do material na embalagem (CAMIRE et al., 1990). Estes problemas podem ser controlados apenas com despesas significativas. A adição de quantidades mais elevadas de gordura diretamente à mistura farinácea, antes da extrusão, reduziu a expansão do produto, em uma extensão indesejável, tais que os produtos se tornaram indesejavelmente denso (GALLOWAY et al., 1989). Como a gordura é uma fonte concentrada de calorias e é bem apreciada pelos cães, torna-se desejável o aumento da densidade calórica dos alimentos convencionalmente formulados, através da simples adição de mais gordura. Entretanto, adicionar gordura a um alimento extrusado - expandido para cães, a base de farináceo, além de um nível de 6 ou 8%, apresenta algumas dificuldades, tornando-se possível somente devido ao uso da tecnologia de extrusão, pois o alimento extrusado pode absorver mais gordura externamente nas etapas de revestimento que o alimento peletizado. Por conseguinte, existe a necessidade de se estudar o melhor processo a ser aplicado para fornecer os níveis mais elevados de gordura adicional em alimentos expandidos e extrusados para animais de estimação.

Atualmente, alimentos para cães em manutenção são processados para conter altos níveis de gordura, geralmente 20% da formulação, enquanto os alimentos destinados aos animais fisicamente ativos e aqueles especialmente formulados para atender as necessidades nutricionais dos filhotes, particularmente, devem possuir uma alta porcentagem de gordura, podendo ultrapassar 30% de inclusão na fórmula.

Embora seja possível adicionar carne fresca e, em pequenas proporções, óleo ou outros aditivos líquidos durante a fase de pré-condicionador do sistema de extrusão (RIAZ, 2003) o processo de extrusão requer adicionar gordura no produto final e em quantidades controladas. A adição de lipídeos na extrusão diminuiu a solubilidade em água e modificou o perfil de viscosidade (CHEFTEL, 1986), apresentando potencial para melhorar a textura dos extrusados à base de amido, porém o processo de extrusão reduziu a extratibilidade de lipídeos, em parte, devido à formação de complexos lipídeos - amilose (CHEFTEL, 1986), o qual diminuiu a digestibilidade e a solubilidade dos amidos cozidos (GALLOWAY et al., 1989), principalmente no caso dos amidos de cereais (MITCHELL e AREAS, 1992), principalmente devido às temperaturas elevadas (superiores a 150°C) as quais as misturas são expostas no canhão extrusor, responsáveis por aumentarem a probabilidade de formação dos complexos lipídio/amido e lipídio/proteína. Os ácidos graxos livres e os lipídeos polares são especialmente reativos a essas situações. Os lipídeos polares interagem com as cadeias lineares de amilose para inibir o intumescimento e a hidratação do grânulo. Este efeito está relacionado ao comprimento da cadeia hidrocarbonada: cadeias curtas de lipídeos polares podem acelerar a taxa de gelatinização, enquanto cadeias médias e longas inibem o intumescimento dos grânulos (CAMIRE et al., 1990). Assim, teores elevados de lipídeos previnem a expansão dos alimentos durante a extrusão, enquanto níveis baixos de lipídeos (aproximadamente 5%) promovem uma extrusão constante e melhoram a textura (CHEFTEL, 1986). Apesar dos lipídeos melhorarem a palatabilidade e adicionarem uma textura aceitável para os alimentos, sua adição na mistura que irá alimentar o canhão extrusor pode alterar consideravelmente as propriedades de escoamento da mesma. Assim, na maioria das vezes, o alimento extrusado, embora seja um produto assado, cozido e completamente gelatinizado, podendo ter solubilidade de 80 a 90%, contém menos de 6 a 7% de lipídeos logo

após a extrusão e apresenta uma sensação de goma no paladar, possuindo sabor bastante desagradável.

Devido ao custo mais elevado dos ingredientes e a necessidade definitiva de controle e qualidade total, antes de ir para a linha de embalagem, o produto extrusado será pulverizado com líquidos. As aplicações mais comuns em alimentos para animais são a gordura, os inibidores de aromas e mofo, além das enzimas. Os óleos, tipicamente de origem animal e vegetal, assim como, alguns tipos de aditivos palatilizantes de vários sabores são os ingredientes mais utilizados nesta etapa, pois as gorduras ou lipídeos são uma excelente fonte de energia em alimentos para animais. A gordura adicional é suplementada ao alimento utilizando diferentes sistemas de revestimento do produto extrusado (vácuo ou atmosférico), sendo considerado um processo para melhorar a maneira em que a gordura pode ser adicionada ao produto alimentar expandido, resultado da extrusão.

Dentre as formas mais comuns de aplicação desses líquidos em produtos secos, os bicos de pulverização no interior de um tambor de revestimento são os mais utilizados. Geralmente, isto é feito por pulverização da gordura líquida e quente sobre o alimento extrusado, em algum ponto depois de terem sido formados, sendo necessário oferecer a oportunidade para secar. No entanto, alimentos secos e expandidos para animais de companhia, na sua maioria, recebem aplicação de gordura líquida e de aromatizantes após a secagem e o resfriamento, para melhorar a aceitabilidade e palatabilidade do produto. Porém, quando é preferível que os módulos de secagem e resfriamento da linha de produção sejam realizados em equipamentos separados, os alimentos extrusados, frequentemente, são revestidos após a secagem, antes do resfriamento. Esta escolha tem a vantagem do revestimento de um produto quente, que melhora a absorção.

As gorduras líquidas e os aromatizantes são normalmente aplicados em bobinas cilíndricas rotativas, tanto por pulverização de uma névoa de líquido quanto pela aspensão de um pó seco sobre o produto que entra na bobina rotativa. Assim, um tambor rotativo especial é utilizado para agitar o alimento extrusado, o qual possui um tubo com vários bicos que se estendem no comprimento do tambor e borrifam “sprays” de gordura quente sobre os produtos acabados. As bobinas são aquecidas para manter a solidificação da gordura na superfície interior da bobina. Os tanques de aquecimento da gordura, utilizados pelo sistema de adição da gordura, normalmente têm a capacidade de pré-aquecimento da gordura a 60° C, que é a

temperatura recomendada. O aquecimento das fontes de gordura a 40 - 60°C, antes da mistura com o produto extrusado, minimiza as alterações de viscosidade, dependentes da temperatura, ajudando no cozimento do produto total e na redução do efeito depressivo da expansão.

Um dispositivo de medição é utilizado para medir a entrada do alimento seco na bobina do aplicador rotativo, a fim de assegurar que um nível exato de material seco seja misturado com a gordura adicionada. Quando a gordura é adicionada entre 1 – 5%, um bico de nebulização é normalmente utilizado no interior da bobina de revestimento da gordura. Ao aplicar-se maiores percentagens, faz-se necessário a utilização de um bocal do tipo “inundação”. As desvantagens do aparelho e do método referenciado incluem a tendência da gordura para revestir a superfície do extrusado e não penetrar na substância do grão, facilidade para remoção do revestimento de gordura por manipulação, limitação da quantidade de gordura que pode ser adicionada e viscosidade do revestimento. Além disso, o tubo e os pulverizadores que borrifam a gordura líquida estão sujeitos ao entupimento durante a utilização, diminuindo a eficiência do aparelho no revestimento dos grânulos com gordura.

A utilização de um dispositivo em cascata, para revestimento do produto seco, através de uma "cortina" de revestimento líquido, criada por um conjunto de discos giratórios, elimina a necessidade de bicos de pulverização. Recentemente, máquinas de alta velocidade de mistura têm sido utilizadas para aplicar uniformemente os líquidos em alimentos para animais. Estas máquinas carregam e descarregam o seu conteúdo rapidamente para realmente converter um processo em lotes para um sistema de lote-contínuo. As unidades dos módulos podem ser integradas continuamente com os misturadores para conseguir a retenção do produto e uma ação adicional de mistura. Através de uma peneira rotativa, os líquidos são liberados para o misturador e dependem do movimento trêmulo das partículas para limpá-la, a partir de outras partículas. O tempo típico do ciclo por lote são 5 a 30 segundos, mas a utilização de discos giratórios, em vez de bicos de pulverização, permite a aplicação de líquidos aos sólidos secos em um processo de fluxo contínuo, resultando em uma ação adicional de mistura e retenção do produto. A percentagem de líquido a ser aplicada depende da porosidade do alimento seco e a capacidade de absorver líquido. A fim de obter uma cobertura uniforme de líquido para o alimento seco, o líquido tem de ser finamente atomizadas. Estes líquidos,

muito frequentemente, possuem sólidos em suspensão que podem obstruir um bico de pulverização. A utilização de discos giratórios para atomizar o líquido evita a utilização dos bicos, cujo entupimento afetam o desempenho da máquina. Outra vantagem considerável é que toda a pulverização está contida no interior da máquina e isto mantém a limpeza do líquido e do ambiente circundante, o que não é o caso de um tambor aberto. Considerando que este equipamento cria menos pressão que os bicos de pulverização, as bombas e os outros componentes duram mais tempo.

O sistema de infusão a vácuo é um processo que tem vários benefícios em relação aos sistemas atmosféricos, tais como 40% de adição do líquido e a infusão dos revestimentos para dentro da estrutura sedimentar dos extrusados. Na infusão a vácuo, os líquidos de revestimento são aspirados para dentro do produto extrusado, em todas as moléculas de ar, enquanto os processos atmosféricos resultam apenas em um processo de revestimento tópico do alimento.

Fontes de gordura incluem o sebo, gordura das aves domésticas, óleos vegetais, óleos marinhos e várias misturas de todas as fontes. A seleção de gorduras saturadas, com pontos de fusão elevados, podem ser utilizadas para minimizar a migração de gordura em embalagens de retalho durante o armazenamento.

## **2.5. Fontes de gordura dietética**

As principais fontes de gordura dietética (gorduras e óleos) em alimentos secos, expandidos e extrusados para cães são derivadas primariamente das gorduras de armazenamento de animais marinhos e terrestres, além dos óleos das sementes de numerosas plantas e, servem como fonte de energia, palatilizante, provimento de ácidos graxos essenciais, transportador de vitaminas lipossolúveis, modificador da textura, controle da densidade e redução da poeira.

Os óleos de origem animal são os produtos obtidos de tecidos animais nos processos de restituição ou extração, quando destinados especificamente ao consumo animal (COMPÊNDIO, 2009). Os mais utilizados incluem o óleo de vísceras de aves e o óleo de peixes, cuja composição das gorduras, normalmente reflete a alimentação destes animais. Considerando que animais usados para

produção de alimentos, geralmente são alimentados com dietas baseadas em grãos, contendo baixa gordura, a maioria dos ácidos graxos teciduais é produzida *de novo*, a partir dos carboidratos e, então, os estoques de gordura desses animais são compostos de ácidos graxos do tipo saturado e monoinsaturado.

As gorduras dietéticas derivadas de fontes de vida marinha, tais como peixes, fitoplâncton e outras plantas marinhas, tipicamente contêm concentrações mais altas de ácidos graxos do tipo n-3 que mamíferos terrestres. Então, os óleos de peixe marinhos são particularmente ricos em ácidos graxos  $\omega$ -3 de cadeia longa, como o EPA e o DHA (BHAGAVAN, 2002), ausentes nas fontes vegetais de Omega-3, tais como a colza (canola), soja, nozes, semente de linhaça (óleo de linhaça), perilla, chia e de cânhamo. Porém, eles podem diferir na composição, variando entre espécies, de acordo com a dieta, as influências sazonais e o habitat, inclusive. Em adição ao alto conteúdo de ácidos graxos n-3, algumas espécies contêm razoáveis concentrações de ácidos graxos monoinsaturados de cadeia longa, tanto quanto ácidos saturados. Devido à ausência de equivalência entre estas fontes, uma imagem clara dos tipos e quantidades de ácidos graxos n-3 específicos, desejado para um produto alimentício acabado, deve ser considerado quando na seleção dentre eles.

Fontes vegetais de óleos são obtidas como o produto da prensagem mecânica e/ou extração por solvente de grãos isentos de misturas, gorduras e outras matérias estranhas ao produto, quando destinado especificamente para uso na alimentação animal (COMPÊNDIO, 2009). Estes produtos são compostos primariamente de triglicerídeos e são encontrados em sementes (soja e milho) e, em alguns casos, nos frutos carnudos (oliva e palma). Tecidos foliares de plantas terrestres contem concentrações razoavelmente altas de ALA (18:3n-3). Entretanto, estas últimas fontes vegetais são baixas em gordura total e geralmente não constituem a principal fonte dietética de gordura para cães e gatos. Óleos de sementes variam amplamente em sua composição de ácidos graxos e um determinado ácido graxo sempre é predominante como característica particular da origem da planta. Assim, óleos de sementes devem ser ricos em ácidos graxos de 18 carbonos n-6 ou n-3 e alguns irão conter uma variação entre ambos. Os PUFAs n-6, incluindo LA (18:2n-6) e o ácido  $\gamma$ -linolênico (GLA, 18:3n-6) são facilmente obtidos a partir de fontes de animais terrestres e óleos vegetais. Quando gorduras altas em ácidos linoleicos (LA – óleo de soja, milho, cártamo e girassol) ou ácido  $\alpha$ -

linolenico (ALA – óleo de linhaça) são incluídos, resultam em altas porcentagens do respectivo PUFA no tecido lipídico (PAWLOSKY et al., 1997; WALDRON, 1999).

Outras fontes das gorduras dietéticas em alimentos para cães e gatos que, por vezes, são negligenciadas incluem ovo, músculo e miudezas que compreendem muitos tipos de ingredientes usados na fabricação de alimentos para animais de companhia.

A composição total de ácidos graxos de um produto alimentício acabado, em última análise, depende do conteúdo total de ácidos graxos dos ingredientes. Muitos dos ingredientes mais comuns usados em alimentos manufaturados para cães e gatos, tais como farinha de subprodutos de aves e cordeiro, por não serem fontes primárias de gordura dietética, não contribuem como fonte de ácidos graxos dietéticos para um produto acabado. Como devem ser esperados, estes ingredientes irão variar em seus conteúdos de gordura e composição de ácidos graxos. Então, o perfil de ácidos graxos de alguns dos ingredientes mais comumente utilizados tem sido incluído (tabela 1).

### **2.5.1. Digestibilidade da gordura dietética**

Alimento “completo e equilibrado” implica que este contenha nutrientes essenciais, nos níveis que satisfaçam as exigências do animal (CASE *et al.*, 1998).

Uma vez que existam descritos métodos biológicos e químicos para a avaliação dos ingredientes e do alimento processado, torna-se possível o desenvolvimento e a padronização de procedimentos analíticos (FAHEY JR., 2003), sendo que a análise laboratorial do alimento processado é o método mais preciso para determinar o conteúdo em nutrientes dos alimentos para animais (CASE *et al.*, 1998).

A legislação da associação dos funcionários americanos do controle da alimentação (AAFCO, 2008) permite aos fabricantes incluir a indicação de “completo e equilibrado” na sua embalagem, somente se puderem comprová-los. Os dois métodos possíveis incluem os ensaios com animais ou a formulação baseada em estimativas máximas e mínimas dos nutrientes, na qual, as recomendações americanas do conselho nacional de pesquisa (NRC, 2006), aparecem como uma alternativa de consulta.

Tabela – 1: Composição em ácidos graxos de gorduras e óleos selecionados

Composição com os principais ácidos graxos				
PARÂMETROS	SOJA <sup>a</sup>	CANOLA <sup>b</sup>	FRANGO <sup>c</sup>	PEIXE <sup>d</sup>
Saturados (%) <sup>e</sup>				
Mirístico – C14	0,25	0	0,50	3,1
Palmitico – C16	12	4	26,5	29,1
Esteárico – C18	4,5	1,8	13,5	18,9
Insaturados (%) <sup>e</sup>				
Oléico – C18: 1	23	56,1	43,5	44
Linoléico – C18: 2	54	20,3	14,5	0,90
Linolênico – C18: 3	6	9,3	0,80	-
(%) <sup>f</sup>				
Total Saturado	14,2	12,7	28,6	-
Total PUFA	57,8	59,7	20,5	-
PUFA: SATURADO	4,07	4,7	0,71	-
Total n-6	51	59	19,5	-
Total n-3	6,8	0,7	1	-

<sup>a,b</sup>É o produto obtido a partir do óleo bruto ou cru após o processamento de degomagem que consiste em centrifugar o óleo bruto de soja para separação em duas partes: os insaponificáveis, constituídos de fosfolipídeos contendo lecitinas, cefalinas, liposítóis, tocoferóis, entre outros, e óleo degomados.

<sup>c</sup>É o produto obtido em abatedouros a partir do processamento da partes não comestíveis da aves.

<sup>d</sup>É o produto obtido de pescados através de aquecimento de tecidos gordurosos pré-selecionados.

Fonte: <sup>e</sup>COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL (2009); <sup>f</sup>NRC (2006).

No entanto, a regulamentação dos alimentos industrializados para cães e gatos previstos na instrução normativa número 09, publicada em 2003 (BRASIL, 2003), a qual se propõe a identificar as características mínimas de qualidade a que os produtos devem obedecer, na prática, apenas fixou as concentrações máximas e mínimas de alguns nutrientes no rótulo. Assim, muita atenção é dada à densidade nutricional dos alimentos que são formulados, principalmente quanto aos teores de proteína bruta e extrato etéreo, porém sem considerar seu real aproveitamento, pois

embora exista muito marketing nutricional destes alimentos, existem poucas informações a respeito da digestibilidade dos mesmos (KROGDAHL et al., 2005).

A maioria das empresas produtoras de alimentos secos para pequenos animais no Brasil ainda não mantém como rotina a realização de avaliações práticas de digestibilidade, conforme recomendam os protocolos científicos da AAFCO (1994) e da ALFALPET (2006).

Então, o estabelecimento de critérios de digestibilidade poderia ser um dos requisitos para a classificação dos produtos. Sua determinação *in vivo* constitui uma medida da qualidade da dieta porque determina diretamente a proporção de nutrientes disponíveis para absorção (CASE et al., 1998). A adoção de critérios de digestibilidade na avaliação de produtos é reforçada pelo fato de cães não serem animais de produção, tornando-se difícil encontrar uma variável objetiva para fundamentar os estudos de suficiência e adequação nutricional. Talvez por isso, poucos estudos científicos avaliaram as diferenças de saúde de cães alimentados com produtos de diferentes segmentos comerciais.

O conhecimento sobre biodisponibilidade dos nutrientes alimentares das formulações evoluiu pouco nos últimos anos (CARCIOFI et al., 2006). A produção destas informações, inclusive, vem se reduzindo recentemente devido ao maior enfoque das pesquisas mais recentes em saúde (CARCIOFI et al., 2009) e, assim, mesmo os métodos para o estudo da digestibilidade dos alimentos é área pouco pesquisada para cães (CARCIOFI et al., 2007) e gatos (VASCONCELLOS et al., 2006; VASCONCELLOS et al., 2007). A escassez de informações faz com que, via de regra, as formulações para animais de companhia sejam baseadas nos nutrientes brutos, não nos disponíveis (FORTES et al., 2010), indicando a necessidade de pesquisas na área de caracterização físico-química dos ingredientes utilizados pela indústria, de forma a aperfeiçoar a utilização destes nas formulações (FAHEY JR., 2003; CARCIOFI, 2008).

Talvez por isto, ao menos no Brasil, produtos com problemas de composição de rótulo (CARCIOFI et al., 2006) e com baixa digestibilidade e energia metabolizável ainda estejam disponíveis no mercado (CARCIOFI et al., 2009).

Normalmente os rótulos das rações para cães trazem valores da composição nutricional mínima (proteína bruta, extrato etéreo e fósforo) e máxima (umidade, fibra bruta, cinzas ou matéria mineral e cálcio). Entretanto, não dispõem de dados referentes à digestibilidade e ao valor biológico da proteína.

Quando se avalia alimento para cães, os valores da composição nutricional são importantes, porém não menos importantes são os valores de palatabilidade e digestibilidade. A palatabilidade pode estar ligada à preferência do animal, facilmente detectada pelo proprietário que observa os hábitos do animal. Entretanto a digestibilidade dos nutrientes contidos na ração requer a intervenção do técnico nutricionista (Holme, 1987; Case *et al.*, 1998)

A determinação da digestibilidade pode ser realizada por dois procedimentos básicos: o método direto (coleta total de fezes) e o método indireto (por meio de indicadores).

Alguns métodos indicadores, como o óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) e a lignina, vêm sendo utilizados na espécie canina (LLOYD e MCCAY, 1954; ANDREASI, 1956), porém não se têm relatos do uso da fibra em detergente ácido (FDA), sendo escassa a utilização das cinzas insolúveis em ácido clorídrico (CIA) para a determinação da digestibilidade nessa espécie (LÔBO *et al.*, 2001).

O indicador externo mais utilizado nas últimas décadas tem sido o óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ). PEREIRA (1991) recomendou a administração oral do óxido de cromo aos animais em experimentos por 10 dias para a uniformidade da excreção e mais 5 dias para coleta de fezes para bovinos.

LÔBO *et al.* (2001) compararam as avaliações de consumo de matéria seca (MS), produção fecal e digestibilidade da MS para cães, medidos pelo sistema direto e indireto (óxido crômico). Com os resultados obtidos, conclui-se que os métodos de coleta total das fezes e o uso dos indicadores óxido crômico e CIA podem ser utilizados para determinação do coeficiente de digestibilidade aparente na espécie canina.

Entretanto, o método mais utilizado para determinar a EM dos alimentos para cães é o de coleta total de fezes e urina ou de excretas (BELAY *et al.*, 1997; BROWN, 1997; CARCIOFI *et al.*, 2006). Como podem ser separadas fezes e urina, além dos valores energéticos, é possível determinar o coeficiente de digestibilidade da proteína do alimento avaliado. O mesmo procedimento pode ser realizado para determinar a digestibilidade de outros nutrientes como gordura, fibra bruta, FDN e FDA. O princípio baseia-se na mensuração do total de alimento consumido e o total de excretas produzidas durante certo período de tempo (SAKOMURA e ROSTNAGNO, 2007).

Segundo ANFALPET (2010), o protocolo mínimo para a determinação da energia metabolizável e coeficientes de digestibilidade aparente em alimentos processados para cães, propõem empregar para o teste um mínimo de seis animais adultos (mais de um ano), considerados clinicamente sadios, todos devidamente desverminados e vacinados. O alimento deve ser oferecido em uma ou duas porções diárias e, a quantidade fornecida a cada animal pode ser estimada segundo as equações para as necessidades energéticas de manutenção ou baseada na quantidade necessária para manter o peso corporal.

Para estimar a energia metabolizável com base em fatores de correção para a perda de energia urinária, os animais poderão ser mantidos em gaiolas individuais equipadas com grade no fundo, que propicie a separação de fezes e urina, permitindo a coleta quantitativa e segura das fezes. Admite-se também o uso de baias que permitam a colheita toda de fezes não contaminadas.

Ambos os métodos, coleta total ou indicador (substância índice), propõem duas fases: adaptação e coleta. O primeiro período é composto por um tempo mínimo de 5 dias, tendo por objetivo adaptar os animais à dieta, à gaiola, ajustar a ingestão de alimento e, quando necessário, verificar a manutenção do peso corporal. A fase de coleta deve constar de um mínimo de 120 horas. Durante este período, toda a produção de fezes deve ser quantificada e recolhida. Na fase de coleta o consumo alimentar deve, também, ser rigorosamente mensurado e registrado. O consumo alimentar deverá permanecer constante durante esta última fase, de forma a se evitar variações de excreção.

A gordura dietética providencia a fonte mais concentrada de energia no alimento, sendo responsável por aproximadamente 2,25 vezes a energia metabolizável (EM) tanto da proteína quanto dos carboidratos. Consequentemente, alterações no conteúdo de gordura do alimento pode afetar significativamente sua densidade calórica. Como os animais se alimentam tipicamente para satisfazer suas necessidades calóricas (COWGILL, 1928; citado por NRC, 2006), grandes mudanças na densidade calórica devem requerer o ajuste de outros nutrientes como as proteínas, vitaminas e minerais. Então, são necessários ajustes para manter um perfil de nutrientes em energia apropriado. Assim, com o aumento da densidade calórica, se a proteína permanecer constante, então a razão proteína: energia deverá diminuir. A ingestão da massa de proteína total deverá diminuir se o animal parar de comer quando sua necessidade energética tiver sido alcançada para cada

refeição, culminando em uma redução líquida da ingestão proteica ao longo do tempo.

A digestibilidade aparente da gordura bruta é geralmente alta, embora alguma variação pudesse existir dependendo do tipo de gordura, quantidade e a presença de outros componentes dietéticos. A digestibilidade aparente da gordura em cães pode variar a partir de aproximadamente de 85 a 95% quando misturas de acilgliceróis a partir de ambas as fontes animais e vegetais são oferecidas (JAMES e MCCAY, 1950; ORR, 1965; MEYER, 1984). Um recente estúdio encontrou que a digestibilidade aparente de alimentos comerciais secos e extrusados variou entre 70 e 90 por cento (HUBER et al., 1986). A digestibilidade total da gordura foi inalterada quando proteína vegetal texturizada a partir da soja foi comparada com a carne em cães canulados (HILL et al., 2001). Em cães jovens (3 para 9,5 meses de idade), a digestibilidade do sebo da carne foi dependente da concentração de ácidos graxos insaturados do alimento (MEYER et al., 1992). Usando alimentos que possuíam 35% de matéria seca (MS) com gordura e com menos de 40% de ácidos insaturados do total da gordura dietética, a digestibilidade do sebo da carne reduziu para 81-86%. Esta variação de valores comparados com 95% de digestibilidade quando mais que 50% do total de gordura estavam presentes como ácidos graxos insaturados.

Gatos que ingeriram alimentos comerciais, os valores de digestibilidade variaram de 85 a 94 % (NORVEL, 1978). PEACHEY et al. (1999) notou que ácidos graxos saturados apresentaram menor digestibilidade aparente (95,2% em animais jovens e 93,2% em idosos), seguidos por insaturados (98,2% e 96,4%, jovens e adultos) e polinsaturados (98,7% e 98%, jovens e adultos). Em outros estudos usando diferentes espécies, o ácido graxo saturado esteárico também foi o menos prontamente digerido (SCHRIJVER et al., 1991; HWANG et al., 1994; MOUNTZOURIS et al., 1999) e ácidos de cadeia curta parecem ser digeridos mais rapidamente (CERA et al., 1990).

Em suínos desmamando, a forma da gordura dietética também deve alterar sua digestibilidade aparente (ADAMS e JENSEN, 1984). Em suínos desmamados, a digestibilidade média da gordura de sementes foi somente 74,9% comparados para 90,2% para as gorduras extraídas a partir do milho, soja e sementes de girassol. Achados similares devem ser esperados em cães e gatos, embora nenhuma literatura avaliada no presente esteja relatando tais distinções.

### 2.5.2. Antioxidantes

A inativação de lipase e lipoxidase durante a extrusão ajuda a proteger contra a oxidação durante o armazenamento, mas a porosidade dos extrusados é prejudicial com respeito a rancidez e, quando lipídeos ou alimentos contendo lipídeos são aquecidos na presença de oxigênio, sofrem oxidação devido a degradação dos ácidos graxos e os radicais livres produzidos nestas reações de oxidação, os quais podem reagir com proteínas, vitaminas ou outros constituintes e reduzir a qualidade nutritiva do alimento e culminar com a destruição de sabor e da cor por estas reações, sendo as principais perdas nutricionais que podem ocorrer (LILLARD, 1983). Como um resultado de oxidação, hidrogenação, isomerização ou polimerização, o valor nutricional dos lipídeos pode ser afetado.

Assim, a gordura dietética causa preocupações aos fabricantes de alimentos. Constituída predominantemente por ésteres de glicerídeos e de ácidos graxos, uma preocupação eminente é o processo de rancificação das gorduras, termo referido a decomposição química das gorduras, óleos e outros lipídeos. Quando ocorre em alimentos, pode resultar nos odores e sabores indesejáveis, como também, pode diminuir o valor nutricional do alimento. Algumas vitaminas são altamente sensíveis à degradação.

Segundo IAN (2005), são reconhecidos 3 caminhos para rancificação: (a) rancidez hidrolítica, ocorre quando a água divide os triglicerídeos (gorduras) em cadeias de ácidos graxos e glicerol, cujo termo químico é hidrólise do éster. Normalmente, este processo se mantém despercebido, pois a maioria dos ácidos graxos é inodora e insípida. Quando, no entanto, o triglicerídeo é derivado a partir de ácidos graxos de cadeia curta, o ácido carboxílico liberado pode conferir odores e sabores fortes. Um problema particular surge com a manteiga, que contém triglicerídeos com um elevado teor de derivados de ácido butírico; (b) rancidez microbiana, processo em que os microrganismos, tais como bactérias, utilizam suas enzimas (lipases) para quebrar a gordura, via evitada através da esterilização e (c) rancidez oxidativa, associada à degradação pelo oxigênio no ar. A oxidação ocorre principalmente por gorduras insaturadas, através de um processo de radicais livres, cujas ligações duplas de um ácido graxo insaturado podem ser submetidas à clivagem, liberando aldeídos voláteis e cetonas. Este processo pode ser suprimido pela exclusão de oxigênio ou por adição de antioxidantes. Se um

antioxidante for usado, o nome comum deve ser indicado, seguido pela expressão "usado como um conservante".

Os antioxidantes são, muitas vezes, adicionados aos alimentos que contêm gordura para retardar o aparecimento ou retardar o desenvolvimento de ranço, devido à oxidação. Aqueles ditos naturais incluem: (a) polifenóis (flavonóides) - funcionam como sequestradores de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais; (b) ácido ascórbico (vitamina C) – usado para transformar os radicais livres de oxigênio em formas inertes e (c) tocoferóis (vitamina E) – amplamente aplicados para prevenir a oxidação dos ácidos graxos insaturados. Os sintéticos incluem: BHA (butil hidroxianisol) – o qual apresenta pouca estabilidade frente a elevadas temperaturas, mais efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais. Como a maior parte dos antioxidantes fenólicos, sua eficiência é limitada em óleos insaturados de vegetais ou sementes, particularmente efetivos no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta, como aqueles contidos em óleo de coco e palma; (b) BHT (butil hidroxitolueno) – o qual possui propriedades similares ao BHA, porém não é um sinergista para propilgalatos, como é o BHA. Ambos os antioxidantes podem conferir odor em alimentos processados em altas temperaturas por longo período; (c) PG (propil galato) – o qual possui uma concentração ótima de atividade como antioxidante, podendo atuar como pró-oxidante quando usado em níveis elevados e (d) TBHQ (terc - butil hidroquinona) - moderadamente solúvel em óleos e gorduras, não se complexa com íons de cobre e ferro, como o galato. É considerado, em geral, mais eficaz em óleos vegetais que BHA ou BHT; em relação à gordura animal, é tão efetivo quanto o BHA e mais efetivo que o BHT ou o PG.

Antioxidantes naturais tendem a ser de curta duração, de modo que os sintéticos são utilizados somente quando um longo período de vida útil é o preferido. Além disso, a rancificação pode ser diminuída, mas não completamente eliminada, pelo armazenamento de gorduras e óleos em local fresco e escuro, com pouca exposição ao oxigênio ou radicais livres, uma vez que o calor e a luz aceleram a taxa de reação da gordura com o oxigênio. A adição de agentes antimicrobianos pode também atrasar ou prevenir a rancificação por inibir o crescimento de bactérias ou outros micro-organismos.

## 2.6. Bem-estar e comportamento dos animais de laboratório

Embora seja um objeto antigo de preocupação em algumas civilizações, o bem-estar somente começou a tomar um espaço maior na política pública ocidental, a partir do século 19, na Grã-Bretanha.

Existem dois pontos críticos provenientes de posições diametralmente opostas: (a) os animais não são conscientes e, portanto, são incapazes de sentir mal estar – datada há séculos e (b) baseada na posição dos direitos dos animais, os quais não devem ser considerados como propriedade, tornando inaceitável qualquer utilização de animais por humanos. Este conceito é baseado na consciência de que animais não humanos são seres sencientes, cuja sobrevivência pode ser afetada pelas atividades humanas, incluindo aqueles criados para produção de alimentos, os que são mantidos como animais de estimação ou utilizados na pesquisa científica e as espécies ameaçadas de extinção.

As mais diferentes autoridades tratam o bem-estar e os direitos dos animais como duas posições opostas. Na maioria dos países desenvolvidos, o bem-estar é fornecido pelo governo, por instituições de caridade, grupos sociais informais ou religiosos e organizações intergovernamentais, sendo que o uso de animais de laboratório é regido por um sistema, dinâmico inter-relacionado de regulamentos, políticas, diretrizes e procedimentos.

O guia para cuidado e uso de animais (NRC, 2010) considera muitos requisitos pertinentes e regulamentares baseados nas atividades dos Estados Unidos, incluindo os regulamentos do bem-estar animal (USDA, 1985) e a política de serviço de saúde pública sobre a atenção humanizada e uso de animais de laboratório (PHS 2002). O uso do guia por entidades não americanas também pressupõe a adesão a todas as normas relevantes para o cuidado humano e uso de animais de laboratório aplicáveis nesses locais. O guia também leva em conta os princípios do governo dos EUA para utilização e cuidados com animais vertebrados usados em testes, pesquisa e formação (IRAC, 1985) e subscreve os seguintes princípios: (a) consideração de alternativas (sistemas *in vitro*, simulações em computador e / ou modelos matemáticos) para reduzir ou substituir o uso de animais; (b) projeto e execução de procedimentos com base na relevância para a saúde humana ou animal, o avanço do conhecimento ou o bem da sociedade; (c) uso de espécies adequadas, qualidade e número de animais; (d) evitar ou minimizar os

desconfortos, angústia e dor; (e) uso de sedação adequada, analgesia e anestesia; (f) estabelecimento de parâmetros humanitários; (g) prestação de assistência veterinária adequada; (h) fornecimento de transporte animal apropriado e criação dirigida e realizada por pessoas qualificadas e (i) realização de experimentação em animais que vivem exclusivamente por e / ou sob a estreita supervisão de pessoal qualificado e experiente.

No Brasil, os animais de laboratório são protegidos nos termos da lei nº 11.794, responsável pela criação do conselho nacional de controle de experimentação animal (CONCEA). Órgão integrante do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), o Conceca é a instância colegiada multidisciplinar de caráter normativo, consultivo, deliberativo e recursal, cuja competência é formular normas relativas à utilização humanitária de animais com finalidade de ensino e pesquisa científica, bem como estabelecer procedimentos para instalação e funcionamento de centros de criação, biotérios e laboratórios de experimentação animal. É também responsável pelo credenciamento das instituições que desenvolvam trabalho nessa área. Através de endereço eletrônico disponibilizado na rede mundial de computadores (<http://ciuca.mct.gov.br>), o CONCEA disponibiliza o módulo de credenciamento do cadastro das instituições de uso científico de animais (CIUCA), destinado ao registro das instituições que criam ou utilizam animais com finalidade de ensino ou pesquisa científica, aos protocolos experimentais ou pedagógicos aplicáveis aos procedimentos de ensino e projetos de pesquisa científicos realizados ou em andamento no país, assim como dos pesquisadores, a partir de informações recebidas pelas comissões de ética no uso de animais (CEUAs) e das solicitações de credenciamento no Conceca.

O estado atual das investigações sobre o emprego dos animais para experimentação científica e docência, torna-se importante a existência de comitês de ética institucionais ao uso de animais no contexto científico e educacional atual. O regulamento do inciso VII do artigo 1º, artigo 225 da Constituição Federal, veda a prática que submeta animais a atos onde possa estar presente a “crueldade”, sendo que tal conduta sujeita o infrator, pessoa física ou jurídica, a sanções penais e administrativas, independentemente da obrigação de reparar os danos causados. A análise das funções dos comitês de ética voltados à pesquisa com seres humanos serve de fundamento para a defesa dos princípios entendidos como importantes quando da implantação de comitês de ética voltados a temático animal, exigindo

parâmetros cada vez mais claros, fazendo referência aos progressos das técnicas e tecnologias para um agir eticamente adequado.

O termo bem-estar que deve ser definido de forma que permita a relação com os conceitos de necessidade, liberdade, adaptação, felicidade, capacidade de previsão, sofrimento, dor, ansiedade, medo, tédio, estresse e saúde (BROOM e MOLENTO, 2004), considerando o princípio dos três R's - *refinement, reduction and replacement* (refinamento, redução e substituição) de RUSSELL e BURCH (1959) e as cinco liberdades de BRAMBELL (1965): liberdade de sede, fome e má-nutrição; dor, ferimentos e doença; desconforto; expressar comportamento natural; medo e distresse (FAWC, 1993), pois a melhor percepção do bem-estar animal facilita a exploração continuada e aumentada (GARNER, 2005).

A definição do bem-estar pode apresentar diversas interpretações, de acordo com situações e características individuais das espécies, além do conceito relacionado a um dado momento ou fase de vida pelo qual aquele ser está passando.

As dúvidas mais pertinentes e que ainda estão em debate referem-se à definição e mensuração do bem-estar animal, as quais podem ser definidas como um conjunto mais amplo de ações que contenham certas implicações relativas ao fornecimento de um nível mínimo de apoio e conforto para aqueles seres que, permanentemente ou temporariamente, não podem alcançá-lo por si mesmos.

Um indicador em potencial é a ausência do estresse (HOFER e EAST, 1998), um fenômeno usualmente vinculado a uma profunda alteração fisiológica associada a um processo de doença ou alteração ambiental. Embora a capacidade de definir e identificar o estresse imposto aos animais possa proporcionar uma ferramenta para entender e prevenir as causas que alteram o bem-estar geral (MOBERG, 2007), não existe nenhuma definição padrão de estresse, assim como, análise única do sistema bioquímica (HOFER e EAST, 1998).

Em vertebrados, os habitats naturais normalmente não são estáticos e os componentes imprevisíveis da vida causam emergências que resultam em mudanças no sistema endócrino e no estado metabólico de um organismo (WINGFIELD e RAMENOFKY, 1999), em um esforço para regular o seu ambiente interno e manter uma condição estável, mediante múltiplos ajustes de equilíbrio dinâmico controlados por mecanismos de regulação interrelacionados. Os estímulos ambientais que levam a um desequilíbrio da homeostase são chamados de

"estressor" e a reação de defesa do animal correspondente é o "estresse resposta" (MÖSTL e PALME, 2002). Então, nenhum animal pode viver inteiramente livre de estresse. Porém, o animal em conforto consegue superar o agente estressor, enquanto o animal estressado não consegue lidar com situações angustiantes que fogem ao seu controle, resultando em alterações comportamentais e fisiológicas (POOLE, 1997). Assim, o estresse agudo representa uma reação de adaptação do organismo frente a uma nova situação, necessário para o aprendizado e a evolução, podendo ser considerado bom e desejável, pois não provoca danos maiores e nem desencadeia um estresse crônico.

Portanto, o bem-estar de um indivíduo pode ser avaliado em relação ao estado em que se encontra durante as tentativas de adaptar-se ao seu ambiente (BROOM, 1986). Em animais de laboratórios, pode-se dizer que é o conforto físico e psicológico dos indivíduos (HEWSON, 2003).

Ambientes mais estáveis, livres de odores indesejáveis, limpos, com luminosidade e temperatura ideais e isentos de microorganismos patogênicos, favorecem o bem-estar animal e cientificamente são mais aceitos (POOLE, 1997), uma vez que os patógenos estando presentes em animais de laboratório podem afetar os resultados de uma pesquisa BAKER (1998). Então, a ciência de animais de laboratório deve considerar o bem-estar animal como um dos principais fatores que podem influenciar o resultado de um experimento. A valorização do uso ético dos animais retoma as cinco liberdades de BRAMBELL (1965): liberdade de sede, fome e má-nutrição; dor, ferimentos e doença; desconforto; expressar comportamento natural; medo e distresse (FAWC, 1993), os métodos de enriquecimento ambiental, que segundo WELLS (2004) para cães confinados podem ser: animado (contato social) e inanimado (brinquedos, móveis e os estímulos auditivo e olfativo) e o princípio dos três R's, sigla abreviada do significado em inglês (*refinement, reduction and replacement*): refinamento, redução e substituição, nomenclatura traduzido para o português (RUSSELL e BURCH, 1959). O bem-estar pode ser medido por indicadores, incluindo o comportamento, a fisiologia, longevidade e reprodução (PHILLIPS, 2008),

Os cães devem ser alojados dentro de instalações em grupos socialmente harmoniosos, a menos que os procedimentos científicos ou as exigências de bem-estar tornem isso impossível, como é o caso dos estudos utilizados para determinação do requerimento de nutrientes para cães. Embora as recomendações

sejam para animais de estimação, instalados em casa, a grande maioria das pesquisas em cães foram conduzidas com exemplares colocados em condições laboratoriais. Este fato se deve, principalmente, a uniformização do ambiente e minimização da variabilidade de estímulos, em relação à ampla gama de circunstâncias em que os animais de estimação podem estar sujeitos.

Mesmo em uma instalação bem gerida e cuidada, sem uma exposição a um nível elevado de surpresas e ruídos, os cães estão separados de quaisquer objetos de referência anteriores, podendo tornar seu ambiente imprevisível e incontrolável, pois estas são classes de estressores psicológicos responsáveis pela ativação do eixo hipotálamo – pituitária – adrenais (HPA), tendo efeitos amplos sobre a fisiologia e o comportamento em animais de laboratório (HENNESSY, 1997; MINEKA *et al.*, 1986; URSIN, 1998). Assim, o estresse contido no ambiente da instalação representa uma segunda fonte potencial de problemas comportamentais em cães (TUBER, 1999), sendo observada uma maior prevalência de estereotípias em cães estressados (HUBRECHT *et al.*, 1992).

O alojamento individual de cães, mesmo por períodos curtos, pode ser um fator de estresse significativo. Portanto, os cães não devem ser individualmente confinados por mais de 4 horas, sem justificção, mesmo que por motivos experimentais. Em tais circunstâncias de alojamento individual, recursos adicionais para promoção do bem-estar e cuidado destes cães devem ser oferecidos diariamente para todos os animais, principalmente através de um período adicional de socialização humana e contato auditivo, visual e, quando possível, tátil, com outros cães.

Os cães são animais sociais e, portanto, não é surpreendente que o alojamento individual esteja associado com um aumento da incidência de perturbações do comportamento (HETTS *et al.* 1992). O autor ainda argumenta que o isolamento social é mais prejudicial do que a restrição espacial e, mesmo por períodos curtos, pode ser um fator de estresse, pois qualquer período superior a 24 horas deve ser considerado excessivo, comprometendo seriamente o bem-estar dos animais (HUBRECHT, 1993). Cães mantidos como animais de companhia frequentemente sofrem de ansiedade na separação quando deixados sozinhos (SERPELL e JAGOE, 1995) e quando criados com restrição social podem ocorrer o desenvolvimento de perturbações do comportamento, comprometendo o repertório comportamental (THOMPSON *et al.*, 1956; FULLER, 1967).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABECASSIS J., ABOU R., CHAURAND M., MOREL M. H. e VERNOUX, P. (1994) Influence of extrusion conditions on extrusion speed, temperature and pressure in the extruder and on pasta quality. *Cereal Chemistry*, v. 71, n. 3, p. 247-253.
- ABRAMS, J. T. (1962). The feeding of dogs. Edinburgh: W. Green and Sons.
- ADAMS, K. L. e JENSEN, A. H.(1985). Effect of dietary protein and fat levels on the utilization of the fat in sunflower seeds by the young pigs. *Animal Feed Sciences Technology*, 13:159–170.
- ALIMENTAÇÃO ANIMAL (2002) Uberlândia. Anais... Campinas: CBNA, 2002. p.39-48.
- ALLES, G. (2003) Particle reduction technology. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. *Pet food technology*. Illinois: Mt. Morris, p. 327-335.
- AMABIS , J. M. e MARTHO, G. R. (2005) *BIOLOGIA DAS CELULAS VOLUME 1* Editora: MODERNA 2ª Edição – 2005 Nº. de páginas: 464
- AMARAL, C.M.C. (2002) Extrusão e peletização de ração completa: efeitos no desempenho, na digestibilidade e no desenvolvimento das câmaras gástricas de cabritos Saanen. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2002. 73p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, 2002.

- AMERICAN BORDER COLLIE ASSOCIATION (2007) em [www.americanbordercollie.org](http://www.americanbordercollie.org). Acessado em: 08/12/2010.
- AMERICAN KENNEL CLUB - BORDER COLLIE. (2010) Akc.org. Retrieved 2010-09-13. The International Sheep Dog Society. Retrieved 2007-08-12.
- ANDREASI, F. (1956) Estudos de métodos indiretos (óxido crômico e lignina) para determinação da digestibilidade aparente no cão e métodos de avaliação da energia alimentar. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, 1956. 78p. (Tese, Livre Docência).
- ANFAL, ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE ALIMENTOS. Mercado. Disponível em: <http://www.anfal.org.br> Acesso em: 28 nov. 2010.
- ANFALPET International PET Meeting. São Paulo, SP. Anais...São Paulo. 2010. 611p.
- ANÔNIMO (1989) A evolução do cão. Formação das raças. Cães e canicultura, 14: 9-10 e 17-19.
- ARNOLD, A. e ELVEHJEM C. A. (1939). Nutritional requirements of dogs. Journal American Veterinary Medical Association. 95: 187 – 194, citado por FRANKLIN, M. C., LARKIN, E. N. e KING., C. J. (1994) Australian Veterinary Journal Volume 20, Issue 3, pages 239–243.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS. (ANFAL). Disponível em: <<http://www.anfal.org.br>>. Acesso em: 07 fevereiro 2003.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS (1994) Official publication 1994. Association of American Feed Control Officials, 1994.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. (2008) Official publication 2008. Association of American Feed Control Officials, 2008.
- BAKER, D. (1998) Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research Clinical Microbiology Reviews 11, 231–66.
- BALLEVRE, O., ANANTHARAMAN-BARR, G., GICQUELLO, P., PIQUET-WELSCH, C., THIELIN, A. L. e FERN, E. (1994) Use of the doubly-labeled water method to assess energy expenditure in free living cats and dogs. Journal Nutrition. 124: 2594S – 2600S.

- BASTOS, A. O., MOREIRA, I., FURLAN, A. C., FRAGA, A. L., OLIVEIRA, R. P. e OLIVEIRA, E. (2005). Composição Química, Digestibilidade dos Nutrientes e da Energia de Diferentes Milhetos (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Brown) em Suínos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, n. 2, p. 520-528.
- BAUER, J. E. (2000) *Hyperlipidemias*. Pp. 283 – 292 em *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, ETTINGER, S. T. e FELDMAN, E. C., eds, 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders.
- BAZOLLI, R. S. (2005) *Processamento industrial e aproveitamento de ingredientes amiláceos para cães*. In: *SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO DE CÃES E GATOS, 5, 2005*, Campinas. *Anais...*, Campinas:SP, 2005, p.125-132.
- BEERDA, B., SCHILDER, M. B. H., JANSSEN, N. S. C. R. M. e MOL, J. A. (1996). The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. *Hormones and Behavior*, v.30, p.272-279.
- BELAY, T., SHIELDS Jr, R. O., KIGIN, P. D. E BRAYMAN, C. A. (1997) Evaluations of nutrient digestibility and stool quality of rice (*Oryza sativa*) based canine diets. *Veterinary Clinical Nutrition*, v.4, n.4, p.122-129.
- BELLAVER, C e NONES, K. A (2000) *Importância da Granulometria, da mistura e da peletização da Ração Avícola*. IV Simpósio Goiano de Avicultura. 27/4/2000. Goiânia - GO. ANAIS... Goiânia. 2000.
- BENGTSSON-OLIVECRONA, G. e OLIVECRONA, T. (1994) Medical aspects of triglicéride lipase. Pp. 315-336 in *Lipases*, WOOLEY, P. e PETERSON, S. B. eds. Cambridge, UK: Press Syndicate, University of Cambridge.
- BHAGAVAN, N. V. (2002) *Medical Biochemistry*. San Diego: Harcourt/ Academic Press.
- BLAXTER, K. (1989) *Energy metabolism in animals and man*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- BOMTEMPO, V. (2005) *Nutrition and health of dogs and cats: evolution of petfood*. *Veterinary Research Communications*, v.29, n.2, p.45-50.
- BORGES, F. M. O. e NUNES, I. J. (1998) *Nutrição e Manejo Alimentar de Cães na Saúde e na Doença*. *Cadernos técnicos da escola de veterinária da UFMG*, n° 23.

- BORGES, F. M. O. (2002) Utilização do sorgo em alimentos para animais de estimação. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Uberlândia. Anais... Campinas: CBNA, 2002. p. 39-48.
- BRAMBELL, F. W. R. (1965) Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals kept under Intensive Livestock Husbandry Systems. Her Majesty's Stationery Office: London, UK.
- BRAND, J. C., NICHOLSON, P. L., THORBURN, A. W. e TRUSWELL, A. S. (1985) Food processing and the glycemic index. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.42, p. 1192-1196.
- BRASIL (2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico sobre fixação de padrões de identidade e qualidade de alimentos para fins nutricionais especiais ou alimentos com fins nutricionais específicos destinados a cães e gatos. Instrução normativa/sarc nº 9, de 9 de julho de 2003. Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, de 14 de julho de 2003.
- BRODY, S., PROCTOR R. C. e ASHWORTH U. S. (1934). Growth and development with special reference to domestic animals. XXXIV. Basal metabolism, endogenous nitrogen. Creatinina and neutral sulphur excretions as function of body weight. Agriculture Exposition Stn. Residende Bull. Nº 220. Columbia: University of Missouri. Em Nutrient requeriments of dogs and cats (2006). National Research Council (NRC, 2006)
- BROOM, D. M. (1986). Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal* Vol. 142: 524-526.
- BROOM, D.M. e MOLENTO, C.F.M. (2004) Bem-estar animal: conceitos e questões relacionadas – revisão. *Archives of Veterinary Science*. Curitiba, v.9, n.2, p.1-11, 2004.
- BROWN, R.G. (1997) A comparison of certified and noncertified pet foods. *Can. Vet. J.*, v.38, p.707-712.
- BURGUER, I. H. e JOHNSON J. V. (1991). Dogs large and small: the allometry of energy requirements within a single species. *Journal Nutrition*. 121: S18-S21.
- BURROWS, C. F., KRONFELD, D. S. BANTA, C. A. e MERRIT, A. M. (1982) Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. *Journal Nutrition*, 112: 1726 – 1732.
- CAMIRE, E. M. (1998) Chemical changes during extrusion cooking. Recent advances. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 434, p. 109-121.

- CAMPBELL, M. K. e FARRELL, S. O. (2006) Biochemistry Hardcover: 881 pages  
Publisher: Brooks Cole; 5 edition (Jan 14 2005) Language: English
- CARCIOFI, A. C., OLIVEIRA, L. D., VALÉRIO, A. G., BORGES, L. L., CARVALHO, F. M., BRUNETTO, M. A. e VASCONCELLOS, R. S. (2009) Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. *Animal Feed Science and Technology*, v.151, p.251-260.
- CARCIOFI, A. C., VASCONCELLOS, R. S., BORGES, N. C., MORO, J. V., PRADA, F. e FRAGA, V. O. (2006). Composição nutricional e avaliação de rótulo de rações secas para cães comercializadas em Jaboticabal-SP. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58 (3): 421-426.
- CARCIOFI, A. C., TAKAKURA, F. S., DE-OLIVEIRA, L. D., TESHIMA, E., JEREMIAS, J. T., BRUNETTO, M. A. e PRADA F. (2008) Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and postprandial glucose and insulin response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92(3):326-36.
- CARCIOFI, A.C. (2004) Alimentos industrializados para cães e gatos. In: CICLO DE EDUCAÇÃO CONTINUADA EM MEDICINA VETERINÁRIA, 1., 2004, São Paulo. Anais... São Paulo, SP: FUMVET, 2004. p.22-32.
- CARCIOFI, A.C.; PRADA, F. e MORI, C. S. (1998) Uso de indicadores internos na avaliação da digestibilidade aparente de alimentos para gatos: comparação de métodos. *Ciência Rural*, v.28, n.2, p.299-302.
- CARRIERE, F., MOREAU, H., RAPHAEL, V. LAUGIER, R., BENICOURT, C., JUNIEN, J. L. e VERGER, R. (1991) Purification e biochemical characterization of dog gastric lipase. *Europe Journal Biochemical*. 202: 75-83.
- CARRIERE, F., RAPHAEL, V., MOREAU, H., BERNADAC, A., DEVAUS, M. A., GRIMAUD, R., BARROWMAN, J. A., BENICOURT, C., JUNIEN, J. L. e LAUGIER, J. (1992) Dog gastric lipase: Stimulation of its secretion in vivo and cytolocalization in mucous pit glands. *Gastroenterology*, 102: 1535 - 1545.
- CASE, L. P., CAREY, D. P., HIRAKAWA, D. A. (1998) *Nutrição canina e felina: manual para profissionais*. Madrid: Harcourt Brace, 1998. 424p.
- CERA, K. R., MAHAN, D. C. e REINHART, G. A. (1990) Evaluation of various extracted vegetable oils, roasted soybeans, medium-chain triglyceride and an animal vegetable fat blend for post weaning swine. *Journal of Animal Science*, 68: 2756 - 2765.

- CHEFTEL, J. C. (1986) Nutritional effects of extrusion cooking. *Food Chemistry*, v. 20, n. 4, p. 263 - 283.
- CHUANG, G. C. e YEH, A. (2004) Effect of screw profile residence time distribution and starch gelatinization of rice flour during single screw extrusion cooking. *Journal of Food Engineering*, v. 63, p. 21-31.
- COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL (2009) Métodos analíticos. Brasília, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, p.1-199.
- COUTO, H. P. (2008). FABRICAÇÃO DE RAÇÕES E SUPLEMENTOS PARA ANIMAIS - GERENCIAMENTO E TECNOLOGIAS. Editora Aprenda Fácil, Ed. 1, Pp. 263.
- COWELL, C. S., STOUT, N. P., BRINKMANN, M. F., MOSER, E. A. e CRANE, S. W. (2000) Making of commercial pet foods. In: HAND, M. S., THATCHER, C. D., REMILLARD, R. L. e ROUDEBUSH, P. (eds), *Small Animal Clinical Nutrition*, 4th edn. Walsworth Publishing Company, Marceline, USA, pp. 127–146.
- COWGILL, G. R. (1928). The energy factor in the relation to food intake: Experiments on the dog. *American Journal Physiologic*, 85: 45 – 64. Citado por NACIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. *Nutrient requirements of dogs and cats*. National Academy Press. Washington, 2006, Pp. 424.
- CRANE, S. W., GRIFFIN, R. W. e MESSENT, P. R. (2000) Introduction to commercial pet foods. In: HAND, M. et al. *Small animal clinical nutrition*, 4ed Kansas: Mark Morris Institute, 2000. 111-126.
- CUMMINGS, J.H. e ENGLYST, H.N. (1995) Gastrointestinal effects of food carbohydrate. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 61S, p. 938-945.
- DAHLKE, F., RIBEIRO, A.M.L., KESSLER, A.M. e LIMA, A.R. (2001) Tamanho da partícula do milho e forma física da ração e seus efeitos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 3 n. 3 p.
- DECATERINA, R. e BASTA, G. (06/01/2001). "n-3 Fatty acids and the inflammatory response — biological background" (PDF). *European Heart Journal Supplements* 3 (suppl D): D42.
- DESCROIX-VAGNE, M., PERRET J. P., DAOUD-EL BABA, M., BOSSHARD, A., DECHELETTE, M. A., GROS, I., DESVIGNE, A. e ROKOTOMALA, H. (1993).

- Variation of gastric lipase and pepsin activities in the Heidenhain pouch of the cat. *Archive International Biochemical Biophysical*. 10: 79-85.
- DING, K. B., AINSWORTH, P., TUCKER, G. e MARSON, H. (2004) The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. *Journal of Food Engineering*, v. 86, p. 283-289.
- DONZELE, J. P., SILVA, F. C. O., SILVA, A. R. P., FREITAS, R. T. F. e KILL, J. L. (1998) Digestibilidade e metabolizabilidade da energia de rações com diferentes níveis de óleo de soja para suínos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.27, p.922-927.
- EARLE K. E., KIENZLE, E., OPITZ, B. SMITH, P. M. e MASKELL, I. E. (1998). Fiber affects digestibility of organic matter an energy in pet foods. *Journal Nutrition*. 128: 2798S – 2800S.
- FADEL, J. G., WALT NEWMAN, C., NEWMAN, R. K. e GRAHAM, H. (1988) Effects of extrusion cooking of barley on ileal and fecal digestibilities of dietary components in pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 68, p. 891-897.
- FAHEY JR., G. C. (2003) Research needs in companion animal nutrition. In: *Petfood Technology*, 1st ed. KVAMME, J. L. e PHILLIPS, T. D. editors, pp. 57-61. Watt Publishing, Mt. Morris, IL.
- FAHY, E., SUBRAMANIAM, S., MURPHY, R. C., NISHIJIMA, M., RAETZ, C. R., SHIMIZU, T., SPENER, F., VAN MEER, G., WAKELAM, M. J. e DENNIS, E. A. (2009) Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *The Journal of Lipid Research*. 50, S9-S14.
- FAO (1998) *Carbohydrates in human nutrition: a Joint FAO/WHO Report*. Rome. FAO (Food and Nutrition Paper 66).
- FAWC (1993). *Report on priorities for animal welfare research and development*. Farm Animal Welfare Council, Surbiton, UK., pp: 26.
- FINKE, M. D. (1991) Evaluation of the energy requirements of adult kennel dogs. *Journal Nutrition*. 121: S22 – S28.
- FINKE, M. D. (1994) Energy requirements of adult female beagles. *Journal Nutrition*. 124: 2604S – 2608S.
- FORTES, C.M.L.S. (2001) *Digestibilidade de fontes de fibra para dieta de cães adultos em manutenção*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 46p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.

- FORTES, C. M. L. S., CARCIOFI, A. C., SAKOMURA, N. K., I. M. KAWAUCHI e VASCONCELLOS, R. S. (2010) Digestibility and metabolizable energy of some carbohydrate sources for dogs. *Animal Feed Science and Technology*, v.156, p.121-125.
- FOX, W. M. (1965) Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. *Animal Behaviour*, Volume 13, Issues 2–3: 234–241.
- FRAILHA, M. (2005) Benefício do investimento energético na redução do tamanho de partículas na alimentação animal. In: SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 9, Bauru, Anais..., 2005.
- FULLER, J. L. (1967). Experiential deprivation and later behaviour. *Science* 158: 1645. Citado por: GAMBLE, M. R. (1982). Sound and its significance for laboratory animals. *Biological Reviews*, 57: 395-421.
- FUNK, C. D. (2001). "Prostaglandins and Leukotrienes: Advances in Eicosanoid Biology". *Science* 294(5548): 1871–1875.
- GALLOWAY, G. I., BILIADERIS, C. G. e STANLEY, D. W. (1989) Properties and Structure of Amylose-Glycerol Monostearate Complexes Formed in Solution or on Extrusion of Wheat Flour. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE* Volume 54, Issue 4, Pages: 950–957.
- GARNER, R. (2005). *Animal Ethics*. Polity Press, 2005; Regan, Tom. *The Case for Animal Rights*, University of California Press, 1983.
- GERMAN, A. e ZENTEK, J. (2006) The most common digestive diseases: the role of nutrition. In: PIBOT, P. et al. *Encyclopedia of canine clinical nutrition*. Airmargues: Aniwa SAS, 2006. p. 92-133. Disponível em: <[HTTP http://www.ivis.org/advances/rc/chap03part02/chapter.asp?LA=1](http://www.ivis.org/advances/rc/chap03part02/chapter.asp?LA=1)>. Acesso em: 02 set. 2009.
- GRANDJEAN, D. (2001) — *Enciclopédia do cão*. — *Enciclopédia do cão*. Paris: Aniwa Publishing. Paris: Aniwa Publishing.
- HALL, J. E. e GUYTON, A. C. (2006). *Textbook of medical physiology*. St. Louis, Mo: Elsevier Saunders. pp. 800–801.
- HAMOSH, M (1994). Gastric and lingual lipases. em: Johnson L (ed.) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 3rd edn, pp. 1239–1253. New York: Raven Press.
- HAMOSH, M. (1984) LINGUAL LIPASE. Pp. 49-82 in *Lipases*, BORGSTROM, B. e BROCKMAN, H. L., eds. Amsterdam: Elsevier.

- HARPER, J. M. (1981) Extrusion of foods. CRC Press, Boca Raton, Fla. (USA) Food industry and trade; Extrusion process. Ed. 1 pP. 212. v. 2
- HART, B. L. e HART, L. A. (1985) Selecting pet dogs on the basis of cluster analysis of breed behavior profiles and gender. *Journal of the American veterinary association*, 186 (11): 1181-1185.
- HAUCK, B. (1994) Extrusion cooking system In: McELLINEY, R. R. (1994) Feed manufacturing technology IV. Arlington:VA, 1994, p. 131-140.
- HEALY, B. J., HANCOCK, J. D., KENNEDY, G. A., BRAMEL-COX, P. J., BEHNKE, K. C. e HINES, R. H. (1994) Optimum particle size of corn and hard and soft sorghum for nursery pigs. *Journal of Animal Science*, v. 72, p. 2227-2236.
- HEATON, K. W., MARCUS, S. N., EMMETT, P. M. e BOLTON, C. H. (1988) Particle size of wheat, maize, and oat test meals: effects on plasma glucose and insulin responses and on the rate of starch digestion in vitro. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 47, p. 675-682.
- HENNESSY, M.B. (1997) Hypothalamic – pituitary - adrenal responses to brief social separation. *Neuroscience Biological Behavior*, Revision: 21, 11 - 29.
- HETTS, S., CLARK, J. D., CALPIN, J. P., ARNOLD, C. E. e MATEO, J. M. (1992). Influence of housing conditions on beagle behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 34: 137 155.
- HEUSNER, A. A. (1982). Energy metabolism and body size. I. Is the mass exponent of Kleiber`s equation a statistical artifact? *Respiratory Physiologic*. 48: 1-12.
- HEWSON, C. J. (2003). "What is animal welfare? Common definitions and their practical consequences". *The Canadian Veterinary Journal* 44 (6): 496 -499.
- HILL, R. C., FOX, L. E., LEWIS, D. D., BEALE, K. M., NACHREINER, R. F., SCOTT, K. C., SUNDSTROM, D. A., JONES, G. L. e BUTTERWICK, R. F. (2001) Effects of racing and training on serum thyroid hormone concentrations in racing greyhounds. *American Journal of Veterinary Research* 62: 1969-1972.
- HOFER, H, e EAST, M. L. (1998) Biological conservation and stress. *Advanced Study Behavior*, 27:405–525.
- HOLME, D. W. (1987) Alimentos para cães e gatos. In: EDNEY, A.T.B. *Nutrição do cão e do gato: um manual para estudantes, veterinários, criadores e proprietários*. São Paulo: Manole. p.37-51, 1987.

- HOLSTE, L. C., NELSON, R. W., FELDMAN, E. C. e BOTTOMS, G.D. (1989) Effect of dry, soft moist, and canned dog foods on postprandial blood glucose and insulin concentrations in healthy dogs. *American Journal of Veterinary*, v. 50, p. 984-989.
- HOLT, S. H. A. e MILLER, J. B. (1994) Particle size, satiety and glycaemic response. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 48, p. 496-502.
- HUBER, T. L., WILSON, R. C. e MCGARITY, S. A. (1986). Variations in digestibility of dry dog food with identical label guaranteed analyses. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 22: 2571 – 2575.
- HUBER, T. L., WILSON, R. C. e MCGARITY, S. A. (1986) Variations in digestibility of dry dog foods with identical label guaranteed analysis. *Journal American Animal Hospital Association*, 22: 571–575.
- HUBRECHT, R. C., SERPELL, J. A. e POOLE, T. B. (1992) Correlates of pen size and housing conditions on the behaviour of kennelled dogs. *Applied Animal Behaviour Science*, 34: 365-383.
- HUBRECHT, R. C. (1993). A comparison of social and laboratory environmental enrichment methods for laboratory housed dogs. *Appl. Animal Behavior Science*, 37: 345–361.
- HUBRECHT, R. C., SERPELL, J. A. e POOLE, T. B. (1992) Correlates of pen size and housing conditions on the behaviour of kennelled dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 34, 365-383.
- HWANG, S. G., TORII, S., LLYAS, A., MATSUI, T. e YANO, H. (1994) Comparative changes of fat digestibility and fat accumulation by the carbon chain length of dietary glycerol tri-homogeneous fatty acids. *Nutritional Residence*, 14: 1821 – 1830.
- IAN, P. F. (2005) Margarine and Shortenings, em *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 2005*, Wiley-VCH, Weinheim.
- IRAC (1985) [Interagency Research Animal Committee]. 1985. US Government Principles for Utilization and Care of Vertebrate Animals Used in Testing, Research, and Training. *Federal Register*, May 20, 1985. Washington: Office of Science and Technology Policy. Available at <http://oacu.od.nih.gov/regs/USGovtPrncpl.htm>; accessed May 10, 2010.

- IVERSON, S., KIRKI, J., HAMOSH, C. L., NEWSOME, M. (1991) Milk lipid digestion in the neonatal dog: The combined actions of gastric and bile salt stimulated lipases. *Biochimica et Biophysica Acta* 1083:109-119.
- JAMES, W. T. e McCAY, C. M. (1950) A study of food intake, activity, and digestive efficiency in different type dogs. New York, 1950. p. 414-416.
- JOUGLIN, M., RACINE, B. e WOLTER, R. (1992) Apparent digestibility of starch in dog and contribution to the study of digestibility "in vitro" by enzymatic method. *Recueil de Médecine Vétérinaire*. v. 168, n.5, p. 355-361.
- KANE, E.; MORRIS, J.G. e ROGERS, Q.R. (1981) Acceptability and digestibility by adult cats of diets made with various sources and levels of fat. *Journal of Animal Science*, v.53, n.6, p.1516-1523.
- KERSTEN, J., ROHDE H. R. e NEF, E. (2005). *Principles of Mixed Feed production*. Agri-media, Bergen/Dumme, Germany.
- KIENZLE, E. (1993) Carbohydrate metabolism of the cats 2. Digestion of starch. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 69, p. 102-114.
- KIENZLE, E. e RAINBIRD, A. (1991) The maintenance energy requirement of dogs – What is the correct figure for the calculation of the metabolic body weight in dogs? *Journal Nutrition*. 121: 39-40.
- KIRKWOOD, J. K. (1985). The influence of size on the biology of the dog. *Journal Small Animal Practice*. 26: 97-110.
- KLEIBER, M. (1961). *The fire of life*. New York: John Wiley e Sons.
- KNOSPE, E. e PLENDL R. (1997). Histological demonstration of lipase activity in the gastric mucosa of the cat. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 26: 303-304.
- KROGDAHL, A., HEMRE, G.I. e MOMMSEN, T.P. (2005) Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in post larval stages. *Aquaculture Nutrition*, v.11, p.103-122.
- LEANDRO, N. S. M., STRINGHINI, J. H., CAFÉ, M. B., ORSINE, G. F. e ROCHA, A. C. (2001). Efeito da granulometria do milho e do farelo de soja sobre o desempenho de codornas japonesas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 30, n.4, pp. 1266-1271.
- LILLARD, D. A. (1983) Effect of processing on chemical and nutritional changes in food lipids. *Journal of Food Protection*, v. 46, n. 1, p. 61-67, 1983.

- LINTHORST, J. M., CLARK, S. B. e HOLT, P. R. (1977) Triglyceride emulsification by amphiphiles present in the intestinal lumen during digestion of fat. *Journal Colloid Interface Science*. 60: 1 – 10.
- LLOYD, L.E. e MCCAY, C.M. (1954) The use of chromic oxide in digestibility and balance studies with dogs. *J. Nutr.*, v.53, p.613-622, 1954.
- LÔBO JR., M.F., REZENDE, A. S. C., SALIBA, E. O. S. e SAMPAIO, L. B. M. (2001) Coeficientes de digestibilidade aparente pelos métodos de indicadores e coleta total de fezes em cães *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol.53 no.6.
- LOVERIDGE, G. G. (1998) Environmentally enriched dog housing. *Applied Animal Behaviour Science*, 59: 101-113.
- MAENNER, K. (1991) Energy requirement for maintenance of adult dogs. *Journal Nutrition*. 121: S37 – S38.
- MASKELL, I. E. e JOHNSON, J. V. (1993) Digestion and absorption. Pp. 25-44 in *The Waltham Book of Companion Animal Nutrition*, BURGER, I. H., ed Oxford, UK: Pergamon Press.
- MCCULLOCH, J. H. (1952) Border Collie studies. WSN (Maps and Plans).
- MEJÍA, A. M. G. e FERREIRA, W. M. (1996) Métodos de avaliação da disponibilidade da proteína e dos aminoácidos nos alimentos para não ruminantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE MONOGÁSTRICOS, 1996, Seropédica. Anais... Seropédica: UFRRJ, 1996, p. 1-29.
- MENDES, W. S. (2002) Efeito do processamento térmico sobre a digestibilidade e valores energéticos do milho, sorgo e soja para suínos em crescimento. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 42p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais.
- MEYER, D. J., COLES, E. H. e RICH, L. J. (1992) *Veterinary laboratory medicine – interpretation and diagnosis*. Philadelphia: Saunders, 1992. Cap. 5: Hepatic test abnormalities: p. 55-70.
- MEYER, H. (1984) Nutrient digestibility and its relationship to alimentary disorders in dogs. Pages 66–69 in *Nutrition and Behavior in Dogs and Cats*. Pergamon Press, Oxford, U.K.

- MEYER, H., E. KIENZLE e ZENTEK, J. (1993). Body size and relative weights of gastrointestinal tract and liver in dogs. *Journal Veterinary Nutrition* 2: 31-35.
- MINEKA, S., GUNNAR, M. e CHAMPOUX, M. (1986) Control and early socio emotional development: infant rhesus monkeys reared in controllable versus uncontrollable environments. *Children Development*, 57: 1241 - 1256.
- MITCHEL, J. R. e ARÊAS, J. A. G. (1992) Structural changes in biopolymers during extrusion. In: KOKINI, J.L.; HO, C.T.; KARWE, M.V. *Food extrusion: science and thecnology*. Marcel Dekker, New York, p.345-360.
- MOBERG, G.P. (2007). Using risk assessment to define domestic animal welfare. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 6: 1-7.
- MORRIS J. G. e ROGERS, Q. R. (1994) Assessment of the nutritional adequacy of pet foods through the life cycle. *The Journal of nutrition* 1994;124(12 Suppl):2520S-2534S.
- MÖSTL, E. e PALME, R. (2002) Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology* , v.23, p.67-74, 2002.
- MOUNTZOURIS, K. C., GILMOUR, S. G., GRANDISON, A. S. e RASTALL, R. A. (1999) Modelling of oligodextran production in an ultrafiltration stirred-cell membrane reactor. *Enzyme Microbiological Technology*, 24: 75–85.
- MUIR, J.G. e O'DEA, K. (1992) Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion in vitro. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.56, p.123-127.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2006). *Nutrient Requirements of dogs and cats*. Washington: National Academy Press. 2006, 398 p.
- NELSON, R. F. (2005). *An introduction to behavioral endocrinology* (3rd ed.). Sunderland, Mass: Sinauer Associates. pp. 100.
- NORVELL, M. A. (1978) Personal communication. In *nutrient requirements of cats*. Washington, D. C.: National Academy Press.
- ORR, N. W. M. (1962). Dog nutrition on Antartic expeditions. *Journal of Physiology*, p. 51, 1962.
- OWENS, J. M. e HEIMANN, M. (1994) Material processing cost center In: McELLINEY, R. R. *Feed Manufacturing Technology IV*. Arlington:VA, 1994, p. 81-92.

- PALMER, K.R. e PENMAN, I.D. (2010). "Alimentary track and pancreatic disease". Em Colledge NR, Walker BR, Ralston SH. Davidson's Principles and Practice of Medicine (20th ed.). Edinburgh: Churchill Livingstone.
- PARSONS, C.M.; CASTONON, F.; HAN, Y. (1997) Protein and amino acid quality of meat and bone meal. Poultry Science, v.61, p.2241-2246.
- PATIL, A. R. e BISBY, T. M. (2001). Comparison of maintenance energy requirement of client-owned dogs and kennel dogs. Purina Nutrition Forum, St. Louis, Mo.
- PAWLOSKY, R. J., DENKINS, Y., WARD, G. e SALEM JR, N. (1997) Retinal and brain accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in developing felines: the effects of corn oil-based maternal diets. American Journal Clinical Nutrition. 65: 465-72. Printed in USA. ID 1997 American Society for Clinical Nutrition
- PEACHEY, S. E., DAWSON, J. M. e HARPER, E. J. (2000) Gastrointestinal transit time in young and old cats. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, v.126, p. 85-90.
- PEREIRA, J. M. (1991) Utilização do consumo e da composição da dieta na avaliação de pastagens. In: Seminário de Metodologia de Avaliação de Pastagens. 1991, João Pessoa, 21 a 26 de julho. p. 49-68. SBZ, 68 p.
- PEREIRA, M. A., JACOBS, D. R. JR., PINS, J. J., RAATZ, S. K., GROSS, M. D., SLAVIN, J. L. e SEAQUIST, E. R. (2002) Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinic adults. American Journal of Clinical Nutrition, v. 75, p. 848-855.
- PHILIPS, K. M. (2008). Dog bite statistics. [www.dogbitelaw.com](http://www.dogbitelaw.com), acessado em 13 de Janeiro de 2008.
- PHS (2002) Public Health Service Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals. Publication of the Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Office of Laboratory Animal Welfare. Available at <http://grants.nih.gov/grants/olaw/references/phspol.htm>; acesso EM 9/07/2010.
- PIOMELLI, D. (2000). "Arachidonic Acid". Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress. Retrieved 2006-03-03.
- POOLE K. G. (1997) Dispersal patterns of lynx in the Northwest Territories. The Journal of Wildlife Management, 61: 497-505.
- POZZA, P. C., POZZA, M. S. S., RICHART, S., GAVLIK, F. O., GASPAROTTO, E. S. e SCHLICKMANN F. (2005). Avaliação da moagem e granulometria do milho e

- consumo de energia no processamento em moinhos de martelos. *Ciência Rural*, v.35, n.1.
- PRADA, F. (2002) Alimentos premium e superpremium para animais de estimação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2002, Campinas. Anais... Campinas: CBNA, 2002. v.2, 149p.
- RAINBIRD, A. e KIENZLE, E. (1990). Investigations on energy requirements of dogs in relation to breed and age. *Kleintierpraxis*. 35: 145-158.
- RESCHSTEINER, M. S. (2005) Produção, digestibilidade e amido resistente em biscoitos extrusados a partir da farinha e fécula de batata doce e mandioca. 2005. 92 f. 69 Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.
- RIAZ, M. N. (2003) Extrusion basics. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. *Petfood technology*. Illinois Mt Morris, 2003, p. 347-360.
- RIBEIRO, R.C. (2002) Formulações para cães em reprodução, cadelas em gestação e neonatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2., 2002, Campinas. Anais... Campinas, SP: CBNA, 2002. 149p.
- ROKEY, G. e HUBBER, G. (1994) Pet foods In: McELLINEY, R. R. *Feed manufacturing technology IV*. Arlington:VA, 1994, p. 479-493.
- RUSSELL, W. M. S. e BURCH, R. L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. London: Methuen & Co. Ltd. [Revised: 1992, Universities Federation for Animal Welfare, Herts, England.] <[http://altweb.jhsph.edu/publications/humane\\_exp/het-toc.htm](http://altweb.jhsph.edu/publications/humane_exp/het-toc.htm)>.
- RUSSELL, W. M. S. e BURCH, R. L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. London: Methuen.
- SÁ-FORTES, C. M. L. (2005) Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães. 2005. 82f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- SAKOMURA, N.K. e ROSTAGNO, H.S. (2007) Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: Funep, 2007, 283p.
- SCHRIJER, R., VERMEULEN, D. e VIAENE, E. (1991) Lipid metabolism responses in rats fed beef tallow, native or randomized fish oil and native or randomized peanut oil. *Journal Nutrition*, 121: 948.

- SERPELL, J. e JAGOE, J. A. (1995) Early experience and the development of behaviour. In: Serpell J (Ed.): The domestic dog, its evolution, behaviour, and interactions with people. Cambridge University Press, Cambridge. p. 79-102.
- SOARES, C. M., HAYASHI, C., BOSCOLO, W. R., BOSCOLO, V. R. e GALDIOLI, E. M. (2003) Diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas peletizadas para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em fase de crescimento, desempenho e digestibilidade aparente. *Zootecnia Tropical*, v. 21, n. 3, p. 275-288.
- SOARES, C. M., HAYASHI, C., BOSCOLO, W. R. e MEURER, F. (2003). Diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas peletizadas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) em fase de crescimento. Desempenho e digestibilidade aparente. *Zootecnia Tropical*, v. 21, n. 3, p. 275-288.
- SOBERMAN, R. J. e CHRISTMAS, P. (2003). "The organization and consequences of eicosanoid signaling". *J. Clin. Invest* 111 (8): 1107–1113.
- STRYER L., TYMOCZKO J.L., BERG J.M. (2004) *Bioquímica*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 1059p.
- SUBRAMANIAM S., FAHY E., GUPTA S., SUD M., BYRNES R.W, COTTER D, DINASARAPU A.R AND MAURYA M.R (2011). "Bioinformatics and Systems Biology of the Lipidome". *Chemical Reviews* 111 (10): 6452–6490.
- TARDIN, A.C. (2002) Dietas com alta proteína e gordura na alimentação de cães e gatos In: *NUTRIÇÃO E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS PARA CÃES E GATOS*, 1., Lavras. Anais... Lavras: Editora UFLA, p.37-46, 2002.
- TAVARES, L.M (2001) Um método para o cálculo da eficiência energética de moinhos industriais. *Revista Matéria*. Periódico científico virtual da área de materiais. 2001. Disponível em : <[www.materia.coppe.ufrj.br](http://www.materia.coppe.ufrj.br)>. Acesso em 4 de agosto de 2006.
- THOMPSON, W. R., MELZACK, R. e SCOTT, T. H. (1956). "Whirling behaviour" in dogs as related to early exposure. *Science*, 123: 393.
- THOMSON, A. B. R. e WILD, G. (2001). The influence of the intestinal unstirred water layers on the understanding of the mechanisms of lipid absorption. Pp. 135 – 15 em *Intestinal Lipid Metabolism*, C. M. Mansbach II, P. Tso e A. Kuksis, Eds. New York: Plenum Press.

- TUBER, D. S., MILLER, D. D., CARIS, K. A., HALTER, R., LINDEN, F. e HENNESSY, M. B. (1999). Dogs in animal shelters: problems, suggestions, and needed expertise. *Psychological Science*, 10: 379 - 386.
- URSIN, H. (1998). The psychology in psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology* 23, 555 - 570. VAN DER BORG, J. A. M., NETTO, W. J. e PLANTA, D. J. U. (1991). Behavioural testing of dogs in animal shelters to predict problem behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 32: 237 - 251.
- USDA (1985) [US Department of Agriculture]. 1985. 9 CFR 1A. (Title 9, Chapter 1, Subchapter A): Animal Welfare. Available at [http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?Sid=8314313bd7adf2c9f1964e2d82a88d92andc=ecfrandtpl=/ecfrbrowse/Title09/9cfrv1\\_02.tpl](http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?Sid=8314313bd7adf2c9f1964e2d82a88d92andc=ecfrandtpl=/ecfrbrowse/Title09/9cfrv1_02.tpl); acesso em 14 de Janeiro de 2010.
- VAGANAY, S., JOLIFF, G., BERTAUX, O., TOSELLI, E., DEVINGES, M. D. e BENICOURT, C. (1998). The complete cDNA sequence encoding dog gastric lipase. *DNA Sequence* 8: 257-262.
- VASCONCELLOS, R. S., CARCIOFI, A. C., OLIVEIRA, L. D., PRADA, F. e PEREIRA, G. T. (2007). Utilização de indicadores para estimar a digestibilidade aparente em gatos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, p.466-472.
- VASCONCELLOS, R. S., CARCIOFI, A. C., PRADA, F., BAZOLLI, R. S., PEREIRA, G. T. e PICINATO, M. A. C. (2006) Avaliação do uso de óxido crômico em cápsulas para estimar a digestibilidade aparente em gatos. *ARS Veterinária*, v.22, p.43-47.
- WALDRON, M. K., SPENCER, A. S. e BAUER, J. E. (1998) Role of long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids in the development of the nervous system of dogs and cats. *Journal American Veterinary Medicine Association*, 213: 619-622.
- WALTERS, L. M., OGILVIE, G. K., SALMAN, M. D., JOY, L., FETTMAN, M. J., HAM, M. S. E WHEELER, S. L. (1993). Repeatability of energy expenditure measurements in clinically normal dogs by use of indirect calorimetry. *American Journal Veterinary Medicine*. 54: 1881 – 1885.
- WELLS, D. L. (2004) A review of environmental enrichment for kennelled dogs, *Canis familiaris*. *Applied Animal Behaviour Science*, 85 (3-4), p.307.

- WILLIAM, F. e GANONG, M. D. (2003). Regulation of Gastrointestinal Function. Review of Medical Physiology (Twenty-First ed.). New York: McGraw-Hill, Medical Publication Division.
- WINGFIELD, J. C. e RAMENOFSKY, M. (1999) Hormones and the behavioural ecology of stress. In: Balm PHM, editor. Stress physiology in animals. Sheffield Academic Press, 1999. p. 1–51.
- WOLTER, R., DO SOCORRO, E. P. e HOUDRE, C. (1998) Fecal and ileal digestibility in the dog of diets rich in wheat or tapioca starch. *Recueil de Médecine Vétérinaire.*, v. 174. n. 5-6, p. 45-55.
- ZENTEK, J. e MEYER, H. (1993) Digestibility and faecal excretion of water – a comparison between Great Danes and Beagles. *Kleintierpraxis* 38: 311 – 318.
- ZENTEK, J. e MEYER, H. (1995) Normal handling of diets – are all dogs created equal? *Journal of Small Animal Practice*, v.36, p.354-359.

## 4. CAPÍTULOS

### 4.1. Comportamento de Border Collies instalados na baia e gaiola

**4.1.1. RESUMO** Um grande número de cães é mantido em laboratório para fins de pesquisa. Alguns protocolos de pesquisa requerem o alojamento individual em canil e gaiolas, por longos períodos. No entanto, o efeito do período de restrição ainda está a ser estudado. Até o momento, a influência do tempo de confinamento sobre o comportamento canino foi especificamente abordada. Este trabalho examinou a influencia comportamental do confinamento de cães em um centro de pesquisa. Oito cães adultos da raça Border Collie foram observados e alocados aleatoriamente em dois grupos: canil ou gaiola. O efeito do tipo de habitação e do sexo foi analisado. Os animais instalados tanto em canis como nas gaiolas mostraram um nível significativamente maior do comportamento parado e da posição deitado. A proporção média referente ao comportamento e as posições foram semelhantes em ambas às instalações, tanto para fêmeas quanto para machos. Em conclusão, cães

Border Collie adultos, fêmeas e machos, podem ser instalados individualmente em baias e gaiolas durante todo o período de adaptação e coleta.

Palavras-chave: Habitação; Cães de laboratório; Atividade; Comportamento; Modelo animal; Bem-Estar; Avaliação de alimentos

**4.1.2. ABSTRACT** A large number of dogs are kept in laboratories for research purposes. Some research protocols require individual housing in kennels and cages for long periods. However, the effect of restriction period is still being studied. So far, the influence of time on feed on dog behavior has been specifically addressed. This study examined the behavioral influence of the confinement of dogs at a research center. Eight adult dogs of the breed Border Collie were observed and randomized into two groups: kennel or cage. The effect of housing type and gender was analyzed. The animals in both canis installed as shown in cages at a level significantly greater than idle and behavior of lying down position. The average ratio between behavior and the positions were similar in both facilities, both for females and for males. In conclusion, Border Collie dogs adult females and males, can be installed individually in pens and cages throughout the period of adjustment and collection.

Keywords: Housing; Dogs laboratory; Activity, Behavior, Animal model; Welfare; Evaluation of food

### 4.1.3. INTRODUÇÃO

Experimentos com cães têm sido, ocasionalmente, utilizados para testes de produtos não farmacêuticos (PRESCOTT *et al.*, 2004), incluindo-se, prioritariamente, a indústria de alimentos, através do estudo sobre ingredientes e processamento, além da pesquisa nutricional sobre a utilização de nutrientes na promoção de saúde, prevenção de doenças degenerativas, melhoria da qualidade de vida e aumento da expectativa de vida dos cães.

Cães de laboratório são principalmente abrigados em canis internos de vários tamanhos, a maioria das vezes em baias ou gaiolas (HUBRECHT *et al.*, 1992). As necessidades da pesquisa, o ambiente e os procedimentos experimentais podem expor os cães a um confinamento restritivo com relação a área ocupada e ao

contato social, sendo importante encontrar se esse ambiente influencia o modelo animal. A significância dos resultados de bem-estar dos cães em relação ao laboratório nem sempre é clara nos mais variados estudos (PRESCOTT *et al.*, 2004) e em qual medida afeta o conforto dos animais. Mesmo em instalações bem organizadas, os animais são separados de qualquer objeto de fixação anterior, sendo expostos a um alto nível de novidade e ruídos, tornando seu ambiente imprevisível e incontrolável (HENNESSY *et al.*, 2001), fatores que podem ocasionar um efeito generalizado na fisiologia e no comportamento de animais de laboratório (HENNESSY, 1998). Assim, o canil deve ser projetado para o bem-estar, promovendo a saúde e o comportamento natural, favorecendo às necessidades comportamentais dos animais alojados.

Existem diferentes exemplos na literatura de estudos sobre as medições fisiológicas e comportamentais para a avaliação do estresse em cães de laboratório (BEERDA *et al.*, 1999a, BEERDA *et al.*, 1999b; SPANGENBERG *et al.*, 2006). Os comportamentos diferem entre cães desafiados ou não, sendo que indivíduos estressados com desafio crônico aumentaram a atividade locomotora, a movimentação em círculo e exibiram altos níveis de farejamento e outros comportamentos (corpo tremendo, bocejo, deslocamento, posturas e comportamentos ambivalentes) (BEERDA *et al.*, 2000), incluindo a postura mais baixa (BEERDA *et al.*, 1999a), a auto higienização (BEERDA *et al.*, 1999a; HETTS *et al.*, 1992), a coprofagia (BEERDA *et al.*, 1999a), vocalização excessiva (BEERDA *et al.*, 1999a; CLARK *et al.*, 1997), elevação da pata (BEERDA *et al.*, 1999; BEERDA *et al.*, 2000), altos níveis de atividade locomotora (HETTS *et al.*, 1992; CLARK *et al.*, 1997), cheirar e urinar (BEERDA *et al.*; 2000) ou inatividade (HUBRECHT *et al.*, 1992), além da exibição de comportamentos repetitivos ou estereotipados (BEERDA *et al.*, 1999; CLARK *et al.*, 1997; BEERDA *et al.*, 2000; HUBRECHT *et al.*, 1992; MERTENS *et al.*, 1996).

Os comportamentos estereotipados, são os indicadores mais importantes de problemas com bem-estar a longo prazo (BROOM e JOHNSON, 1993). O comportamento mais frequentemente observado como repetitivo ou estereotipado em cães confinados incluem a examinação do ambiente (BEERDA *et al.*, 1999a; CLARK *et al.*, 1997), circulação (HETTS *et al.*, 1992; MERTENS *et al.*, 1996) e excitação (HETTS *et al.*, 1992; HUBRECHT *et al.*, 1992).

O objetivo deste trabalho foi analisar as respostas comportamentais de cães após um desafio ambiental repetido e verificar se eles estão estressados ou não, durante a instalação em baias ou gaiolas.

#### **4.1.4. MATERIAL E MÉTODOS**

##### **4.1.4.1. Local de estudo**

Os cães foram estudados no canil da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes. Esta instalação consistiu de uma linha de baia e outra de gaiola, posicionadas uma de frente para outra. Cada baia foi de 1,5 m de largura x 1,5 m de comprimento x 2,1 m de altura, enquanto a gaiola foi de 0,9 m largura x 2,1 m de comprimento x 1 m de altura. As paredes para a área externa do canil e entre as baias e as gaiolas adjacentes foram confeccionadas de tela, sendo que entre as gaiolas foi respeitado um espaço de 0,8 m de distância. A frente de cada uma das instalações consistiu de uma porta, permitindo o acesso do pessoal, bebedouro automático e um recipiente para oferta do alimento. As duas linhas de instalação foram separadas por uma pista de 2 m de largura x 8 m comprimento, por onde o observador podia caminhar. Assim, nessas instalações, os cães tinham a visão de onde os membros do manejo e do público andavam, assim como, as instalações no lado oposto da linha. Os cães foram habituados ao canil durante um período de 30 dias, através de confinamento e manejo coletivo, sendo possível a interação com as baias e as gaiolas experimentais. Após o período de habituação, os cães foram observados em ambas as condições, individualmente, em baias e gaiolas, conforme descrito acima, durante um período de dez dias consecutivos. Assim, a única diferença entre as 2 condições era o tipo de instalação utilizada para o confinamento, baia ou gaiola.

#### 4.1.4.2. Animais

Um total de oito cães da raça Border Collie foi dividido em dois grupos: (a) confinado na baia e (b) confinado na gaiola. Os cães possuíam idade entre dois e cinco anos, sendo quatro fêmeas e quatro machos, todos saudáveis.

#### 4.1.4.3. Procedimentos

Os animais dos dois grupos (baia e gaiola) foram observados segundo uma amostragem simples ao acaso, para a determinação da proporção de exibição das observações anotadas. Devido à possibilidade de identificação individual dos animais, o método de observação adotado foi animal focal, com registro instantâneo a cada cinco minutos (MARTIN e BATESON, 1993). O comportamento de cada cão foi observado ao longo de um período de 4h. Em intervalos de 5 minutos, o experimentador aproximou-se de frente da gaiola de cada animal e anotou o comportamento do cão, assim que o visualizou. Três aspectos distintos do comportamento, todos conhecidos por influenciar a percepção pública da conveniência do cão (WELLS, 1996), foram anotados em cada observação: (a) localização na instalação (frente ou atrás) e, assim, uma linha transversal foi pintada no piso, dividindo o comprimento das instalações em duas partes iguais, permitindo ao experimentador determinar imediatamente em qual seção da gaiola aconteceu a observação. A parte da frente da instalação foi definida como a metade mais próxima do observador e a de trás a mais afastada; (b) posição: em estação (o cão estava suportado na posição vertical com as quatro patas), sentado (suportado pelas patas dianteiras e flexião das duas patas traseiras), deitado (posição ventral ou lateral) e duas patas (suportado pelas patas traseiras) e (c) atividade: andando, comendo ração, lambedura, outros (sacudir, se coçar, esfregar e beber água), parado, saltando e vocalizando (ganir, latir e rosar).

Cada cão foi observado por 10 dias consecutivos de confinamento, por um período de 4h, a cada 5 minutos, fornecendo 3840 minutos de observações.

#### 4.1.4.4. A análise dos dados

A análise foi realizada separadamente sobre cada um dos 3 aspectos examinados. Assim, as variáveis observadas descreveram a localização, a posição e a atividade dos animais no momento da observação em foco, sendo avaliadas de acordo com a pontuação 0 (não exibição) e 1 (exibição).

Em cada grupo, estas avaliações constituíram uma amostra simples ao acaso. Com as observações obtidas estimou-se a proporção de cada variável, bem como, o intervalo de confiança para proporção em 95% de probabilidade.

As amostras obtidas foram representativas de uma população infinita de cada variável, fixado em nível de significância em 5% de probabilidade e para o dimensionamento da amostra considerou-se um desvio de 5%, para mais e para menos, em torno da proporção amostral.

As comparações de interesse para verificar o efeito da instalação e do sexo, foram feitas por meio de intervalos de confiança em 95% de probabilidade. Os intervalos disjuntos, portanto, caracterizam diferenças estatísticas entre os grupos.

Os dados estatísticos foram analisados por meio do Programa SAEG, desenvolvido pela UFV (Universidade Federal de Viçosa).

### 4.1.5. RESULTADOS

#### 4.1.5.1. Efeito do sexo sobre o comportamento animal

O sexo dos cães não foi significativamente associado com o comportamento geral dos animais dentro dos 10 dias de confinamento.

A localização (figura 1) das fêmeas ( $0,6366 \leq PLF_f \leq 0,6707$ ;  $0,3327 \leq PLT_f \leq 0,3601$ ) e dos machos ( $0,5983 \leq PLF_m \leq 0,6318$ ;  $0,3707 \leq PLT_m \leq 0,3993$ ), a posição (figura 2) assumida pelas fêmeas ( $0,0135 \leq PP2P_f \leq 0,0233$ ;  $0,5909 \leq PPDF \leq 0,6265$ ;  $0,2421 \leq PPE_f \leq 0,2739$ ;  $0,1033 \leq PPS_f \leq 0,1265$ ) e pelos machos ( $0,0073 \leq PP2P_m \leq 0,0149$ ;  $0,55 \leq PPD_m \leq 0,586$ ;  $0,2606 \leq PPE_m \leq 0,2932$ ;  $0,1312 \leq PPS_m \leq 0,1568$ ), assim como, a atividade (figura 3) exercida por fêmeas ( $0,0378 \leq PAAN_f \leq$

0,053;  $0,0496 \leq \text{PACRf} \leq 0,0575$ ;  $0,0482 \leq \text{PALBf} \leq 0,056$ ;  $0,026 \leq \text{PAOTf} \leq 0,0318$ ;  $0,7754 \leq \text{PAPf} \leq 0,7903$ ;  $0,0114 \leq \text{PASTf} \leq 0,0152$  e  $0,044 \leq \text{PAVOCf} \leq 0,0515$ ) e por machos ( $0,0378 \leq \text{PAANm} \leq 0,053$ ;  $0,0555 \leq \text{PACRm} \leq 0,0638$ ;  $0,0333 \leq \text{PALBm} \leq 0,0398$ ;  $0,0312 \leq \text{PAOTm} \leq 0,0375$ ;  $0,7934 \leq \text{PAPm} \leq 0,808$ ;  $0,0055 \leq \text{PASTm} \leq 0,0082$  e  $0,0357 \leq \text{PAVOCm} \leq 0,0424$ ), não diferiram significativamente.

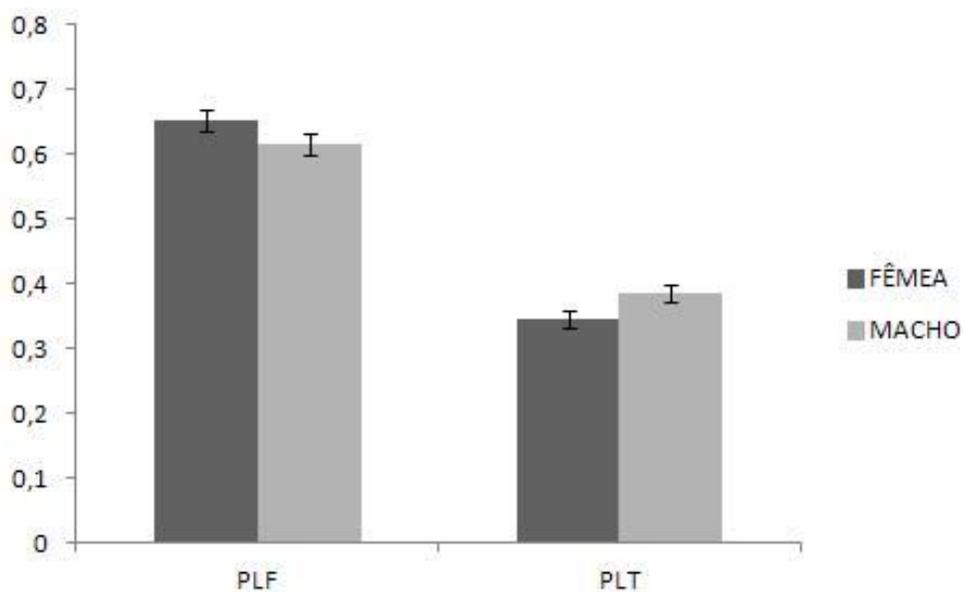


Figura 1: Intervalos de confiança para a proporção da localização: frente (PLFb) e trás (PLTb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

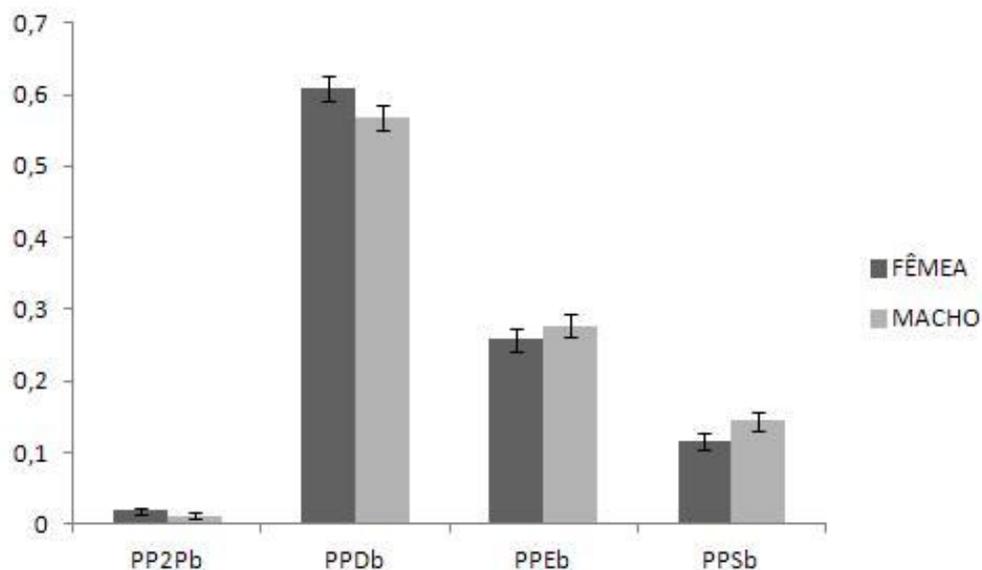


Figura 2: Intervalos de confiança para a proporção da posição: duas patas (P2Pb), deitado (PDb), em estação (PEb) e sentado (PSb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

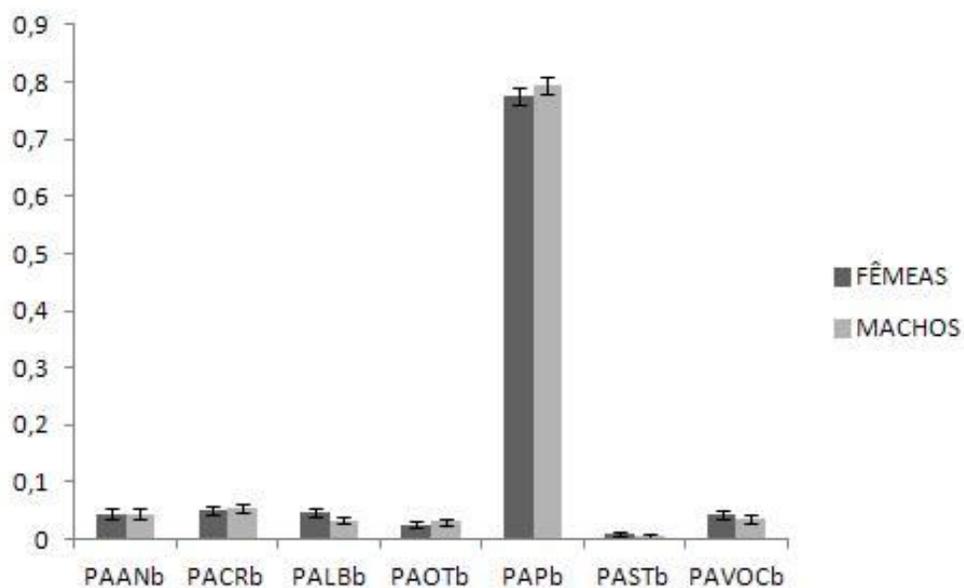


Figura 3: Intervalos de confiança para a proporção da atividade: andando (AANb), comendo ração (ACRb), lambedura (ALBb), parado (APb), saltando (ASTb) e vocalizando (AVOCb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

#### 4.1.5.2. Efeito da instalação sobre o comportamento animal

O tipo de instalação também não influenciou significativamente o comportamento geral dos animais dentro dos 10 dias de confinamento.

Nas fêmeas, a localização (figura 4) na baia ( $0,6418 \leq \text{PLFf} \leq 0,6812$ ;  $0,3271 \leq \text{PLTb} \leq 0,3587$ ) e na gaiola ( $0,5969 \leq \text{PLFf} \leq 0,6356$ ;  $0,3663 \leq \text{PLTf} \leq 0,3994$ ), a posição (figura 5) na baia ( $0,0140 \leq \text{PP2Pf} \leq 0,0256$ ;  $0,5911 \leq \text{PPDf} \leq 0,6321$ ;  $0,2427 \leq \text{PPEf} \leq 0,2797$ ;  $0,0942 \leq \text{PPSf} \leq 0,1202$ ) e na gaiola ( $0,0082 \leq \text{PP2Pf} \leq 0,0176$ ;  $0,5239 \leq \text{PPDg} \leq 0,5659$ ;  $0,2725 \leq \text{PPEg} \leq 0,3107$ ;  $0,1367 \leq \text{PPSg} \leq 0,1669$ ), assim como, a atividade (figura 6) exercida na baia ( $0,0361 \leq \text{PAANb} \leq 0,0535$ ;  $0,0399 \leq \text{PACRb} \leq 0,0581$ ;  $0,0437 \leq \text{PALBb} \leq 0,0625$ ;  $0,0192 \leq \text{PAOTb} \leq 0,0324$ ;  $0,7629 \leq \text{PAPb} \leq 0,7977$ ;  $0,0075 \leq \text{PASTb} \leq 0,0165$  e  $0,0378 \leq \text{PAVOCb} \leq 0,0554$ ) e gaiola ( $0,0396 \leq \text{PAANg} \leq 0,0576$ ;  $0,0463 \leq \text{PACRg} \leq 0,0657$ ;  $0,0258 \leq \text{PALBg} \leq 0,0408$ ;  $0,0266 \leq \text{PAOTg} \leq 0,0418$ ;  $0,7774 \leq \text{PAPg} \leq 0,8114$ ;  $0,0031 \leq \text{PASTg} \leq 0,0097$  e  $0,0278 \leq \text{PAVOCg} \leq 0,0434$ ), não diferiram significativamente.

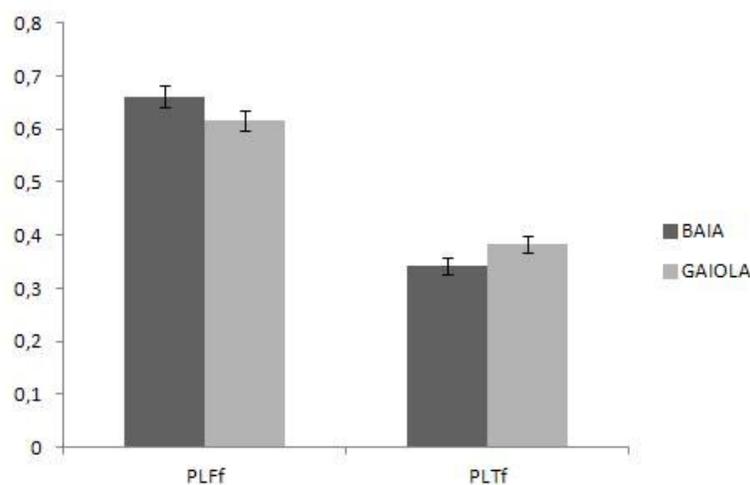


Figura 4: Intervalos de confiança para a proporção da localização em fêmeas, na baia e na gaiola: frente (PLFb) e trás (PLTb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

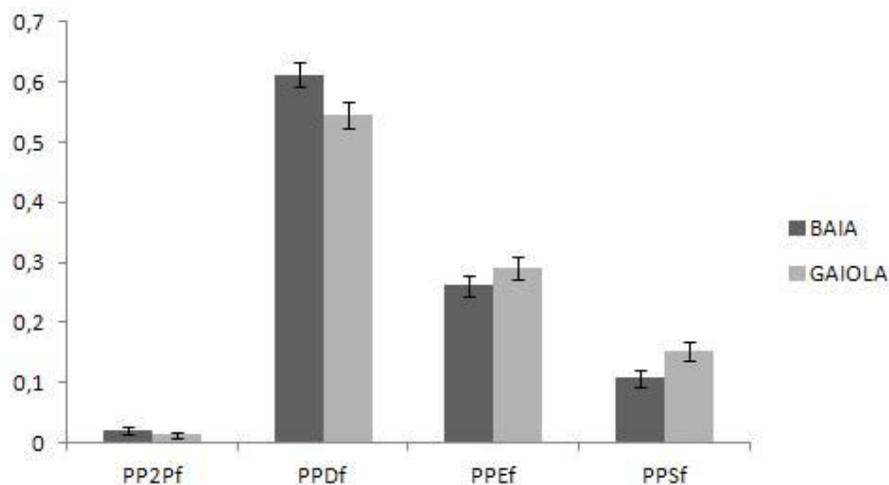


Figura 5: Intervalos de confiança para a proporção da posição em fêmeas, na baia e na gaiola: duas patas (P2Pb), deitado (PDb), em estação (PEb) e sentado (PSb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

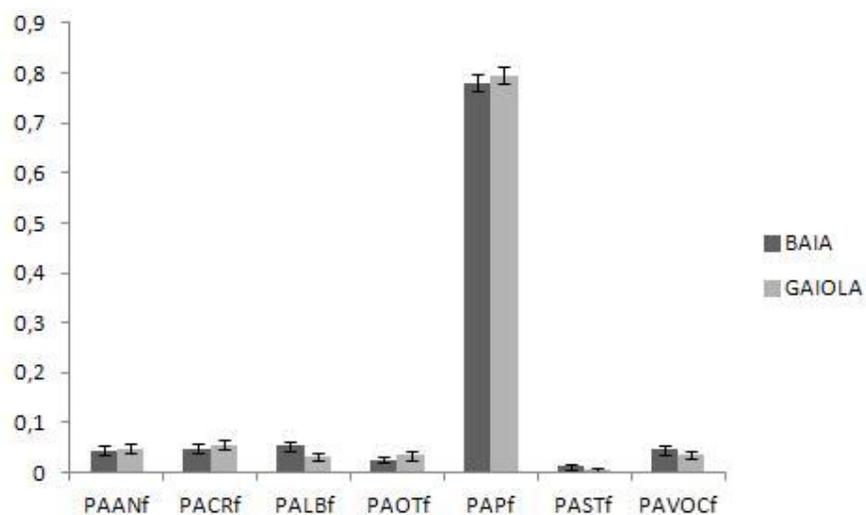


Figura 6: Intervalos de confiança para a proporção da atividade em fêmeas, na baia e na gaiola: andando (AANb), comendo ração (ACRb), lambadura (ALBb), parado (APb), saltando (ASTb) e vocalizando (AVOCb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

As observações do comportamento nos machos demonstraram que também não houve diferenças significativas entre a localização (figura 7) na baía ( $0,6101 \leq \text{PLFm} \leq 0,6783$ ;  $0,3294 \leq \text{PLTb} \leq 0,3846$ ) e na gaiola ( $0,5748 \leq \text{PLFg} \leq 0,6418$ ;  $0,3662 \leq \text{PLTg} \leq 0,3993$ ), a posição (figura 8) assumida na baía ( $0,0054 \leq \text{PP2Pb} \leq 0,0224$ ;  $0,5639 \leq \text{PPDb} \leq 0,6355$ ;  $0,2170 \leq \text{PPEb} \leq 0,2802$ ;  $0,1128 \leq \text{PPSb} \leq 0,1632$ ) e na gaiola ( $0,0051 \leq \text{PP2Pg} \leq 0,0159$ ;  $0,6024 \leq \text{PPDg} \leq 0,6726$ ;  $0,2064 \leq \text{PPEg} \leq 0,2686$ ;  $0,097 \leq \text{PPSg} \leq 0,1446$ ), assim como, a atividade (figura 9) exercida em baía ( $0,0319 \leq \text{PAANb} \leq 0,0629$ ;  $0,0354 \leq \text{PACRb} \leq 0,0678$ ;  $0,0203 \leq \text{PALBb} \leq 0,0465$ ;  $0,0147 \leq \text{PAOTb} \leq 0,0381$ ;  $0,7742 \leq \text{PAPb} \leq 0,8324$ ;  $0,0025 \leq \text{PASTb} \leq 0,0169$  e  $0,0226 \leq \text{PAVOCb} \leq 0,0498$ ) ou gaiola ( $0,0225 \leq \text{PAANg} \leq 0,0497$ ;  $0,0376 \leq \text{PACRg} \leq 0,0706$ ;  $0,0202 \leq \text{PALBg} \leq 0,0464$ ;  $0,0115 \leq \text{PAOTg} \leq 0,0329$ ;  $0,7884 \leq \text{PAPg} \leq 0,848$ ;  $0,0029 \leq \text{PASTg} \leq 0,0105$  e  $0,0225 \leq \text{PAVOCg} \leq 0,0497$ ).

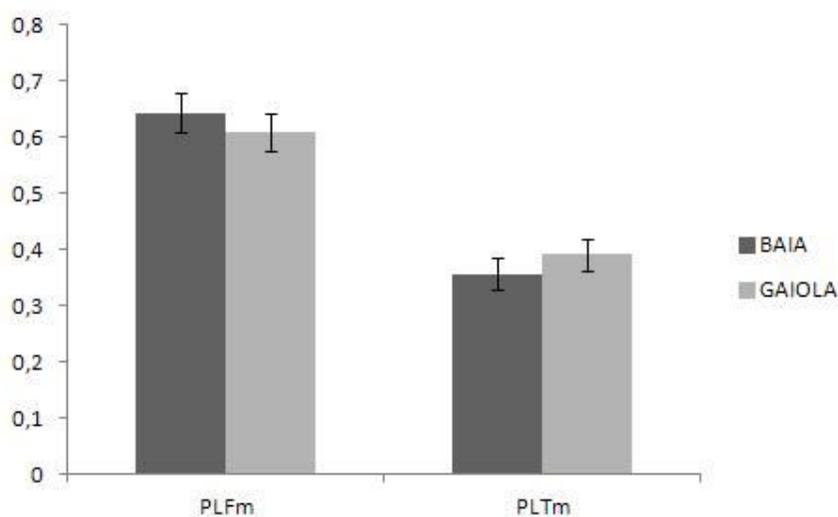


Figura 7: Intervalos de confiança para a proporção da localização em machos, na baía e na gaiola: frente (PLFb) e trás (PLTb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

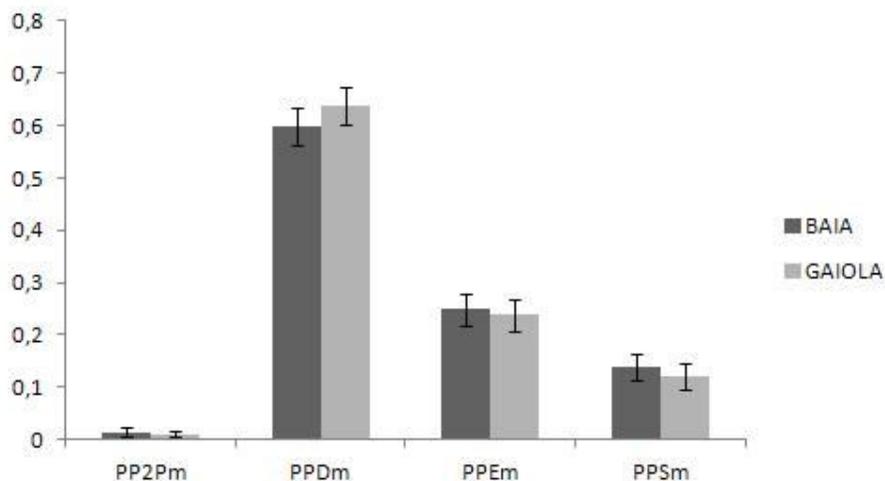


Figura 8: Intervalos de confiança para a proporção da posição em machos, na baia e na gaiola: duas patas (P2Pb), deitado (PDb), em estação (PEb) e sentado (PSb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

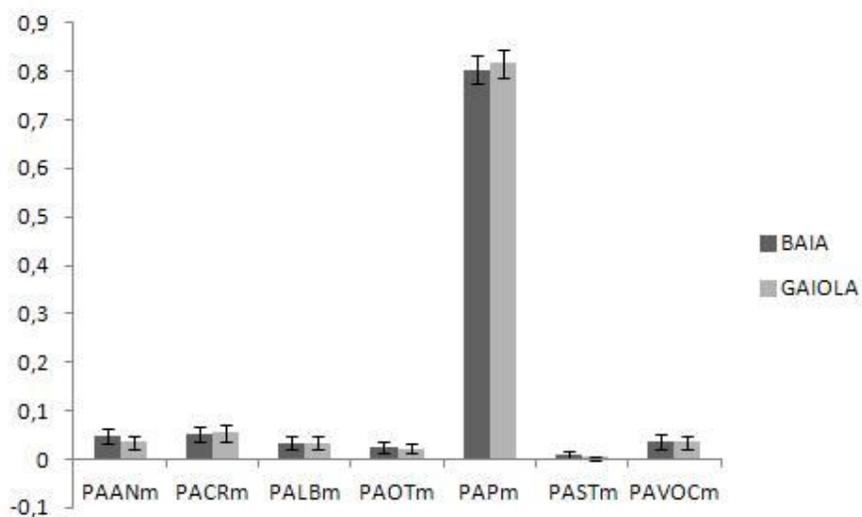


Figura 9: Intervalos de confiança para a proporção da atividade em machos, na baia e na gaiola: andando (AANb), comendo ração (ACRb), lambadura (ALBb), parado (APb), saltando (ASTb) e vocalizando (AVOCb), para uma população infinita (95%), em Border Collies.

#### 4.1.6. DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram que os grupos de cães instalados na baia ou gaiola, tanto fêmeas como machos, exibiram médias gerais significativas de comportamentos indicativos de conforto, com ênfase para o comportamento parado e a posição deitado.

A análise do comportamento em cães criados em laboratório ou para trabalho têm descrito dimensões comportamentais que se assemelham aquelas identificadas no presente experimento (CATTELL e KORTH, 1973; GODDARD e BEILHARZ, 1984; ROYCE, 1955), comprovando a eficácia do método de observação do comportamento empregada neste experimento. A metodologia de observação animal focal, com registro instantâneo a cada cinco minutos (MARTIN e BATESON, 1993) é comumente empregada para a análise do comportamento em animais de laboratório. Neste trabalho, tanto para o grupo da baia como para o grupo da gaiola, o comportamento parado e a posição deitado, apresentaram médias superiores aos demais, de acordo com HUBRECHT *et al.* (2002), os quais relataram que cães passam muito de seu tempo descansando.

Devido à elevada média de proporção do comportamento parado, ocorreu a observação de um repertório comportamental reduzido (andando, comendo ração, lambedura, outros, parado, saltando e vocalizando), resultado que corrobora com as observações de HETTS *et al.* (1992) as quais relataram um repertório de comportamento reduzido para cães alojados individualmente em laboratório, porém confronta com o relato de descanso reduzido dos animais e a maior tendência a vocalizar, citados por esses mesmos autores. Da mesma forma, os resultados aqui apresentados, confrontam com aqueles descritos por MASON (1991), que relatou padrões de comportamento invariantes, com funções anormais, sem objetivo óbvio ou estereotipado, em animais instalados em ambientes laboratoriais com isolamento social. Esta diferença, provavelmente, deve-se ao fato principal de que no presente trabalho os cães, mesmo em instalações individuais, tiveram a oportunidade de contato social (olfativo, sonoro e visual), enquanto os resultados do trabalho daqueles autores referem-se a animais instalados em isolamento.

Aparentemente existem diferenças individuais nas respostas dos cães ao estresse, assim como, as variáveis de propensões para o desenvolvimento de um comportamento anormal. Os cães que não são capazes de adaptar-se às condições artificiais de laboratório são particularmente propensos a mostrar comportamentos locomotores estereotipados, os quais, segundo HUBRECHT *et al.* (1992) e HUBRECHT (1995b), incluíram a movimentação em círculo, andadura, giros, saltos, saltar na parede, lambedura repetitiva ou auto cortante, polidipsia ou polifagia, olhar compulsivo e uma excessiva propensão a certos comportamentos tais como a vocalização. Estes resultados não estão de acordos com aqueles apresentados neste trabalho, pois a baixa média de proporção observada para os comportamentos andando (PCAN), comendo ração (PCCR), lambedura (PCLB), saltando (PST) vocalizando (PVOC) e outros comportamentos (PCOT), na baia e na gaiola, em fêmeas e machos, exclui a hipótese de estereotipia.

PRESCOTT *et al.* (2004) relataram a ocorrência de uma mistura das posições em estação, movimento em círculo ou saltando na parede, interrompidas pela posição em pé nas patas traseiras, confrontando com o presente trabalho, pois, fêmeas e machos, na baia e gaiola, apresentaram proporções significativamente maiores de exibição da posição deitado (PPD) que as médias de proporção das posições em estação (PPE), sentado (PPS) e duas patas (PP2P).

HUBRECHT *et al.* (1992), encontraram estereotipias em quatro tipos diferentes de instalações, sendo que em três destas, mais que 10% dos cães gastaram mais de 10% de seu tempo em tais comportamentos. PRESCOTT *et al.* (2004) relataram que a instalação de cães em ambientes que não ofereceram desenvolvimento físico ou atenderam as necessidades sociais conduziram a mudanças na fisiologia e favoreceram o comportamento anormal, como uma tentativa de adaptação ao estresse. GARNER (2005) demonstrou que os animais com exibição de padrões de comportamentos estereotipados ou compulsivos não apenas demonstram mudanças na função de certas áreas do cérebro, tais como gânglios basais e no córtex pré-frontal, mas também mostraram uma variação maior em respostas comportamentais, que podem afetar a confiabilidade dos dados coletados. Ao comparar os diferentes comportamentos na baia e gaiola, pode-se observar que o ambiente no qual os animais do presente trabalho foram criados contribuiu na prevenção do desenvolvimento de comportamentos anormais. Estes resultados corroboram com os relatos de MORRIS (1970), nos quais os cães

passaram a maior parte do seu tempo descansando e, durante sua fase ativa, exigiram um ambiente físico e social estimulante e variado.

O isolamento e o tempo são variáveis que também podem influenciar o desenvolvimento de estereotípias. HUBRECHT *et al.* (1992), observaram que cães solitários foram inativos, passivos e passaram bastante tempo desempenhando comportamentos locomotores não sociais e, instalados tanto em pequenas baias individuais como em gaiolas, apresentaram movimentação estereotipada em círculos, uma tentativa para aumentar a entrada sensorial. Estes comportamentos também não foram observados, para fêmeas e machos, indicando que o período de 10 dias de confinamento, em baias ou gaiolas, não foi capaz de eliciar o desenvolvimento de estereotípias.

Com uma alimentação e sobrevivência de adaptação, cães são curiosos e procuram ativamente informações sobre seu ambiente (PRESCOTT *et al.*, 2004) e, assim, as instalações devem ser projetado para permitir uma boa visão. Embora o ambiente físico imediatamente em torno dele possa afetar diretamente os processos fisiológicos e de comportamento, além de alterar a susceptibilidade à doença (SMITH *et al.*, 2004), os resultados deste trabalho demonstram que Border Collies, fêmeas e machos, confinados por dez dias, em baia ou gaiola, tendo oportunidade de interação auditiva, olfativa e visual com o macroambiente não apresentaram alteração comportamental ou susceptibilidade à doença.

Em ambientes pobres em estímulo, os animais apresentaram comportamentos anormais e tornaram-se aborrecidos (WEMELSFELDER, 1985) e frustrados (APPLEBY, 1991) e, assim, as vocalizações tornaram-se estereotipadas quando os cães foram alojados em condições subótimas, separados do seu responsável ou coespecífico (FOX e BEKOFF, 1975; SIMPSON, 1997), as quais envolveram lamentações, gemidos e grunhidos, latidos e uivos, ou alguns combinações complexas (COHEN e FOX, 1976). Estes diferentes tipos de vocalizações estavam envolvidos com alterações comportamentais e ansiedade (SIMPSON, 1997; YIN 2002) e foi uma resposta natural de cães separados do seu grupo social (LUND e JORGENSEN, 1999). Estes comportamentos não foram observados nos cães utilizados no presente trabalho, provavelmente devido ao confinamento individual com oportunidade de interação social, o que contribuiu para o conforto dos animais alojados, favorecendo o bem-estar animal.

Os cães usam sinais visuais para comunicar e a postura é um componente importante na comunicação do estado emocional. No entanto, cães no interior de um ambiente de laboratório possuem certas restrições à disponibilidade de interações sociais e, portanto, deve ser tomado cuidado para não aumentar as possibilidades de contato, pois, caso contrário, resultará em ansiedade relacionada com a separação (PRESCOTT *et al.*, 2004), prejudicial para o bem-estar animal e, assim, os cuidados e a manutenção das necessidades comportamentais apresentaram melhores resultados à saúde física e ao bem-estar dos animais (HUBRECHT 1995a, 2002). Como resultado, instalações para cães de laboratório que permitiram a execução de uma maior gama possível de comportamento normal e certo grau de escolha no seu ambiente contribuíram para comportamentos mais calmos (POOLE e STAMP DAWKINS, 1999). Estes resultados confrontam com aqueles apresentados neste trabalho, até mesmo, porque os dois tipos de instalações utilizadas não possibilitavam esse tipo de escolha. Entretanto, a oportunidade de interação visual deve ter contribuído com a baixa incidência da posição nas duas patas traseiras e do comportamento de saltar, os quais, segundo HUBRECHT (1993a; 2002), foram repetitivos e estereotipados, devido à tentativa de observar as áreas de interesse, porque não há possibilidade de se deslocar para outra localização, restringindo também a comunicação. HUBRECHT (1993b) observou que os cães investiram uma proporção considerável de seu tempo buscando interação, de acordo com as observações deste trabalho, pois, em grande parte, os animais em estação estavam interagindo uns com os outros.

PRESCOTT *et al.* (2004) relataram que instalações pequenas para cães estão associadas com uma maior prevalência da movimentação em círculos e outros estereótipos, provavelmente por restringir o tipo de locomoção e a comunicação (HUBRECHT, 2002), porém estes comportamentos também não foram observados neste trabalho, durante os 10 dias de confinamento, em baias ou gaiolas.

Práticas experimentais podem exigir confinamento individual de cães, temporário ou permanente, onde eles podem cheirar, ouvir, tocar e visualizar membros da mesma espécie, mas são incapazes de interagir com eles.

As situações mais citadas incluem telemetria e metabolismo, alguns estudos cirúrgicos modelos à monitoração do consumo de alimentos, bem como problemas de saúde, a gravidez e para a prevenção do risco de lesão resultante de uma agressão.

O isolamento social dos cães, animais altamente gregários, mesmo para períodos curtos, foi um fator de estresse significativo (BEAVER, 1981; HUBRECHT, 1993b; MACARTHUR CLARK, 1999) e os levou ao desenvolvimento de comportamentos anormais (PRESCOTT *et al.*, 2004). Assim, quando o alojamento individual é inevitável, devem ser tomadas medidas para melhorar os efeitos negativos. O presente trabalho identificou um número de métodos possíveis para que isso seja feito: (a) a duração do confinamento individual pode ter duração de 10 dias, sem comprometer os comportamentos dos cães, indicando um período bom para a manutenção do bem-estar, nas baias ou gaiolas, para machos e para fêmeas; (b) recursos adicionais voltados para o bem-estar e cuidados dos animais podem ser oferecidos para suprir a ausência de companheiros sociais, porém as instalações e o manejo oferecido neste trabalho parecem suprir tais necessidades; (c) todos os cães precisam de um ambiente rico e variado, efeito alcançado com a metodologia proposta; (d) os animais devem ser instalados em ambientes com enriquecimento adicional e, no caso, a exposição auditiva, visual, olfativa e tátil com outros cães foram uma boa opção e (e) a malha que divide as baias e os canis permitiram o contato olfativo, tátil e visual. Estes achados estão de acordo com (FOX e STELZNER, 1966), os quais relataram que os cães expostos a um ambiente complexo apresentaram mudanças fisiológicas e uma maturação cerebral mais rápida, assim como, alterações na capacidade de resposta. De acordo com PRESCOTT *et al.* (2004), o enriquecimento resultou em uma mudança desejada no comportamento, com a redução do comportamento anormal ou destrutivo.

Embora vários estudos tenham relatado que os cães foram mais ativos na presença de seres humanos (CAMPBELL *et al.*, 1988; HUGHES *et al.*, 1989; HUGHES e CAMPBELL, 1990; HETTS *et al.*, 1992), essas observações confrontam com os resultados apresentados no presente trabalho, nos quais são observados médias de proporção alta para o comportamento parado e a posição deitado, demonstrando que os cães foram mais inativos. Estes resultados confirmaram que, após a chegada do pesquisador no laboratório, um período de dez minutos deve ser aguardado entre o fim do trato e o início das observações comportamentais, para a habituação dos animais a presença do homem, sendo assim, sem influenciar os resultados.

Os procedimentos experimentais conduzidos em cães podem ser divididos em várias categorias: administração de substâncias; remoção de fluidos corpóreos; gaiolas de metabolismo; telemetria; anestesia, analgesia, cuidados perioperatório e eutanásia.

As gaiolas de metabolismo são empregues para recolher urina, fezes e lavagem de gaiola de cães geralmente tratados com materiais rádio marcados. Os animais são alojados, por um período de tempo (5-10 dias), a fim de determinar a absorção, distribuição, metabolismo e excreção de tais materiais. As gaiolas de metabolismo são também por vezes utilizadas em períodos mais curtos (até 24 h), para a coleta de pequenos volumes de urina para avaliação clínica patológica. Gaiolas de metabolismo não devem ser utilizadas a menos que elas sejam absolutamente essenciais (PRESCOTT *et al.*, 2004). De acordo com as observações do presente trabalho, em ensaios de digestibilidade, a utilização de gaiolas apresentou vantagens com relação à coleta total das fezes. A justificativa para o seu uso está no fato de ter apresentando menores perdas de material que o manejo nas baias e a possibilidade de coleta da urina, para determinar a digestibilidade de nutrientes, assim como, os valores de energia digestível e metabolizável das rações e ingredientes para cães (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007). Todavia, as gaiolas, cujas dimensões permitiram ao cão o desempenho de suas atividades, sem limitações laterais ou na altura, possibilitaram a observação dos animais na posição sobre as quatro patas e a execução dos comportamentos naturais de virar-se, se enrolar para dormir e se esticar confortavelmente, apresentaram nível significativo de conforto para os animais (PRESCOTT *et al.*, 2004). Os recipientes de comida e água não devem interferir com a capacidade de um animal para se esticar. Assim, uma área de 1,5 m<sup>2</sup> por 0,60m de altura, praticada no presente trabalho, indicou um equilíbrio razoável, permitindo que o cão executasse as atividades estabelecidas, com uma boa recuperação das excretas. Entretanto, por mais que o tempo de duração e o tamanho mínimo tenham sido importantes, o desempenho dos comportamentos indicados acima é mais importante do que quaisquer dimensões precisas.

Os resultados apresentados no presente trabalho confrontam com as recomendações de PRESCOTT *et al.* (2004), o qual indica um mínimo de 2 semanas de recuperação para cada semana realizada em uma gaiola de metabolismo, uma vez que praticado o período de 1 semana não foi observado alterações

comportamentais nos cães. Porém, a indicação de que cães em gaiolas de metabolismo devem sempre ser capazes de ver, pelo menos, outro cão, deve ser considerado, uma vez que estes animais buscaram a todo o momento algum tipo de interação entre eles, incluindo a olfação, visualização, vocalização.

Da mesma forma, a orientação de fornecimento do contato físico com os manipuladores, além daquele necessário para conduzir o estudo (PRESCOTT *et al.*, 2004) confrontam com os resultados do presente trabalho, uma vez que esta não foi praticada e, mesmo assim, não foi observado alterações comportamentais indicativas de estresse nos animais instalados em baias ou gaiolas. Entretanto, HUBRECHT (2002) relatou que este contato gerou ansiedade aos animais e, quando não fornecido, os animais apresentaram comportamentos anormais e repetitivos, indicando o menor contato possível durante o confinamento, a fim de evitar tais respostas comportamentais ao manejo das instalações. No presente trabalho foi observado que os animais manejados sem esse contato extra não apresentaram tais comportamentos.

AMYX (1987) relatou que animais afligidos pelo estresse forneceram dados errados e, assim, o reconhecimento de animais estressados é importante, pois é a base para alívio ou prevenção de comportamentos anormais ou de outros sinais perceptíveis. MORTON (2000) mensurou alguns destas alterações, tais como o peso corporal ou respiração ofegante, porém outras, igualmente confiáveis e objetivas, devem ser consideradas, como a claudicação, diarreia e pálpebras fechadas, pois embora não possa ser quantificada não os torna menos útil ou menos provável de ser identificado por observadores. Os animais deste trabalho não apresentaram comportamentos indicativos de estresse, aumentou-se a confiabilidade dos dados compilados.

Ao monitorar os animais para sinais de estresse, muitas vezes é útil avaliar o comportamento quando o animal é perturbado e manipulado, uma vez que os animais mostraram uma mudança na sua resposta normal ao ser manuseado ou manipulado (PRESCOTT *et al.*, 2004). Entretanto, no presente trabalho verificou-se que nos intervalos regulares de observação, durante todo período do experimento, não foram observados comportamentos anormais e, por mais que exista a discussão em torno da manifestação de tais comportamentos, principalmente na ausência do tratador (HUBRECHT, 1993a, 2002, HUBRECHT, 1993b; HUBRECHT, 2002; PRESCOTT *et al.*, 2004), provavelmente este não foi o caso, pois de acordo com

estes próprios autores, existe uma alta incidência de feridas bem características dos esforços comportamentais repetitivos, também não observados nos animais instalados em baias ou gaiolas.

No entanto, somente uma pequena amostra de cães estava disponível para conduzir a experiência e conseqüentemente não se teve nenhum controle sobre os efeitos do crescimento, da herança genética e do sexo. Entretanto, apesar destas fontes de variação, todos os animais instalados em baias ou gaiolas, machos ou fêmeas, apresentaram comportamentos naturais e não estereotipados.

No que se refere a raça, SEKSEL *et. al.* (1999) ao exibirem um estímulo conhecido para raças caninas de diferentes grupos, não encontraram efeito significativo na resposta comportamental dos animais, embora algumas raças tenham sido mais sensíveis que outras para os sinais humanos (MCKINLEY e SAMBROOK, 2000), sendo encontradas ainda diferenças sexuais, dependem da raça: os machos tiveram pontuação melhor para um comportamento mais estável, menos ativo, na raça Pastor Alemão, mas não tiveram diferenças significantes no cão Labrador Retriever. Na habilidade de cooperação, Pastores Alemães machos foram melhores que fêmeas, mas isto foi oposto no cão Labrador Retriever, cujas fêmeas alcançaram pontuações melhores WILSSON e SUNDGREN (1997). Neste mesmo trabalho, os autores ainda demonstraram que o cão macho teve uma resposta melhor no que se refere à coragem, perseguição e defesa, do que as fêmeas, em ambos os sexos. Segundo WILSSON e SUNDGREN (1998), as fêmeas foram mais ativas e independentes que os machos, os quais, segundo GODDARD e BEILHARZ (1982), tiveram um índice menor de reação de medo e excitação que fêmeas, mas foram mais distraídos.

Devido às diferenças sexuais no comportamento social dos cães, animais de sexo diferente receberam treinamento diferenciado (WELLS E HEPPER, 1999). Portanto, as diferenças sexuais encontradas nos trabalhos sobre o comportamento canino devem ser pelo fato de que cães machos são mantidos para finalidades de trabalho, mais frequentemente, do que fêmeas (PFLEIDERER-HÖGNER, 1979) e, assim, passaram por experiências diferentes (RUEFENACHT *et. al.*, 2002).

Entretanto, neste trabalho, diferenças sexuais não foram observadas no comportamento de fêmeas e machos, na baia ou gaiola. As diferenças sexuais no comportamento foram mais bem estudadas sob a perspectiva da socialização e do trabalho e, no caso dos cães, não foi encontrado nenhum trabalho com a tratativa da

influência sexual no comportamento de animais confinados em diferentes instalações no ambiente de laboratório.

No presente trabalho, os cães foram confinados em dois tipos de instalações diferentes, baia e gaiola. A resposta comportamental dos animais as fontes de variações apresentadas sugerem a utilização destas técnicas para a condução de experiências futuras. Os comportamentos dos cães, observados como resposta aos estímulos do ambiente, neste trabalho, talvez, possam aumentar a eficácia das pesquisas com esses animais quando instalados em canis ou laboratórios.

Fazendo uma síntese do experimento, pode-se destacar que de Border Collies adultos, fêmeas e machos, confinados durante o período de 10 dias consecutivos, em baias ou gaiolas, exibiram altas médias de proporção para os comportamentos indicativos de conforto, sem a observância de estereotipias.

Os resultados apresentados sugerem que essa investigação pode fornecer evidências de que o grupo instalado em baias e gaiolas respondeu de forma similar com relação ao comportamento. Assim, o isolamento e o espaço restrito teriam sido compensados pelos benefícios físicos e psicológicos associados ao contato visual, sonoro e olfativo com ambiente ao redor da instalação, favorecendo o bem-estar animal.

No entanto, um número maior de pesquisas sobre bem-estar de Border Collie através de indicadores de bem-estar biocomportamental e testes de motivação em um ambiente controlado experimental deve ser realizado.

#### **4.1.7. CONCLUSÕES**

O confinamento em baias ou gaiolas é uma opção válida para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente para alimentos e ingredientes para cães, pois permitiu o desenvolvimento do repertório comportamental natural dos cães, a exibição de níveis normais de atividade e dos padrões de comportamentos canino, que podem ser indicativos de bem-estar e conforto animal.

#### 4.1.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMYX, H. L. (1987) Control of animal pain and distress in antibody production and infectious disease studies. *Journal American Veterinary Medical Association*, 191 (10): 1287 – 1289.
- APPLEBY, M. C. (1991) Applied animal behaviour: past, present and future : proceedings of the International Congress. Universities Federation for Animal Welfare.; Society for Veterinary Ethology. Ed.: Potters Bar [England] : Universities Federation for Animal Welfare, 1991. Publicação de conferência : Inglês
- BEAVER, B.V. (1981). Grass eating by carnivores. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician* July, 968–969.
- BEERDA, B., SCHILDER, M. B. H., BERNADINA, W., VAN HOOFF, J. A. R. A. M., DE VRIES, H. W. e MOL, J. A. (1999a) Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. 1. Behavioral responses. *Physiology & Behavior*, 66, 233–242
- BEERDA, B., SCHILDER, M. B. H., BERNADINA, W., VAN HOOFF, J. A. R. A. M., DE VRIES, H. W. e MOL, J. A. (1999b) Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. 2. Hormonal and immunological responses. *Physiology & Behavior*, 66, 243–254.
- BEERDA, B., SCHILDER, M. B. H., BERNADINA, W., VAN HOOFF, J. A. R. A. M., DE VRIES, H. W. e MOL, J. A. (2000) Behavioural and hormonal indicators of enduring environment stress in dogs. *Animal Welfare*. 9, 49-62.
- BROOM, D.M. e JOHNSON, K.G. (1993) *Stress and Animal Welfare*. Chapman & Hall Ltd., London.
- CAMPBELL, S.A., H.C. HUGHES, H.E. GRIFFIN, M.S. LANDI e F.M. MALLON (1988). Some effects of limited exercise on purpose-bred Beagles. *American Journal of Veterinary Research* 49:1298-1301.
- CATTELL, R. B., e KORTH, B. (1973). The isolation of temperament dimensions in dogs. *Behavioral Biology*, 9, 15–30.
- CLARK, J. D., RAGER, D. R. e CALPIN, J. P. (1997). *Animal Well-Being II. Stress and distress*. *Laboratorial Animal Science*. 47:571-579.
- COHEN, J. A. e FOX, M. W. (1976) Vocalizations in wild canids and possible effects of domestication. *Behavioural Processes*, 1, 77 - 92.

- FOX, M. W. e BEKOFF, M. The behavior of dogs. In: *The Behavior of Domestic Animals* (3rd ed.) (E.S.E. Hafez, ed.). Baillière Tindall, London UK, 1975: 370-409.
- FOX, M. W. e STELZNER, D. (1966) Behavioural effects of differential early experience in the dog. *Animal Behaviour*, 14: 273 - 281.
- GARNER, J. P. (2005) Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: Potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. *ILAR J* 46:106-117.
- GODDARD, M. E., e BEILHARZ, R. G. (1983). Genetics of traits which determine the suitability of dogs as guide-dogs for the blind. *Applied Animal Ethology*, 9, 299–315.
- GODDARD, M. E. e BEILHARZ, R. G. (1984) A factor analysis of fearfulness in potential guide dogs. *Applied Animal Behaviour Science*, 12, 253- 265.
- HENNESSY, M.B. (1997) Hypothalamic – pituitary - adrenal responses to brief social separation. *Neuroscience Biological Behavior*, Revision: 21, 11 - 29.
- HENNESSY, M. B., VOITH, V. L., MAZZEI S. J., BUTTRAM, J., MILLER. D. D. e LINDEN, F. (2001) Behavior and cortisol levels of dogs in a public animal shelter, and an exploration of public animal shelter, and an exploration of the ability of these measures to predict problem behavior after adoption. *Applied Animal Behaviour Science*, 73: 217 – 233.
- HETTS, S., CLARK, J. D., CALPIN, J. P., ARNOLD, C. E. e MATEO, J. M. (1992). Influence of housing conditions on beagle behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 34: 137 155.
- HUBRECHT, R. C., SERPELL, J. A. e POOLE, T. B. (1992) Correlates of pen size and housing conditions on the behaviour of kennelled dogs. *Applied Animal Behaviour Science*, 34: 365-383.
- HUBRECHT, R.C. (1993a). A comparison of social and environmental enrichment methods for laboratory housed dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 37(4):345-361.
- HUBRECHT, R.C. (1993b). Dog Housing and Welfare: UFAW Animal Research Report No. 6, Universities Federation for Animal Welfare (UFAW): Potters Bar, Herts, UK, 13p.
- HUBRECHT, R. C. (1995a). Enrichment in puppyhood and its effects on later behavior of dogs. *Laboratory Animal Science*, 45(1), 70–75.

- HUBRECHT, R. C. (1995b). The welfare of dogs in human care. In J. A. Serpell (Ed.), *The domestic dog: Its evolution, behavior and interactions with people* (pp 179–198). Cambridge, England: Cambridge University Press.
- HUBRECHT, R. (2002). Comfortable quarters for dogs in research institutions. In V. Reinhardt and A. Reinhardt (eds.), *Comfortable quarters for laboratory animals*. Washington DC: Animal Welfare Institute.
- HUGHES, H.C. e S. CAMPBELL (1990). Effects of primary enclosure size and human contact. In: *Canine Research Environment* J.A. Mench and L. Krulisch, eds., Scientists Center for Animal Welfare: Greenbelt, MD, pp. 66-75.
- LUND, J.D. e JORGENSEN, M.C. (1999) Behaviour patterns and time course of activity in dogs with separation problems. *Applied Animal Behavior Science*, 63: 219–236.
- MACARTHUR CLARK, J. (1999) *The Dog*. In: Poole T (ed) *UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*, 7th edition. Volume 1 pp 423-444. Blackwell Science Ltd: Oxford, UK
- MARTIN, P. e BATESON, P. 1993. *Measuring Behaviour: An Introductory Guide*, 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press. 222pp.
- MASON, G. J. (1991). Stereotypies: A critical review. *Animal Behavior*, 41, 1015–1037.
- MCKINLEY, J., e SAMBROOK, T.D. (2000). Use of human-given cues by domestic dogs (*Canis familiaris*) and horses (*Equus caballus*). *Animal Cognition*, 3, 13-22.
- MERTENS, P.A. e UNSHELM, J. (1996) Effects of group and individual housing on the behavior of kennelled dogs in animal shelters. *Anthrozoös* 9, 40-51.
- MORRIS, D. M. (1970) The response of animals to a restricted environment (first published in 1966) In: *Patterns of Reproductive Behaviour*. London: Jonathan Cape, pp 490–511
- MORTON, D. B. (2000). A Systematic Approach for Establishing Humane Endpoints. *ILAR Journal*. 41(2): 80- 86.
- PFLEIDERER-HOGNER, M. (1979) *Möglichkeiten der Zuchtwertschätzung beim Deutschen Schäferhund anhand der Schutzhundenprüfung* (Doctoral Thesis), Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, FDR, 1979

- POOLE, T. e STAMP DAWKINS, M. S. (1999) Environmental enrichment for vertebrates. In: The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals Volume 1: Terrestrial Vertebrates, 7th edn (Poole T, ed). Potters Bar: UFAW, pp 13±20.
- PRESCOTT, M.J. (2004). Refining dog husbandry and care. Eighth report of BVA/AFW/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 38 (Suppl. 1): 1-94.
- ROYCE J. R. (1955) A factorial study of emotionality in the dog. *Psychological monographs: General and applied*
- RUEFENACHT, S., GEBHARDT, S.H., MIYAKE T. e GAILLARD, C. (2002) A behaviour test on German shepherd dogs: heritability of seven different traits. *Applied Animal Behaviour Science*, 79: 113-132.
- SAKOMURA, N. K. e ROSTAGNO, H. S. (2007) Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: Funep, 2007, 283p.
- SEKSEL, K., MAZURSKI, E. J. e TAYLOR, A. (1999) Puppy socialisation programs: short and long term behavioural effects. *Applied Animal Behavioural Science*, 62: 335 - 49.
- SIMPSON, B. S. (1997) Canine communication. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 27(3): 445 - 64.
- SMITH, K., ST CLAIR, M., SHAVER, C. e OLEXA, P. (2004) Use of a shredded paper substrate to ameliorate abnormal self-directed behaviour of a chimpanzee (*Pan troglodytes*). *American Journal of Primatology* 62: 94 – 5.
- SPANGENBERG, E., SPROTT, D., GROHMANN, B., e TRACY, D. (2006) Gender-congruent ambient scent influences on approach and avoidance behaviors in a retail store, *Journal of Business Research*, Vol.59, pp 1281 - 1287.
- WELLS, D. L. e HEPPEL, P. G. (1999) Male and female dogs respond differently to men and women. *Applied Animal Behaviour Science*, 61: 341 - 349.
- WEMELSFELDER, F. (1985) Animal Boredom: Is a Scientific Study of the Subjective Experiences of Animals Possible?" in *Advances in Animal Welfare Science* 1984, ed. by M. W. Fox and L. S. Mickley (Boston 1985) cap.: 1, pag: 15 – 54.
- WILSSON, E. e SUNDGREN, P. E. (1998) Behaviour test for eight-week old puppies—heritabilities of tested behaviour traits and its correspondence to later behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 58: 151 - 162.

- WILSSON, E. A. e SUNDGREN, P. E. (1997a) The use of a behaviour test for the selection of dogs for service and breeding, I. Method of testing and evaluating test results in the adult dog, demands on different kinds of service dogs, sex and breed differences. *Applied Animal Behaviour Science*, 53: 279 - 295.
- YIN, S. (2002) A new perspective on barking in dogs. *Journal of Comparative Psychology*, 116, 189 - 193.

#### **4.3. Digestibilidade de diferentes fontes de óleo utilizadas na adição final de rações industrializados para cães em manutenção**

**RESUMO** Foram comparados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de quatro rações secas extrusados para cães, cada um formulado com um dos ingredientes fontes de gordura dietética em estudo: óleo de soja (OS); óleo de frango (OF); óleo de canola (OC) e óleos de peixe (OP). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 4 repetições. Utilizou-se o esquema fatorial com 2 sexos e 4 alimentos, portanto, 8 tratamentos. Em ambos os casos, optou-se para o estudo dos rações considerando 3 contrastes ortogonais ou linearmente independentes. As rações tanto com a inclusão de gordura animal como vegetal apresentaram valores elevados dos CDA, mas as variáveis analisadas (MS, MO, PB e EE) não apresentaram diferenças significativas. As quatro fontes de gordura estudadas apresentaram bons CDA e, portanto, podem ser utilizados em rações para cães adultos.

Palavras-chave: Alimento; Bem-estar; Cães; Digestibilidade; Gordura; Laboratório

**ABSTRACT** We compared the apparent digestibility coefficients (ADCs) of four diets dry extruded dog, each formulated with ingredient sources of dietary fat in the study: soybean oil (SO); chicken oil (FO), oil canola (OC) and fish oil (FO). The experimental design was completely randomized with 4 replications. We used a factorial with 2 sex food and 4, so 8 treatments. In both cases, it was decided to study the diets considering three orthogonal contrasts or linearly independent. The diets with the inclusion of both animal fat and vegetable showed elevated levels of CDA, but the variables analyzed (DM, OM, CP and EE) showed no significant

differences. The four sources of fat studied showed good CDA and therefore may be used in diets for adult dogs.

Keywords: Food; Welfare; Dogs; Digestibility; Fat; Laboratory

### 4.2.3. INTRODUÇÃO

A importância de considerar a digestibilidade dos nutrientes em rações comerciais para cães é evidente. Rações completas para esta espécie são comumente processados por extrusão (ROKEY e HUBER, 1994), proporcionando níveis moderados para altos de gelatinização do amido (MERCIER e FEILLIT, 1975), favorecendo à inclusão de diferentes fontes de carboidrato em sua composição básica, fonte primária de energia para onívoros (GUILBORT e MERCIER, 1985).

Entretanto, estes animais apresentam preferência direcionada para um alimento rico em proteínas e gordura de origem animal (TARDIN, 2002) e, assim, o teor típico de 5 – 12% de extrato etéreo encontrado nestas rações é alcançado através da pulverização pós-processamento de gordura liquefeita (CORBIN, 2000), ingrediente necessário a boa saúde (STRYER *et al.*, 2004). Fonte de energia disponível para o metabolismo ou armazenamento no corpo, a gordura dietética é requerida em uma concentração mínima no alimento, pois fornece uma densidade calórica adequada, melhora a palatabilidade, serve como transportador de vitaminas lipossolúveis e fornece ácidos graxos essenciais (linolênico  $\omega$ -3 e linoleico  $\omega$ -6). Os efeitos destes nutrientes, em grande parte, são explicados pelas diferentes atividades de cada família nas membranas celulares externas (FUNK, 2001; PIOMELLI, 2000; SOBERMAN e CHRISTMAS, 2003), principalmente aquelas que envolvem a inflamação e o sistema nervoso central (PIOMELLI, 2000). Assim, o ácido araquidônico, eicosapentaenoico e o docosahexaenóico, foram incluídos como nutrientes com ingestão recomendada (IR) em rações industrializadas e formuladas para um determinado estado fisiológico em cães (BAUER *et al.*, 1998), a qual é baseada na necessidade mínima (NM) (NRC, 2006).

Diferentes fontes de gordura têm sido utilizadas como ingrediente em rações industrializadas para cães. A gordura de armazenamento dos animais marinhos e terrestres fornecem ácidos graxos saturados e monoinsaturados, enquanto as sementes providenciam ácido linoleico (óleo de soja, milho, girassol e cártamo) e

alfa linolênico (óleo de linhaça) (WALDRON, 1999). Os quatro principais ingredientes vegetais (palma, soja, canola, e girassol) fornecem mais de 100 milhões de toneladas de óleos alimentares anualmente, dispondo 32 milhões de toneladas de ácido linoleico ( $\omega$ -6) e 4 milhões de toneladas de ácido alfa - linolênico ( $\omega$ -3) (GUSTONE, 2007), este também encontrado em sementes selecionadas (linho, canola, nozes e soja) (RUSSO, 2009). O óleo de peixe apresenta alto conteúdo de ácidos graxos  $\omega$ -3, sendo particularmente rico em ácido eicosapentaenoico e o docosahexaenóico (BHAGAVAN, 2002), ausente nas fontes vegetais de  $\omega$ -3. Fontes dietéticas de ácidos graxos  $\omega$ -6 ainda incluem as aves, ovos, castanhas, cereais, linho (óleo de linhaça), colza (óleo de canola), sementes de abóbora, castanha de caju e a maior parte dos óleos vegetais (cânhamo, soja, algodão, semente de girassol, milho e cártamo). Porém, nos últimos anos, a composição das diferentes fontes de gordura variou menos que no passado, pois a alimentação de animais de produção fornece um único ácido graxo essencial nas rações, o linoleico ( $\omega$ -6). Portanto, o valor dos vários óleos e gorduras em rações linear com menor custo de formulação é totalmente dependente em seu conteúdo de energia metabolizável (EM), o qual dependente da sua digestibilidade e absorção. No entanto, os estudos sobre a digestibilidade dos ingredientes nessa espécie ainda é um aspecto não tão bem conhecido (CARCIOFI e JEREMIAS, 2010) e a escassez de informações faz com que as formulações sejam baseadas nos nutrientes brutos e não nos disponíveis (SÁ-FORTES *et al.*, 2010), necessitando de informações sobre os valores de biodisponibilidade (MORRIS e ROGERS, 2004), a fim de aperfeiçoar a utilização dos ingredientes nas formulações (FAHEY, 2003).

Este trabalho foi conduzido para determinar a digestibilidade de diferentes fontes de óleos utilizados em rações para cães: soja (OS), frango (OF), canola (OC) e peixe (OP).

## **4.2.4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.2.4.1. Local do experimento**

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal – LZNA do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias – CCTA da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

### **4.2.4.2. Dietas experimentais**

Para avaliação das rações com diferentes fontes de óleos, foi adquirido um alimento específico, extrusado em planta comercial e sem adição final de óleo, com quantidades fixas de milho integral moído, quirera de arroz, farelo de trigo, farinha de carne e osso, farinha de víscera, hidrolisado de frango, suplemento vitamínico-mineral, calcário calcítico e fosfato bicálcico (tabela 1).

As rações foram formuladas para apresentar 6% de EE (tabela 2), de modo que, desse total 5% fosse proveniente de uma das quatro fontes de óleo estudadas: soja (OS), frango (OF), canola (OC) ou peixe (OP). A adição final de gordura ocorreu pelo desenvolvimento de um sistema de pulverização, tendo acoplado a sua saída, um tubo flexível, de material atóxico, com diâmetro de 3/4 de polegadas. A composição nutricional das rações experimentais superou as recomendações da AAFCO (2004).

### **4.2.4.3. Animais**

Foram utilizados oito cães adultos da raça Border Collie, fêmeas e machos, não castrados, sadios e desverminados, com peso médio de 15 kg e idade média de dois anos. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas medindo 1,44 m<sup>3</sup>, com fundo vazado, visando separar as fezes da urina.

Tabela 1 – Composição das rações experimentais, em porcentagem da MN

Ingrediente %	Óleo de soja	Óleo de frango	Óleo de canola	Óleo de peixe
Fonte de óleo	5	5	5	5
Milho	28,45	28,45	28,45	28,45
Farinha de carne e ossos	4,17	4,17	4,17	4,17
Farinha de vísceras	14,92	14,92	14,92	14,92
Arroz	22,3	22,3	22,3	22,3
Trigo	16,25	16,25	16,25	16,25
Fosfato bicálcico	4,01	4,01	4,01	4,01
Calcário	0,5	0,5	0,5	0,5
Hidrolisado de frango	2	2	2	2
Premix vit-mineral	0,5	0,5	0,5	0,5
Iodato de cálcio	0,5	0,5	0,5	0,5
Sorbato de potássio	0,5	0,5	0,5	0,5

Tabela 2 - Composição química das dietas experimentais<sup>1</sup>, com base na MS

Nutriente	Óleo de soja	Óleo de frango	Óleo de canola	Óleo de peixe
Proteína bruta	17,18	16,94	16,63	16,65
Extrato etéreo hidrólise ácida	5,77	5,08	5,25	5,54
Matéria mineral	6,87	7,1	6,89	7,17
Fibra bruta	5,1	4,9	5,1	5,3
Extrato não nitrogenado	57,98	58,42	58,92	58,25

<sup>1</sup> Valores analisados

#### 4.2.4.4. Delineamento experimental

O delineamento experimental é o inteiramente casualizado com 4 repetições. Utilizou-se o esquema fatorial com 2 sexos e 4 alimentos, portanto, 8 tratamentos.

O modelo estatístico é:

$$y_{ijk} = m + s_i + a_j + sa_{ij} + e_{ijk}$$

$m$  = efeito da média

$s_i$  = efeito do sexo  $i = 1, 2$

$a_j$  = efeito do alimento  $j = 1, 2, 3, 4$

$sa_{ij}$  = efeito da interação sexo' alimento

$e_{ijk}$  = erro experimental, normal e independentemente distribuído com média 0 e variância  $\pi^2$

A interação significativa indica a dependência entre os fatores e, nesse caso, há a necessidade de fixar o sexo para o estudo dos alimentos.

Quando os fatores são independentes, o efeito de alimento é o mesmo em cada sexo e, neste caso, não existe a necessidade do desdobramento da interação.

Em ambos os casos, optou-se para o estudo dos rações considerando 3 contrastes ortogonais ou linearmente independentes.

$$C_1 = (\text{óleo vegetal}_1 + \text{óleo vegetal}_2) - (\text{óleo animal}_1 + \text{óleo animal}_2)$$

$$C_2 = \text{óleo vegetal}_1 - \text{óleo vegetal}_2$$

$$C_3 = \text{óleo animal}_1 - \text{óleo animal}_2$$

$$C_j = j = 1, 2, 3$$

#### 4.2.4.5. Protocolo experimental

Cada período experimental constou de 10 dias, sendo cinco dias para adaptação às condições experimentais e aos alimentos, adicionados de mais cinco dias para coleta de dados. O ensaio de digestibilidade foi conduzido pelo método da coleta total de fezes. A urina não foi coletada, sendo utilizado um fator de correção para estimativa da perda energética pela urina conforme a AAFCO (2004).

A água foi fornecida *ad libitum*, enquanto que a alimentação foi oferecida uma vez ao dia, às 09 horas, de acordo com o peso metabólico do animal, não havendo ocorrência de sobras. A quantidade fornecida por animal foi calculada com base nas necessidades de energia metabolizável diária de manutenção, segundo a equação:  $132 \times \text{peso corporal}^{0,75}$  (NRC, 2006).

As amostragens das rações foram realizadas diariamente nas fases de adaptação e de colheita. As fezes de cada animal foram colhidas uma vez ao dia durante o período de colheita, pesadas individualmente e congeladas em freezer (-15°C), originando ao final do período uma amostra composta de cada animal.

#### **4.2.4.6. Análises laboratoriais**

Ao término do experimento, as amostras compostas de fezes de cada cão foram descongeladas, homogeneizadas e secas a 55°C em estufa de ventilação forçada durante 72 horas. As amostras das rações e fezes foram analisadas para determinação dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB) e matéria mineral (MM) de acordo com SILVA & QUEIROZ (2002). A análise de extrato etéreo ácido (EEA) foi realizada segundo metodologia descrita pela AOAC (1995). A fração correspondente aos extrativos não nitrogenados (ENN) foi determinada pela fórmula:  $ENN\% = 100 - (\%UM + \%PB + \%FB + \%EEA + \%MM)$ , sendo UM o teor de umidade da amostra (100-%MS). A energia bruta (EB) das rações e fezes foi determinada em bomba calorimétrica. A energia metabolizável (EM) foi estimada segundo a AAFCO (2004):

$$EM \text{ (kcal/g)} = \{ \text{kcal/g EB ingerida} - \text{kcal/g EB das fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB das fezes}) \times 1,25 \text{ kcal/g}] \} / \text{g ração ingerida.}$$

Com base nos resultados laboratoriais obtidos foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), utilizando a equação proposta por MATTERSON et al. (1965):

$$CDA\% = [(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}) / \text{nutriente ingerido}] \times 100$$

#### **4.2.4.7. Análise estatística**

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o programa estatístico SAEG (2007), após as variáveis serem testadas quanto à normalidade do resíduo. Os coeficientes de digestibilidade aparente foram comparados por contrastes ortogonais, para  $\alpha \leq 5\%$  de probabilidade.

#### 4.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação para os CDA das cinco variáveis analisadas: matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e extrativos não nitrogenados (ENN). Foi observado efeito de sexo ( $P < 0,05$ ) sobre a digestibilidade para EE. Na Tabela 3, estão representados os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas experimentais com diferentes fontes de óleos.

Tabela 3 – Coeficientes de digestibilidade aparente de cães alimentados com rações contendo diferentes fontes óleo.

	Óleo de soja	Óleo de frango	Óleo de canola	Óleo de peixe
	Coeficientes de digestibilidade aparente			
Matéria Seca	62,88	64,89	62,55	65,44
Matéria Orgânica	62,13	64,02	61,82	64,87
Proteína Bruta	61,91	62,64	61,19	63,07
Extrato Etéreo	80,97	80,49	80,40	79,53
Extrativos não-nitrogenado	71,38	72,39	70,94	73,05

As dietas experimentais não apresentaram diferença significativa entre os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes analisados, embora a ração com adição do OP tenha apresentado um maior CDA para MS, MO, PB e ENN, seguido por OF, OS e OC, respectivamente. Na análise do CDA para EE, o alimento com a inclusão do OS apresentou valores mais elevados que OF, OC e OP, conforme ilustrado na Figura 1.

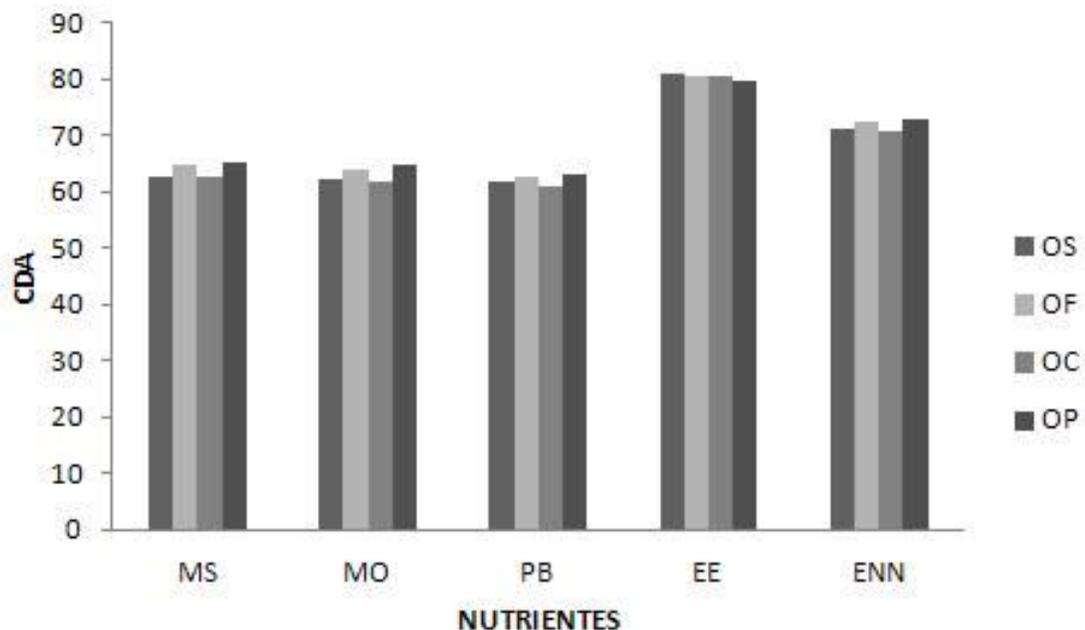


Figura 1: Coeficientes de digestibilidade aparente das rações experimentais para as cinco variáveis analisadas: matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e extrativo não nitrogenado (ENN).

Os CDA dos principais nutrientes refletem a digestibilidade da matéria seca. Segundo BROWN (1987) a digestão da matéria seca é geralmente de 5 a 8% menor que a digestibilidade da proteína, que em alimentos comerciais para cães é cerca de 75%, enquanto para a gordura estes valor é de 90%. KENDALL et al. (1982), encontraram CDA médios da MS, MO, PB, EEA e ENN de 77,0; 81,0; 77,0; 79,0% e 82,0%, respectivamente. O CDA da MS variou de 78,3 a 88,5%, da PB de 83 a 90,8% e do EEA de 88,5 a 93,5% (ZENTEK e MEYER, 1995), enquanto BROWN (1997) demonstrou que os CDA médios da MS foram de 85,9%, da PB de 85,3% e do EE de 96,6%. CARCIOFI et al. (2009), encontraram CDA médios da MS, MO, PB, EEA e ENN de 81,5 e 73,67%; 85,4 e 81,5%; 88,0, e 84,9%; 93,6 e 90,1% e 83,2 e 76,9%, para rações comerciais brasileiras do segmento super-premium e premium, respectivamente, enquanto o segmento econômico apresentou os respectivos CDA médios para MS, MO, PB, EEA e ENN e 59,25%, 64%, 66,2%, 72,6 e 69,2%, valores mais próximos aos encontrados no presente trabalho. Devido o baixo aproveitamento dos nutrientes, as dietas podem ser classificadas como inferior em relação à digestibilidade.

Na maioria das rações extrusadas para cães, a MS foi representada por 40 a 55% de amido (KRONFELD, 1975), cujas principais fontes são os grãos moídos, que apresentam pericarpo, germe e aleurona na sua constituição, conferindo lípides, fibras e cinzas (HOSENEY, 1994). No segmento econômico, os principais farelos vegetais utilizados são ricos em fibras, como os farelos de glúten de milho (CARCIOFI et al., 2006), trigo e soja (CARPIM e OLIVEIRA, 2009). Embora os cães tenham apresentado uma taxa de 11 a 33% de digestão da fibra em detergente ácido (KENDALL e HOLME, 1982), as características nutritivas deste nutriente dependem da composição dos seus açúcares, de seus tipos de ligação química, de fatores físico-químicos de digestão (VAN SOEST, 1994) e de seu processamento (HOLSTE et al., 1989; WOLTER et al., 1998).

Os grãos de cereais inclusos na composição básica das dietas experimentais, segundo a classificação de WYATT et al. (2004), bem como, CHOCT (2006), podem ser viscosos (trigo) ou não viscosos (milho e arroz). Este efeito deve-se, principalmente, aos polissacarídeos não-amídicos (PNAs), cuja porcentagem na ração está diretamente relacionada com a viscosidade da digesta intestinal (CANTOR, 1995), que foi diretamente relacionada com os PNAs em dietas para frango DUSEL et al. (1998). As fibras muito fermentáveis formaram géis no trato gastrintestinal que originaram complexos entre os grupos hidroxilo dos compostos fibrosos e outros nutrientes (FERNANDEZ e PHILLIPS, 1982; EASTWOOD, 1992). A diminuição da atividade das enzimas endógenas foi devido a interação com os pentosanos (NAHAS e LEFRANÇOIS, 2001), um impedimento estereoquímico à hidrólise enzimática (COLONNA et al., 1992), com efeito negativo sobre a digestibilidade das rações (BROWN, 1987; EARLE et al., 1998; CASTRILLO et al., 2001 e CARCIOFI et al., 2009).

A viscosidade apresentada pelo trigo foi classificada como superior (ZANELLA, 1998). Em frangos, o aumento da inclusão deste ingrediente na ração elevou a viscosidade da digesta (ALLEN et al., 1996 e DUSEL et al., 1998). Embora o farelo de trigo necessite de mais informações a respeito de sua digestibilidade em cães, o elevado nível de inclusão deste ingrediente poderia responsabilizá-lo pela baixa digestibilidade dos nutrientes.

O arroz e o milho são ingredientes que, de uma maneira geral, os cães aproveitaram melhor os nutrientes (TWOMEY et al., 2002; SÁ-FORTES, 2006 e CARCIOFI, et al., 2008). No entanto, o milho integral moído, principal ingrediente

presente na composição básica das rações experimentais também deve ter contribuído com o aumento dos PNAs insolúveis, cuja inclusão conduziu a uma diminuição na digestibilidade dos nutrientes (BURROWS, et al., 1982, FAHEY et al., 1990a e FAHEY et al., 1990b), provavelmente por reduzirem o tempo de permanência da digesta (MOURINHO, 2006). Nos grãos integrais, as frações fibrosas (% de MS) que incluíam uma fração de celulose se correlacionaram negativamente com o CDA da MO em cães (EARLE et al., 1998), enquanto os ingredientes com uma quantidade relativa de lignina, apresentaram CDA da MS reduzido em 1 a 3 vezes (VAN SOEST, 1970).

Embora o arroz tenha proporcionado maior CDA dos nutrientes da dieta que o milho (TWOMEY et al., 2002; OLIVEIRA, 2008), a variação na proporção de seus dois polímeros formadores, amilose e amilopectina, influenciaram profundamente as propriedades físico-químicas e metabólicas do arroz (ZHOU et al., 2002). Ensaios *in vitro* demonstraram que o amido rico em amilose apresentou hidrólise inferior (LEE et al., 1994) e os grânulos de amido contendo 32% de amilose tiveram hidrólise inferior ao dos grânulos contendo 5% (KABIR et al., 1998). No arroz, a maior proporção de amilose no amido contribuiu para a menor digestibilidade em cães (BELAVER et al., 1997) e, assim, o arroz de grão longo, devido à sua maior proporção de amilose, demonstrou menor digestibilidade (BELAY et al., 1997). Entretanto, PANLASIGUI et al. (1991) observaram diferenças nas propriedades físico-químicas (gelatinização) do amido para cultivares com semelhante teor de amilose e concluíram que o conteúdo deste composto, por si só, não é um bom preditor da taxa de digestão e resposta a glicose e insulina para o arroz. Estas diferenças devem-se, principalmente, a escassez de informações sobre o tipo de tratamento ao qual o alimento foi submetido (JENKINS, 1988), apesar de estar amplamente estabelecido que o processamento do amido seja fundamental ao aproveitamento deste nutriente, incluindo moagem e gelatinização (OWSLEY et al., 1981 e FADEL et al., 1988).

A amilose é reconhecidamente o polissacarídeo do trigo e, assim, dois fatores assemelham a químera de arroz e o farelo de trigo: (a) composição do amido, ambos apresentando maior proporção de amilose e (b) quantidade das frações solúveis dos PNAs, como os arabinosídeos,  $\beta$  - glucanos e  $\alpha$  - galactosídeos, que estão presentes em diferentes concentrações nos cereais (ANNISON, 1991) e em maior quantidade nos farelos de arroz e trigo (CHOCT e ANNISON, 1992).

No presente trabalho, foi observado elevado teor de FB nas rações experimentais e baixo CDA para todos os nutrientes. Estes resultados corroboram com aqueles encontrados por BURROWS et al. (1982), os quais demonstraram que o aumento do teor de fibra dietética em rações para cães reduziu o valor da digestibilidade da MS, assim como, com os achados de BURKHALTER et al. (2001) que observaram uma diminuição no CDA da MS e da MO. Embora a fibra insolúvel não tenha sido relatada em afetar a digestibilidade da proteína, a fibra solúvel, tais como a pectina, diminuiu a digestibilidade da proteína total do trato em cães (MEYER et al., 1989; MUIR et al., 1996 e SILVIO et al., 2000). Assim, as fontes de carboidrato utilizadas nas rações experimentais do presente trabalho podem ter contribuído para a baixa digestibilidade da proteína, inclusive.

Rações do segmento econômico são formuladas de modo a reduzir custos. Os produtos apresentaram menos proteína e extrato etéreo e mais fibra bruta e matéria mineral que rações do segmento super – premium e premium (CARPIM e OLIVEIRA, 2009; CARCIOFI et al., 2009), caracterizando-os como de menor densidade nutricional. O alto teor de MM na composição química das dietas experimentais e os baixos valores de digestibilidade da MS encontradas neste trabalho corroboram a relação negativa entre os teores de MM e os CDA da MS observada por CARCIOFI et al. (2009). Os valores encontrados neste estudo estão de acordo com aqueles reportados por CASE e CZARNECKI-MAULDEN (1990), os quais encontraram CDA da PB de 65,9% em dietas à base de farelo de soja, farinha de carne e ossos e farinha de vísceras. Entretanto, a variação foi grande entre os resultados de diversos trabalhos que estudaram a farinha de carne e ossos como principal ingrediente proteico, chegando a apresentar diferenças entre os extremos de 8,5% (JOHNSON et al., 1998; MURRAY et al., 1997), enquanto para a farinha de vísceras de frango foi de 12% (YANKA et al., 2003a; CLAPPER et al., 2001; JOHNSON et al., 1998; MURRAY et al., 1997; ZUO et al., 1996; CASE e CZARNECKI-MAULDEN, 1990). Essas variações podem ser reflexo direto da qualidade proteica dos ingredientes de origem animal empregados na composição básica das dietas experimentais, tanto pelas concentrações de aminoácidos, em g / kg, que variou entre os alimentos, como resultado da diferente composição de aminoácidos da fração proteica (KROGDAL et al., 2004), como também a elevada concentração de minerais atribuídos às fontes de proteína utilizadas. Segundo JOHNSON et al. (1998), a digestibilidade de todos os aminoácidos essenciais da

farinha de carne e ossos foi menor (5 – 18%) para as fontes com maior concentração de minerais, provavelmente, devido as diferentes inclusões de carne, ossos, couro e pelos neste tipo de ingrediente. Assim, um dos critérios na avaliação das fontes proteicas de origem animal são a relação proteína : matéria mineral (COWELL et al., 2000), uma vez que grandes quantidades de cálcio, fósforo e magnésio, limitam a sua inclusão na fórmula. Entretanto, o mesmo não foi observado para subprodutos avícolas, pois neste ingrediente não foram encontradas diferenças entre alta e baixa cinzas (JOHNSON et al., 1998). Porém, a farinha de vísceras de frango pode apresentar diferentes proporções de cabeça, pescoço, pés, dorso, intestinos e até a inclusão indevida de penas, podendo levar a redução de qualidade, em função da reduzida digestibilidade deste tecido em cães e, assim, também deve ter contribuído para os baixos CDA dos nutrientes nas rações experimentais.

O processamento dos ingredientes de origem animal na graxaria, notadamente a temperatura, pressão e tempo utilizados, também podem comprometer sua qualidade (SHIRLEY e PARSONS, 2000). A farinha de cordeiro apresentou menor digestibilidade dos aminoácidos devido a extensão do aquecimento durante o processo de reddenrização e secagem (JOHNSON et al., 1998), enquanto, proteínas vegetais, adequadamente processadas, apresentaram CDA iguais ou superiores aos ingredientes de origem animal (CLAPPER et al., 2001 e CARCIOFI et al., 2006). Diferenças entre batidas e, principalmente, fornecedores, também foram responsáveis pela baixa digestibilidade observada em subprodutos da carne (PARSON et al., 1997; SHIRLEY e PARSONS, 2000 e JOHNSOSN et al., 1998).

A digestibilidade aparente da gordura bruta geralmente é alta em cães. BROWN et al. (1997) em uma amostragem com seis alimentos comerciais e com perfil de nutrientes e ingredientes análogos encontraram valores superiores a 95% para a digestibilidade da gordura. No presente trabalho, os valores encontrados para o CDA do EE nas quatro dietas experimentais corroboram HUBER et al. (1986), no qual rações do tipo seco e extrusada, comercialmente disponíveis, apresentaram de 70 - 90% de digestibilidade aparente da gordura.

Segundo CARCIOFI et al. (2009), a digestibilidade média da gordura para rações super-premium e premium foi superior a 90%, enquanto o segmento econômico apresentou média inferior a 75%. Uma possível explicação para as

diferenças observadas pode estar contida na análise dos rótulos destes tipos de produtos. Ainda segundo CARCIOFI et al. (2009) os produtos do segmento super-premium e premium possuíam em sua formulação uma proporção maior de ingredientes de origem animal em comparação aquelas classificadas como econômicas. Então, as rações nas quais se constatou maior participação dos farelos vegetais (econômicas) apresentaram menor digestibilidade da gordura. Portanto, a quantidade e o tipo de fibra ingerido são importantes na determinação da assimilação de nutrientes nos cães (BURROWS et al., 1982), uma vez que a digestibilidade da gordura foi 7% menor em cães alimentados com uma dieta baseada em cereais em relação à carne (MERRITT et al., 1979). Assim, a adição progressiva da fibra diminuiu a digestibilidade aparente da gordura (BURROWS et al., 1982). O CDA para EE também diminuiu com o aumento de PNAs na fração fibrosa do alimento (MUIR et al., 1996). A digestibilidade foi menor em cães alimentados com 7,5% de polpa de beterraba quando comparados com animais que ingeriram um alimento contendo uma mistura com baixa celulose (2,5% celulose + 5% pectina), uma com alta celulose (5% celulose + 2,5% pectina) ou com 7,5% de celulose (MUIR et al., 1996). Então, o milho integral moído, o farelo de trigo e a quirera de arroz, que somados representaram 67% da composição básica das rações testadas, contribuíram com suas frações solúveis de hemicelulose:  $\beta$  - glucanos e arabinosilanos. Em frangos, o aumento na viscosidade da digesta reduziu a emulsificação e absorção das gorduras (SMITHS e ANNISON, 1996) e levou a uma depleção da digestão deste nutriente (CONTE et al., 2002), uma possível explicação para o ocorrido nos cães.

As gorduras mais listadas nos produtos super-premium foram as de frango e peixe, enquanto a gordura animal estabilizada foi a mais frequente nos premium e constituiu a base do extrato etéreo dos produtos econômicos (CARCIOFI et al., 2009). Diferenças sutis no CDA do EE podem existir, também, dependendo do tipo e da concentração da gordura dietética. Assim, a absorção de gorduras compostas por ácidos graxos de cadeias longas é mais afetada pelo tipo de fibra do que os poliinsaturados ou ácidos graxos de cadeia média (TAVERNARI et al., 2008). A utilização de rações com 35% da MS em forma de gordura dietética originária do sebo bovino diminuiu a digestibilidade de 95 para 81-86% quando o teor de gordura total na forma de ácidos graxos insaturados subiu de 40 para 50% (MEYER et al., 1992). O sebo, possivelmente listado com o nome de gordura animal estabilizada

nas rações, teve menor digestibilidade do que as fontes que apresentaram maior insaturação, como a gordura de aves e os óleos vegetais (PEACHEY et al., 1999). Embora possa considerar a diferença entre as gorduras animal (saturada e monoinsaturada) e vegetal (insaturada), assim como a composição química dos óleos adicionados as quatro rações testados neste trabalho (OS e OC – oleico, linoleico e linolênico; OF e OP – oleico e palmítico), não foi observada diferença significativa na comparação entre os coeficientes de digestibilidade aparente para a gordura nas rações com adição de gordura animal (OF – 80,49% e OP – 79,53%) ou óleos vegetais (OS 80,97% e OC – 80,40%), incluindo a comparação de ingredientes dentro de uma mesma categoria. Estes resultados corroboram com as observações de HILL et al. (2001), nas quais a digestibilidade total da gordura foi inalterada, independentemente de sua fonte, seja da proteína vegetal texturizada de soja ou aquela originada da carne vermelha, em cães canulados.

Os resultados deste trabalho demonstram que dentro de um mesmo grupo (fêmea e macho) não houve diferença significativa entre digestibilidade para MS, MO, PB e EE para as quatro rações experimentais (OS, OF, OC e OP). Estes resultados vão de encontro aos achados de SHIELDS (1993), os quais sugerem que a ingestão do alimento e a produção fecal foram maiores para machos que para as fêmeas, enquanto a digestibilidade dos nutrientes é menor para cães machos. O estudo em cães sobre o efeito do sexo na digestibilidade de nutrientes está limitado ao trabalho deste autor.

A ração na qual foi adicionado óleo de peixe (OP) apresentou maior CDA para MS, MO, PB e ENN, seguido por aqueles que incluíram óleo de frango (OF), óleo de soja (OS) e óleo de canola (OC), respectivamente. Na análise do CDA para EE, o alimento com a inclusão do OS apresentou valores mais elevados que OF, OC e OP. Entretanto, não houve diferença estatística significativa entre os CDA para nenhum dos parâmetros observados.

#### **4.2.6. CONCLUSÕES**

As quatro fontes de gordura avaliadas são adequadas para uso na alimentação de cães. As rações comparadas neste trabalho não apresentaram diferenças quanto à digestibilidade aparente dos nutrientes.

#### 4.2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, T.A. e KRUGER, J.M. (2000) Enfermedad felina de las vias urinarias. In: HAND, M.S.; THATCHER, C.D.; REMILLARD, R.L. (Eds.) Nutrición clinica en pequeños animales. 4.ed. Bogotá: Panamericana, 2000. p.811-845.
- ANNISON, G. (1991) Relationship between the levels of soluble nonstarch polysaccharide and the apparent metabolizable energy of wheats assayed in broiler chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 1254-1256.
- ANNISON, G. e CHOCT, M. (1991) Anti-nutritive activies of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. *World's Poultry Science Journal*, Beekbergen, v. 47, n. 4, p. 232 - 242.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO (2004). Official Publications. Arlington,
- BAUER, J. E. , DUNBAR, B. L. e BIGLEY, K. E. (1998). Dietary flaxseed in dogs results in diferencial transport and metabolism of (n-3) polyunsaturated fatty acids. *Journal Nutrition*, 128: 2641S.
- BELAY, T., SHIELDS Jr, R.O., KIGIN, P. D. e BRAYMAN, C.A. (1997) Evalution of nutrient digestibility and stool quality of rice (*Oryza sativa*) based canine diets. *Veterinary Clinical Nutrition*, v.4, n.4, p.122-129.
- BELLAVER, C; FIALHO, E.T.; PROTAS, J.F.S. e GOMES, P.C. (1985) Radícula de cevada na alimentação de suínos em crescimento e terminação<sup>1</sup>., *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v. 20 (8), Brasília, agosto 1985.
- BHAGAVAN, N. V. (2002) *Medical Biochemistry*. Pp.: 388. 1016 p.
- BROWN R. G. (1987) Digestibility of Pet Foods. *Canine Veterinary Journal*. Volume 28, No. 6.
- BROWN, R.G. (1997) A comparison of certified and noncertified pet foods. *Canadian Veterinary Journal*, v.38, n.11, p.707-712.
- BURKHALTER, T. M.; MERCHEN, N. R.; BAUER, L. L. (2001) The ratio of insoluble to soluble fiber components in soybean hulls affects ileal and total-tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs. *Journal of Nutrition*, v. 131, p.1978-1985.
- BURROWS, C.F.; KRONFELD, D. S. e BANTA, C. A. (1982) Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. *Journal of Nutrition*, v. 112, n. 9, p. 1726-1732.

- CANTOR, A. (2005) Enzimas usadas na Europa, Estados Unidos e Ásia. Possibilidades para uso no Brasil. In: Ronda Latino Americano de Biotecnologia, 5, 1995, Curitiba, 1995. p.: 31 - 42
- Carciofi, a. c. e Jeremias, j. t. (2010) Progresso científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. Revista brasileira de zootecnia, volume 39, p. 35 - 41.
- CARCIOFI, A. C., TAKAKURA, F. S. e DE-OLIVEIRA, L. D. (2008) Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and postprandial glucose and insulin response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*.
- CARCIOFI, A.C., PONTIERI, R., FERREIRA, C.F. e PRADA, F. (2006) Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, p. 754-760, 2006.
- CARCIOFI, A.C.; TESHIMA, E. e BAZOLLI, R.S. (2009) Qualidade e digestibilidade de alimentos comerciais de diferentes segmentos de mercado para cães adultos. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.10, p.489-500.
- CARPIM, W. G. e OLIVEIRA, M. C. (2009) Qualidade nutricional de rações secas para cães adultos comercializadas em Rio Verde – GO. *Revista Biotemas*, 22 (2).
- CASE, L. P. e CZARNECKI-MAULDEN, G.L. (1990) Protein requirements of growing pups fed practical dry-type diets containing mixedprotein sources. *American Journal of Veterinary Research*, v.51, n.5, p. 808 - 812.
- CASTRILLO, C.; VICENTE, F. e GUADA, J.A. (2001) The effect of crude fibre on apparent digestibility and digestible energy content of extruded dog foods. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.85, n.7-8, p.231-236.
- CHOCT, M. (2006) Enzymes for the feed industry: past, present and future. *World's Poultry Science Journal*, volume 62, p. 5 - 15.
- CLAPPER, G.M.; GRIESHOP, C.M.; MERCHEN, N.R. (2002) Ileal and total tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs as affect by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. *Journal of Animal Science*, v.79, p.1523-1532.
- COLONNA, R.; TATONE, C. e FRANCIONE, A. (1997) Protein kinase C is required for dissappearance of MPF upon artificial activation in mouse eggs. *Mol. Rep. Dev.*, v.48, p.292-299, 1997.

- CONTE, A. J., TEIXEIRA, A. S. BERTECHINI, A. G., FIALHO, E. T. e MUNIZ, J. A. (2002) Efeito da fitase e xilanase sobre a energia metabolizável do farelo de arroz integral em frangos de corte. *Ciência Agrotécnica*, Lavras, n. 6, p. 1289 - 1296.
- CORBIN, J. (2000). *Petfood and feeding*. Pp. 72 - 76 em 2000 Feedstuffs Reference Issue. Minnetonka, Minn.: Rural Press Limited.
- COWELL, C.S., STOUT, N.P., BRINKMANN, M.F., MOSER, E.A. e CRANE, S.W. (2000) Making commercial pet foods. In: HAND, M.S.; THATCHER, C.D.; REMILLARD, R.L.; ROUDEBUSH, P. *Small animal clinical nutrition*. 4.ed. Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p.127-146.
- DUSEL, G., KLUGE, H., JEROCH, H. e SIMON, O. (1998) Xylanase supplementation of wheat-based rations for broilers: influence of wheat characteristics. *Journal of Applied Poultry Research*, Athens, volume 7, número 2, p.: 119 - 131.
- EARLE, K.E; KIENZLE, E.; OPITZ, B.; SMITH, P.M. e MASKELL, I.E. (1998) Fiber affects digestibility of organic matter and energy in pet foods. *Journal of Nutrition*, v.128, n.12 p.2798-2800.
- EASTWOOD, M. A. (1992) The physiological effect of dietary fiber: na update. *Annual Review of Nutrition*, 12: 19 - 35.
- EUCLYDES, R.F. (1983) *Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas)*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1983. 59p.
- FADEL, J., NEWMAN, C. W. e NEWMAN, R. K. (1988) Effects of extrusion cooking of barley on ileal and fecal digestibilities of dietary components in pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 68, p. 891-897.
- FAHEY Jr., G. C.; MERCHEN, N. R. e CORBIN, J. E. (1990a) Dietary fiber for dogs: 1- Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *Journal of Animal Science*, v. 68, n. 12, p. 4221-4228.
- FAHEY Jr., G. C.; MERCHEN, N. R. e CORBIN, J. E. (1990b) Dietary fiber for dogs: 2- Iso-total dietary fiber (TDF) additions of divergent fiber sources to dogs diets and their effects on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *Journal of Animal Science*, v. 68, n. 12, p. 4229-4235.

- FAHEY, G.C. (2003) Research needs companion animal nutrition. In: KVAMME, J.L.; PHILLIPS, T.D. (Eds.) Pet food technology. Mt. Morris: Illinois, p.135-140.
- FERNANDEZ, R. e PHILLIPS, S. F. (1982). Components of fiber impair iron absorption in the dog. *American Journal Clinical Nutrition*, 35: 107 - 112.
- FUNK, C. D. (2001) Prostaglandins and Leukotrienes: Advances in Eicosanoid Biology. *Science* 294 (5548): 1871–1875.
- GUILBOT, A e MERCIER, C. (1985). Starch. Pp. 209 - 282 em *The polysaccharides*, G. O. Aspinall, ed. New York: Academic Press.
- GUNSTONE, F. (2007) Oilseed markets: Market update: Palm oil. *INFORM (AOCS)* 18(12): 835-836.
- HOLSTE, L. C.; NELSON, R. W. e FELDMAN E. C. (1989) Effect of dry, soft moist, and canned dog foods on postprandial blood glucose and insulin concentrations in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v. 50, p. 984-989.
- HOSENEY, R.C. (1994) Minor constituents of cereals. In: *Principles of cereal science and technology*. 2nd ed. Sant Poul: American Association of Cereal Chemistry.
- HUBER, T.L., WILSON, R.C. e McGARITY, S.A. (1986) Variations in digestibility of dry dog foods with identical label guaranteed analysis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v.22, n.5, p.571-575.
- JENKINS, D. J.; WOLEVER, T. M.; TAYLOR, R. H. (1981) Glycemic index of foods: A physiological basis for carbohydrate exchange. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 34, p. 362-366.
- JOHNSON, M.L., PARSON, C.M. e FEHEY JR., G.C. (1998) Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ilealy cannulated dogs. *Journal of Animal Science*, v.76, n.4, p.1112-1122.
- KABIR M, RIZKALLA SW, CHAMP M, LUO J, BOILLOT J, BRUZZO F E SLAMA G. (1998) Dietary amylose-amylopectin starch content affects glucose and lipid metabolism in adipocytes of normal and diabetic rats. *Journal of Nutrition*, v.128, n.1, p.35-43.
- KENDALL, P.T; HOLME, D.W. e SMITH, P.M. (1982) Methods of prediction of the digestible energy content of dog foods from gross energy value, proximate analysis and digestive nutrient content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.33, n.9, p.823-831.

- KROGDAHL, A., AHLSTROM, O. e SKREDE, A. (2004) Nutrient digestibility using mink as a model. *Journal of Nutrition*, v.134, n.12, p.2141-2144.
- KRONFELD, D. S. (1975) Nature and use of commercial dog foods. *Journal of the American Veterinary Medical Assoc.*, v. 166, p. 487-493.
- LEE, D., YU, A.H.C., WONG, K.K.Y. E SADDLER, J.R. (1994) Evaluation of the enzymatic susceptibility of cellulosic substrates using specific hydrolysis rates and enzyme adsorption. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 45/45, 407–415.
- MAYER, H., BEHFELD, T., SCHUNEMANN, C. e MUEHLUM, A. (1989) Intestinal metabolism of water, sodium and potassium. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 19: 109 - 119.
- MERCIER, C. e FEILLIT, P. (1975) Modification of carbohydrate components by extrusion cooking of cereal products. *Cereal Chemical*, 52: 283 - 297.
- MERRITT AM, BURROWS CF, COWGILL L E STREETT W. (1979) Fecal fat and trypsin in dogs fed a meat-base or cereal-base diet. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 174 (1): 59 - 61.
- MEYER, H. e SCHUNEMANN, C. (1989) Food composition and the precaecal and postileal digestibility of organic matter. *Advances in Animal Physiology and Animal Nutrition*. n. 19, p. 14-23.
- MEYER, H., ZENTEK, J. e FREUDENTHAL, U. (1992) Digestibility of beef tallow in dogs. *Wien. Tierarzt. Monat*, 19: 202.
- MORRIS, M. e ROGERS, Q. (1994) Assessment of the nutritional adequacy of pet foods through the life cycle. *Journal nutrition*, 124: 2520S - 2534S.
- MOURINHO, F. L. (2006) Avaliação da casca de soja com ou sem adição de complexo enzimático para leitões na fase de creche. 2006. 55 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 2006.
- MUIR, H.E., MURRAY, S.M., FAHEY, G.C.Jr., MERCHEN, N.R. e REINHART, G.A. (1996) Nutrient digestion by ileal cannulated dogs affected by dietary fibers with various fermentation characteristics. *Journal of Animal Science*. v. 74, n. 7, p. 1641-8.
- MURRAY, S.M., PATIL, A.R. e FAHEY JR., G.C. (1997) Raw and rendered animal by-products as ingredients in dog diets. *Journal Animal Science*, v.79, n.9, p.2497-2505.

- NAHAS, J. e LEFRANÇOIS, M. R. (2001) Effects of feeding locally grown whole barley with or without enzyme addition and whole wheat on broiler performance and carcass traits. *Poultry Science*, Champagin, volume 80, número 2, p. 195 - 202.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrients requirements of warmwater fishes and shellfishes. Washington D.C.: Academy Press, 1993. 102p.
- OLIVEIRA, L.D., CARCIOFI, A.C., OLIVEIRA, M.C.C., VASCONCELLOS, R. S., BAZOLLI, R.S., PEREIRA, G.T. e PRADA, F. (2008) Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. *Journal of Animal Science*, v.86, p.2237-2246.
- OWSLEY, W.F., KNABE, D.A. e TANKSLEY Jr, T.D. (1981) Effect of sorghum particle size on digestibility of nutrients at the terminal ileum and over the total digestive tract of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, v. 52, n. 3, p. 557-566.
- PANLASIGUI LN, THOMPSON LU, JULIANO BO, PEREZ CM, YIU SH E GREENBERG GR. (1991) Rice varieties with similar amylose content differ in starch digestibility and glycemic response in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 54:871-877.
- PARSONS, C.M., CASTANON, F. e HAN, Y. (1997) Protein and amino acid quality of meal and bone meal. *Poultry Science*, v.76, p.361-368.
- PEACHEY, S.E., DAWSON, J.M. e HARPER, E.J. (199) The effect of aging on nutrient digestibility by cats fed beef tallow, sunflower oil or olive oil enriched diets. *Growth, Development and Ageing*, v.63, n.1-2, p.61-70.
- PIOMELLI, D. (2000) Arachidonic Acid. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. Retrieved 2006-03-03.
- ROCKEY, G. e HUBER, G. (1994) Petfood. Pp. 479 - 493 em *Feed Manufacturing Technology IV*. Arlington, Va.: American Feed Industry Association.
- RUSSO , G. L. (2009) Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical Pharmacology*, 77 (6): 937 – 946.
- SÁ FORTES, C. M. L., CARCIOFI, A. C., SAKOMURA, N. K., KAWAUCHI, I. M., VASCONCELOS, R. S. (2010) Digestibility and metabolizable Energy of Some Carbohydrate Sources for dogs. *Animal Feed Science and Technology*, volume 156, p.: 121 - 125.

- SHIELDS, R. G. (1993) Digestibility and metabolizable energy measurement in dogs and cats. Pp. 21 - 35 in *Proceedings Petfood Forum' 93*. Mt. Morris, Ill.: Watt publishing Co.
- SHIRLEY, R.B. e PARSONS, C.M. (2000) Effect of pressure on amino acid digestibility of meat and boné meal for poultry. *Poultry Sciences*, v.79, p.1775-1781.
- SILVIO, J., HARMON, D.L., GROSS, K.L. e McLEOD, K.L. (2006) Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. *The International Journal of Applied and Basic Nutritional Sciences*. v.16, n.4, p.289-295, 2000. Disponível em:  
<<http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/nut/article/PIIS0899900799002981/abstract>>. Acesso em: 22 mar 2006.
- SMITHS, C. H. N. e ANNISON, G. (1996) Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. *World's Poultry Science Journal*, London, volume 52, número 2, p. 203 - 221.
- SOBERMAN, R. J. E CHRISTMAS, P. (2003) The organization and consequences of eicosanoid signaling. *The Journal of Clinical Investigation*, 111 (8): 1107–1113.
- STRYER L, TYMOCZKO JL, BERG JM. (2004) *Bioquímica*. 5.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2004. 1059p.
- TARDIN, A. C. (2002) Dietas com alta proteína e gordura na alimentação de cães e gatos. In: *SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E ALIMENTOS PARA CÃES E GATOS, 2002*, Lavras. Anais... Lavras: UFLA, 2002. p. 37-46.
- TAVERNARI, F. C., CARVALHO, T. A., ASSIS, A. P. e LIMA, H. J. D. (2008) Polissacarídeo não-amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. *Revista eletrônica Nutritime*, v. 5, n. 5, p. 673 - 689.
- TWONEY, L. N., PETHICK, D. W., ROWE, J. B., CHOLT, M., PLUSKE, J. R., BROWN, W., LAVISTE, M. C. (2002) The use of sorghum and corn as alternative to rice in dog foods. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v. 132, n. 6, p. 1704-1705.
- VAN SOEST, P. J. (1970) The role of silicon in the nutrition of plants and animals. *Proceedings of the Cornell Nutrition Conferenca*, p. 103 - 109, 1970.
- VAN SOEST, P.J. (1994) *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press. 476 p.

- WALDRON, M. K. (1999) Dietary fat effects on canine neutrophil membrane fatty acid composition and cell functions. Ph.D. dissertation, Texas A&M University, College Station.
- WOLTER, R.; DO SOCORRO, E.P. e HOUDRE, C. (1998) Faecal and ileal digestibility in the dog diets rich in wheat or tapioca starch. *Recueil de Medicine Veterinaire*, v. 174, n.5-6, p. 45-55.
- WYATT, C. L., ARABA, M. e BEDFORD, M. (2004) Current advances in feed enzymes for corn-soya based poultry and swine diets: emphasis on cell wall and phytata. In: 65th Minnesota Nutrition Conference.
- YANKA, R.M.; JAMIKORN, U.; TRUE, A.D. (2003a) Evaluation of low-ash poultry meal as a protein source in canine foods. *Journal of Animal Science*, v.81, n.9, p.2279-2284.
- YANKA, R.M.; JAMIKORN, U.; TRUE, A.D. (2003b) Evaluation of soybean meal as a protein source in canine foods. *Animal Feed Science and Thecnology*, v.109, p.121-132.
- ZANELLA, I. (1998) Suplementação enzimática em dietas a base de milho e sojas processadas sobre a digestibilidade de nutrientes e desempenho de frangos de corte. 1998. 179 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias.
- ZENTEK, J. e MEYER, H (1995) Normal handling of diets: are all dogs created equal? *Journal of Small Animal Practice*, v.36, n.8, p.354-359.
- ZUO,Y.; FEHEY JR., G.C; MERCHEN, N.R. (1996) Digestion responses to low oligosaccharide soybean meal by illealy cannulated dogs. *Journal of Animal Science*, v.7, p.2441-2449.