

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE VERDADEIRA DE
AMINOÁCIDOS EM FONTES PROTÉICAS PARA CÃES

Autor: Ana Paula Vaz Nunes
Orientador: Prof. Dr. Cláudio Scapinello

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal

MARINGÁ
Estado do Paraná
Novembro – 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE VERDADEIRA DE
AMINOÁCIDOS EM FONTES PROTÉICAS PARA CÃES

Autor: Ana Paula Vaz Nunes
Orientador: Prof. Dr. Cláudio Scapinello

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal

MARINGÁ
Estado do Paraná
Novembro – 2009

Á
Deus
Alicerce em minha vida

Aos
Meus pais Antonio e Carmen
por nunca terem medido esforços
para eu chegar até aqui

Á
minha família
pelo apoio e motivação.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À empresa Nutriara Alimentos Ltda, pela oportunidade e apoio para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Cláudio Scapinello, meu orientador, pela oportunidade e imenso aprendizado.

À Universidade Federal do Paraná, pela disponibilidade do canil LENUCAN e laboratório de análises, em especial ao Prof. Alex Maiorka.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Zootecnia, pelos valiosos ensinamentos.

Ao colega de curso Marcelino e Nancy, pela amizade e dedicação.

Aos funcionários do laboratório da Universidade Estadual de Maringá, Universidade Federal do Paraná, da Nutriara e especialmente a Kerry Bioscience na Holanda, pelo auxílio na realização das análises.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ANA PAULA VAZ NUNES, filha de Antonio Nunes Filho e Carmen Beatriz Vaz Nunes, nasceu em Maringá, Paraná, no dia 30 de maio de 1983.

Cursou o ensino fundamental e o ensino médio no colégio Regina Mundi, em Maringá/PR.

Em dezembro de 2006, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2007, iniciou o Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá.

Submeteu-se, em dezembro de 2009, à banca para defesa da Dissertação de Mestrado.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
I – INTRODUÇÃO.....	5
1.1 – Proteínas e fontes protéicas.....	9
1.2 – Utilização e qualidade das farinhas e farelos.....	13
1.3 – Metodologias para determinação da digestibilidade aparente e verdadeira dos alimentos para cães.....	17
1.4 – Perda endógena.....	18
1.5 – Análises de aminoácidos.....	22
1.6 – Referências Bibliográficas.....	25
II – OBJETIVOS GERAIS.....	33
III – Avaliação da diestibilidade verdadeira de aminoácidos em fontes protéicas para cães.....	34
RESUMO.....	34
ABSTRACT.....	36
Introdução.....	37
Material e métodos.....	39
Resultados e Discussão.....	49
Conclusão.....	59
Referências Bibliográficas.....	60

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo determinar a digestibilidade verdadeira dos aminoácidos do farelo de soja, farelo de glúten de milho 60%, farinha de carne e ossos e farinha de vísceras de frango para cães adultos da raça Beagle. Foram utilizados doze cães da raça Beagle, com 4 anos de idade e peso vivo médio de 13,39 kg alojados, individualmente em gaiolas metabólicas. Para obtenção dos valores de digestibilidade aparente, foram elaboradas cinco dietas experimentais, uma referência e outras quatro dietas testes em que as fontes protéicas avaliadas foram incorporadas nas dietas teste, substituindo, aproximadamente, 30% da matéria seca das matérias primas de origem animal e vegetal da dieta referência, mantendo um núcleo fixo semelhante em todas as dietas, composto por minerais, vitaminas e aditivos. Na primeira etapa todos os animais receberam a dieta referência. Na segunda etapa, os doze animais passaram a receber as quatro dietas teste, num esquema de quadrado latino 4x4, (quatro dietas x quatro períodos) com três repetições por período. Cada período, tanto na primeira como na segunda etapa, teve duração de 10 dias, sendo cinco dias de adaptação e cinco dias de coleta de fezes e urina, totalizando 50 dias experimentais. Um segundo experimento foi conduzido para quantificar as perdas endógenas, e assim, determinar os valores dos coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos dos ingredientes protéicos avaliados. Foram utilizados 12 cães adultos com idade entre 4 e 5 anos, da raça Beagle, com peso médio de 13,39 kg ($\pm 1,73$), alojados individualmente em gaiolas metabólicas em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (dietas com 1,127; 6,674; 14,267 e 18,647% de proteína bruta) tendo a caseína hidrolizada enzimaticamente (CHE) como fonte única de proteína e duas repetições no tempo,

totalizando seis repetições por tratamento. Cada período teve duração de 10 dias, sendo cinco dias para adaptação às dietas e cinco dias de coleta de fezes, perfazendo um total de 20 dias experimentais. Nos períodos de adaptação os animais foram mantidos quatro dias em baias coletivas com acesso à área de exercício e, no último dia do período de adaptação foram colocados nas gaiolas para o período de coleta. As dietas foram constituídas por uma mistura de pó + óleo, apresentando uma consistência pastosa. Por isso, as dietas foram assadas em forno, para que adquirissem uma forma mais consistente. Em relação as perdas endógenas, apenas os aminoácidos isoleucina, serina e metionina apresentaram um aumento linear na excreção conforme elevou-se o nível de proteína bruta da dieta. Não houve diferença nos valores de digestibilidade verdadeira para qualquer dos aminoácidos da farinha de carne e ossos, independente dos níveis de proteína bruta das dietas experimentais utilizadas para avaliação das perdas endógenas. Apenas os coeficientes de digestibilidade verdadeira da serina da farinha de vísceras de aves aumentaram linearmente com os níveis crescentes de proteína oriunda da CHE utilizada nas dietas para avaliação das perdas endógenas. Para os demais aminoácidos não houveram qualquer diferença nos resultados dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro. Apenas os coeficientes de digestibilidade verdadeira da prolina do farelo de glúten de milho 60% aumentaram linearmente com os níveis crescentes de proteína oriunda da CHE utilizada nas dietas para avaliação das perdas endógenas. Para os demais aminoácidos não houveram diferenças nos resultados dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro. Não foram observadas diferenças nos resultados dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro de qualquer dos aminoácidos do farelo de soja calculados considerando as perdas endógenas utilizando dietas com níveis crescentes de proteína oriunda da CHE. Diante dos resultados pode-se concluir pela possibilidade de utilização da CHE como única fonte de proteína em dietas para avaliação das perdas endógenas de nitrogênio e determinação de coeficientes de digestibilidade verdadeiros até o nível máximo estudado (18,67% de PB) sem afetar os resultados de coeficientes de digestibilidade verdadeiros dos alimentos avaliados.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the true digestibility of amino acids from soybean meal, corn gluten meal 60%, meat and bone meal and chicken offal to Beagle adult dogs. We used twelve Beagle dogs, 4 years old and live weight of 13.39 kilograms housed individually in metabolic cages. To obtain the values of apparent digestibility it was prepared five experimental diets, a reference and four test diets in which protein sources were incorporated into test diets, replacing about 30% of the dry raw materials of animal and vegetable diet reference, maintaining a fixed core similar in all diets, composed of minerals, vitamins and additives. In the first stage all animals received control diet. In the second step, the twelve animals began to receive the four test diets in a Latin square design 4x4 (four x four diet periods) with three replicates per period. Each period, both the first and second stages, lasted 10 days, five days of adaptation and five days of collection of feces and urine, adding up 50 experimental days. A second experiment was conducted to quantify the endogenous losses, and thus to determine the coefficients of true digestibility of amino acids of the protein ingredients evaluated. We used 12 adult dogs aged 4 and 5 years, Beagle, with an average weight of 13.39 kg (\pm 1.73), housed individually in metabolic cages in a completely randomized design with four treatments (diets with 1.127, 6.674 , 14.267 and 18.647% crude protein) and enzymatically hydrolyzed casein (CHE) as the sole source of protein and two replications in time, a total of six replicates per treatment. Each period lasted 10 days, five days for diet adaptation and five days of feces collection, a total of 20 experimental days. In periods of adaptation, the animals were kept for four days in collective pens with access to the exercise area and on the last day of the induction period were placed

in cages for the collection period. Diets were composed of a mixture of powder + oil, with a pasty consistency. Therefore, the diets were baked in an oven, to acquire a more consistent way. For the endogenous losses, only the amino acids isoleucine, serine and methionine showed a linear increase in the excretion increased as the level of crude protein diet. There was no difference in the values of true digestibility of amino acids for any of the meat and bones, regardless of protein levels of the experimental diets used to evaluate endogenous losses. Only the true digestibility coefficients of serine meal poultry by increased linearly with increasing levels of protein coming from CHE used in diets for evaluation of endogenous losses. For the other amino acids there was no difference in the results of true digestibility. Only the true digestibility coefficients of proline in corn gluten meal 60% increased linearly with increasing levels of protein coming from CHE used in diets for evaluation of endogenous losses. For the other amino acids there were no differences in the results of true digestibility. There were no differences in the results of the true digestibility of any amino acids of soybean determined considering the endogenous losses using diets with increasing levels of protein coming from CHE. Before the results can be concluded that the possibility of using the CHE as the only protein source in diets for evaluation of endogenous losses of nitrogen and determination of true digestibility coefficients to the maximum level studied (18.67% CP) without affecting results of the true digestibility of foods evaluated.

I – INTRODUÇÃO

O mercado de produtos Pet no Brasil, apesar de relativamente recente, dá sinais de que em breve alcançará o sucesso obtido em outras regiões do planeta. O fenômeno de humanização dos animais de estimação aliado ao crescimento da população destes animais, proporcional ao crescimento da população brasileira faz com que este mercado se encontre em progressiva expansão.

O mercado petfood brasileiro é o segundo maior do mundo, com diversas indústrias atuando de forma contínua e significativa. De acordo com a ANFAL PET (Associação Nacional dos Fabricantes de Alimento Pet), em 2008, as indústrias de alimentos para animais contabilizaram um faturamento de US\$ 5,89 bilhões e produziram 1,78 milhões de toneladas de alimentos.

No entanto, o potencial do mercado brasileiro, de acordo com a associação, está muito além dos resultados conquistados, pois existem 31 milhões de cães e 15 milhões de gatos, com consumo potencial de 3,96 milhões de toneladas/ano. Neste sentido, os alimentos industrializados são oferecidos a apenas 45,32% dos animais de companhia, sendo os outros 54,68% alimentados com sobras de mesa.

Com a tendência de desenvolvimento deste mercado no país, surge a necessidade de pesquisas para o desenvolvimento de novos produtos e dietas adequadas destinados à esses animais.

Ao contrário dos animais destinados à produção de produtos para o consumo humano, os cães apresentam outras peculiaridades que devemos levar em consideração. Quando se trata de animais de companhia, os índices zootécnicos como ganho de peso e conversão alimentar não tem grande importância. Porém, é necessário obter informações sobre a digestibilidade dos nutrientes, que permita formulações de dietas capazes de proporcionar maior longevidade, melhor qualidade de vida, além de outros fatores que são relevantes para esses animais.

Considerando que os animais necessitam de nutrientes para sua manutenção, crescimento e reprodução, os ingredientes da dieta (denominada como alimento completo balanceado, conforme Instrução Normativa nº 9 de julho de 2003 do MAPA) têm a função de fornecer estes nutrientes para suprir as necessidades nutricionais do organismo do animal em condições saudáveis. Para isto, conhecer o valor biológico e a biodisponibilidade dos nutrientes nos ingredientes que compõem os alimentos é fundamental para um correto balanceamento das dietas para os animais de companhia sabendo-se das suas exigências nutricionais.

No entanto, para formular dietas específicas para uma determinada espécie é necessário um maior conhecimento a respeito das necessidades dietéticas para que, através dos ingredientes dietéticos, possam ser fornecidos os nutrientes necessários para o seu ótimo desenvolvimento. Dentre os nutrientes essenciais à nutrição de cães, a proteína apresenta um importante papel, sendo o segundo componente mais caro das rações.

As proteínas da dieta desempenham funções de extrema importância. Além de proporcionarem os aminoácidos essenciais que são utilizados na síntese de novas proteínas e no crescimento e reparação dos tecidos, as proteínas constituem a principal fonte de nitrogênio do organismo que é essencial para a síntese dos aminoácidos não essenciais e de outras moléculas que contém nitrogênio, como ácidos nucleicos, purinas, pirimidinas e certas substâncias neurotransmissoras (CASE et al., 1998).

Para cães, dez aminoácidos são essenciais: arginina (arg), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lis), metionina (Met), fenilalanina (Phe), treonina (Thr), triptofano (Thr) e valina (Val). A falta de aminoácidos essenciais em animais onívoros e cães resulta na redução do consumo de alimento (NRC, 2006).

A capacidade dos animais de utilização das proteínas como fonte de aminoácidos e nitrogênio é afetada tanto pela digestibilidade como pela qualidade das proteínas incluídas na dieta.

As proteínas de um alimento para cães podem ser de origem animal, vegetal ou uma combinação de ambos. Em geral, as proteínas de alta qualidade de origem animal proporcionam um equilíbrio superior de aminoácidos para os animais, em comparação com as proteínas vegetais. Porém, o grau de qualidade da fonte de proteína animal apresenta grande variação. Algumas características dos ingredientes, tais como a digestibilidade e a disponibilidade de aminoácidos, só podem ser determinados a partir de ensaios de digestibilidade (CASE et al., 1998).

As fontes protéicas normalmente utilizadas nos alimentos comerciais são frango e farinha de frango, vitela, farinha de carne e ossos, farinha de carne, farinha de glúten de milho, farelo de soja, levedura de cerveja entre outros. Os subprodutos de origem animal (farinhas) podem variar bastante em relação á quantidade de matéria não digerível que contêm, fator este que contribui para a variedade observada entre as fontes de proteína animal.

Normalmente os alimentos cuja principal fonte protéica é vegetal, são constituídos pela combinação de produtos de soja e farinha de glúten de milho. Este último, apesar de não ser tão digerível quanto os ingredientes protéicos de alta qualidade de origem animal, possui um conteúdo protéico superior a alguns produtos de origem animal de baixa qualidade, porém é deficiente em aminoácidos essenciais como lisina e triptofano. Já a soja possui níveis suficientes ou até elevados de todos os aminoácidos essenciais, exceto a metionina.

Alguns problemas metabólicos com conseqüências patológicas podem afetar drasticamente os animais que consomem alimentos formulados na base bruta levando, por exemplo, a doenças nutricionais quando um alimento é consumido por um longo

período (DZANIS, 1994). Por isso existe a necessidade de se realizar pesquisa a fim de se obter informações reais sobre a qualidade dos ingredientes, principalmente os protéicos, que são introduzidos nas rações normalmente em quantidades excessivas, acarretando, muitas vezes, prejuízos à saúde dos animais, além de elevar o custo.

A determinação dos coeficientes de digestibilidade dos alimentos representa uma medida qualitativa importante, pois determina a proporção de nutrientes biodisponíveis para os animais (CASE et al., 1998). Porém, a determinação de aminoácidos digestíveis nos alimentos para animais de companhia é uma ferramenta pouco utilizada pelos fabricantes de alimentos PET. Esta informação é de extrema importância para uma nutrição mais adequada aos animais, porém existem poucos resultados disponíveis.

É necessário reforçar que, este não é um fator econômico, e sim nutricional, para que possa ser oferecido aos animais dietas balanceadas que atendam as exigências nutricionais de aminoácidos, garantindo melhores resultados quanto à saúde geral dos animais. Além disso, o melhor ajuste do aproveitamento dos nutrientes pelos cães proporciona menor inclusão de ingredientes brutos, podendo em muitas vezes reduzir os custos de formulação. Para isto, existe a necessidade de pesquisas que avaliem as técnicas de análise, para que possam ser utilizadas por instituições de pesquisa e pelos fabricantes de alimentos.

O cão é classificado como um animal carnívoro, caracterizado por apresentar digestão principalmente enzimática, orientada para digerir proteínas e gorduras (CASE et al. 1995). Na classificação zoológica o cão pertence à classe Mammalia, ordem Carnívora, família Canidae, gênero Canis e espécie Canis familiaris. São animais adaptados à dietas concentradas e altamente digestíveis, sendo caracterizados por um intestino simples e curto (AHLSTROM & SKREDE, 1998). O cão é um animal carnívoro por definição mas onívoro por convenção. Assim, é melhor definido como carnívoro não estrito (MOHRMAN, 1979).

A história evolutiva dos cães comprova que há muito tempo, possuem uma dieta onívora, porém rica em proteína e gordura de origem animal. Ao serem domesticados, passaram a viver juntamente da sociedade humana, modificando bastante a sua alimentação ao longo dos séculos. Com o advento da agricultura, quantidades crescentes de cereais passaram a fazer parte também das dietas dos cães (TARDIN, 2002).

O aparelho digestivo do cão está totalmente voltado para a simplificação molecular dos alimentos (lipídios, protídios e glicídios) e a absorção dos nutrientes. O cão ingere os alimentos apanhando-os com a boca. Os dentes dos canídeos são especializados para a função da mastigação, porém, hoje em dia devido às mudanças na alimentação (onívora) é necessário apenas ao animal engolir sem praticamente usar a pré-digestão mecânica.

Os cães apresentam o estômago como o principal compartimento do trato digestório. Seu volume é grande em relação ao intestino, devido à alimentação carnívora do cão. No entanto, assim que o cão termina a refeição, seu volume aumenta e, quando totalmente distendido, pode ocupar a metade da cavidade abdominal.

As características das fezes dos cães podem ser afetadas de forma significativa pela quantidade e tipo de matéria indigerível presente na dieta do animal. A digestão bacteriana destes materiais produz diversos gases, ácidos graxos voláteis e outros subprodutos. Quando as proteínas chegam ao intestino grosso não digeridas, a degradação bacteriana ocasiona a produção das aminas indol e escatol. Além disso os aminoácidos sulfurados não digeridos ou fracamente digeridos produzem gás sulfídrico. Este gás, junto com o indol e o escatol, dão os intensos odores à matéria fecal e aos gases intestinais (CASE et al., 1998).

1.1 – Proteínas e fontes protéicas

As proteínas são compostos orgânicos essenciais e constituem aproximadamente 18% do peso corpóreo dos animais. São compostos de alto peso molecular formado por unidades básicas de aminoácidos ligadas por ligação peptídica (BEITZ, 1996).

As proteínas são de alta relevância para o cão em crescimento, a fim de sustentar o desenvolvimento de novos tecidos, principalmente o muscular. Dessa forma, é imprescindível que a dieta contenha níveis apropriados de todos os aminoácidos essenciais e também aporte suficiente de nitrogênio para a síntese endógena dos aminoácidos não-essenciais e outros compostos dependentes deste elemento químico (JOHNSON, 1993). O organismo tem a capacidade de sintetizar novas proteínas a partir dos aminoácidos, sempre que as células dos tecidos disponham de todos os aminoácidos necessários (CASE et al., 1997).

Após serem absorvidos, os aminoácidos em excesso não se acumulam em grandes quantidades no sangue, pois são rapidamente assimilados por células de todo organismo. Quase imediatamente após a entrada nas células, os aminoácidos são conjugados às proteínas celulares, sob a influência de enzimas intracelulares, de tal modo que a concentração daqueles que estão no interior das células sempre permanece baixa. Muitas das proteínas intracelulares podem ser decompostas em aminoácidos, em caso de necessidade, por enzimas que se denominam catepsinas. Estes aminoácidos, por sua vez, podem ser transportados novamente das células para o sangue (GUYTON & HALL, 1996).

As duas rotas metabólicas mais importantes de aminoácidos livres são a transaminação e a desaminação oxidativa. Na primeira o grupamento amino (NH_3) de um aminoácido é transferido para um alfa-cetoácido através de uma transaminase. Um exemplo de alfa-cetoácido é o alfa-cetoglutarato que ao receber o grupamento NH_3 de um aminoácido gera um outro aminoácido, no caso o glutamato. Este por sua vez pode perder o grupamento NH_3 novamente e regenerar o alfa-cetoglutarato, e neste caso o NH_3 seria direcionado á formação de uréia. No entanto, nem todos os aminoácidos sofrem transaminação como é o caso da lisina, treonina, prolina e hidroxiprolina, contribuindo assim para sua condição de essencialidade. No caso da desaminação oxidativa o processo é catalisado por enzimas aminoácido oxidases. Neste processo o aminoácido é oxidado no ponto em que se situa o grupamento amino provocando a sua liberação (GUYTON & HALL, 1996). Os aminoácidos desaminados podem seguir o metabolismo da glicose e dos ácidos graxos, gerando energia.

As proteínas acumulam diversas funções de extrema importância no organismo animal, como renovar e constituir as estruturas dos órgãos internos (osso, pele e músculos), veicular e transportar determinadas moléculas, constituir os hormônios que regulam o funcionamento dos mais diversos órgãos do corpo, anticorpos responsáveis pelo combate às doenças, transporte de nutrientes, entre outras. Além disto, aminoácidos livres conferem sabor e paladar aos alimentos através dos neuroreceptores dos cães (NRC, 2006).

Dietas com quantidades excessivas de proteínas podem propiciar alguns transtornos na homeostasia orgânica, como uma sobrecarga hepática e renal para eliminação de concentrações excessivas de catabólicos nitrogenados. Uma função

auxiliar das proteínas nos cães e gatos reside em trazer uma fonte de sabor. Em geral, quando o conteúdo em proteínas de uma dieta aumenta, o seu sabor e aceitação também aumentam.

Os ingredientes protéicos em alimentos industrializados para cães acabam por onerar as rações, especialmente quando se considera aspectos relativos a digestibilidade e equilíbrio de aminoácidos dos ingredientes (CARCIOFI, 2002). Isto ocorre porque além do aspecto quantitativo, devemos levar em conta o aspecto qualitativo das proteínas, ou seja, o seu valor nutritivo. O valor nutritivo de uma proteína depende de sua digestibilidade e de sua composição de aminoácidos essenciais, que devem estar em quantidades e proporções biodisponíveis adequadas (SGARBIERI, 1996).

Todos os alimentos industrializados apresentam proteínas em sua composição, porém, é exatamente a qualidade da proteína um dos fatores que diferencia as categorias de alimentos – básico, padrão, premium e super premium. Esta classificação foi publicada atualmente pela ANFAL PET (2008), onde foram definidos alguns padrões nutricionais que exigem valores mínimos de digestibilidade da matéria seca. Para isto, cada fabricante deverá apresentar laudos de digestibilidade para enquadrar o produto na categoria, e isto implica em uma demanda de testes de digestibilidade dos alimentos. Por isso, existe a necessidade de metodologias de pesquisa bem definidas assim como análises eficazes e rápidas.

Um dos fatores que podem limitar a utilização de fontes protéicas de origem vegetal é o teor de fibra. Outros fatores antinutricionais quando presentes nos ingredientes de origem vegetal também podem influenciar negativamente na disponibilidade dos nutrientes. Entre eles estão inibidores de enzimas, lectinas, taninos, fitatos, polissacarídeos não amiláceos, dentre outros (NUNES et al., 2001). Porém, alguns destes fatores são reduzidos e outros completamente retirados quando o ingrediente recebe adequado tratamento térmico, tornando-o um produto de bom valor nutritivo (BORGES et al., 2003).

Com relação á qualidade nutricional dos ingredientes de origem animal, dois fatores são importantes a serem considerados, o conteúdo de cinzas e a temperatura de processamento a que são submetidos (PARSONS et al., 1997). Alguns derivados animais podem conter excesso de matéria mineral que, por conseguinte podem diminuir

a digestibilidade do alimento, ressecar as fezes e elevar o conteúdo de cálcio, fósforo e magnésio, dificultando a formulação de dietas equilibradas (CARCIOFI, 2004).

CARCIOFI (2002) observou que o farelo de glúten de milho 60% e o farelo de soja apresentaram maiores coeficientes de digestibilidade aparente para a proteína bruta do que farinha de carne e ossos e farinha de vísceras em cães. SEIXAS et al. (2003) testaram dietas com fontes protéicas de origem vegetal contra dietas com fonte protéicas de origem animal, e observaram que as dietas com ingredientes de origem vegetal tiveram maiores valores de digestibilidade para a proteína bruta do que as dietas com fonte protéica de origem animal.

Este mesmo autor avaliou os coeficientes de digestibilidade aparente de fontes protéicas de uso corrente pela indústria brasileira de alimentos para cães e gatos. Os resultados obtidos mostraram que as fontes protéicas de origem vegetal apresentaram maiores coeficientes de digestibilidade da PB do que as fontes protéicas de origem animal. Estes resultados mostraram que, quando devidamente processados, alimentos de origem vegetal podem ser utilizados nos alimentos completos em substituição aos de origem animal, sem grandes diferenças no valor nutricional do produto.

SÁ-FORTES et al. (2005b) determinaram o valor nutricional do glúten de milho 60 para cães encontrando valor de 4.598 Kcal EM/Kg de MS e o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta de 92% . Sua inclusão nas dietas é limitada principalmente devido ao seu sabor desagradável.

CLAPPER et al. (2001) determinaram a digestibilidade para cães de diferentes produtos da soja e os compararam com a farinha de vísceras de frango. Os coeficientes de digestibilidade da proteína e dos aminoácidos totais foram similares para as dietas contendo proteína da soja, respectivamente 86,3% e 85,2% em média, sendo estes resultados melhores que os apresentados pela farinha de vísceras de frango, respectivamente 76,9% e 74,2% em média. Verificou-se então que a soja quando bem processada pode tornar-se uma fonte com adequado valor nutricional para cães.

1.2 - Utilização e qualidade das farinhas e farelos

A Indústria Brasileira de processamento de ingredientes de origem animal tem uma importante função de reciclar os produtos finais e resíduos de abate. A cada ano são processados cerca de 4,25 milhões de toneladas de subprodutos, com tendência de aumento devido ao aumento da produção de carne (BELLAVÉR & ZANOTTO, 2004) podendo causar sérios danos ao meio ambiente e enorme perda econômica, segundo VIEITES (2000), se não forem corretamente utilizados.

As fontes protéicas de origem animal são produtos de composição variada e sua qualidade nutricional esta diretamente relacionada com a origem das matérias-primas e do processamento utilizado. Por isso, o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), para padronizar e atender os objetivos de produção de alimentos seguros a partir de matérias-primas seguras estabeleceu através da normativa 15 de 2003 os procedimentos básicos de fabricação para os estabelecimentos que processam resíduos de animais para a produção de farinhas e gorduras destinadas á alimentação animal.

Entre os subprodutos de abatedouro encontra-se a farinha de carne e ossos, que apresenta elevado conteúdo protéico, entretanto, os valores obtidos na literatura mostram elevada variabilidade no conteúdo protéico e na composição aminoacídica deste subproduto. Segundo KNABE et al. (1989), esta variabilidade pode ser resultado de diferenças entre os materiais que compõem as farinhas, do método de processamento utilizado ou da combinação entre ambos.

A farinha de carne e ossos é uma excelente fonte de proteína, cálcio e fósforo (PARSONS, et al., 1997; SHIRLEY e PARSONS, 2001). Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2005) a Farinha de Carne e Ossos (FCO) é um ingrediente produzido por graxarias ou frigoríficos, sendo um subproduto da extração de gorduras a partir de ossos e outros tecidos da carcaça de animais (bovinos, suínos, ovinos, caprinos, eqüinos, bubalinos, etc) não aproveitadas para consumo humano. Este material é moído, cozido, prensado para extração da gordura e novamente moído. Não deve conter sangue, cascos, unhas, chifres, pêlos e conteúdo estomacal, a não ser os obtidos involuntariamente dentro dos princípios de boas práticas de fabricação. Não deve conter matérias estranhas à sua composição e o cálcio não deve exceder a 2,5

vezes o nível de fósforo. Quando produzida em frigoríficos, normalmente são utilizadas como matéria-prima, resíduo da desossa completa dos animais abatidos, e o tempo entre o abate e o processamento da farinha pode ser controlado, bem como as condições de estocagem do resíduo das carcaças até o momento do seu processamento. Quando produzida por graxarias, normalmente são utilizadas como matéria-prima, resíduo de carcaças de animais coletados em açougues e etc. Neste caso, não há controle das condições de estocagem do resíduo das carcaças até o momento de seu processamento.

Quando a farinha de carne e ossos apresentar menos de 25% de cinzas, ou menos de 3,8% de fósforo, o produto passa a ser denominado apenas de Farinha de Carne (FC), possuindo aproximadamente 55 a 60% de proteína (NUNES 1991, DIFISA 1989). Porém, segundo Souza (2006), o padrão das farinhas brasileiras podem variar de 36 a 55% de proteína bruta. Essa variabilidade na composição da farinha de carne e ossos confirma a necessidade de realização de análise a cada partida do ingrediente, o que inviabilizaria o uso prático dos valores de aminoácidos digestíveis tabelados pela indústria de rações (BELLAVÉR, 1989, citado por SILVA, et al., 2000).

Em função da encefalopatia espongiiforme bovina (EEB) a maioria dos países não permite que a farinha de carne e ossos seja utilizada como alimento para ruminantes, sendo destinada principalmente para alimentação de aves e suínos e na aquicultura (GARCIA, et al., 2006). Entretanto, como citado anteriormente, assim como as demais fontes protéicas de origem animal, na União Européia a farinha de carne e ossos foi banida da alimentação de animais que serão consumidos pelos seres humanos (TAYLOR e WOODGATE, 2003), sendo principalmente incinerada ou usada na alimentação de cães e gatos.

Enquanto baixas temperaturas nos sistemas de processamento da farinha de carne e ossos produzem ingredientes com qualidades nutricionais similares (HENDRIKS, et al., 2004), há um aumento no risco de príons de EEB continuarem ativos no produto final nestas condições de processamento (TAYLOR, et al., 1995). Os príons poderão ser destruídos durante ou após o processamento com o uso de altas temperaturas sob pressão de 30psi (200 kPa) por 30 minutos, entretanto, tal tratamento reduz a digestibilidade da lisina de 75% para 55% e da cistina de 65% para 30%.

CARCIOFI et al. (2007) realizaram um estudo, com cães, onde verificaram o efeito da esterilização da farinha de carne e ossos á temperatura de 133°C, durante 20 minutos com 3 bar de pressão no digestor. Utilizando galos cecotomizados, os resultados indicaram que não houve variação nos valores de digestibilidade da proteína e outros nutrientes. O mesmo ocorreu com a digestibilidade verdadeira em relação aos aminoácidos digestíveis.

POZZA et al. (2004) determinaram a digestibilidade ileal aparente e verdadeira de aminoácidos de farinhas de carne e ossos para suínos. Foram utilizados animais canulados no íleo terminal. Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da lisina, treonina e metionina, das diferentes farinhas de carne e ossos variaram de 54,87 a 74,80; 62,62 a 81,19 e 72,35 a 85,46%, respectivamente, e a variação entre os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira foram de 57,00 a 76,08; 66,26 a 83,07 e 73,76 a 86,39%, respectivamente, para a lisina, treonina e metionina. As farinhas de carne e ossos apresentaram grande variação, em função das diferentes amostras, quanto aos coeficientes de digestibilidade ileal aparentes e verdadeiros dos aminoácidos.

A farinha de vísceras pode englobar também aves de postura de descarte que são processadas inteiras como um único ingrediente, gerando um subproduto de composição diferenciada em função da grande quantidade de gordura, ossos e penas na sua constituição (LEESON e SUMMERS, 2005).

Por ser proveniente de apenas uma espécie, a composição da farinha de víscera é mais consistente em relação á farinha de carne e ossos (LEESON e SUMMERS, 2005), apresentando qualidade protéica comparável á esta. Por sua vez, comparando os níveis de cálcio e fósforo deste ingredientes de origem animal, os teores desses minerais na farinha de vísceras são significativamente inferiores.

Uma farinha de vísceras de boa qualidade contém de 58 a 63% de proteína bruta, 12 a 20% de gordura e de 23 a 28% de cinza (RAVINDRAN e BLAIR, 1993). NASCIMENTO et al. (1999) trabalhando com sete tipos de farinha de vísceras, encontrou uma grande variação na digestibilidade da lisina e metionina, de 64,5 a 90,53% e de 73,35 a 92,56%, respectivamente, atribuídas as variações nas condições de processamento.

Em relação às fontes protéicas de origem vegetal, podemos destacar o farelo de soja e glúten de milho 60, porém alguns cuidados devem ser tomados em relação à qualidade destes farelos, principalmente em relação ao farelo de soja, que necessita de processamento diferenciado para que possa ser empregado na alimentação animal. Existe uma variedade de produtos da soja no mercado que são utilizados na formulação de dietas para cães e outros com elevado potencial de utilização.

O farelo de soja é utilizado como a principal fonte protéica nas dietas de aves e suínos. Segundo BORGES et al. (2003), isto ocorre devido sua proteína de boa qualidade, disponibilidade de aminoácidos e a vasta gama de informações sobre sua composição. Para cães, este ingrediente também é amplamente utilizado, porém devido à pouca informação sobre sua digestibilidade para esta espécie, a inclusão nas dietas pode estar sendo subutilizada (SÁ-FORTES, 2005).

Existe preconceito em relação à utilização da soja e seus subprodutos na formulação em dietas para cães. Os fatores antinutricionais presentes na soja são apontados como as principais causas pela sua baixa utilização. Entre os mais importantes estão os inibidores de proteases (BOWMAN, 1944; KUNITZ, 1945; BIRK et al., 1963; LIENER & KAKADE, 1980), as hemaglutininas (LIENER, 1951; JAFFÉ, 1980), as saponinas, polissacarídeos não-amiláceos, lipoxigenases, ácido fítico, entre outros.

Segundo LIENER (1981) a maioria dos fatores antinutricionais da soja são termolábeis e, entre eles estão os inibidores de protease e as hemaglutininas. Destes, o inibidor de tripsina é o fator a que se atribui maior importância, pois quando é inativado pelo aquecimento, os demais fatores termolábeis já estão controlados (BORGES et al., 2003).

O processamento da soja além de eliminar os fatores termolábeis provoca a ruptura da parede celular liberando a proteína complexada, responsável pelo baixo aproveitamento da proteína de origem vegetal (MENDES et al., 2004). Porém, é necessário um controle de qualidade do processamento da soja pois o seu superprocessamento pode tornar alguns aminoácidos indisponíveis aos animais devido à reação de Maillard (PARSONS, 1992). Para obtenção deste controle de qualidade a

indústria de alimentos animal utiliza testes analíticos, como a atividade ureática e a solubilidade em KOH.

A atividade ureática é um teste bastante utilizado devido o seu baixo custo. Este teste tem como objetivo determinar o subaquecimento e a presença de fatores tóxicos da soja, onde 0,2 é o valor máximo de atividade de uréase recomendado pela ANFAR (1998). A solubilidade em KOH é recomendada para determinar o superaquecimento no processamento da soja. Segundo PARSONS et al. (1998), a recomendação é que a proteína solúvel fique entre 70 e 85%, onde valores abaixo indicam superaquecimento e valores acima indicam subaquecimento.

1.3 - Metodologias para determinação da digestibilidade aparente e verdadeira dos alimentos para cães

A digestibilidade de um determinado nutriente é determinada por meio dos ensaios de digestibilidade, que mensuram o desaparecimento de nutrientes à medida que circulam pelo sistema gastrointestinal e são absorvidos pelo organismo (CASE et al., 1995).

Os experimentos de digestibilidade podem ser realizados através de dois procedimentos básicos, o método convencional, ou de coleta total e o método dos indicadores (CHURCH & POND, 1988). No primeiro, são quantificadas a ingestão de alimento e a excreção de fezes, sendo determinada a proporção de nutrientes efetivamente digeridos e absorvidos. Quando é inconveniente ou impossível a coleta total de fezes ou a mensuração do alimento ingerido, utiliza-se o método dos indicadores. Este método consiste na utilização de uma substância de referência, o indicador adicionado ao alimento como o óxido crômico e o óxido férrico ou presentes naturalmente nos alimentos, como a sílica e a lignina (SIBBALD, 1982).

Pelo método de coleta total tem-se a necessidade de coletar totalmente as fezes além de quantificar todo o consumo alimentar durante o período experimental. Para realização destes ensaios de digestibilidade, há a necessidade de manter os animais em gaiolas metabólicas. Os coeficientes de digestibilidade são obtidos pela razão entre a quantidade de nutriente que “desapareceu” no trato gastrointestinal e o alimento ou nutriente ingerido.

1.4 - Perda endógena

A fim de se obter os valores de digestibilidade verdadeira, para que a formulação das dietas seja mais precisa e eficiente, é necessário a obtenção dos valores da perda endógena. As perdas endógenas de nitrogênio consistem principalmente em nitrogênio das enzimas digestivas, mucoproteínas, descamações dos enterócitos, albumina, peptídeos, aminoácidos, amidas e aminas (MOUGHAN & SCHUTTERT, 1991). Este nitrogênio também pode ser proveniente de pêlos ingeridos e/ou bactérias que não são consideradas fonte de nitrogênio endógeno.

Outra parcela significativa referem-se as perdas fecais de nitrogênio representadas pela fixação bacteriana e certos compostos nitrogenados, como amônia, uréia e proteínas diversas secretadas no lúmen intestinal (FRAPE, 1992; BERGNER; SCHWANDT; KRUGER, 1990; GAUSSERÉS et al., 1997).

O nitrogênio endógeno presente no trato digestório é proveniente de diversas regiões. O intestino delgado, seguido pelo pâncreas e pelas glândulas salivares, propicia a maior contribuição ao total de perda endógena de nitrogênio (SOUFFRANT, 1991). SOUFFRANT (1991) em uma revisão de literatura citou que a estimativa do total de nitrogênio que chega ao intestino varia consideravelmente, entre 16 e 33 gramas por dia em suínos em crescimento. Porém, em outra pesquisa, SOUFFRANT (1993), calculou a contribuição de nitrogênio endógeno da bile, pâncreas e outros tecidos do intestino como sendo 1,7; 1,9 e 7,1 gramas por dia, respectivamente.

As contribuições endógena e metabólica quantificadas em ensaios de metabolismo são relativas á descamações celulares e secreções gastrointestinais, que se expressam quimicamente, em quase sua totalidade, em grupos nitrogenados, somados a contribuição referente á ação da microbiota intestinal.

A secreção e/ou reabsorção de nitrogênio endógeno pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo peso corporal, idade, tipos de alimento, conteúdo e qualidade da proteína da dieta, conteúdo de fibras, consumo de matéria seca e presença de fatores antinutricionais.

Segundo SCHEEMAN et al. (1982) a inclusão de fibra na dieta resulta em aumento da descamação na mucosa intestinal e incremento na produção de muco, levando ao aumento na perda de aminoácidos endógenos. As secreções do intestino delgado, que incluem a mucina, têm contribuído com grande proporção de secreções endógenas de nitrogênio no intestino delgado (LI, et al., 1994).

SCHULZE et al. (1994), pesquisando o efeito do nível de fibra dietética no fluxo endógeno de nitrogênio, calcularam que a contribuição do nitrogênio bacteriano foi maior que 50% do nitrogênio total presente no íleo. Segundo HARMON (2007), o conteúdo de fibras fermentáveis no alimento pode interferir nas medidas da digestibilidade do nitrogênio. Isto ocorre devido à fermentação aumentada, que promove o aumento do crescimento microbiano, aumentando o nitrogênio nas fezes e reduzindo a digestibilidade aparente do nitrogênio.

A fibra, portanto, é considerada um dos fatores responsáveis pelo aumento da secreção endógena de aminoácidos, tanto pela descamação das células epiteliais, devido à sua natureza física (SHAH, et al., 1982), quanto pela adsorção de peptídeos, aminoácidos e enzimas digestivas (SCHEEMAN, 1978), além de estimular a produção de proteína de origem bacteriana (SCHULZE, et al., 1994).

O teor de proteína consumido na dieta também pode afetar as perdas endógenas de nitrogênio. EKLUND et al. (2008), trabalhando com seis níveis crescentes de proteína bruta obtidos com inclusão de caseína como única fonte protéica na dieta para leitões desmamados, encontraram valores lineares crescentes da recuperação de proteína bruta e de todos os aminoácidos, com exceção da glicina e cistina.

As perdas endógenas também podem ser influenciadas pelos níveis de lipídios na dieta. A presença de lipídios no duodeno estimula a produção de colecistocinina que, por sua vez, estimula a produção de bile e suco pancreático. Aumentada a secreção de suco pancreático, a quantidade de enzimas digestivas no intestino delgado será maior. Portanto, a adição de lipídios na dieta pode implicar no aumento das perdas endógenas devido a uma maior secreção de bile e suco pancreático (ALMEIDA, 2005).

HENDRICKS & SRITHARAN (2002), determinaram a digestão de nutrientes em vários locais do trato gastrointestinal utilizando animais sacrificados, registrando

diferenças significativas de digestibilidade de alguns aminoácidos como lisina e metionina, quando comparadas com amostras coletadas nas fezes e no íleo, indicando que o local de coleta de amostras afeta as estimativas de digestibilidade, principalmente de aminoácidos e nitrogênio.

Trabalhando com digestibilidade verdadeira de aminoácidos da farinha de carne e ossos em galos cecectomizados, VIEITES, et al. (2000) encontraram a seguinte variação para os coeficientes de aminoácidos limitantes de 6 amostras distintas de farinha de carne e ossos: 92,1 a 80,1% para a lisina, e 80,4 a 52,3% para a metionina e 85,6 a 68,5% para a treonina.

Em estudos realizados por ROSTAGNO et al. (1995), DOUGLAS e PARSONS (1999) e BATAL e LUMPKINS (2004) com frangos de corte, as rações formuladas com aminoácidos digestíveis proporcionaram melhor desempenho das aves em comparação com as rações formuladas com aminoácidos totais. Da mesma forma, KATHUN et al. (1999), constataram melhor produção de ovos de poedeiras alimentadas com rações formuladas com aminoácidos digestíveis, provavelmente em função de uma melhor precisão na sua formulação.

As perdas endógenas podem ser determinadas utilizando-se animais em jejum (SIBBALD, 1976) ou fornecendo dietas livre de nitrogênio (ROSTANGO et al., 1973, PAPADOPOULOS et al., 1983). Entretanto, PARSONS et al. (1982) ressalta que a produção de aminoácidos, nas aves em jejum, pode ser inferior a das aves alimentadas. Essa variação pode levar a erros nos valores da digestibilidade, principalmente quando o alimento possui baixa concentração de aminoácidos. Por outro lado, PAPADOPOULOS et al. (1985) relata que o método da dieta livre de nitrogênio baseia-se no princípio que a quantidade de aminoácidos excretados esta relacionada á quantidade de matéria seca consumida e não são influenciados pela presença de proteína do alimento. No entanto, PARSONS et al. (1983) afirmam que a composição da dieta isenta de nitrogênio afeta a excreção de aminoácidos pelas aves.

ROSTAGNO et al. (1999) mencionam a técnica da caseína hidrolisada enzimaticamente (CHE) para determinar a excreção de aminoácidos endógenos e metabólicos. Este produto contém aminoácidos e peptídeos, o que permite medir o fluxo de aminoácidos no íleo terminal em condições fisiológicas normais, ou seja, simula a

digestão de uma dieta normal e não subestima o nível de excreção dos aminoácidos endógenos.

O método da caseína hidrolisada enzimaticamente consiste em uma dieta de alta digestibilidade em função da proteína empregada (caseína) ser considerada 100% digestível. Pode ser usada para avaliar fatores específicos que afetam a perda endógena, como o teor de fibra, taninos, inibidores de tripsina e lectinas. Em função do pré-tratamento enzimático empregado sobre a caseína o produto apresenta pequenos peptídeos e aminoácidos livres, com massa molecular menor que 10.000 Daltons. Como geralmente é assumido que as proteínas endógenas apresentam massa molecular maiores que 10.000 Daltons, o uso da centrifugação e da ultrafiltração separaria estes componentes, considerando o material retido como os aminoácidos endógenos.

O método é criticado pelo fato da excreção endógena conter aminoácidos livre ou pequenos peptídeos menores que 10.000 Daltons, que, ao não serem retidos no filtrado, contribuiriam para subestimar o fluxo endógeno ou no erro do método (MOUGHAN, et al., 2005). Outra limitação do método é que a caseína hidrolisada enzimaticamente só pode ser utilizada com dietas semipurificadas, não podendo, portanto, ser usada juntamente com dietas práticas para avaliar os efeitos destas sobre a perda endógena de aminoácidos, por apresentarem em sua constituição fontes de proteína comumente utilizadas nas dietas (GABERT, et al., 2001).

BRITO (2007), realizou um trabalho com os objetivos de determinar os coeficientes de digestibilidade verdadeiro (CDV) da proteína bruta e de aminoácidos dos alimentos, de dietas completas e de aminoácidos sintéticos, ambos obtidos a partir da perda endógena, com a dieta livre de proteína (DLP), da DLP + aminoácidos e da dieta com caseína hidrolisada enzimaticamente.

Com exceção da metionina, arginina, leucina e fenilalanina, o uso da caseína hidrolisada enzimaticamente permitiu maior perda endógena dos aminoácidos e da proteína que a dieta livre de proteína, ajustando-se melhor. A maior perda endógena com o uso da caseína hidrolisada enzimaticamente foi observada por HENDRICKS, et al. (1996) em gatos, por HODGKINSON, et al. (2000) em suínos, por RAVINDRAN, et al. (2004) em frangos de corte e por MOUGHAN, et al. (2005) em humanos.

Ambas as técnicas, caseína hidrolisada enzimaticamente e dieta livre de proteína, possibilitam a estimativa das perdas endógenas de aminoácidos. A técnica da CHE permite a determinação da perda endógena de aminoácidos considerando que os

animais não estarão em catabolismo acentuado. O uso da dieta isenta de proteína, no entanto, produz aminoácidos catabólicos que alteram em maior proporção as perdas endógenas de aminoácidos.

RAVIDRAN, et al. (2004), observaram que as concentrações de arginina e treonina foram menores e a de lisina foi maior com o método da caseína hidrolisada enzimaticamente comparado ao da dieta livre de proteína. Estes mesmos autores comentam que as diferenças observadas entre os trabalhos onde foi utilizada a caseína hidrolisada enzimaticamente, podem ser devido a fonte de caseína, pois, diferentes coquetéis de enzimas proteolíticas utilizadas para produzir este produto podem produzir peptídeos hidrolisados de diferentes tipos e tamanhos.

Com gatos adultos, HENDRICKS et al. (1996), ao compararem a perda de nitrogênio endógeno intestinal, utilizando duas dietas, uma formulada isenta de proteína e outra á base de caseína hidrolisada, averiguaram perda de 2,4 e 3,6g por Kg de matéria seca ingerida, respectivamente. Em uma estimativa, esse valor representa que a cada Kg de matéria seca ingerida, os animais perderam aproximadamente 0,912 e 1,369g por Kg de peso metabólico.

HENDRICKS et al. (2002), utilizando dietas isentas de proteínas em cães e ratos, afim de comparar a excreção endógena ileal e fecal de aminoácidos, observaram que ocorre um aumento no fluxo de aminoácidos endógenos quando existe a presença de peptídeos no trato digestório.

1.5 - ANÁLISES DE AMINOÁCIDOS

As análises de aminoácidos envolvem as metodologias utilizadas para determinar a composição ou conteúdo de aminoácidos de proteínas, peptídeos, entre outros. Ela tem sido estudada nas ultimas décadas e, diversos métodos foram desenvolvidos cada qual com características próprias, vantagens e desvantagens que se aplicam a cada grupo de interesses específicos.

As análises de aminoácidos podem ser utilizadas para quantificar ou identificar proteínas e peptídeos baseado em sua composição de aminoácidos, para análise estrutural, para avaliar estratégias de fragmentação para mapeamento de peptídeos e para identificar aminoácidos atípicos que podem estar presentes em uma proteína ou peptídeo.

É necessário hidrolisar uma proteína ou peptídeo antes de realizar a análise de aminoácidos. Para quantificação de todos os aminoácidos, a hidrólise é feita três vezes separadamente. Neste método de determinação dos aminoácidos, a proteína é hidrolisada em aminoácidos individuais utilizando ácido hidrocloreídrico 6 N á uma temperatura de 110° C por um período de 18 a 24 horas. Contudo, metionina, cistina e triptofano, aminoácidos de extrema importância na produção animal, são destruídos durante este processo. Sendo assim, os aminoácidos sulfurados são analisados separadamente, após o processo de oxidação da proteína com ácido perbórmico, que converterá a metionina e cistina em, metionina sulfônica e ácido cístico, respectivamente, compostos estáveis sob hidrólise (PRATES, 2002).

O aminoácido triptofano é destruído no processo de hidrólise ácida, por isso deve ser analisado separadamente por meio de um procedimento analítico diferenciado (RAVINDRAN, et al., 2006), denominado de fase reversa do HPLC, que consiste em uma hidrólise alcalina com hidróxido de lítio na ausência de oxigênio. A precisão na determinação dos aminoácidos deve ser reprodutível com variação máxima de 3 a 4% (ISHIBASHI et al., 2001).

Um parâmetro limitante que permanece no desenvolvimento da análise de aminoácidos é a confiança na preparação dos hidrolisados protéicos para o método cromatográfico, principalmente quanto à eliminação dos reagentes da hidrólise. Os métodos utilizados para análise de aminoácidos são usualmente baseados na técnica de separação cromatográfica de aminoácidos presentes na amostra. As técnicas atuais de análise levam vantagem devido aos excelentes níveis de automatização dos equipamentos de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência HPLC.

Um ponto crítico da aplicação prática de conhecimentos científicos gerados no campo da nutrição animal é o controle analítico de alimentos e produtos. Por isso, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas rápidas e sensíveis que possam alimentar esse banco de dados (SALIBA, 2003).

As buscas por novas técnicas e alternativas de determinação da exigência de aminoácidos, que não sejam destrutivas e invasivas aos animais e que apresentem resultados satisfatórios e precisos vêm sendo buscados. Muitas destas técnicas podem ser melhoradas, tendo em vista a necessidade de ajustes para melhor determinação dos

coeficientes de utilização dos nutrientes. Em busca de resultados mais consistentes, o objetivo do presente trabalho é avaliar nutricionalmente fontes protéicas para cães utilizando a metodologia da coleta total de excretas e corrigir os valores da digestibilidade aparente de aminoácidos considerando as perdas endógenas.

1.6 - Referências Bibliográficas

AHLSTROM, O.; SKREDE, A. Comparative nutrient digestibility in dogs, blue foxes, mink and rats. **Journal of Nutrition**. v. 128, p. 2676-2677, 1998.

ALMEIDA, E.C. **Digestibilidade ileal e perdas endógenas de aminoácidos em dietas com óleo de soja para suínos em crescimento**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 57p. 2005.

ANFALPET. Associação Nacional dos fabricantes de alimentos para animais de companhia. **Perfil Petfood 2008**. São Paulo, SP. 2008.

ANFALPET Guia nutricional pet. **In: Guia de identidade e qualidade pet**. PIQPET. 2ª edição. São Paulo, SP, 2008.

ANFAR – ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE RAÇÕES. **Métodos analíticos de controle de alimentos para uso animal – método 08**. São Paulo, 1998.

BATAL, A.B.; LUMPKINS, B.S. Dietary Formulation with Poultry Meal based on total Amino acid versus a digestible amino acid basis. **Poultry Science**, v. 83, n. 10, p. 1806 (Abstr), 2004.

BEITZ, D.C. Metabolismo de proteínas e aminoácidos. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 430-446, 1996.

BELLAVER, C.; ZANOTTO, D. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos protéicos de origem animal. **Anais...** Santos, SP: APINCO, 2004.

BERGNER, H.; SCHWANDT, H.; KRUGER, U. Determination of a prececal N-absorption from natural feed by 15 N-labeled laboratory rats using the isotope dilution method. **Archiv fur Tierernahrung**, German, v. 40, n. 7, p. 569-582, 1990.

BIRK, Y.; KHALEF, S. A pure trypsin inhibitor from soybeans. **Biochemical Journal**, v.87, n. 2, p.281-284, 1963.

BORGES, S.A.; SALVADOR, D.; IVANOVSKI, R.A. In: Simpósio sobre nutrição de aves e suínos, 1., 2003, Cascavel. **Anais...** Cascavel, PR: CBNA, p. 21-66, 2003.

BOWMAN, D.W. Fractions derived from soybeans and navybeans which retard tryptic digestion of casein. **Proceedings Society Experimental Biology and Medicine**, v.57, p.139-140, 1944.

BRITO, C.O. **Avaliação de dietas formuladas com aminoácidos totais e digestíveis e estimativas do crescimento e da deposição de nutrientes em frangos de corte.** Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 174p. 2007.

CARCIOFI, A.C. Proteína na alimentação de cães e gatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 3, **Anais...**, Campinas, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p. 31-44, 2002.

CARCIOFI, A.C. Alimentos Industrializados para Cães e Gatos. In: 1º Ciclo de Educação Continuada em Medicina Veterinária, 2004, São Paulo. **Anais...** São Paulo, SP: FUMVET, p. 22-32, 2004.

CARCIOFI, A.C.; VASCONCELOS, R.S.; DE OLIVEIRA, L.D.; et al. Chromic oxide as a digestibility marker for dogs. A comparison of methods of analysis. **Animal and feed Science Technology**. v. (in press) 2007.

CASE, L.P.; CAREY, E.P.; HIRAKAWA, D.A. **Canine and feline nutrition: A resource for companion professionals.** St. Louis: Mosby. 455p, 1995.

CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutricion canina y felina: manual para profesionales.** Barcelona: Ed. Harcourt Brace, 7º Ed., p. 247-267, 1997.

CASE L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina – Manual para profissionais.** Madrid, Harcourt Brace, 424p, 1998.

CHURCH, D.C.; POND, W.G. **Basic animal nutrition and feeding.** 3 ed. New York: John Wiley. p. 17-64, 1988.

CLAPPER, G.M.; GRIESHOP, C.M.; MERCHEN, N.R.; RUSSETT, J.C.; BRENT, J.L.; FAHEY, G.C. Ileal and total tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. **Journal Animal Science**, v.79, n. 6, p.1523-1532, 2001.

DZANIS, D.A. The association of American Feed Control Officials dog and cat food nutrient profiles; Substantiation of nutritional adequacy of complete and balanced pet foods in the United States. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.124, p.2535s-2539s, 1994.

DOUGLAS, M. W., PARSONS, C. M. Dietary Formulation with Rendered Spent Hen Meals on a Total Amino Acid Versus a Digestible Amino Acid Basis. **Poultry Science**, v. 78, n. 4, p. 556-560, 1999.

EKLUND, M.; MOSENTHIN, R.; PIEPHO, H.P.; RADEMACHER, M. Effect of dietary crude protein level on basal ileal endogenous losses and standardized ileal

digestibilities of crude protein and amino acids in newly weaned pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. No prelo (2008).

FRAPE, D. **Nutricion y alimentacion de caballo**. Zaragoza: Acvibia, 1992.

GABERT, V.M.H.; JORGENSEN, AND C.M. NYACHOTI. Bioavailability of amino acids in feedstuffs for swine. In: A. J. Lewis and L.L. **Southern (ed.) Swine Nutrition**. 2 ed, p. 151-186, 2001.

GARCIA, R. A., et al. Characteristics of North American Meat and Bone Meal Relevant to the Development of Non-Food Applications. **Applied Engineering in Agriculture**, v.22, n.5, p.729-736, 2006.

GAUSSERÉS, N.; MAHÉ, S.; BENAMOUZIG, R. et al. [¹⁵N] – Labeled pea flour protein nitrogen exhibits good ileal digestibility and post prandial retention in humans. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 127, n. 6, p. 1160-1165, 1997.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Textbook of Medical Physiology**. 9 ed. [Philadelphia]: H. Brace, p.887-882, 1996.

HAND, M.S.; LEWIS, L.D.; MORRIS Jr., M.L. Nutrients. **In: Small Animal Clinical Nutrition III**. Edit.: Mark Morris Institute 3rd Edition, 1994.

HARMON, D.L. Experimental approaches to study the nutritional value of food ingredients for dogs and cats. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Jaboticabal, SP, 2007.

HENDRIKS, W.H.; MOUGHAN, P.J.; TARTTELIN, M.F. Gut endogenous nitrogen and amino acid excretions in adult domestic cats fed a protein-free diet or an enzymatically hydrolyzed casein-based diet. **Journal of Nutrition**, v. 126, n. 4, p. 955-962, 1996.

HENDRIKS, W.H.; SRITHARAN, K.; HODGKINSON, S.M. Comparison of the endogenous ileal and fecal amino acid excretion in the dog (*Canis familiaris*) and the rat (*Rattus rattus*) determined under protein-free feeding and peptide alimentation. **Journal Animal Physiology**. Anim. Nutr v. 86, n. 9-10, p. 333-341, 2002.

HENDRICKS, W.H.; SRITHARAN, K. Apparent ileal and fecal digestibility on dietary protein is different in dogs. Waltham International Symposium: Pet Nutrition Coming of Age. **American Society for Nutritional Sciences**. J. Nutr. v. 132, n. 6, p. 1692S-1694S, 2002.

HENDRIKS, W. H., et al. Source of the Variation in Meat and Bone Meal Nutritional Quality. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.17, n.1, p.94-101, 2004.

HODGKINSON, S.M.; MOUGHAN, P.J.; REYNOLDS, G.W.; JAMES, K.A.C. The effect of dietary peptide concentration on endogenous ileal amino acid loss in the growing pig. **Br. Journal Nutrition**, v. 83, n. 4, p. 421-430, 2000.

ISHIBASHI, T., et al. Possibility and Limitation of Amino Acid Nutrition in Poultry. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.14, p.164-175, 2001.

JAFFÉ, W.G. Hemagglutinins (Lectins). **In: Toxic constituents of plant feedstuffs.** Ed. Liener I.G. New York: Academic Press. p. 73-102, 1980.

JOHNSON, J.V. et al. **Necessidades protéicas del perro.** Waltham International Focus, London, v.3, n.1, p. 9-14, 1993.

KHATUN, A., ALI, M.A., DINGLE, J.G. Comparison of the nutritive value for laying hens of diets containing azolla (*Azolla pinnata*) based on formulation using digestible protein and digestible amino acid versus total protein and total amino acid. **Animal Feed Science and Technology**, v.81, n. 1-2, p.43-56, 1999.

KNABE, D.A.; LARUE, E.J.; GREGG, E.J. Apparent digestibility of nitrogen and amino acids in protein feed stuffs by growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.67, p.441-458, 1989.

KUNITZ, M. Crystallization of trypsin inhibitor from soybeans. **Science**, v.101, n. 2635, p. 668-669, 1945.

LEEK, B.F. Digestão no estômago dos ruminantes. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. Dukes **Fisiologia dos Animais Domésticos.** 11 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p.353-379, 1997.

LEESON, S; SUMMERS, J. D. **Commercial Poultry Nutrition.** 3rd ed, Guelph:University Books, 398 p, 2005.

LI, S.; SAUER, W.C.; HARDIN, R.T. Effect of dietary fibre level on amino acid digestibility in young pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v.74, n. 2, p.327-333, 1994.

LIENER, I.E. Soyin a toxic protein from the soybean. 1- inhibition of rat growth. **Journal of Nutrition.** v.49, p.527-540, 1951.

LIENER, I.E. The nutritional significance of the plant lectins. *In:* ORY, R.L. Antinutrients and natural toxicants in foods. Westport: **Food & Nutrition Press**, p.143-157, 1981.

LIENER, I.E.; KAKADE, M.L. protease inhibitors. **In: Toxic constituents of plants feedstuffs.** Ed. Liener I.E. New York: Academic Press. p. 7-71, 1980.

MENDES, W.S.; SILVA, I.J.; FONTES, D.O.; et al. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.2, p. 207-213, 2004.

MOHRMAN, R.K. **Alimentação de cães: Nutrição e Criação de cães e gatos.** São Paulo: Purina Alimentos, cap.2, 1979.

MOUGHAN, P.L.; SCHUTTERT, G. Composition of nitrogen-containing fractions in digesta from the distal ileum of pigs fed a protein-free diet. **Journal of Nutrition**, v.121, n. 10, p.1570-1574, 1991.

MOUGHAN, P.J.; BUTTS, C.A.; ROWAN, A.M.; DEGLAIRE, A. Dietary peptides increase endogenous amino acid losses from the gut in adults. **Am. Journal Clinical Nutrition**, v. 81, n. 6, p. 1359-1365, 2005.

NASCIMENTO, A. H. et al. Coeficientes de Digestibilidade e Valores de Aminoácidos Digestíveis Verdadeiros de Farinhas de Vísceras para Aves. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1999. Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, p. 27, 1999.

NASCIMENTO AH, GOMES PC, ALBINO LFT, ROSTAGNO HS, SOUZA CA. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis verdadeiros de farinhas de vísceras para aves. **Anais da Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas**. Campinas, SP. p. 27, 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, Protein and Amino Acids. **Nutrient requirements of dogs and cats**. National Academy of Sciences. Washington, p.111-144, 2006.

NUNES, R.V.; BUTERI, C.B.; NUNES, C.G.V.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. Fatores antinutricionais dos ingredientes destinados a alimentação animal. In: Simpósio sobre ingredientes na alimentação animal. **Anais...** Campinas, SP. CBNA, p. 235-272, 2001.

PAPADOPOULOS, Y.A.; MCKERSIE, B.D. A comparison of protein degradation during wilting and ensiling of six forage species. **Canadian Journal Plant Science**, v. 63, 1983.

PAPADOPOULOS, M.C. et al. Effect of different processing conditions on aminoacid digestibility of feather meal determined by chicken assay. **Ministério da Agricultura**, v.64, p. 1729-1741, 1985.

PARSONS, C.M.; POTTER, L.M.; BROWN, J.R. Effects of dietary protein and intestinal microflora and excretion of amino acids in poultry. **Poultry Science**, v.61, n.3, p.639-645, 1982.

PARSONS, C.M., POTTER, L.M.; BROWN, R.D.Jr. Effects of dietary carbohydrates and of intestinal microflora in excreta on excretion of endogenous amino acids by poultry. **Poultry Science**, v. 62, p. 483-489, 1983.

PARSONS, C.M.; CASTANON, F.; HAN, Y. Protein and amino acid quality of meal and bone meal. **Poultry Science**, v.76, n. 2, p.361-368, 1997.

PARSONS, C.M.; ZHANG, Y.; ARABA, M. Availability of aminoacids in high-oil corn. **Poult. Sci.**, v.77, N. 7, p.1016-1019, 1998.

PARSONS, C.M. Effects of overprocessing on availability of amino acids and energy in soybean meal. **Poultry Science**, v.71, N. 1, p. 133-140, 1992.

POZZA, P.C.; GOMES, P.C.; DONZELE, J.D.; et al. Digestibilidade ileal aparente e verdadeira de aminoácidos de farinha de carne e ossos para suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p. 1181-1191. 2004.

PRATES, H. T. **Metodologia para análise de aminoácidos protéicos em grãos de milho**. (Documentos , 22). 1^a ed. Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 18p., 2002.

RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H.; RAVINDRAN, G. et al. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v.80, n.3, p.338-344, 2001.

RAVINDRAN, V. e BLAIR, R. Feed resources for poultry production in Asia and Pacific. III Animal protein sources. **World Poultry Sciences Journal**, v.49, p. 219-235, 2003.

RAVINDRAN, V., HENDRIKS, W. H. Endogenous Amino Acid Flows at the Terminal Ileum of Broilers, Layers and Adult Roosters. **Animal Science**, v.79, p.265-271, 2004.

RAVINDRAN, G., RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. Total and Ileal Digestible Tryptophan Contents of Feedstuffs for Broiler Chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, n.7, p.1132-1137, 2006.

ROSTAGNO, H.S.; FEATHERSTON, W.R.; ROGLER, J.C. Studies on the nutritional value of sorghum grains with varying tannin contents for chicks. **Poultry Science**, v.52, n.2, p.765-772, 1973.

ROSTAGNO, H.S., NASCIMENTO, A.H., ALBINO, L.F.T. Aminoácidos totais e digestíveis para aves. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES, Campinas, SP, 1999. **Anais...** Campinas: FACTA, p.65-83, 1999.

SÁ-FORTES, C.M.L. **Valores nutricionais de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. Tese de Doutorado, UNESP, Jaboticabal/SP, 2005.

SÁ-FORTES, C.M.L.; SAKOMURA, N.K.; CARCIOFI, A.C.; FREITAS, E.V.V.; KAWAUCHI, I.M.; LEAL, N. Digestibilidade de ingredientes protéicos para cães. In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005, Goiânia: **Anais...** Goiânia, GO: SBZ, 2005b. CD-ROM.

SALIBA, E.O.S.; GONTIJO NETO, M.M.; RODRIGUES, N.M.; et al. Predição da composição química do sorgo pela técnica da Espectroscopia de Refletância no

Infravermelho Próximo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. V. 55, n. 3, 2003.

SCHEEMAN, B.O. Effect of plant fibre on lipase, trypsin and chymotrypsin activity. **Journal Food Science**, v.43, p.634-635, 1978.

SCHEEMAN, B.O.; RICHTER, D.B.; JACOBS, L.R. Response to dietary wheat bran in the exocrine pancreas and intestine of rats. **Journal of Nutrition**, v.112, p.283-286, 1982.

SCHULZE, H.; Van LEEUWEN, P.; VERSTEGEN, M.W.A. et al. Effect of level of dietary neutral detergent fiber on ileal apparent digestibility and ileal nitrogen losses in pigs. **Journal of Animal Science**, v.72, n. 9, p.2362-2368, 1994.

SEIXAS, J.R.C.; ARAÚJO, W.A.; FELTRIN, C.A.; MUCIO, C.R. Fontes protéicas para alimentos pet. In: III Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação. **Anais...** Campinas: CBNA, p.97-116, 2003.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, degradações, modificações**. 1ªed., São Paulo: Livraria Varela, 517p, 1996.

SHIRLEY, R. B., PARSONS, C. M. Effect of Ash Content on Protein Quality of Meat and Bone Meal. **Poultry Science**, v.80, n.5, p.626-632, 2001.

SHAH, N.; ATTALAH, M.; MAHONEY, R. et al. Effect of dietary fiber components on fecal nitrogen excretion and protein utilization in growing rats. **Journal of Nutrition**, v.112, n. 4, p.658-666, 1982.

SIBBALD, I.R. A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuffs. **Poultry Science**, v.55, n.1, p. 303-308, 1976.

SIBBALD, I.R. Measurement of bioavailable energy in poultry feeding stuffs: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 62, n. 4, p. 983-1048, 1982.

SILVA, R.; SAKOMURA, N.K.; BASAGLIA, R. et al. Equações de predição das exigências de proteína bruta para matrizes pesadas em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n.6, p. 2308-2315, 2000.

SUNVOLD, G.D.; FAHEY Jr, F.C.; MERCHEN, N.R.; BOURQUIN, D.; TITGEMEYER, E.C.; BAUER, L.L.; REINHART, G.A. Dietary fiber for cats: In vitro fermentation of selected fiber sources by cat fecal inoculum and in vivo utilization of diets containing selected fiber sources and their blends. **Journal of Animal Science**, vol. 73, p.2329-2339, 1995.

SOUFFRANT, W.B., SAUER, W.C., MOSENTHIN, R. et al. Effect of feeding different diets on the exocrine pancreatic secretion of nitrogen, amino acids and

enzymes in growing pigs. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 62, n. 3, p. 229-234, 1993.

TARDIN, A.C. 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.

TAYLOR, D. M., WOODGATE, S.L.; ATKINSON, M.J. Inactivation of the Bovine Spongiform Encephalopathy Agent By Rendering Procedures. **The Veterinary Record**, v. 137, n. 24, p. 605-610, 1995.

TAYLOR, D. M., WOODGATE, S. L. Rendering Practices and Inactivation of Transmissible Spongiform Encephalopathy Agents. **Revue Scientifique et Technique**, v. 22, n. 1, p. 297-310, 2003.

VIEITES, F.M. **Valores energéticos e de aminoácidos digestíveis de farinhas de carne e ossos para aves**. Viçosa, MG. Universidade Federal de Viçosa, 2000, 75p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2000.

II – OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho tem como objetivo a determinação da digestibilidade verdadeira dos aminoácidos do farelo de soja, farelo de glúten de milho 60%, farinha de carne e ossos e farinha de vísceras de frango para cães adultos da raça Beagle, utilizando dietas com diferentes níveis de caseína hidrolisada enzimaticamente (CHE) para avaliação das perdas endógenas.

Avaliação da digestibilidade verdadeira de aminoácidos em fontes protéicas para cães

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo determinar a digestibilidade verdadeira dos aminoácidos do farelo de soja, farelo de glúten de milho 60%, farinha de carne e ossos e farinha de vísceras de frango para cães adultos da raça Beagle. Foram utilizados doze cães da raça Beagle, com 4 anos de idade, alojados, individualmente, em gaiolas metabólicas. Para obtenção dos valores de digestibilidade aparente, foram elaboradas cinco dietas experimentais, uma referência e outras quatro dietas testes em que as fontes protéicas avaliadas foram incorporadas nas dietas teste, substituindo, aproximadamente, 30% da matéria seca das matérias primas de origem animal e vegetal da dieta referência, mantendo um núcleo fixo semelhante em todas as dietas, composto por minerais, vitaminas e aditivos. Na primeira etapa todos os animais receberam a dieta referência. Na segunda etapa, os doze animais passaram a receber as quatro dietas teste, num esquema de quadrado latino 4x4, (quatro dietas x quatro períodos) com três repetições por período. Cada período, tanto na primeira como na segunda etapa, teve duração de 10 dias, sendo cinco dias de adaptação e cinco dias de coleta de fezes. Um segundo experimento foi conduzido para quantificar as perdas endógenas nas fezes, e assim, determinar os valores dos coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos dos ingredientes protéicos avaliados. Foram utilizados 12 cães adultos com idade entre 4 e 5 anos, da raça Beagle, alojados, individualmente, em gaiolas metabólicas em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (dietas com 1,127; 6,674; 14,267 e 18,647% de proteína bruta) tendo a caseína hidrolizada enzimaticamente (CHE) como fonte única de proteína e duas repetições no tempo, totalizando seis repetições por tratamento. As dietas foram assadas em forno, para que adquirissem uma forma mais consistente. Em relação as perdas endógenas, apenas os aminoácidos isoleucina, serina e metionina apresentaram um aumento linear na excreção conforme elevou-se o nível de proteína bruta da dieta. Apenas os coeficientes de digestibilidade verdadeira da serina da farinha de vísceras de aves e da prolina do farelo de glúten de milho 60% aumentaram linearmente com os níveis crescentes de proteína oriunda da CHE utilizada nas dietas para avaliação das perdas endógenas. Diante dos resultados pode-se concluir pela possibilidade de utilização da CHE como única fonte de proteína em dietas para avaliação das perdas endógenas de nitrogênio e determinação de coeficientes de digestibilidade verdadeiros até o nível máximo

estudado (18,67% de PB) sem afetar os resultados de coeficientes de digestibilidade verdadeiros dos alimentos avaliados.

Palavras chave: Farelo de soja, farelo de glúten de milho 60%, farinha de carne e ossos, farinha de vísceras de frango, avaliação nutricional, perda endógena fecal.

Evaluation of true digestibility of amino acids in protein sources for dogs

ABSTRACT: This study was carried out to determine the true digestibility of amino acids from soybean meal, corn gluten meal 60%, meat and bone meal and chicken offal to Beagle adult dogs. We used twelve Beagle dogs, 4 years old, housed individually in metabolic cages. To obtain the values of apparent digestibility it was prepared five experimental diets, a reference and four test diets in which protein sources were incorporated into test diets, replacing approximately 30% of the dry raw materials of animal and plant the reference diet, maintaining a fixed core similar in all diets, composed of minerals, vitamins and additives. In the first stage all animals received control diet. In the second step, the twelve animals began to receive the four test diets in a Latin square design 4x4 (four x four diet periods) with three replicates per period. Each period, both the first and second stages, lasted 10 days, five days of adaptation and five days of feces collection. A second experiment was conducted to quantify the endogenous losses in feces, and thus to determine the values of true digestibility of amino acids of the protein ingredients evaluated. We used 12 adult dogs aged 4 and 5 years, Beagle, housed individually in metabolic cages in a completely randomized design with four treatments (diets with 1.127, 6.674, 14.267 and 18.647% crude protein) and casein hydrolyzed enzymatically (CHE) as the sole source of protein and two replications in time, a total of six replicates per treatment. Diets were baked in an oven, to acquire a more consistent way. For the endogenous losses, only the amino acids isoleucine, serine and methionine showed a linear increase in the excretion increased as the level of crude protein diet. Only the true digestibility coefficients of serine meal and poultry by proline of corn gluten meal 60% increased linearly with increasing levels of protein coming from CHE used in diets for evaluation of endogenous losses. Before the results can be concluded that the possibility of using the CHE as the only protein source in diets for evaluation of endogenous losses of nitrogen and determination of true digestibility coefficients to the maximum level studied (18.67% CP) without affecting results of true digestibility of foods evaluated.

Keywords: Soybean meal; corn gluten meal 60%; meat and bone meal; chicken viscera; nutritional assessment; endogenous fecal.

Introdução

A determinação dos coeficientes de digestibilidade dos alimentos representa uma medida qualitativa importante, pois determina a proporção de nutrientes biodisponíveis para os animais (CASE et al., 1998). Porém a utilização de informações sobre aminoácidos digestíveis nos alimentos para animais de companhia é ainda pouco utilizada pelos fabricantes de alimentos PET, pois existem poucos resultados disponíveis.

A digestibilidade de um determinado nutriente é determinada por meio dos ensaios de digestibilidade, que mensuram o desaparecimento de nutrientes à medida que circulam pelo sistema gastrointestinal (CASE et al., 1995).

A fim de se obter os valores de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos, para que a formulação das dietas seja mais precisa e eficiente, é necessário a obtenção dos valores da perda endógena de nitrogênio. As perdas endógenas de nitrogênio consistem principalmente em nitrogênio das enzimas digestivas, mucoproteínas, descamações dos enterócitos, albumina, peptídeos, aminoácidos, amidas e aminas (MOUGHAN & SCHUTTERT, 1991).

Diversas metodologias são utilizadas para a obtenção dos coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos. O método da caseína hidrolisada enzimaticamente consiste em uma dieta de alta digestibilidade em função da proteína empregada (caseína) ser considerada 100% digestível. Pode ser usada para avaliar fatores específicos que afetam a perda endógena, como o teor de fibra, taninos, inibidores de tripsina e lectinas. Em função do pré-tratamento enzimático empregado sobre a caseína o produto apresenta pequenos peptídeos e aminoácidos livres, com massa molecular menor que 10.000 Daltons. Como geralmente é assumido que as proteínas endógenas apresentam massa molecular maiores que 10.000 Daltons, o uso da centrifugação e da ultrafiltração separaria estes componentes, considerando o material retido como os aminoácidos endógenos. O método é criticado pelo fato da excreção endógena conter aminoácidos livre ou pequenos peptídeos menores que 10.000 Daltons, que não retidos no filtrado, e que contribuiriam para subestimar o fluxo endógeno (MOUGHAN, et al., 2005). Outra limitação do método é que a caseína hidrolisada enzimaticamente só pode ser utilizada com dietas semipurificadas, não podendo, portanto, ser usada juntamente com dietas práticas para avaliar a perda endógena de

aminoácidos, por apresentarem em sua constituição outras fontes de proteína (GABERT, et al., 2001).

Para realização do ensaio de digestibilidade são utilizados basicamente dois métodos: coleta total de excretas e a utilização de indicadores. A coleta total de excretas é um dos métodos mais utilizados para determinar a digestibilidade de nutrientes na nutrição de cães, porém, existe a necessidade dos animais serem mantidos em gaiolas metabólicas individuais apropriadas para a coleta total de fezes, sem que haja a contaminação por urina (NRC, 2006).

O objetivo deste trabalho foi determinar a digestibilidade verdadeira de aminoácidos em quatro fontes protéicas utilizadas na alimentação de cães (farinha de carne e ossos, farinha de vísceras de aves, farelo de glúten de milho 60% e farelo de soja), utilizando a metodologia coleta total de excretas e dietas com diferentes níveis de proteína oriunda da caseína hidrolisada enzimaticamente (CHE) para avaliação das perdas endógenas. Para a leitura de aminoácidos, as dietas e as amostras de fezes foram analisadas utilizando o HPLC.

Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado na Universidade Federal do Paraná (UFPR), Campus de Ciências Agrárias, no Laboratório de Nutrição Canina do Departamento de Zootecnia (LENUCAN) em Curitiba (PR), no período de setembro a novembro de 2007.

Para determinar a digestibilidade aparente dos aminoácidos das diferentes fontes protéicas, foram utilizados doze cães adultos com 4 anos de idade, da raça Beagle, com peso médio de 13,39 Kg, ($\pm 1,73$), previamente vacinados, desverminados e submetidos ao exame clínico, hematológico e coproparasitológico. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas medindo 1,00m x 0,80m, instaladas em uma sala sem climatização com ventilação natural. Todos os animais estavam habituados com a rotina das gaiolas metabólicas.

Foi formulada uma dieta referência balanceada de acordo com as exigências nutricionais de cães adultos conforme AAFCO – Association of American Feed Controls Official (2006) e mais quatro dietas testes onde os ingredientes testes (farinha de vísceras de aves, farinha de carne e ossos bovina, farelo de glúten de milho 60% e o farelo de soja 45%) foram incorporados nas dietas teste, substituindo aproximadamente 30% da matéria seca das matérias primas de origem animal e vegetal da dieta referência mantendo um núcleo fixo semelhante em todas as dietas, composto por minerais, vitaminas e aditivos.

As cinco dietas foram elaboradas em extrusora rosca simples, na empresa Nutriara Alimentos Ltda, na cidade de Arapongas – Pr.

O fornecimento da dieta foi dividido em duas etapas. A primeira correspondeu ao fornecimento da dieta referência aos doze animais. Na segunda etapa, os doze animais passaram a receber as quatro dietas teste, em esquema de três quadrados latinos (quatro dietas x quatro períodos). Cada período, tanto na primeira etapa quanto na segunda etapa, teve duração de 10 dias, sendo cinco dias de adaptação e cinco dias de coleta de fezes e urina, totalizando 50 dias experimentais.

A composição centesimal e química das dietas experimentais encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Composição centesimal das dietas experimentais

Ingredientes	Dieta Referência	Farinha de Vísceras	Farinha de Carne	Glúten de	
				Milho 60%	Farelo de Soja
Milho, grão moído (%)	43,07	30,15	30,15	30,15	30,15
Arroz, quirera (%)	15,00	10,50	10,50	10,50	10,50
Farinha de vísceras frango (%)	12,00	36,33	8,40	8,40	8,40
Farinha de carne e ossos (%)	8,00	5,60	33,53	5,60	5,60
Milho, Farelo de glúten 60 (%)	5,00	3,50	3,50	31,43	3,50
Soja, Farelo (%)	5,00	3,50	3,50	3,50	31,43
Aveia, resíduo industrial (%)	5,00	3,50	3,50	3,50	3,50
Óleo de frango (%)	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Hidrolisado de frango ¹ (%)	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Sal comum (%)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Premix Vit. e Mineral ² (%)	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57

¹ “Digest” palatabilizante para cães;

² Enriquecimento por kg de produto: Vitamina A 9000 UI; Vitamina D 800 UI; Vitamina E 65 UI; Vitamina K 1,2 mg/kg; Vitamina B1 3,1 mg/kg; Vitamina B2 5,08 mg/kg; Vitamina B6 3,0 mg/kg; Vitamina B12 25,0 mcg/kg; Colina 1750 mg/kg; Ácido pantotênico 10 mg/kg; Ácido fólico 1 mg/kg; Zinco 175 mg/kg; Ferro 110 mg/kg; Cobre 12 mg/kg; Iodo 2 mg/kg; Selênio 0,4 mg/kg; Manganês 16 mg/kg; Beta-glucanos e alumínio silicato; Sorbato de potássio; Propil galato, BHT e BHA

Tabela 2 – Composição química das dietas experimentais

Nutrientes	Dieta Referência	Farinha de Vísceras	Farinha de Carne	Glúten de	
				Milho 60%	Farelo de Soja
Proteína Bruta (%)	24,32	32,83	31,47	33,46	31,76
Extrato Etéreo (%)	10,37	15,43	12,15	13,87	11,81
Matéria Mineral (%)	7,64	12,41	9,60	7,08	7,60
FDN (%)	12,18	13,13	13,53	12,42	11,04
FDA (%)	4,05	2,67	3,50	2,42	4,24
Cálcio (%)	1,70	3,27	2,32	1,75	1,42
Fósforo (%)	1,10	1,90	1,47	2,08	1,02
E. Metabolizável (Kcal/kg)	3.562,4	3.891,6	3.743,9	4.053,9	3.872,2
Extrativo não nitrogenado (%)	54,47	36,70	44,09	43,41	45,85
Matéria orgânica (%)	92,36	87,59	90,40	92,92	92,40
Matéria seca (%)	93,24	93,82	93,66	95,07	95,36

A densidade e a atividade de água das dietas experimentais estão descritas na Tabela 3. A densidade dos alimentos indica o grau de expansão e cozimento do alimento acabado em gramas por litro. A atividade de água dos produtos indica a quantidade de água que está disponível para serem utilizadas por microorganismos para o seu desenvolvimento, o que conseqüentemente assegura a conservação dos alimentos. O valor de atividade de água nos alimentos para cães e gatos deve ser inferior a 0,6 (sem unidade de medida).

Tabela 3 – Características físicas das dietas experimentais

Dietas	Densidade (g/L)	Atividade de água (w_a)
Dieta referência (DR)	387,00	0,567
DR + farinha de carne (FC)	405,09	0,545
DR + farinha de vísceras (FV)	402,78	0,598
DR + glúten de milho 60% (FG)	423,91	0,534
DR + farelo de soja (FS)	378,52	0,522

Análises realizadas no laboratório de Análises Químicas da Nutriara Alimentos Ltda, Arapongas - Pr

As dietas experimentais foram fornecidas aos animais durante todo o período de adaptação e coleta, duas vezes ao dia (7h30min. E 17h30min.), e as sobras foram quantificadas. As quantidades fornecidas aos animais foram estimadas utilizando a equação do NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC, 2006) para necessidades energéticas diárias (NEM) para cães em canil.

$$\text{NEM (Kcal)} = 130 \times \text{Peso Metabólico}$$

A concentração de aminoácidos totais dos ingredientes protéicos estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Concentração de aminoácidos totais dos ingredientes protéicos

Aminoácidos	Ingredientes				Dieta Referência
	FC	FV	FG	FS	
Arginina	3,76	4,19	2,08	3,37	1,39
Fenilalanina	1,70	2,41	4,18	2,58	1,12
Histidina	0,80	1,20	1,38	1,24	0,52
Isoleucina	1,27	2,25	2,63	2,37	0,84
Leucina	2,91	4,27	10,95	3,78	2,20
Lisina	2,66	3,50	1,01	2,96	0,10
Metionina	0,67	1,12	1,16	0,36	0,35
Treonina	1,61	2,43	2,47	1,91	0,86
Valina	2,04	2,93	3,14	2,30	1,14
Aspartato	3,73	4,91	4,12	5,57	1,89
Tirosina	1,04	1,68	2,96	1,52	0,63
Serina	2,00	2,91	3,47	2,48	1,21
Glutamina	6,13	7,96	14,47	8,94	3,76
Prolina	5,27	4,43	6,11	2,47	1,87
Glicina	8,29	6,47	1,85	2,14	1,82
Alanina	4,10	4,09	5,77	2,11	1,56
Cistina	0,28	0,68	0,69	0,45	0,29

Resultados obtidos pelo método HPLC no Laboratório da Kerry Bioscience em Almaré/Holanda. FC – Farinha de carne e ossos; FV – Farinha de vísceras de frango; FG – Farelo de glúten de milho 60%; FS – Farelo de soja

A quantidade das dietas fornecida aos animais, por dia, foram calculadas considerando a densidade energética das dietas de 3.500Kcal/Kg, fracionadas em duas refeições diárias.

As análises bromatológicas dos ingredientes, dietas e fezes foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá (LANA), no Laboratório de Análises da Nutriara Alimentos Ltda (Arapongas – Pr), em duplicata. Foram realizadas as análises matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM), cálcio (Ca),

fósforo (P). A matéria orgânica dos ingredientes e dietas foi calculada pela fórmula: 100 – MM% (na MS).

Os cálculos dos coeficientes de digestibilidade aparente dos aminoácidos das fontes protéicas avaliadas foram determinados utilizando-se a fórmula:

$$CDAaa_{\text{ingrediente}} = CDAaa_{DR} + ((CDAaa_{DT} - CDA_{DR})/\text{fator de substituição})$$

Onde:

$CDAaa_{\text{ingrediente}}$ = coeficiente de digestibilidade aparente dos aminoácidos nos ingredientes avaliados;

$CDAaa_{DR}$ = coeficiente de digestibilidade aparente dos aminoácidos da dieta referência;

$CDAaa_{DT}$ = coeficiente de digestibilidade aparente dos aminoácidos da dieta teste.

Após determinar os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente dos alimentos protéicos, realizou-se um segundo experimento com o objetivo de quantificar as perdas endógenas, utilizando dietas com diferentes níveis de proteína oriunda da caseína hidrolisada enzimaticamente (CHE) e assim, determinar os valores dos coeficientes de digestibilidade verdadeira dos alimentos utilizados no experimento I.

Este experimento foi realizado na Universidade Federal do Paraná (UFPR), no Laboratório de Nutrição canina do Departamento de Zootecnia (LENUCAN), Campus de Ciências Agrárias, em Curitiba/PR, durante o período de outubro de 2008.

Foram utilizados 12 cães adultos com idade aproximada de 5 anos, da raça Beagle, com peso médio de 13,39 kg ($\pm 1,73$), previamente vacinados, desverminados e submetidos ao exame clínico, hematológico e coproparasitológico. Os animais foram alojados individualmente em gaiolas metabólicas (1,00m x 0,80m), instaladas em uma sala sem climatização, com ventilação natural. Todos os animais estavam habituados com a rotina das gaiolas metabólicas.

Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (dietas com 0% (dieta 1), 6% (dieta 2), 12% (dieta 3) e 18% de caseína (dieta 4)) e duas repetições no tempo, totalizando seis repetições por tratamento. Cada período foi constituído de dez dias, sendo cinco dias para adaptação às dietas e

cinco dias de coleta de fezes, perfazendo um total de 20 dias experimentais. Nos períodos de adaptação os animais foram mantidos quatro dias em baias coletivas com acesso á área de exercício e, no último dia do período de adaptação foram colocados nas gaiolas para o período de coleta. As dietas foram constituídas por uma mistura de pó + óleo.

Em ambos os trabalhos, durante o período de coleta, as fezes de cada cão foram colhidas duas vezes ao dia, após as refeições. Todo o material colhido foi congelado após a pesagem. As fezes foram homogeneizadas, quantificadas e armazenadas a temperatura de – 10°C. Ao final do experimento as fezes foram descongeladas, pesadas novamente, desidratadas em estufa de ventilação forçada (55°C) e moída em peneira de malha 1,0 mm. Estas foram enviadas para os laboratórios onde foram realizadas as análises.

Foi realizada a mensuração do escore fecal para auxiliar na avaliação da qualidade das fezes utilizando o método subjetivo. Atribuiu-se notas de 1 a 5 no momento de coleta das fezes onde, 1 correspondeu a fezes pastosas e sem forma, 2 correspondeu á fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de coleta, 3 correspondeu a fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso das gaiolas, 4 correspondeu á fezes bem formadas e consistentes que não aderem ao piso e, 5 correspondeu a fezes bem formadas, duras e secas.

As dietas experimentais e as fezes dos animais foram analisadas pela técnica de HPLC/CLAE, pelo laboratório da empresa Kerry Bioscience, em Almaré, Holanda. Para realizar a técnica de HPLC hidrólise ácida e leitura por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em coluna de troca iônica com reação pós-coluna com ortoftaloleido (OPA), utilizou-se cromatógrafo de fase líquida JLC-500/V Amino TacTM Amino Acid Analyzer.

Nas dietas e fezes foram analisados os aminoácidos essenciais Valina (VAL), Metionina (MET), Isoleucina (ISO), Leucina (LEU), Treonina (TER), Fenilalanina (FEN), Histidina (HIST), Lisina (LIS), Arginina (ARG), e os aminoácidos não essenciais Aspartato (ASP), Tirosina (TIR), Serina (SER), Glutamina (GLU), Prolina (PRO), Glicina (GLI), Alanina (ALA) e Cistina (CIS).

As composições centesimal, química e aminoacídica das dietas experimentais estão descritas nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 – Composição Centesimal das dietas experimentais

Ingredientes	Níveis de PB (%)			
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
Caseína (%)	0,00	6,00	12,00	18,00
Amido (%)	67,88	61,88	55,88	49,88
Açúcar (%)	5,00	5,00	5,00	5,00
Gordura (%)	18,00	18,00	18,00	18,00
Celulose (%)	5,00	5,00	5,00	5,00
Fosfato bicálcico (%)	2,90	2,90	2,90	2,90
Cloreto de Potássio (%)	0,21	0,21	0,21	0,21
Sorbato de potássio (%)	0,20	0,20	0,20	0,20
Oxynil Dry (%)	0,01	0,01	0,01	0,01
Availa Zn (%)	0,01	0,01	0,01	0,01
Premix Vit. e Mineral ¹ (%)	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de sódio (%)	0,30	0,30	0,30	0,30
Colina (%)	0,20	0,20	0,20	0,20

¹Enriquecimento por kg de produto: Vitamina A 9000 UI; Vitamina D 800 UI; Vitamina E 65 UI; Vitamina K 1,2 mg/kg; Vitamina B1 3,1 mg/kg; Vitamina B2 5,08 mg/kg; Vitamina B6 3,0 mg/kg; Vitamina B12 25,0 mcg/kg; Colina 1750 mg/kg; Ácido pantotênico 10 mg/kg; Ácido fólico 1 mg/kg; Zinco 175 mg/kg; Ferro 110 mg/kg; Cobre 12 mg/kg; Iodo 2 mg/kg; Selênio 0,4 mg/kg; Manganês 16 mg/kg; Beta-glucanos e alumínio silicato; Sorbato de potássio; Propil galato, BHT e BHA

Tabela 6 – Composição química das dietas experimentais

Nutrientes	Níveis de PB (%)			
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
Proteína Bruta (%)	1,047	6,120	13,177	17,238
Matéria Mineral (%)	4,455	3,93	5,405	5,525
Cálcio (%)	0,925	1,06	1,425	1,55
Fósforo (%)	0,61	0,595	0,765	0,915
Matéria seca (%)	92,92	91,69	92,35	92,44

A composição aminoacídica das dietas experimentais esta demonstrada na Tabela 7.

Tabela 7 – Composição aminoacídica das dietas experimentais

Aminoácidos	Níveis de PB (%)			
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
Arginina	0	0,164	0,411	0,627
Fenilalanina	0	0,327	0,704	0,984
Histidina	0	0,196	0,390	0,519
Isoleucina	0	0,284	0,639	0,909
Leucina	0	0,556	1,278	1,828
Lisina	0	0,567	1,115	1,644
Metionina	0	0,131	0,314	0,454
Treonina	0	0,299	0,509	0,714
Valina	0	0	0	0
Ácido Aspártico	0	0,175	0,942	1,363
Cistina	0	0	0	0
Glicina	0	0,109	0,238	0,346
Glutamina	0	0	0	0
Prolina	0	0,676	1,494	2,055
Serina	0	0,327	0,747	1,06
Tirosina	0	0,109	0,314	0,66

Os cálculos dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos foram determinados utilizando-se as fórmulas:

$$CDV_{aa_{ingrediente}} = CDV_{aa_{DR}} + ((CDV_{aa_{DT}} - CDV_{DR}) / \text{fator de substituição})$$

Onde:

$CDV_{aa_{ingrediente}}$ = coeficiente de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos nos ingredientes avaliados;

$CDV_{aa_{DR}}$ = coeficiente de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos da dieta referência;

$CDV_{aa_{DT}}$ = coeficiente de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos da dieta teste.

As análises estatísticas das variáveis estudadas foram realizadas utilizando-se software estatístico SAEG (1996) e o modelo estatístico abaixo descrito:

$$Y_{ijk} = \mu + b_1 (X_i - X_m) + b_2 (X_i - X_m)^2 + P_j + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = Coeficiente de digestibilidade verdadeiro de aminoácidos do animal k, recebendo a dieta para avaliação da perda endógena fecal com nível i de PB oriunda da CHE, durante o período j;

μ = média geral;

b_1 = coeficiente linear de regressão da variável Y em função do nível i de proteína bruta na dieta fornecida pela caseína;

b_2 = coeficiente quadrático de regressão da variável Y em função do nível i de proteína bruta na dieta, fornecida pela caseína;

X_i = efeito do nível i de PB fornecida pela caseína sendo i = 1,127; 6,674; 14,267; 18,647;

X_m = média dos níveis de PB nas dietas;

P_j = efeito do período j, sendo j = 1 e 2;

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Resultados e Discussão

Os valores médios de consumo das cinco dietas experimentais, produção fecal e o escore fecal durante a avaliação dos coeficientes de digestibilidade aparentes estão expressos na Tabela 8.

O consumo médio diário das dietas experimentais não apresentou diferença significativa ($p>0,05$). O peso fecal com base na matéria natural dos animais que receberam a dieta com farelo de soja foi maior quando comparadas as médias das demais dietas. Este resultado deve-se a maior concentração de água nas excretas (escore fecal 3,12).

Os oligossacarídeos presentes na fração fibrosa do farelo de soja como estaquiose e rafinose, são os principais responsáveis pelo teor de água nas fezes, por serem altamente fermentáveis no cólon. Elas podem alterar a microflora e a fisiologia do cólon com a produção de ácidos graxos de cadeia curta ou ácidos graxos voláteis, assim como esvaziamento gástrico e a absorção de nutrientes no intestino delgado quando estão na porção proximal do trato gastrointestinal (BORGES, 2003).

Tabela 8 – Média do consumo das dietas, produção fecal na matéria natural (MN) e na matéria seca pelo método de coleta total (CT) e escore fecal para as dietas experimentais fornecidas aos cães

Produção fecal/animal/dia	Dietas						Média	CV
	Referência	F. carne	F. vísceras	G. milho 60%	F. soja			
Consumo MS (g/dia)	229,2 ^a	245,5 ^a	245,0 ^a	248,4 ^a	249,6 ^a	243,6	10,6	
MN (g/dia)	126,1 ^b	120,3 ^b	128,0 ^b	120,0 ^b	166,8 ^a	132,2	14,0	
MS CT (g/dia)	44,7 ^{ab}	50,4 ^a	50,3 ^a	41,7 ^b	44,1 ^{ab}	46,3	11,4	
Escore fecal	3,89 ^b	4,75 ^a	4,05 ^b	3,59 ^c	3,12 ^d	3,90	7,56	

¹ escore fecal classificado: 1–fezes pastosas e sem forma; 2–fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3–fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso das gaiolas; 4–fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5–fezes bem formadas, duras e secas.

Este resultado também pode ser justificado pela maior concentração de FDA nesta dieta (Tabela 2). BURROWS et al. (1982) e BARDON & FIOTAMONT (1983) verificaram que fontes de fibra ricas em celulose aumentaram a taxa de passagem no intestino delgado, diminuindo a digestibilidade dos nutrientes. Além disso, as frações solúveis da fibra aumentam a viscosidade intestinal diminuindo a digestão dos nutrientes (CHOCT & ANNISON, 1992), elevando a produção de fezes.

SÁ-FORTES (2005) trabalhando com cães em testes de digestibilidade, não encontrou diferença na produção fecal (g MS/dia) para dietas com ingredientes protéicos de origem animal (farinha de carne e farinha de vísceras) e vegetal (farelo de glúten e farelo de soja).

Diferentemente aos resultados encontrados neste experimento, CLAPPER et al. (2001) observaram que a dieta com farelo de soja também proporcionou maior produção de matéria seca fecal em cães que as dietas contendo farinha de vísceras. Porém, SÁ-FORTES (2005) trabalhando com cães em testes de digestibilidade, não encontrou diferença na produção fecal (g MS/dia) para dietas com ingredientes protéicos de origem animal (farinha de carne e farinha de vísceras) e vegetal (farelo de glúten e farelo de soja).

O escore fecal indicou que a pior consistência das fezes ocorreu com a dieta com farelo de soja (3,12) em virtude da maior concentração de água encontrada, enquanto que a farinha de vísceras apresentou o melhor escore fecal (4,05). O escore fecal considerado ideal e aceitável varia entre 3,5 e 4,0 e, acima disso, pode predispor os animais a retenção fecal prejudicando assim a saúde intestinal. A farinha de carne e ossos apresentou valor médio muito acima do indicado como ideal e muito próximo do escore máximo. SÁ-FORTES (2005) encontrou o valor médio de 4,1 para a dieta com farinha de carne e ossos, sendo também o maior valor encontrado entre todas as dietas com ingredientes protéicos testados em seu trabalho.

Os coeficientes de digestibilidade aparente médios dos aminoácidos das quatro fontes protéicas estão demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9 – Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) médios dos aminoácidos das quatro fontes protéicas

Aminoácidos	Dietas teste			
	F. carne	F. vísceras	G. milho 60%	F. soja
Arginina	79,04	87,31	87,72	99,12
Fenilalanina	81,83	79,10	99,83	93,31
Histidina	83,82	86,15	92,61	96,58
Isoleucina	79,74	79,40	91,83	89,06
Leucina	80,98	78,82	106,12	87,48
Lisina	83,74	89,28	69,83	102,32
Metionina	80,34	84,14	100,30	79,22
Treonina	87,40	89,54	97,05	89,30
Valina	83,09	75,73	93,72	83,74
Alanina	80,29	77,86	101,56	73,80
Aspartato	74,42	74,53	88,91	100,23
Cistina	67,62	80,38	95,72	94,85
Glicina	79,19	82,35	79,47	71,66
Glutamina	76,31	78,52	101,53	96,80
Prolina	74,92	85,57	96,02	86,74
Serina	79,79	82,14	99,73	93,71
Tirosina	83,88	77,22	108,83	95,23

Valores obtidos por meio de análises dos aminoácidos no HPLC.

Alguns aminoácidos apresentaram coeficientes de digestibilidade acima de 100% como a leucina, a metionina, a alanina, a glutamina e a tirosina no farelo de glúten de milho 60% e a lisina e o aspartato no farelo de soja. A possível explicação pode estar relacionada com erros em análises destes aminoácidos nos ingredientes e nas fezes, assim como as possibilidades de erros na aplicação dos métodos dos cálculos por extrapolação.

Outros autores encontraram resultados semelhantes em avaliações com outras espécies animais. LIKUSKI & DORELL (1978) encontrou valores de CDA acima de 100% para triptofano, cistina, metionina, lisina, tirosina, histidina e serina, utilizando os ingredientes soja e cevada para aves, utilizando a metodologia da alimentação forçada. Da mesma forma, BRAGG et al. (1970) trabalhando com aves modificadas

cirurgicamente, encontraram valores de digestibilidade maiores que 100% para cistina no farelo de soja. BORGES (1999) também encontrou resultados acima de 100% para a isoleucina em aves trabalhando com diferentes fontes energéticas.

POZZA et al. (2004) determinaram a digestibilidade ileal aparente e verdadeira de aminoácidos de farinhas de carne e ossos para suínos. Foram utilizados animais canulados no íleo terminal. Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da lisina, treonina e metionina, das diferentes farinhas de carne e ossos variaram de 54,87 a 74,80; 62,62 a 81,19 e 72,35 a 85,46%, respectivamente.

No experimento de avaliação das perdas endógenas, as médias do consumo de matéria seca, produção fecal e escore fecal de acordo com o aumento dos níveis de proteína obtidos com a inclusão crescente de caseína estão descritas na Tabela 10. O consumo de matéria seca assim como a produção fecal não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos. O escore fecal, no entanto, apresentou um aumento linear ($p > 0,05$) conforme aumentou os níveis de proteína bruta nas dietas. A classificação no escore fecal aumentou de forma linear, porém a melhor classificação ocorreu no nível 14,267% de proteína bruta, onde as fezes se apresentaram bem formadas e consistentes sem aderência ao piso. O escore fecal considerado ideal e aceitável varia entre 3,5 e 4,0, acima destes valores pode predispor os animais a retenção fecal prejudicando a saúde intestinal.

Tabela 10 – Média do consumo das dietas, produção fecal e escore fecal¹ para as dietas experimentais (perda endógena) fornecidas aos cães

	Níveis de PB%				Média
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	
Consumo MS (g/dia)	551,76	644,88	678,44	603,03	619,53
Prod. Fecal MS (g/dia)	64,66	72,05	78,99	64,81	71,128
Escore fecal ²	3,72	3,61	4,11	4,90	4,083

¹escore fecal classificado: 1–fezes pastosas e sem forma; 2–fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3–fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso das gaiolas; 4–fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5–fezes bem formadas, duras e secas.

² $y = 3,422 + 0,064924X$

Para dois animais, foram utilizadas apenas dois dias de coleta, já que estes animais apresentaram reações adversas (convulsões).

Os valores de excreção média endógena de aminoácidos a cada 100g de matéria seca ingerida estão descritos na Tabela 11. Apenas os aminoácidos isoleucina, metionina e serina apresentaram um crescimento linear de perda endógena ($p > 0,05$) conforme aumentou os níveis de proteína bruta ingerida. A glutamina não foi encontrada nos aminogramas das excretas, independente dos níveis de proteína nas dietas.

Tabela 11 – Excreção média de aminoácidos essenciais (g) a cada 100g de matéria-seca ingerida de acordo com os níveis de PB (%)

Aminoácidos	Níveis de PB (%)				Média	CV
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4		
Arginina	0,036836	0,039002	0,035294	0,03902	0,04 ± 0,007	-
Fenilalanina	0,041571	0,04467	0,043488	0,039294	0,04 ± 0,01	-
Histidina	0,023125	0,022695	0,022778	0,02555	0,02 ± 0,004	-
Isoleucina ¹	0,042929	0,056727	0,093283	0,107647	0,07 ± 0,03	0,86
Leucina	0,072823	0,08031	0,087573	0,089945	0,08 ± 0,02	-
Lisina	0,075703	0,081292	0,087837	0,085492	0,08 ± 0,02	-
Metionina ²	0,0197	0,024301	0,032085	0,033928	0,027 ± 0,008	0,57
Treonina	0,066131	0,060769	0,062926	0,066641	0,06 ± 0,01	-
Valina	0,044561	0,077629	0,05100	0,0355	0,05 ± 0,04	-
Aspártico	0,106271	0,116342	0,127198	0,136964	0,12 ± 0,02	-
Cistina	0,009679	0,010488	0,006512	0,007942	0,0087± 0,0088	-
Glicina	0,061159	0,061512	0,062503	0,061831	0,06 ± 0,01	-
Glutamina	0	0	0	0	-	-
Prolina	0,042961	0,050543	0,068754	0,071494	0,06 ± 0,02	-
Serina ³	0,059136	0,086188	0,152888	0,199410	0,12 ± 0,06	0,88
Tirosina	0,035432	0,041654	0,038800	0,038442	0,04 ± 0,01	-

¹y = 0,0358 + 0,003863x; ²y = 0,01886 + 0,00084x; ³y = 0,0421 + 0,0081x

Os coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos da farinha de carne e ossos calculados considerando as perdas endógenas utilizando dietas com níveis crescentes de proteína oriunda da CHE estão demonstrados na Tabela 12. Não houve diferença ($p>0,05$) nos valores de digestibilidade verdadeira para qualquer dos aminoácidos da farinha de carne e ossos, independente dos níveis de proteína bruta das dietas experimentais utilizadas para avaliação das perdas endógenas. Estes resultados indicam que é possível utilizar CHE, fornecendo até 18% de proteína bruta nas dietas sem afetar os valores da digestibilidade verdadeira dos aminoácidos da farinha de carne e ossos para cães, permitindo uma condição de melhor bem estar e de saúde dos animais utilizados em experimentos para avaliação de perdas endógenas.

Tabela 12 – Coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos da Farinha de Carne e Ossos considerando os níveis de PB para cálculo do nitrogênio endógeno

Aminoácidos	Níveis de PB (%)				Média
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	
Arginina	91,46667	91,48473	91,45383	91,48487	91,47253
Fenilalanina	95,07056	95,23671	95,17334	94,94847	95,10727
Histidina	96,19227	96,14731	96,15599	96,44581	96,23534
Isoleucina	95,00349	94,84895	98,08891	98,96906	96,97760
Leucina	94,57594	94,82043	95,05761	95,13507	94,89726
Lisina	94,20386	94,13359	94,05131	94,08079	94,11739
Metionina	94,55729	95,07754	95,95754	96,16591	95,43955
Treonina	98,74382	98,56876	98,63919	98,76048	98,67806
Valina	95,53410	96,46195	95,71478	95,27986	95,74767
Aspártico	91,54951	91,71367	91,89063	92,04980	91,80090
Cistina	88,91000	89,21691	87,70783	88,25083	88,52193
Glicina	90,08072	90,06676	90,02759	90,05415	90,05730
Prolina	89,20324	89,25407	89,34554	89,36066	89,28863
Serina	94,04468	95,07868	97,62814	99,40633	96,53946
Tirosina	98,66132	99,39359	99,05770	99,01556	99,03204

POZZA et al. (2004) encontraram valores dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira de 57,00 a 76,08; 66,26 a 83,07 e 73,76 a 86,39%, respectivamente, para a lisina, treonina e metionina. As farinhas de carne e ossos apresentaram grande

variação, em função das diferentes amostras, quanto aos coeficientes de digestibilidade ileal aparentes e verdadeiros dos aminoácidos.

Os coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos da farinha de vísceras de aves, calculados considerando as perdas endógenas utilizando dietas com níveis crescentes de proteína oriunda da CHE estão demonstrados na Tabela 13. Apenas os coeficientes de digestibilidade verdadeira da serina aumentaram linearmente ($p < 0,05$), com os níveis crescentes de proteína oriunda da CHE utilizada nas dietas para avaliação das perdas endógenas. Para os demais aminoácidos não houveram qualquer diferença nos resultados dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro.

Tabela 13 – Coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos da Farinha de Vísceras de Aves considerando os níveis de PB para cálculo do nitrogênio endógeno

Aminoácidos	Níveis de PB (%)				Média
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	
Arginina	96,61108	96,62876	96,59850	96,62891	96,61681
Fenilalanina	93,41203	93,54271	93,49287	93,31600	93,44090
Histidina	96,56788	96,53981	96,54523	96,72620	96,59479
Isoleucina	93,68098	94,10168	95,21627	95,65423	94,66330
Leucina	93,49702	93,70052	93,89793	93,96240	93,76446
Lisina	96,78156	96,66805	96,53512	96,58275	96,64188
Metionina	94,94566	95,04700	95,21847	95,25906	95,11755
Treonina	98,53539	98,49220	98,50957	98,53950	98,51917
Valina	92,43553	93,37183	92,61785	92,17897	92,65105
Aspártico	91,5740	91,70564	91,84756	91,97522	91,77558
Cistina	94,23908	94,35709	93,77734	93,98550	94,0898
Glicina	94,58349	94,58232	94,57906	94,58127	94,58154
Prolina	95,45114	95,55440	95,80239	95,83971	95,66190
Serina ¹	95,16097	95,93280	97,83582	99,16315	97,02319
Tirosina	94,03876	94,40983	94,23962	94,21828	94,22663

$$^1y = 94,6757 + 0,2306X \text{ (R}^2 = 0,17)$$

Esses resultados podem estar relacionados à presença de peptídeos ativos provenientes da dieta com caseína que, no intestino, podem estimular a produção do

hormônio pancreamicina, que estimula a produção do suco pancreático rico em tripsinogênio e quimiotripsinogênio, entre outras substâncias (DONKOH & MOUGHAN, 1999).

O fornecimento de peptídeos ativos estimula o processo secretório no intestino, uma vez que são mais facilmente absorvidos, podendo elevar a quantidade das secreções endógenas e melhorar a eficiência de utilização dos componentes da dieta. O aumento da secreção endógena quando se utiliza dieta com caseína hidrolisada pode ser decorrente também do procedimento de ultrafiltração. De acordo com HODGINKSON et al. (2003), quando se utiliza membrana de filtração com volume de exclusão de 10.000 Da, pode ocorrer aumento das perdas e superestimativa dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro.

Os coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos do farelo de glúten de milho 60%, calculados considerando as perdas endógenas utilizando dietas com níveis crescentes de proteína oriunda da CHE estão demonstrados na Tabela 14. Apenas os coeficientes de digestibilidade verdadeira da prolina aumentaram linearmente ($p < 0,05$) com os níveis crescentes de proteína oriunda da CHE utilizada nas dietas para avaliação das perdas endógenas. Para os demais aminoácidos não houveram diferenças ($p > 0,05$) nos resultados dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro.

Tabela 14 – Coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos do Farelo de Glúten de Milho 60% considerando os níveis de PB para cálculo do nitrogênio endógeno

Aminoácidos	Níveis de PB (%)				Média
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	
Arginina	98,26463	98,36303	98,19456	98,36385	98,29652
Fenilalanina	101,7806	101,7352	101,7525	101,8139	101,7706
Histidina	99,32870	99,31445	99,31719	99,40908	99,34237
Isoleucina	99,17976	99,27927	99,54287	99,64645	99,41208
Leucina	103,7596	103,5891	103,4238	103,3698	103,5356
Lisina	94,67516	95,13221	95,66745	95,47568	95,23763
Metionina	101,0301	100,6566	100,0247	99,87511	100,3966
Treonina	102,9401	102,8693	102,8978	102,9468	102,9135
Valina	101,2300	101,6574	101,3132	101,1129	101,3284
Aspártico	99,65939	99,84879	100,0530	100,2366	99,94946
Cistina	101,5653	101,6032	101,4176	101,4843	101,5176
Glicina	95,35451	95,36855	95,40795	95,38123	95,37807
Prolina ¹	99,86694	99,87416	99,89149	92,71815	98,08768
Serina	102,6721	102,7460	102,9282	103,0553	102,8504
Tirosina	105,8793	105,5085	105,6786	105,6999	105,6916

$$^1y = 98,4731 + 0,805865X - 0,05753X^2 \quad (R^2 = 0,32)$$

Os coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos do farelo de soja, calculados considerando as perdas endógenas utilizando dietas com níveis crescentes de proteína oriunda da CHE estão demonstrados na Tabela 15. Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) nos resultados dos coeficientes de digestibilidade verdadeiro de qualquer dos aminoácidos calculados considerando as perdas endógenas utilizando dietas com níveis crescentes de proteína oriunda da CHE

Tabela 15 – Coeficientes de digestibilidade verdadeiro dos aminoácidos do Farelo de Soja considerando os níveis de PB para cálculo do nitrogênio endógeno

Aminoácidos	Níveis de PB (%)				Média
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	
Arginina	101,6467	101,6375	101,6533	101,6374	101,6437
Fenilalanina	98,92905	98,91808	98,92226	98,93710	98,92663
Histidina	100,5179	100,5231	100,5221	100,4891	100,5130
Isoleucina	96,88496	96,70528	96,22923	96,04218	96,46542
Leucina	96,64651	96,72214	96,79550	96,81946	96,74590
Lisina	103,1624	102,9818	102,7702	102,8460	102,9401
Metionina	94,83829	95,60976	96,91491	97,22392	96,14671
Treonina	98,64787	98,66118	98,65582	98,64661	98,65286
Valina	95,65520	95,15265	95,75206	95,51889	95,76971
Aspártico	102,3895	102,2350	102,0685	101,9187	102,1529
Cistina	102,5865	102,6872	102,1921	102,3702	102,4590
Glicina	91,42431	91,43884	91,47961	91,45196	91,44868
Prolina	96,23596	96,40305	96,80440	96,86478	96,57705
Serina	99,89985	100,0594	100,4529	100,7274	100,2849
Tirosina	100,0314	99,82720	99,92088	99,93262	99,92803

BRUMANO et al. (2006), determinaram os coeficientes de digestibilidade e os valores de aminoácidos digestíveis verdadeiros de alimentos protéicos para aves. Utilizou-se o método de alimentação forçada, com galos Leghorne adultos cecectomizados. Os valores médios dos coeficientes de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos essenciais e não-essenciais, em porcentagem, foram, respectivamente, 92,90 e 94,86 para o farelo de glúten de milho 60%, 87,80 e 85,00 para a farinha de carne e ossos 45% e 79,22 e 74,36 para a farinha de vísceras de aves de alto teor de gordura.

Conclusão

Diante dos resultados pode-se concluir pela possibilidade de utilização da CHE como única fonte de proteína em dietas para avaliação das perdas endógenas de nitrogênio e determinação de coeficientes de digestibilidade verdadeiros até o nível máximo estudado (18% de caseína) sem afetar os resultados de coeficientes de digestibilidade verdadeiros dos alimentos avaliados, visando o bem estar dos animais. O objetivo da utilização da caseína é fornecer a PB de manutenção, já que o NRC (2006) preconiza 9% de PB para garantir o bem estar nutricional destes animais.

Referências Bibliográficas

ASSOCIATION AMERICAN FEED CONTROL OFFICIAL (AAFCO). **Official Publication**. Atlanta, 2006.

BARDON, T.; FIOTAMONT, J. Nature of the effects of bran on digestive transit in pigs. *Br. Journal Nutrition*, v.50, p. 685-690, 1983.

BORGES, F.M.O. Valores energéticos e aminoácidos digestíveis do grão de trigo e seus subprodutos para aves. **Tese de doutorado**, UFV – Viçosa. 1999.

BORGES, S.A.; SALVADOR, D.; IVANOVSKI, R.A. In: Simpósio sobre nutrição de aves e suínos, **Anais...** Cascavel, PR: CBNA, p. 21-66, 2003.

BRAGG, D.B.; IVY, C.A.; STEPHENSON, E.L. Methods for determining amino acid availability of feeds. **Poultry Science**, v. 47, p. 2135-2137, 1969.

BRUMANO, G.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; SCHIMIDT, M.; GENEROSO, R.A.R. Aminoácidos digestíveis verdadeiros de alimentos protéicos determinados em galos cecectomizados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 35, n. 6, 2006.

BURROWS, C.F.; KROMFELD, D.S.; BANTA, C.A.; ERRITT, A.M. Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. **Journal Nutrition**, v.112, p. 1726-1732, 1982.

CASE, L.P.; CAREY, E.P.; HIRAKAWA, D.A. **Canine and feline nutrition: A resource for companion professionals**. St. Louis: Mosby. 455p, 1995.

CASE L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina – Manual para profissionais**. Madrid, Harcourt Brace, 424p, 1998.

CHOCT, M.; ANNISON, G. **Anti-nutritive activity of wheat pentosans in broiler diets**, 1992.

CLAPPER, G.M.; GRIESHOP, C.M.; MERCHEN, N.R.; RUSSETT, J.C.; BRENT, J.L.; FAHEY, G.C. Ileal and total tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. **Journal Animal Science**, v.79, n. 6, p.1523-1532, 2001.

DONKOH A.; MOUGHAN, P.J. Endogenous ileal nitrogen and amino acid flows in the growing pig receiving a protein - free and diets containing enzymically hydrolysed casein or grade levels of meat and bone meal. **British Society of Animal Science**, v.68, p.511-513, 1999.

GABERT, V.M.H.; JORGENSEN, AND C.M. NYACHOTI. Bioavailability of amino acids in feedstuffs for swine. In: A. J. Lewis and L.L. **Southern (ed.) Swine Nutrition**. 2 ed, p. 151-186, 2001.

HODGKINSON, S.M.; SOUFFRANT, W.B.; MOUGHAN, P.J. et al. Comparison of the enzyme-hydrolyzed casein; guanidination and isotope dilution methods for determining ileal endogenous protein flow in the growing rat and pig. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2525-2534, 2003.

LIKUSKI, H.J.A.; DORRELL, H.G. A bioassay for rapid determinations of amino acid availability values. **Poultry Science**, n. 57, v. 10, p. 1658-1660, 1978.

MOUGHAN, P.L.; SCHUTTERT, G. Composition of nitrogen-containing fractions in digesta from the distal ileum of pigs fed a protein-free diet. **Journal of Nutrition**, v.121, n. 10, p.1570-1574, 1991.

MOUGHAN, P.J.; BUTTS, C.A.; ROWAN, A.M.; DEGLAIRE, A. Dietary peptides increase endogenous amino acid losses from the gut in adults. **American Journal of Clinical Nutrition** v. 81, n. 6, p. 1359-1365, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, Protein and Amino Acids. **Nutrient requirements of dogs and cats**. National Academy of Sciences. Washington, p.111-144, 2006.

POZZA, P.C.; GOMES, P.C.; DONZELE, J.D.; et al. Digestibilidade ileal aparente e verdadeira de aminoácidos de farinha de carne e ossos para suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p. 1181-1191. 2004.

SÁ-FORTES, C.M.L. **Valores nutricionais de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. Tese de Doutorado, UNESP, Jaboticabal/SP, 2005.