

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E
ISOTERMAS DE ADSORÇÃO EM *PET FOOD*

Autora: Mayara Uana da Silva
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcelos
Coorientador: Prof. Dr. Vanderly Janeiro

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E
ISOTERMAS DE ADSORÇÃO EM *PET FOOD*

Autora: Mayara Uana da Silva
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos
Coorientador: Prof. Dr. Vanderly Janeiro

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 ou Nutrição de Animais de Companhia.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro- 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

S586a Silva, Mayara Uana da
Avaliação da estabilidade oxidativa e isoterms
de adsorção em pet food / Mayara Uana da Silva. --
Maringá, 2018.
94 f. : il., color., figs., tabs.

Orientador(a): Prof. Dr. Ricardo Souza
Vasconcelos.

Co-orientador(a): Prof. Dr. Vanderley Janeiro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia - Área de Concentração:
Produção Animal, 2018.

1. Pet food. 2. Oxidação. 3. Palatabilidade. 4.
Vida de prateleira - Validade. I. Vasconcelos,
Ricardo Souza, orient. II. Janeiro, Vanderley,
coorient. III. Universidade Estadual de Maringá.
Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação Zootecnia - Área de Concentração: Produção
Animal. IV. Título.

CDD 21.ed. 636.0887

AHS-CRB-9/1065



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E
ISOTERMAS DE ADSORÇÃO EM *PET FOOD*

Autora: Mayara Uana da Silva
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 22 de fevereiro de 2018.

Profª Drª Mônica Regina da Silva
Scapim

Profª Drª Bruna Ponciano Neto

Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos
(Orientador)

“Somos feitos da mesma matéria que nossos sonhos.”

William Shakespeare

*À minha família,
Aos meus amigos,*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha salvação, redenção e todas as bênçãos concedidas em minha vida;

Aos meus pais, Gilson Aparecido da Silva e Vera Neide Feitosa da Silva, pelo cuidado, amor e orações. Por todas as horas de trabalho dedicadas a me oferecer uma educação privilegiada, pela companhia e ajuda no laboratório. Por todo o incentivo, exemplo e força;

À minha irmã, Maelly Thais da Silva, pelo incentivo, ajuda no laboratório e principalmente por sempre estar do meu lado;

Ao meu namorado Diego Olher, por toda sua paciência, ajuda e amor. Por ser um dos meus maiores incentivadores e acreditar muito em meu potencial;

Ao meu cachorro Aslam, por todo amor incondicional, por me alegrar todas as vezes que cheguei cansada ou triste;

À minha família em geral, por todo amor e admiração;

Ao meu orientador Dr. Ricardo Souza Vasconcellos, pela confiança, ensinamentos e amizade. Pela interminável paciência, pelo tempo, dedicação e ajuda em meu experimento, pelo exemplo de pessoa e profissional;

Ao meu coorientador Dr. Vanderly Janeiro, com toda ajuda na parte estatística, ensinamentos, disponibilidade e amizade;

Aos meus colegas de pós-graduação, em especial a Priscila Martins Ribeiro e Leonir Ribeiro Bueno, pela companhia, apoio, ajuda durante todo o mestrado;

À Joyce Sato, pela imensa ajuda nas análises laboratoriais e amizade dentro e fora do campus;

À toda equipe do Centro de Ensino e Estudos Nutricionais em Felinos (CEENUFEL), pela ajuda, companheirismo, ensinamentos e risadas;

Aos meus amigos de vida e profissão, por todo carinho e parceria;

À Universidade Estadual de Maringá pela formação em Zootecnia e oportunidade de me tornar mestre;

A todos os professores do Departamento de Zootecnia, pelas valiosas lições que me foram passadas ao longo da Graduação e Pós-Graduação;

À técnica do Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), Angélica, por toda a ajuda nas análises, pelas orientações e paciência;

À Solange, do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela ajuda com as “papeladas” de todo o processo do mestrado;

Aos funcionários do gatil, em especial ao seu Wilson, por sempre deixar nosso setor organizado;

Aos nossos colaboradores e colaboradoras (gatos) por todo carinho, afeto e inclusive os arranhões;

Ao CNPq, pela concessão da bolsa;

À Manfrim, pelo financiamento do projeto.

BIOGRAFIA

MAYARA UANA DA SILVA, filha de Gilson Aparecido da Silva e Vera Neide Feitosa da Silva, nasceu em Rondon, Paraná, no dia 28 de dezembro de 1991.

Em março de 2010, iniciou no Curso de Graduação em Zootecnia, na Universidade Estadual de Maringá.

Em 2011, iniciou sua jornada na pesquisa como estagiária no grupo de cunicultura, sob orientação do Professor Doutor Claudio Scapinello, atuando como bolsista de Iniciação Científica do CNPq, na área de nutrição de monogástricos.

Em dezembro de 2014, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2016, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, nível de mestrado, na área de Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos em Nutrição Animais de Companhia.

Em fevereiro de 2018, submeteu-se à banca para defesa da sua Dissertação.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Fatores que influenciam na qualidade <i>pet food</i>	3
2.2 Oxidação lipídica.....	5
2.2.1 Métodos para mensurar a oxidação lipídica	7
2.2.2 Efeito da oxidação lipídica sobre a palatabilidade	10
2.3 <i>Shelf-life</i> de alimentos para cães e gatos	11
2.3.1 Fatores que influenciam o <i>Shelf-life</i>	11
2.3.1 Diminuição do <i>Shelf-life</i> de alimentos submetidos à oxidação.....	13
2.3.2 Métodos para avaliação de <i>Shelf-life</i> em função da oxidação.....	14
2.4 Isotermas de sorção	16
2.4.1 Métodos para determinação de isotermas	19
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
4. OBJETIVOS GERAIS	27
II-Utilização de métodos rápidos para a determinação do <i>shelf-life</i> em alimentos secos extrusados para cães e gatos.	29
Resumo	29
Abstract.....	31
1. Introdução.....	33
2. Material e métodos	35
3. Resultados.....	44
4. Discussão	56
5. Conclusão	63
6. Referências	64
III- Isoterma de adsorção em alimentos secos e extrusados para cães e gatos.	71
Resumo	71
Abstract.....	72
1. Introdução.....	73
2. Material e métodos	75
3. Resultados e Discussão.....	79
4. Conclusão	89
5. Referências	90

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Atividade de água mínima para desenvolvimento de alguns microorganismos em alimentos 4

Capítulo II

Tabela 1. Composição Química dos 11 alimentos comerciais secos e extrusados. 35

Tabela 2. Cronograma de refeições dos animais..... 43

Tabela 3. Desafios de preferência alimentar em gaiolas individuais (n=20), de uma dieta contendo diferentes índices de peróxido para gatos. 43

Tabela 4. Índice de peróxido e atividade de água dos alimentos secos e extrusados para cães e gatos durante análise de *shelf-life* em temperatura ambiente ($23,0\pm 4,6^{\circ}\text{C}$) e em estufa a 60°C45

Tabela 5. Estimativa dos parâmetros para o modelo em temperatura ambiente ($23\pm 4,6^{\circ}\text{C}$) de alimentos comerciais completos secos e extrusados para cães e gatos.....46

Tabela 6. Estimativa dos parâmetros para o modelo de teste em estufa (60°C) de alimentos comerciais completos secos e extrusados para cães e gatos..... 47

Tabela 7. Relação de níveis de peróxido com tempo em ambiente (teste em tempo real) e tempo de estufa (teste de estufa de Schaal). 48

Tabela 8. Correlação de dias em temperatura ambiente com um dia de estufa para alimentos secos e extrusados para cães e gatos.. 52

Tabela 9. Concentrações residuais de antioxidantes sintéticos e período de indução obtido através do Oxipres. 53

Tabela 10. Matriz decorrelação entre as variáveis de composição química e residual de antioxidante com a estabilidade oxidativa das amostras em temperatura ambiente, em tempo de estufa e submetidas à bomba de oxigênio 54

Tabela 11. Equações de estimativa do tempo necessário em temperatura ambiente ($23,0\pm 4,6^{\circ}\text{C}$) para atingir 10 mEq/Kg de IP utilizando diferentes preditores..... 56

Tabela 12. Teste de preferência alimentar de alimentos comerciais secos e extrusados para gatos com diferentes níveis de oxidação.....56

Capítulo III

Tabela 1. Composição Química dos 10 alimentos comerciais secos e extrusados.....76

Tabela 2. Modelos matemáticos usados para determinação de isotermas de sorção de alimentos secos e extrusados para cães e gatos.	78
Tabela 3. Estimativa dos parâmetros para o modelo de Peleg de alimentos comerciais completos secos e extrusados para cães e gatos.....	83
Tabela 4. Estimativa dos parâmetros para o modelo de GAB de alimentos comerciais completos secos e extrusados para cães e gatos.....	84
Tabela 5. Água na monocamada estimada pelo modelo GAB.....	85
Tabela 6. Umidade de equilíbrio estimada pelo modelo de Peleg com atividade de água fixada em 0,65.....	88
Tabela 7. Umidade de equilíbrio estimada pelo modelo de GAB com atividade de água fixada em 0,65	88

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1.** Reações do processo de autoxidação lipídica..... 6
- Figura 2.** Reações do método iodométrico. 8
- Figura 3.** Curva típica de isoterma de sorção..... 17
- Figura 4.** Formatos de curvas de isotermas de sorção 18
- Figura 5.** Modelos para ajuste de isotermas de alimentos 19

Capítulo II

- Figura 1.** Análise de regressão linear entre tempo de estufa (dias) e tempo em ambiente (dias) em alimentos para cães, para atingir o mesmo nível de Índice de peróxido (mEq/Kg) 50
- Figura 2.** Análise de regressão linear entre tempo de estufa (dias) e tempo em ambiente (dias) em alimentos para gatos, para atingir o mesmo nível de Índice de peróxido (mEq/Kg). 51

Capítulo II

- Figura 1.** Gráficos de isotermas de adsorção em temperaturas distintas para alimentos de cães e gatos 80

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os animais de companhia são cada vez mais tratados como membros da família, fato que se tornou uma realidade da última década, sendo que o envelhecimento populacional é um ponto importante para se entender o aumento dos “pets”. Com uma faixa etária superior a 60 anos, esse público acaba encontrado em seus animais uma forma de suprir sua carência por companhia, além de ser uma ótima ocupação. O fato de que cada vez mais as famílias estão demorando para ter filhos também contribui para o aumento de animais de estimação. É cientificamente provado que os animais desempenham um papel importante na qualidade de vida de seus proprietários, além de ajudá-los em momentos difíceis de estresse e perda (Borges et al., 2003).

O Brasil recentemente passou para segundo lugar mundial em faturamento de mercado *pet food*, ultrapassando o Reino Unido nesse quesito. Desde 2012, o Brasil vem crescendo para alcançar o Reino Unido como o segundo maior mercado *pet food* em todo o mundo (Pet Food Brasil, 2018).

A alimentação fornecida a esses animais passou por uma grande evolução, hoje em dia é mais comum a oferta de dietas balanceadas atendendo a exigência nutricional do animal (Borges et al., 2003). O proprietário também está muito mais exigente em relação à qualidade do alimento destinado ao seu animal. Por isso é tão importante o conhecimento do tempo de vida útil (*shelf-life*) do produto e os fatores que podem afetar sua qualidade, fazendo com que esse tempo de vida útil seja diminuído. Como por exemplo, o teor de água do produto, sua umidade, acidez e índice de peróxido.

Um fator importante para vida de prateleira de alimentos, como já citado é o teor de água, pois através deste é possível ter controle da taxa de deterioração do alimento (Fellows, 2006). Um teor máximo e seguro adotado por indústrias para alimentos secos e extrusados é de 14% para umidade e 0,65 de atividade de água no produto acabado (FEDIAF, 2010). No entanto, a natureza dos ingredientes, o processamento industrial, as condições ambientais e a composição química podem modificar esses valores (Park, et al., 2008). Por este motivo entender as relações existentes entre estas duas variáveis (umidade e a_w) é fundamental para se conhecer a vida útil do produto. Essa relação pode ser definida através de isotermas de sorção. Essas são expressas graficamente, relacionando teor de umidade e atividade de água quando essa é adsorvida e dissorvida a uma temperatura constante.

As rações voltadas a animais de companhia apresentam um tempo maior entre sua fabricação e validade. Normalmente essas rações exibem um *shelf-life* de um ano, podendo se estender a 18 meses (Brasil, 2009). Esse tempo prolongado faz com que as análises de *shelf-life* sejam de difícil controle para indústrias, uma vez que obtenção dos resultados pode ocorrer após a deterioração do alimento, fazendo com que o mesmo não seja apto a entrar no mercado. Isto porque os fenômenos que ocorrem no processo de oxidação são lentos, desenrolando-se frequentemente ao longo de vários meses (Silva et al., 1999).

Desta forma, os testes acelerados, recorrendo a condições padronizadas de oxidação acelerada, permitem estimar de forma rápida a vida de tempo útil do produto e se torna muito mais compatível com o controle de qualidade em escala industrial. Porém, um gargalo destes testes acelerados é sua falta de correlação com a análise de *shelf-life* convencional e conseqüentemente a segurança de se extrapolar estes resultados para o tempo real. Diante disso, o presente trabalho teve como finalidade elaborar equações preditivas de *shelf-life* de *petfood* por métodos acelerados usando como referência o teste em tempo real e avaliar a aplicabilidade de isothermas de sorção em alimentos para cães e gatos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fatores que influenciam na qualidade *pet food*

O forte vínculo homem e animal vem impulsionando a preocupação com o bem-estar dos animais de companhia, bem como com a qualidade e segurança dos alimentos destinados a estes animais (Gazzotti et al., 2015). Para garantir a qualidade e um longo tempo de prateleira dos alimentos, às fábricas utilizam programas de controle de qualidade.

Dentre alguns fatores que podem influenciar na qualidade de alimentos voltados a animais de companhia estão: umidade, atividade de água (a_w), acidez, autooxidação lipídica, condição de armazenagem e embalagens.

Presente em todos os alimentos a água desempenha um papel importante em sua conservação (Belitiz et al., 2004). A mesma define os processos de fabricação do extrusado, confere palatabilidade e melhora a textura do alimento (Bone & Shannon, 1977). A porcentagem de água de um produto em relação à porcentagem de matéria-prima é definida como umidade. A água dentro de um alimento se apresenta de duas formas: água ligada e livre (Fellows, 2006, Krabee et al., 2009;). A água ligada está combinada com as moléculas do produto, assim é dificilmente removida e utilizada para reações, porém a água livre se encontra disponível para reações físicas e químicas assim como para o crescimento microbológico, favorecendo a deterioração do produto (Uboldi Eiroa, 1981). Em métodos de determinação de umidade somente a água livre é medida, dificilmente se determina a água ligada (Fellows, 2006).

A água livre também é conhecida como atividade água do produto, análise de tal fator é imprescindível na indústria *pet food*, pois através dela é possível controlar a reprodução microbiana, reações enzimáticas, oxidativas e hidrolíticas do alimento, fazendo com que sua qualidade seja maior e conseqüentemente a vida de prateleira prolongada (Brito, 2010).

A determinação do teor de água de um alimento é fundamental para estimar a vida de prateleira de um produto, pois a mesma se apresenta com um fator importante para controle de taxa de deterioração. A disponibilidade de água para reações enzimáticas, químicas e atividade microbológica é que determina a vida de prateleira de um alimento, e isso é medido através da atividade de água (a_w) do alimento (Fellows, 2006).

Mesmo análise de determinação de umidade sendo corriqueira na indústria *pet food* a modo de evitar contaminações microbiológicas não é recomendado que a mesma seja usada isoladamente como parâmetro (Krabbe et al., 2009), isso pode ser explicado pelo fato de alimentos úmidos (30% de umidade) serem poucos susceptíveis a contaminações por conta da adição de umectantes, enquanto alimentos secos (10% de umidade) apresentam uma susceptibilidade maior. Neste sentido, a atividade de água é uma medida mais adequada, pois indica a quantidade de água disponível ao crescimento de microrganismos (Tabela 1).

Para cães e gatos se adota uma umidade padrão de no máximo 14% e atividade de água de 0,65 (FEDIAF, 2010). No entanto esses valores podem variar de acordo com composição química, processamento e armazenagem (Park, et al., 2008). Por isso se torna interessante estudar a relação entre essas duas variáveis (umidade e atividade de água).

Tabela 1. Atividade de água mínima para desenvolvimento de alguns micro-organismos em alimentos

Micro-organismos	Atividade de água mínima
Bactérias	0,91
Leveduras	0,88
Bolores	0,80
Bactérias halófilos	0,75
Bolores xerófilos	0,61
Leveduras osmotolerantes	0,60
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,85

Fonte: Alves (2003).

Outro fator que influencia a qualidade do alimento é o processo de deterioração lipídica, por autooxidação lipídica ou hidrólise microbiana. A autooxidação lipídica é iniciada pela reação de um radical livre com um ácido graxo insaturado (Lima et al., 2001). A oxidação faz com que o alimento perca em qualidade nutricional com a degradação de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis, e atrativa com a formação de *off flavors* e *off odors*, diminuindo a vida de prateleira do alimento (Silva et al., 1999; Tian et al., 2013). Além da produção de compostos nocivos, podendo causar dados biológicos ao organismo dos animais (Barriuso et al., 2012).

Acidez está diretamente ligada com a autooxidação lipídica, a mesma determina a quantidade de ácidos graxos livres na gordura presente no alimento (Cypriano, 2010) e normalmente análises de índice de peróxido são acompanhadas por análises de índice de acidez.

A radiação ultravioleta (UV) em presença de sensibilizadores como clorofila e a mioglobina podem desenvolver um mecanismo de oxidação conhecido como fotoxidação. Esse processo resulta na formação de hidroperóxidos que como na autooxidação estão sujeitos à degradação e consequente formação de aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (Silva et al., 1999). Por isso é tão importante que os extrusados sejam armazenados ao abrigo de luz.

Com *shelf-life* podendo chegar a 18 meses, a escolha do material destinado a fabricação de embalagens para *pet food* é essencial, sendo tão importante quanto o controle de qualidade realizado nas matérias-primas e no produto acabado. É importante que essas embalagens apresentem barreira a luz, umidade e gases de maneira a evitar crescimento microbiano e garantir as propriedades nutricionais.

Sistemas de embalagens estão cada vez mais ganhando espaço, é o caso de embalagens ativas com capacidade de liberar algum produto desejável como antioxidante, e embalagens inteligentes com indicadores de fatores indesejáveis, como indicador de deterioração do alimento. Ambas apresentam intuito de prolongar a vida útil dos produtos e garantir maior segurança alimentar, porém nenhuma embalagem irá manter a qualidade do produto se o mesmo não for armazenado corretamente (Rabello, 2009).

2.2 Oxidação lipídica

Os lipídeos estão presentes em quase todas as matérias-primas alimentícias, sendo as principais classes os triglicerídeos e os fosfolipídios. A fração lipídica dos alimentos está ligada diretamente a qualidade do produto, pois a mesma tem relação com as propriedades organolépticas, como aroma, cor, sabor, textura, suculência, estabilidade das proteínas e vida de prateleira. Além de ser fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis (Ferrari, 1998; Silva et al., 1999; Silva et al., 2017).

A oxidação lipídica em alimentos é um conjunto complexo, involuntário e inevitável de reações (Barriuso et al., 2013). A sua ocorrência pode levar a formação *off flavors*, *off odors*, mudança de textura e coloração, fazendo com que o alimento diminua seu valor nutritivo (Tian et al., 2013). Além da depleção de qualidade pela degradação de vitaminas e ácidos graxos essenciais, a oxidação lipídica pode causar a formação de

compostos tóxicos, como por exemplo, os produtos avançados de lipoxidação (ALEs) sendo estes compostos citotóxicos e genotóxicos (Barriuso et al., 2013; Calligares et al., 2015).

A reação espontânea do oxigênio atmosférico com o lipídeo, conhecido como autoxidação é o processo mais comum de deterioração lipídica. Dinâmico, puramente químico e complexo, a autoxidação se divide em três etapas: iniciação, propagação e terminação, como mostrado na figura 1 (Gray et al., 1978; Silva et al., 1999; Barden & Decker, 2013).

Na iniciação, ocorre a perda de um radical de Hidrogênio, assim como desaparecimento dos produtos de oxidação (oxigênio e ácidos graxos insaturados) e a formação o radical alquil do ácido graxo (Silva et al., 1999; Medina-Meza et al., 2014; Leão et al., 2017). Este reagirá com o oxigênio para formar radicais de peróxidos na etapa de propagação, fase da evolução oxidativa. Estes radicais formados reagem com ácidos graxos insaturados e formam hidroperóxidos. A segunda etapa se caracteriza pelo aparecimento dos produtos primários da oxidação, sendo estes os peróxidos e os hidroperóxidos (Silva et al., 1999; Leão et al., 2017). Por serem produtos instáveis, se tornam susceptíveis a decomposição dando origem a produtos secundários, conhecida como etapa de terminação (Angelo, 1996; Silva et al., 1999; Tian et al., 2013; Leão et al., 2017).

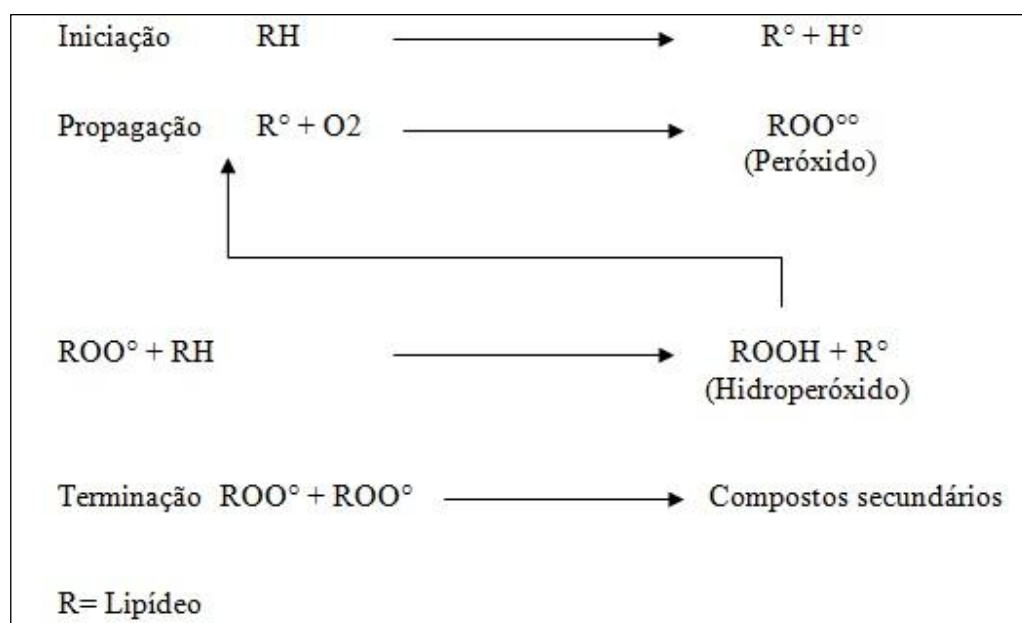


Figura 1. Reações do processo de autoxidação lipídica (adaptado de Gray, 1978).

Os processos envolvendo oxidação lipídica já foram revisados por diversos autores (Barden & Decker, 2013). Além da autooxidação existem outros mecanismos que levam a deterioração lipídica, como por exemplo, a fotooxidação, causado pela luz. Alternativamente a presença de metais de transição, como o ferro e o cobre, que podem atuar como catalisadores e também a oxidação enzimática, como a presença da enzima lipoxigenase atuando no processo pelo qual a deterioração oxidativa é iniciada (Silva et al., 1999; Barden & Decker, 2013).

2.2.1 Métodos para mensurar a oxidação lipídica

Comumente são utilizados diversos métodos para se mensurar a oxidação lipídica, porém, nenhum método isoladamente consegue detectar todos os produtos formados na oxidação de alimentos. Por isso, estudos sobre oxidação acabam trabalhando com um conjunto de métodos (Silva et al., 1999; Shahidi et al., 2002). Uma dificuldade em se medir a oxidação lipídica está na escolha do momento mais adequado, por isso é comum determinar um parâmetro indicador, como o período de indução, ou seja, o tempo necessário para se atingir um nível crítico de oxidação (Silva et al., 1999).

A escolha do método também se apresenta como um gargalo e requer grande importância e atenção, normalmente ela é tomada baseando nas respostas que se deseja obter, como a perda de substratos iniciais, radicais livres, absorção de oxigênio, formação de compostos primários e secundários (Shahidi et al., 2002; Dobarganes et al., 2002).

Shahidi et al., (2005) detalharam métodos de mensuração de oxidação lipídica como: oxigênio ativo e os métodos de aumento de peso para a absorção de oxigênio, análise cromatográfica, titulação iodométrica, complexos de íons férricos, métodos infravermelhos de transformação de Fourier (FTIR), espectrometria para dienos e trienos conjugados, valor de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), valor de p-anisidina (AV). Também foram delineados métodos para teste de estabilidade oxidativa como o método de Rancimat e Oxidative Stability Instrument (OSI). Torna-se interessante distinguir métodos de determinação de estabilidade oxidativa nas condições normais de armazenamento (testes de estabilidade oxidativa em tempo real ou *shelf-life*) dos testes de estabilidade acelerado, que avaliam a oxidação por testes preditivos, promovendo os processos oxidativos de maneira acelerada (Silva et al., 1999).

A indústria de alimentos, incluindo de *pet food*, acaba optando por métodos com capacidade de mensurar a formação de compostos primários e secundários da oxidação, como índice de peróxido, bomba de oxigênio, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

(TBARS), cromatografia gasosa, valor de p-anisidina (AV) e análise sensorial. Pela sua facilidade, o índice peróxido acaba sendo muito utilizado, e dentre suas várias formas de análise o método Iodométrico é o mais comumente empregado principalmente por sua precisão e simplicidade. Embora seja necessária uma extração prévia da fração de gordura dos alimentos, esse método traz resultados rápidos e claros (Dobarganes et al., 2002; Barriuso et al., 2013).

O índice de peróxido é um método analítico capaz de medir os hidroperóxidos, estes são formados no início da oxidação, portanto é considerado um método de análise de produtos primários da oxidação. Normalmente o padrão para se medir o índice de peróxido é o método Iodométrico (Figura 2), que se baseia na oxidação do íon de iodeto, medindo o iodo produzido a partir da decomposição do iodeto de potássio pelos peróxidos (Silva et al., 1999; Shahidi et al., 2005).

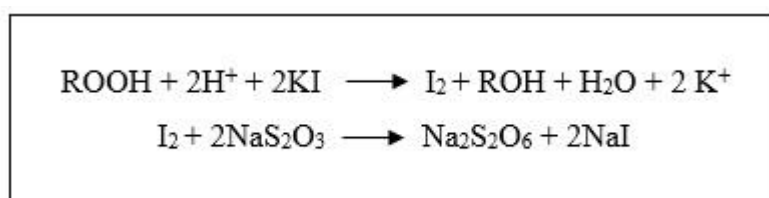


Figura 2. Reações do método iodométrico (Shahidi et al., 2005).

Apesar de amplamente empregado, o método iodométrico recebe críticas por parte de alguns autores. Acontecendo pela formação espontânea de hidroperóxidos, fazendo com que exista uma superestimação. Outro problema que o método apresenta está relacionado ao fato do mesmo ser realizado com titulação, fazendo com que o analista tenha muita precisão e sensibilidade para determinar a ponto final da titulação, principalmente quando o valor de peróxido é muito baixo (Silva et al. 1999; Shahidi et al., 2005; Barriuso et al., 2013). Ressaltando que para interpretar os resultados dos testes de índice de peróxidos, deve-se lembrar que os peróxidos são instáveis e formam componentes transitórios durante a oxidação.

Métodos como da bomba de oxigênio são capazes de mensurar o período de indução. Neste método qualquer composto oxidável irá reagir com o oxigênio, reduzindo a pressão dentro do aparelho. Desta forma é possível identificar o ponto em que a amostra perde sua estabilidade e a pressão cai rapidamente, coincidindo com a fase de propagação (fase II) da autoxidação lipídica (O'Keefe et al., 2010).

TBARS ou método reativo ao ácido 2-tiobarbitúrico, é um teste baseado reação do ácido tiobarbitúrico com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos. É o mais utilizado na quantificação de malonaldeídos (MA), por isso é um método de análise de produtos secundários da oxidação e comumente utilizada em produtos cárneos. O resultado é expresso em μM de malonaldeído por grama de gordura (Hoyland & Taylor, 1991; Silva et al., 1999; Shahidi et al., 2005; O'Keefe et al., 2010).

O estudo da cinética de desaparecimento dos ácidos graxos presentes na matriz é geralmente efetuado por cromatografia gasosa (Silva et al., 1999). A cromatografia gasosa é empregada como análise quantitativa dos compostos voláteis e pode ser aplicada em diversas amostras após a extração inicial dos lipídeos (Dobarganes et al., 2002). Os compostos voláteis produzidos incluem aldeídos, cetonas, álcool, enxofre, entre outros (Dobarganes et al., 2002; Boskou et al., 2010). Vale ressaltar que o método não é indicado para amostras com teores de ácidos graxos muito baixos (Silva et al., 1999).

O valor de p-anisidina (AV) mede produtos de oxidação secundária, de uma maneira simplória essa análise é capaz de medir aldeídos saturados. Em um meio acético a p-anisidina forma um composto de coloração amarela com aldeídos que possuem dupla ligação conjugada, em especial o *trans, trans*-2,4-decadienal resultante da degradação do ácido linoleico (Silva et al., 1999; O'Keefe et al., 2010). O valor de p-anisidinaé associado ao valor de índice de peróxido (IP), a partir de ambos é possível se chegar ao valor totox, (valor total da oxidação), representado pela seguinte equação:

$$\text{Valor Totox} = 2 (\text{IP}) + (\text{VA})$$

Sendo IP = Índice de Peróxido; IpA = Índice de p-anisidina (Silva et al., 1999, Shahidi e Zhong, 2005).

Em análises sensoriais são realizadas coletas de dados com informações de preferência baseando na degustação do alimento (Silva et al., 1999). A oxidação lipídica é um dos fatores mais cruciais para diminuição da vida útil de alimentos, fazendo com que o mesmo apresente características desagradáveis, como *off flavors* e *off odors* (Tian et al., 2013; Calligaris et al., 2015), por isso o interesse de se realizar análises sensoriais em alimentos que estejam sofrendo processo oxidativo. Para animais de companhia essas análises se baseiam em características sensoriais, como aroma, sabor, textura, aparência e pode ser medida pela preferência e consumo através de ensaios de palatabilidade (Koppel et al., 2014).

2.2.2 Efeito da oxidação lipídica sobre a palatabilidade

A palatabilidade está ligada a preferência alimentar do animal, é facilmente detectada e sua mensuração é de extrema importância para indústria. A mesma é determinada pela associação de aspectos químicos e físicos, baseando-se no odor, na textura, no tamanho, na temperatura e o sabor (Pizzato & Domingues, 2008).

Existem várias maneiras de se melhorar a palatabilidade de um alimento, entre essas a adição de óleo ou gordura dietética é comumente empregada na indústria *pet food* (Zaghini et al., 2005). Em estudos como Houpt et al. (1978) e Lohse (1974) é possível observar a preferência de cães por carnes com mais gorduras em comparação a carnes magras. No entanto, a adição de óleo ou gordura de maneira não controlada pode deixar o alimento mais susceptível a oxidação. Também vale lembrar que dietas voltadas a animais de companhia são compostas em sua grande parte por subprodutos de origem animal, sendo um dos subprodutos mais utilizado a farinha de vísceras de frango, que apresenta alto teor lipídico mostrando passível aos processos deteriorativos, como autooxidação.

Como descrito anteriormente, a oxidação lipídica leva a formação de *off flavors* e *off odors*, mudança de textura e coloração (Tian et al., 2013). A natureza dos *off flavors* depende exclusivamente da composição de seu substrato e também do grau de oxidação. Acredita-se também que os aldeídos não sejam palatáveis para animais de companhia como não o são para humanos (Case, 2011; Lima & Abdalla, 2001). O processo oxidativo também pode levar a formação de compostos tóxicos (Barriuso et al., 2013; Calligares et al., 2015).

Os gatos são mais exigentes em relação à palatabilidade de seus alimentos, apresentando maior sensibilidade se comparado aos cães (Saad, 2004), e em teoria os tornaria apto para identificar e não aceitar produtos com indícios de oxidação.

Apesar dos alimentos voltados a animais de companhia serem susceptíveis a oxidação e de forma indireta interferir na palatabilidade, ainda é necessário mais estudo na área para melhor compreensão do efeito da oxidação sobre a palatabilidade. No entanto, devido a possíveis danos biológicos ao organismo dos animais não é recomendado a adição de ingredientes oxidados.

2.3 *Shelf-life* de alimentos para cães e gatos

Popularmente conhecido como “prazo de validade” *shelf-life* é o tempo de vida útil de qualquer alimento. O tempo que mantido em condições adequadas de exposição ao ar e luminosidade, o produto se mantém próprio para o consumo, apresentando alterações que são consideradas aceitáveis pelo fabricante, consumidor e a legislação alimentar vigente (Vitali et al., 2004; Calligaris et al., 2015).

Com exigência maior dos proprietários em relação à qualidade e segurança alimentar dos alimentos voltados a seus animais de estimação, e expectativas de que a qualidade será mantida em alto nível da compra até o consumo total do produto, análises de *shelf-life* (tempo de prateleira) setornam essenciais para indústrias.

Tal especificação pode ser encontrada nos rótulos dos alimentos, cada produto possui um tempo específico de vida útil. Alimentos secos e extrusados para animais de companhia normalmente devem manter características adequadas de consumo pelo período de 12 meses, podendo se estender a 18 meses (Chanadang et al., 2016).

Avaliação do *shelf-life* apresenta suas dificuldades, principalmente para os produtos com um longo tempo de vida útil, como é o caso de alimentos secos e extrusados para cães e gatos. No entanto, esta é uma análise fundamental para indústria *pet food* manter sua reputação e marca no mercado (Calligaris et al., 2015).

Segundo Calligaris et al., (2015), um estudo de vida e tempo útil de qualquer produto alimentício pode ser dividido em três etapas fundamentais. A primeira etapa implica na identificação do alimento, sua composição química e física e nos possíveis eventos biológicos que podem fazer como alimento perca valor nutricional. A próxima etapa se caracteriza pela avaliação da mudança de qualidade do alimento em função do tempo e armazenamento, nessa etapa se faz a aplicação de testes, sendo estes testes de prateleira em tempo real ou acelerado. E por fim, a última etapa se caracteriza pela coleta e modelagem dos dados para estimativa de vida útil.

2.3.1 Fatores que influenciam o *Shelf-life*

Diversos fatores podem afetar o *shelf-life* de alimentos, sendo classificados como fatores intrínsecos e extrínsecos. De acordo com a FIB (Food Ingredients Brasil), os fatores intrínsecos são as propriedades do produto final, e isso inclui: atividade da água (a_w) (água disponível), valor de pH e acidez total, potencial redox, oxigênio disponível, nutrientes, composição química do alimento, bioquímica natural da formulação do

produto (enzimas, reagentes químicos), uso de conservantes na formulação do produto (por exemplo, sal, antioxidantes). Estes fatores intrínsecos são influenciados pelo tipo de matéria-prima, qualidade dos ingredientes e processamento pelo qual o alimento é submetido (Food Ingredients Brasil, 2011).

Os fatores extrínsecos são aqueles que o alimento encontra a medida que o mesmo se move na cadeia alimentar (rever a frase). Sendo esses: perfil e tempo de temperatura durante o processamento, UR (umidade relativa) do processamento, armazenagem e distribuição, exposição à luz (UV e IV) na armazenagem e distribuição, controle de temperatura do processamento e da temperatura ambiente na armazenagem, composição da atmosfera dentro da embalagem e por fim o manuseio do consumidor (Food Ingredients Brasil 2011).

Tais fatores, intrínsecos e extrínsecos, podem criar uma série de processos que afetam o *shelf-life*, causando sua diminuição ou aumento. Esses processos podem ser convenientemente classificados como microbiológicos, químicos, físicos e relacionados à temperatura.

De acordo com Brandão et al., (2011), a contaminação de rações por microorganismos é um dos principais responsáveis por danos na saúde de animais de companhia, esta contaminação pode ocorrer durante o processamento, estocagem e manuseio de matérias-primas. Para Girio et al., (2012), a etapa de recepção de ingredientes é fundamental para evitar contaminação microbiológica, acordando com esse fato Butolo (2002), menciona a importância da retirada de amostras das matérias-primas em sua chegada à fábrica para análises quanto a seus aspectos químicos, físicos e microbiológicos. As alterações microbiológicas que os alimentos podem sofrer dependem de diversos fatores, sendo os que mais se destacam: a carga microbiana inicial no começo do armazenamento; as propriedades físico-químicas dos alimentos, como teor de umidade, pH e presença de conservantes; o método de processamento utilizado na produção dos alimentos; e o ambiente externo do alimento, como as composições de gás circundantes e a temperatura de armazenamento (Food Ingredients Brasil, 2011).

As alterações químicas podem ocorrer dentro dos alimentos ou a partir de reações dos componentes dos alimentos com fatores externos, como oxigênio, luz, desenvolvendo a rancidez. A oxidação lipídica influencia negativamente a qualidade dos alimentos, apresentando como o principal fator que provoca odores e sabores desagradáveis, com possibilidade de formação de compostos nocivos afetando o *shelf-life* de produtos

alimentícios, incluindo alimentos para animais de companhia (Calligaris et al., 2008; Chanadang et al., 2016, Silva et al., 2017).

A absorção de água é a principal alteração física com capacidade de afetar o *shelf-life*. Mesmo sendo fatores fundamentais para a palatabilidade, a umidade e atividade de água podem proporcionar o crescimento de micro-organismos (Krabbe, 2009). No caso de alimentos secos, a absorção de água pode ainda fazer com que o alimento perca sua crocância (Food Ingredients Brasil, 2011), à medida que quanto maior a absorção, mais rapidamente o alimento pode deteriorar, interferindo diretamente em seu tempo de vida útil (Krabbe, 2009).

Todas as alterações descritas acima mostram a importância de um ótimo controle de temperatura tanto no processamento quanto na estocagem. Isso porque entre todos os fatores que podem ser usados para aumentar reações químicas como a oxidação, o aumento de temperatura é certamente o mais empregado (Calligares et al., 2015). A temperatura também pode promover mudanças na cristalinidade da gordura e alterar as características de cristalização dos alimentos que contêm açúcar (Food Ingredients Brasil, 2011).

2.3.1 Diminuição do *Shelf-life* de alimentos submetidos à oxidação

A oxidação em alimentos é um conjunto complexo de reações envolvendo lipídeos e oxigênio, gerando radicais livres (Barriuso et al., 2013; Calligares et al., 2015, Silva et al., 2017). Assim como todo alimento que apresente em sua formulação gordura ou óleo, os voltados a animais de companhia necessitam de cuidados em relação ao desenvolvimento do processo oxidativo durante processamento e armazenagem (Silva et al., 2017).

O *shelf-life* é diretamente afetado pela oxidação lipídica, a mesma pode levar o alimento a apresentar odor, cor, textura e sabor desagradável, além da perda nutricional com a degradação de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis (Silva et al., 1999; Calligares et al., 2015, Silva et al., 2017). Outro ponto importante a ser considerado na influência negativa que a oxidação exerce sobre a vida de prateleira está relacionado ao fato das reações oxidativas serem capazes de formar compostos nocivos (Silva et al., 1999; Barriuso et al., 2012; Calligares et al., 2015). Diante desses pontos é possível afirmar que a oxidação sofrida pelos alimentos não está relacionada apenas com sua qualidade ou seu tempo de vida útil, mas também se mostra como questão de segurança alimentar.

Como a oxidação é um processo lento e gradativo fazendo com que a vida de prateleira sofra uma reação inversa, ou seja, conforme a oxidação aumenta o tempo de vida útil de determinado alimento diminui. Com intuito de diminuir os efeitos causados pela oxidação e prolongar o *shelf-life* dos produtos, a indústria *pet food* recorre ao uso de antioxidantes (Silva et al., 2017). Estes podem ser sintéticos, amplamente utilizados pela indústria alimentícia, ou naturais, substâncias bioativas que fazem parte da constituição de diversos alimentos, como os tocoferóis, vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos (Sucupira, et al., 2012).

Gross et al., 1994, em estudo com três distintas formas de conservação (antioxidantes) para controle dos processos oxidativos de alimentos secos e extrusados para animais de companhia, realizando teste de *shelf-life* acelerado e em tempo real, observou aumento na oxidação do alimento submetido a maior temperatura, provocando menor vida de prateleira do alimento. O mesmo foi observado por Silva et al., 2017 que estudou a estabilidade oxidativa de *snacks* semi úmidos para cães com o uso de antioxidantes naturais e sintéticos em teste de *shelf-life* acelerado e tempo real, notou-se aumento na oxidação dos bifeinhos que foram submetidos ao teste de estufa a 60°C por 10 dias, provando que o aumento de temperatura acelera os processos de oxidação e esse por sua vez diminui o tempo de vida útil do produto, fazendo com que o produto perca atratividade e valor nutricional.

2.3.2 Métodos para avaliação de *Shelf-life* em função da oxidação

O *shelf-life* pode ser mensurado de várias maneiras, basicamente os métodos se dividem em teste em tempo real e testes acelerados. Como o próprio nome sugere, o teste em tempo real se baseia em uma avaliação da vida de prateleira durante todo o tempo de vida útil do alimento. No caso de alimentos voltados a animais de companhia, essa avaliação teria a duração de 12 meses podendo se estender a 18, dificultando a produção em escala industrial.

Normalmente o *shelf-life* em tempo real, monitora as alterações sofridas pelo alimento em função a oxidação por meio de análises como: índice de peróxido, índice de acidez, análises sensoriais, dienos conjugados, TBARS, entre outras (Drozdowski & Szukalska, 1987). A partir dos resultados obtidos através das análises é possível determinar o momento que o alimento perde sua estabilidade oxidativa e acompanhar a evolução desses processos deteriorantes, conseguindo mensurar o tempo de prateleira.

Como avaliar a estabilidade oxidativa de um alimento em tempo real pode ser um processo demorado, como no caso de alimentos secos e extrusados para cães e gatos, os testes acelerados são fortemente empregados. Recorrendo a condições padronizadas de oxidação acelerada (oxigenação intensa, tratamento térmico ou catálise por metais), para provocar o envelhecimento mais rápido dos alimentos os testes acelerados permitem estimar de forma rápida o *shelf-life* (Silva et al., 1999). Para alguns testes acelerados também é necessário o monitoramento da evolução oxidativa através de análises.

Um grande gargalo desses testes acelerados seria sua correlação com o *shelf-life* em tempo real, uma vez que o tratamento térmico ou fluxo de oxigênio utilizado é muito mais alto que a temperatura e oxigênio ambiente. Outro problema está nas análises utilizadas para acompanhar a oxidação. De acordo com Frankel et al., (1993), análises de índice de peróxido e dienos conjugados empregadas para acompanhar a evolução oxidativa em testes acelerados com tratamento térmico apresentam valores questionáveis, uma vez que os peróxidos se decompõem rapidamente em altas temperaturas.

Um método acelerado com tratamento térmico bastante empregado para avaliar *shelf-life* de alimentos é o método de estufa, também chamado de método de Schaal. Esse método envolve o aquecimento das amostras em temperatura de 60°C em estufa de ventilação forçada, até o aparecimento dos primeiros sinais de oxidação (Hill et al., 1994; Silva et al., 1999). As amostras são avaliadas em intervalos regulares de tempo, em que se se faz o uso de metodologias como peróxido ou até mesmo análises sensoriais (Silva et al., 1999).

Para Frankel et al., (1993) e Silva et al., (1999), os resultados obtidos através desse método apresentam boa correlação com análises de vida de prateleira em condições normais, apresentando menos limitações que outros testes acelerados. Porém para Malcolmson et al., (1994) e Warner et al., (1989) não existe padronização para o teste de Schaal. A principal crítica está no inadequado controle das condições de oxidação (Hamilton et al., 1983; Berset et al., 1996; Schwarz et al., 1996).

Entre os testes acelerados que utilizam oxigenação intensa se destacam o Oxitest, Oxipres e Rancimat, ambos são reatores capazes de medir a capacidade de estabilidade oxidativa de alimento. Nesses métodos, qualquer composto oxidável irá reagir com o oxigênio (Silva et al., 1999). Sendo possível identificar o ponto em que a amostra perde sua estabilidade, chamado de período de indução (PI), coincidindo com a fase de propagação (fase II) da autooxidação lipídica (O'Keefe et al., 2010). Métodos como esses são práticos e bem mais rápidos que o método de estufa, outra vantagem seria a falta de

necessidade de acompanhar a evolução oxidativa por meio de análises do grau de oxidação. O período de indução dos alimentos submetidos a esses testes são registrados pelo equipamento. No entanto, o fluxo de oxigênio utilizado é muito mais alto que o oxigênio ambiente o que diminuiria a correlação com teste em tempo real.

2.4 Isotermas de sorção

Isotermas consistem em curvas que descrevem a relação entre o conteúdo de umidade dos alimentos e atividade de água em condições de temperatura constante (Kaymak-Ertekin & Gedik, 2005; Kurozawa, et al., 2005; Samapundo et al., 2007). Segundo o autor Ordóñez et al., (2005), as isotermas são diferentes dependendo do grupo dos alimentos e permitem estimar a estabilidade de um produto diante de diversos agentes alterantes. Para Park et al., (2008), a relação entre a umidade e atividade de água encontrada a partir de curvas de isotermas depende da composição química do alimento (proteínas, gordura, amido, açúcar, entre outros). E, partir dessas curvas se consegue determinar o teor final de água necessário para que alimento se mostre estável e obtenha a vida de prateleira desejada.

Essas curvas podem ser obtidas em duas formas: Isotermas de adsorção: obtidas em material completamente seco, assim o incremento do conteúdo de umidade de equilíbrio a várias atividades de água, em temperatura constante, faz com que este material ganhe massa pela entrada de água em sua estrutura. Isotermas de dessorção: obtidas no material quando este está completamente úmido e, dependendo da atividade de água do sistema, a umidade de equilíbrio do material diminui na medida em que este cede água para o sistema. Essas curvas de isotermas de adsorção e dessorção não coincidem, e a diferença entre elas é chamada de histerese (Al-muhtaseb et al., 2002; Kurozawa, et al., 2005). Uma curva típica de isoterma de sorção é mostrada na figura 3 (Park & Nogueira, 1992).

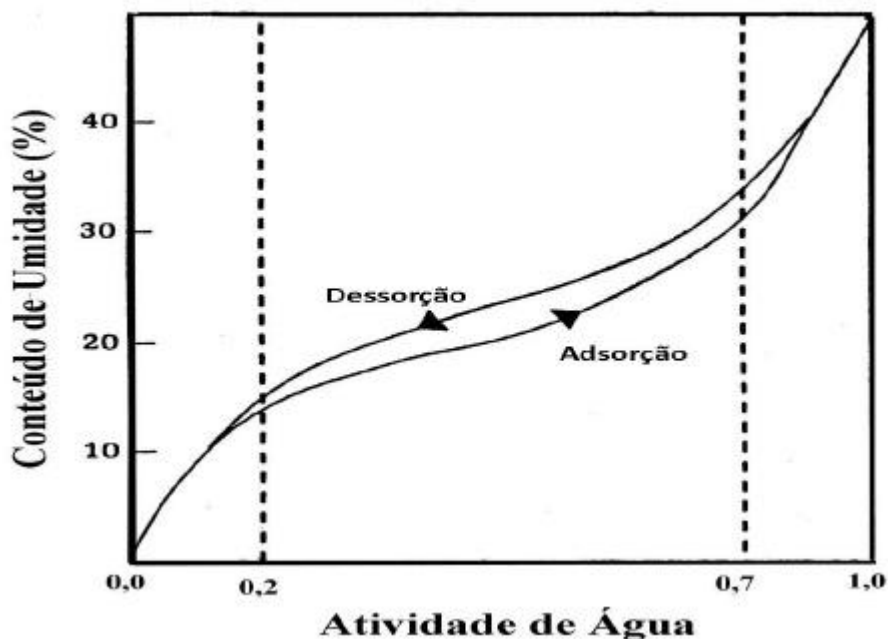


Figura 3. Curva típica de isoterma de sorção
 Fonte: Park & Nogueira (1992).

As isotermas de sorção (adsorção e dessorção) fornecem dados específicos com aplicação direta na predição de tempo de secagem do alimento, na vida de prateleira, no crescimento microbiano, na determinação do tipo de embalagem, predição do efeito do abuso da temperatura, nas especificações de controle de qualidade, definições de pontos críticos, caracterização do produto inclusive quando o mesmo é constituído por componentes de atividade de água diferentes (Gal, 1987; Pena, et al., 2000).

De acordo com Brunauer et al., (1938), existem cinco tipos de isotermas de sorção de acordo com o formato de curva obtido (Figura 4). Materiais que apresentam amido, normalmente apresentam curvas do tipo II, em que o formato é sigmóide. Ainda de acordo com o autor, esse formato de curva permite entender o tipo de força existente da ligação da água com o material higroscópico, permitindo avaliar a estrutura superficial do material.

Alimentos que apresentam elevadas concentrações de açúcar, como a maior parte das frutas, possuem isotermas de sorção com formato de J, com classificação do tipo III (Gregg & Sing, 1967). Conforme Brunauer et al., (1938), as isotermas do tipo I, IV e V não são de interesse para a área de alimentos.

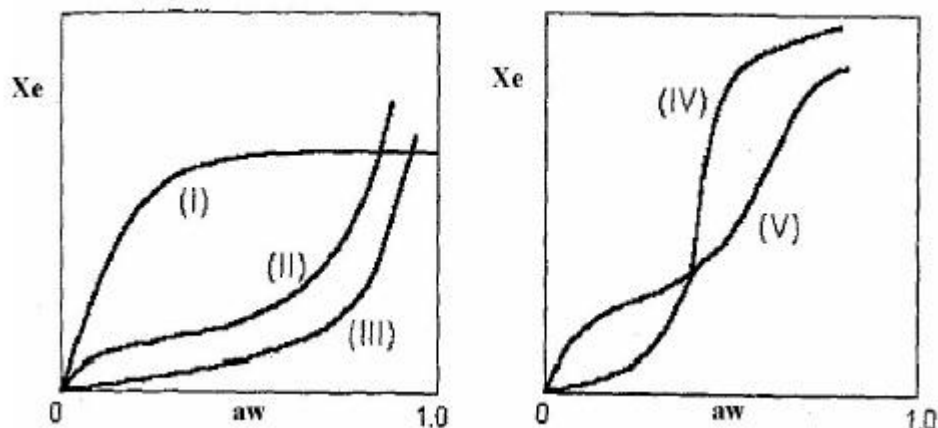


Figura 4. Formatos de curvas de isothermas de sorção
 Fonte: Brunauer et AL., 1938.

As isothermas de sorção da maioria dos alimentos são não lineares, geralmente de forma sigmoidal, com variações de acordo com a estrutura física, composição química, temperatura e capacidade de retenção de água do alimento (Al-muhtaseb et al., 2002; Ordóñez et al., 2005). Na literatura, existem diversos modelos matemáticos capazes de prever isothermas dos mais distintos produtos (Kurozawa, et al., 2005). Esses modelos são usados para determinar a umidade de um alimento em relação a atividade de água (Al-muhtaseb et al., 2002). Mais de 270 modelos são descritos na literatura para modelagem dos dados de equilíbrio, diferindo em caráter empírico ou teórico e no número de parâmetros envolvidos, entre esses os mais usados para curvas de sorção de alimentos são GAB, Halsey, Oswin e Peleg (Kurozawa, et al., 2005).

Lomauro et al., (2005), verificaram que a equação de GAB pode representar com grande precisão mais de 50% de isothermas de frutas, vegetais e carnes, quando comparado com equações de dois parâmetros. Alguns dos modelos mais usados para modelagem de dados de isothermas de alimentos estão apresentados na figura 5.

Nome do modelo	Modelo
GAB	$X = \frac{X_m C_{GAB} K_{GAB} a_w}{(1 - K_{GAB} a_w)(1 - K_{GAB} a_w + C_{GAB} K_{GAB} a_w)}$
BET	$\frac{X}{X_m} = \left(\frac{1 - (n+1)a_w^n + n.a_w^{n+1}}{1 - (1-C)a_w - C.a_w^{n+1}} \right)$
BET linearizado	$\frac{a_w}{(1-a_w)X} = \frac{1}{X_m C_{BET}} + \frac{a_w(C_{BET} - 1)}{X_m C_{BET}}$
HALSEY	$a_w = \exp(A / X^b)$
OSWIN	$X = A \left(\frac{a_w}{1 - a_w} \right)^B$
PELEG	$X = k_1 a_w^{n_1} + k_2 a_w^{n_2}$

Figura 5. Modelos para ajuste de isotermas de alimentos

Fonte: Prado et al., (1999).

Em estudo de isotermas de *snacks* extrusados Wani et al., (2016), observou que o modelo de GAB seguido de Oswin, BET e Smith melhor se ajustaram aos dados. Apesar de ainda pouco usadas na rotina da indústria *pet food*, o conhecimento das isotermas pode contribuir com o aumento no *shelf-life* de produtos e ainda com economia no processo de secagem nos processos industriais.

2.4.1 Métodos para determinação de isotermas

De acordo com Al-muhtaseb et al., (2002) os métodos para mensuração de isotermas podem ser divididos em três: gravimétricos, manométricos e higrométricos.

Métodos gravimétricos são os mais utilizados pelo seu menor custo para realização. O mesmo se baseia na mudança de massa, a temperatura do ar e a atividade de água são mantidas constantes até que o teor de água da amostra atinja o valor de equilíbrio, sendo que o ar pode ser circulado (método dinâmico) ou estagnado (método estático), desta forma o tempo para o produto entrar em equilíbrio é menor no método dinâmico (Al-muhtaseb et al., 2002).

No método higrométrico o teor de água do material é mantido constante até que o ar circundante atinja o valor constante de equilíbrio, sendo a atividade de água medida via higrômetro ou manômetro (Costa et al., 2015).

Por fim, o método manométrico mede o vapor de água no espaço do vapor que circunda os alimentos (Al-muhtaseb et al., 2002).

Dentre os métodos gravimétricos, o mais tradicional é chamado de método de dissecador. De acordo com Pacheco et al., (2009) nesse método a isoterma é determinada pelo equilíbrio de uma amostra em atividade de água conhecida para determinação do teor de umidade de equilíbrio. Inicialmente a matéria seca das amostras é determinada e em seguida as amostras são colocadas em dissecadores com soluções saturadas de atividade de água conhecida. Normalmente é utilizada mais de uma solução saturada, com finalidade de se criar uma faixa de atividade de água. Por fim, esses dissecadores são levados a estufa de ventilação forçada em temperatura determinada e anotações das massas das amostras são realizadas em intervalo regular de tempo.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

- ABINPET. 2016. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de estimação.
- Al-Muhtaseb, A. H., McMinn, W. A. M., Magee, T. R. A. 2002. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: a review. *Trans IChemE*. 80, 118-128.
- Alves, D. G. 2003. Obtenção de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) em passa utilizando processos combinados de desidratação osmótica e secagem. Tese de Doutorado-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, p.149.
- Angelo, A.J. 1996. Lipid oxidation in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 36,175-224.
- Barden, L., Decker, E. A. 2013. Lipid oxidation in low-moisture food: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.56, 2467-2482.
- Barriuso, B.; Astiasarán, I., D. Ansorena. 2013. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *Eur. Food Res.Technol.*, 236, 1-15.
- Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. 2004. *Food Chemistry*, 3ed. Germany: Springer.
- Berset, C., Cuvelier, M.E. 1996. Revue: méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et mesure du pouvoir antioxydant. *Sciences des Aliments*.16, 219.
- Bone, D.P., Shannon, E.L. 1977. Process for making a dry *pet food* have a hard component and a soft component. 4, 59-66.
- Borges, F. M., Salgarello, R. M., Gurian, T. M. 2003. Recentes avanços na nutrição de cães e gatos. In: III Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação. Colégio Brasileiro de Alimentação Animal., Campinas-SP, p. 21-60.
- Boskou, D., Elmadfa, I. 2010. Oxidation products and metabolic processes. frying of food: oxidation, nutrient and non-nutrient antioxidants, Biologically Active Compounds, and High Temperatures. 2th ed, CR Press, New York.
- Brandão, P. A., Nascimento, T. R., Sobral, F. E. S., Freitas, M. R. V., Brito, I. C. A., Silva, S. G. 2011. Avaliação da qualidade bromatológica e microbiológica de rações para rãs.*Rev. Cient. Prod. Animal*.13, 71-74.
- Brito, C. B. M., Felix, A. P.; Jesus, R. M., França, M. I., Krabbe, E. L., Oliveira, S.G., Maiorka, A. 2010. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. *Animal Feed Science and Technology*.159, 150-155.

¹Elaborada de acordo com as normas da revista *Animal Feed Science and Technology*

- Brunauer, S., Emmett, P. H., Teller, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, Easton. 60, 309-319.
- Butolo, J. E. 2002. *Qualidade de ingredientes na alimentação animal*. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal.
- Brasil. Instrução Normativa nº 30 de 05 de agosto de 2009. Estabelece critérios e procedimentos para o registro de produtos, para rotulagem e propaganda e para isenção da obrigatoriedade de registro de produtos destinados à alimentação de animais de companhia. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- Calligares, S.; Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, M. C. 2015. Shelf life assessment of food undergoing oxidation – a review. *Food Science and Nutrition*. 56, 1903-1912.
- Chanadang, S., Koppel, K., Aldrich, G. 2016. The impact of rendered protein meal oxidation level on shelf-life, sensory characteristics and acceptability in extruded pet food. *Animals*. 6, 44-61.
- Costa, L. M. 2015. Determinação das isothermas de equilíbrio higroscópico de frutos de crambe pelo método dinâmico. *Biosci. J.* 31,382-391.
- Cypriano L. 2010. Decomposição da matéria crua e sua ação sobre a qualidade das farinhas e óleos de origem animal. *Pet Food Brasil*. 7, 42-50.
- Dobarganes, M. C., Velasco, J. 2002. Analysis of lipids hydroperoxides. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.* 104, 420-428.
- Drozdowski, B., Szukalska, E. 1987. A rapid instrumental method for the evaluation of the stability of fats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 64, 1008-1011.
- FEDIAF. 2010. European Pet Food Industry Federation. Guide to Good Practice for the Manufacturing of Safe Pet Foods.
- Fellows, P. J. 2006. *Tecnologia do processamento de alimentos. Princípios e práticas*. 2 ed. Artmed, Porto Alegre.
- Ferrari, C. K. B. 1998. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Revista Nutrição, Campinas*. 11, 3-14.
- FIB: Food Ingredientes Brasil. 2011. São Paulo: Fihba, Trimestral. <http://www.revista.fi.com> (acesso em 04 jan, 2017).
- Frankel, E.N. 1993. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends in Food Science & Technology*. 4, 220-225.
- Gal, S. 1987. The need for, and practical applications of sorption data. In R. Jowitt, F. Escher, B. Hallström, H. Mefert, W. Spiess, & G. Vos (Eds.), *Physical properties of foods*. London., pp. 13–25.

- Gazzotti, T., Biagi, G., Pagliuca, G., Pinna, C., Scardilli, M., Grandi, M., Zaghini, G. 2015. Occurrence of mycotoxins in extruded commercial dog food. *Animal Feed Science and Technology*. 202, 81–89.
- Girio, T. M. S., Nader Filho, A., Rossi Junior, O. D., Amaral, L. A., Girio, R. J. S. 2012. Qualidade microbiológica de rações para cães comercializadas no varejo em embalagem fechada e a granel. *Ars Veterinaria*. 28,36-040.
- Gray, J. I. 1978. Measurement of lipid oxidation: a review. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.* 55, 539-546.
- Gregg, S. J., Sing, K. S. W. 1967. Adsorption, Surface area and Porosity. 2th. Academic Press, New York.
- Gross KL, Bollinger R, Thawngmung P, Collings GF. 1994. Effect of three different preservative systems on the stability of extruded dog food subjected to ambient and high temperature storage. *Jornal Nutr.* 124, 2638–2642.
- Hamilton, R. J., Rossell, J. B., Hudson, B. J. F., Löliger, J. 1983. Chemistry of rancidity in foods. In: Rancidity in Foods. Allen J. C., Hamilton R. J., Ed.; Applied Science Publishers LTD.; London. p .1.
- Hill, S.E. 1994. A comparison of modern instruments for the analysis of the oxidation stability of fats, oils and foods. *Inform.* 5, 104-109.
- Haupt, K. A., Hintz, H. F.; Shepherd, P. 1978. The role of olfaction in canine food preferences. *Chemical Senses*. 3, 281-290.
- Hoyland, D. V., Taylor, A. J. 1991. A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. *Food Chemistry*. 40, 271-291.
- Kaymak-Ertekin, F., Gedik, A. 2005. Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technology*, 37, 429–438.
- Koppel, K. 2014. Sensory Analysis of Pet Foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94, 2148-2153.
- Krabbe, E.L. 2009. Controle da atividade de água e produção de alimentos secos e semi-úmidos. In: I Congresso Internacional e VIII Simpósio sobre nutrição de animais de estimação - CBNA. Campinas – SP, Anais.
- Kurozawa, L. E., El- Aouar, A. A., Murr, F. E. X. 2005. Obtenção de isotermas de dessecção de cogumelo *in natura* e desidratado osmoticamente. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas. 25, 828-834.
- Case, L. P. 2001. Canine and feline nutrition: a resource for companion animal professionals, 3th ed. Evaluation of pet foods. Mosby Elsevier, Maryland Heights, USA.

- Leão, L. L., Oliveira, F. S., Souza, R. S., Farias, P. K. S., Fonseca, F. S. A., Martins, E. R.; Souza, R. M. 2017. Uso de antioxidantes naturais em carne e seus produtos. Caderno de Ciências Agrárias. 9, 94-100.
- Lima, E. S., Abdalla, D. S. P. 2001. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostra microbiológica. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 37, 293-303.
- Lohse, C. L. 1974. Preferences of dogs for various meats. Journal of the American Animal Hospital Association. 10, 187-192.
- Lomauro, C. J., Bakshi, A. S., Labuza, T. P. 1985. Evaluation of food moisture isotherm equations, 1:fruit, vegetable and meat products. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 18, 111-117.
- Malcolmson, L.J., Vaisey-Genser, M., Przybylski, R., Eskin, N.A.M. 1994. Sensory stability of canola oil: present status of shelf life studies. Journal of the American Oil Chemists' Society. 71, 435-440.
- Medina-Meza, I. G., Barnaba, C., Barbosa-Cánovas, G.V. 2014. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: a review. Innovative food Science and Emerging Technologies. 22, 1-10.
- Ordóñez, J. A. 2005. Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos. 1 ed. Artmed. Porto Alegre.
- O' Keefe, S. F., Pike, O. A. Nielsen, S. S. 2010. Fat Analysis. Food Analysis. 14, 239-262.
- Pacheco, A. C. W., Luz, G. R., Jorge, L. M. M., Paraíso, P. R. 2009. Determinação das isotermas de equilíbrio na adsorção da ração de peixe. VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica.
- Park, K. J. B., Park, K. J., Cornejo, F. E. P., Dal Fabbro, I. M. 2008. Considerações termodinâmicas das isotermas. Revista Brasileira de Produtos Agropecuários. 10, 83-94.
- Park, K. J., Nogueira, R. I. 1992. Modelos de ajustes de isotermas de sorção de alimentos. Engenharia Rural. 3, 179-187.
- Pena, R. S., Ribeiro, C.C., Grandi, J. G. 2000. Aplicação de modelos matemáticos bi e tripamétricos na predição de isotermas de adsorção de umidade de guaraná (*Paullinia Cupuna*) em pó. Ciência e Tecnologia de alimentos. 20, 8-11.
- Pet Food Brasil. Mercado Pet Food brasileiro alcança Reino Unido. Disponível em <https://www.editorastilo.com.br/mercado-pet-food-brasileiro-alcanca-reino-unido-mexico-ultrapassa-canada>. Acesso em 20/03/2018.
- Pizzato, D. A., Domingues, J. L. 2008. Palatabilidade de alimentos para cães. Revista Eletrônica Nutritime. 5, 504-511.

- Prado, M. E. F., Alonso, L. F. T., Sales, A. F., Kill, J. P. 1999. Isotermas de sorção de tâmaras: determinação experimental e avaliação de modelos matemáticos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v.19, n.1.
- Rabello, F. F. P. 2009. Novas tecnologias as embalagens de alimentos. *Revista Agrogeoambiental.* 1, 156-164.
- Saad, F. M. O. B., Saad, C. E. P. 2004. História evolutiva na alimentação e controle de consumo dos cães e gatos. In: Apostila. Curso de Pós-Graduação “Latu Sensu” (Especialização) a Distância em Nutrição e Alimentação de Cães e Gato. Universidade Federal de Lavras - UFLA, FAEPE - Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão. Lavras – MG, p. 44.
- Samapundo, S., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Atukwase, A., Lamboni, Y., Debevere, J.M. 2007. Sorption isotherms and isosteric heats of sorption of whole yellow dent corn. *Journal of Food Engineering.* 79, 168–175.
- Schwarz, K.; Ernst, H., Ternes, W. 1996. Evaluation of antioxidative constituents from thyme. *J. Sci. Food Agric.* 70, 217.
- Shahidi, F., Wanasundara, U. N., Akoh, C. C., Min, D. B. 2002. *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology.* Marcel Dekker. 465-487.
- Shahidi, F., Zhong, Y. 2005. *Bailey’s industrial oil and fat products – lipid oxidation: measurement methods*, 6th ed. John Wiley & Sons, Inc., St. John’s, Newfoundland, Canada.
- Silva, A. A., Pena, S. A.; Assis, F. G., Montefoglia, N., Castilha, L. D., Nascimento, S. T., Vasconcellos, R. S. 2017. Estabilidade oxidativa e qualidade de bifinhos para cães formulados com antioxidante natural. *PUBVET.* 11, 30-137.
- Silva, F. A. M., Borges, M. F. M., Ferreira, M. A. 1999. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova.* 22, 94-103.
- Sucupira, N. R., Silva, A. B., Pereira, G., Costa, J. N. 2012. Methods for measuring antioxidant activity of fruits. *Cient Ciênc Biol Saúde.* 14, 263-269.
- Tian, F., Decker, E. A., Goddard, J. M. 2013. Controlling lipid oxidation of food by active packaging Technologies. *Food.Funct.* 4, 669-680.
- Uboldi eiroa, M.N. 1981. Atividade de água: influência sobre o desenvolvimento de microrganismos e métodos de determinação em alimentos. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos - Bol. ITAL.* 18, 353- 383.
- Vitali, A. A., Quast, D. G. 2004. Vida-de-prateleira de alimentos. In: *Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados.* 3 rd ed., Campinas, SP, pp. 49-57.
- Warner, K., Frankel, E.N., Mounts, T.L. 1989. Flavor and oxidative stability of soybean, sunflower and low erucic acid rapeseed oils. *Journal of the American Oil Chemists’ Society.* 66, 558-564.

Zaghini, G., Biagi, G. 2005. Nutritional peculiarities and diet palatability in the cat. *Veterinary Research Communications*. 29, 39-44

4. OBJETIVOS GERAIS

Neste trabalho, objetivou-se estabelecer equivalência temporal e avaliar métodos rápidos (método de Schaal e Oxipres) para a determinação da estabilidade oxidativa de *pet food*, utilizando como referência a avaliação em tempo real à temperatura ambiente. Além deste objetivo, também se avaliou modelos matemáticos de melhor ajuste para a determinação das curvas de isotermas de adsorção dos mesmos alimentos.

CAPÍTULO II

UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS RÁPIDOS PARA A DETERMINAÇÃO DO *SHELF-LIFE* EM ALIMENTOS SECOS EXTRUSADOS PARA CÃES E GATOS¹

¹Artigo redigido conforme as normas da revista *Animal Feed Science and Technology*.

Utilização de métodos rápidos para a determinação do *shelf-life* em alimentos secos extrusados para cães e gatos.

Resumo

Alimentos extrusados para animais de companhia apresentam prazo de validade longo, entre 12 e 18 meses. Durante este período, os nutrientes e a palatabilidade devem ser adequadamente preservados, assim como a segurança alimentar garantida. Neste sentido, a avaliação do *shelf-life* é imprescindível. Para avaliar a estabilidade oxidativa de alimentos, o método convencional em temperatura ambiente é considerado o método de referência. No entanto, diante do período elevado de tempo necessário para se obter os resultados por este método, métodos alternativos mais rápidos são propostos. Tendo isto em vista, neste estudo buscou-se estabelecer uma correspondência temporal entre os resultados de estabilidade oxidativa de *pet food* pelo método convencional com dois outros métodos, o método de Schaal (estufa a 60°C) e a bomba de oxigênio (Oxipres). Onze alimentos secos extrusados, foram submetidos à determinação da estabilidade oxidativa em tempo real. Para isto as, amostras foram mantidas a temperatura ambiente (23±4,6°C) por 360 dias e a cada 45 dias uma sub amostra era retirada para as análises de índice de peróxido (IP). Os resultados por este método serviram como referência para estabelecer uma relação com os outros dois métodos empregados: teste de estufa de Schaal (60°C) e bomba de oxigênio (Oxipres, 100°C e 5 bar de O₂). Os alimentos foram analisados quanto a sua composição bromatológica e residuais de antioxidantes sintéticos (AOX) para determinar fatores que interferem na sua estabilidade oxidativa. Ainda, avaliou-se o efeito dos níveis crescentes de IP nas rações sobre a palatabilidade de gatos. Todos os alimentos mantiveram-se estáveis durante os 360 dias. Em função da grande variação na estabilidade oxidativa de cada produto, foram criados modelos

individualizados para cada alimento a temperatura ambiente e em estufa. Para o método convencional os ajustes das equações foram satisfatórios, com coeficientes de regressão variando de 0,67 a 0,91, exceto um produto que apresentou R^2 de 0,28. Para o método de estufa os ajustes foram variáveis, sendo baixo ($<0,50$) o valor de R^2 para cinco produtos. Estabeleceu-se relação temporal entre ambiente e estufa de 16,77 (IC – 8,29 a 25,26) dias de ambiente para cada dia de estufa. No entanto, os resultados foram muito variáveis e isoladamente o método de estufa explicou apenas 1,8% da variação dos resultados. O método de Oxipres apresentou fraca relação com o método convencional, explicando apenas 1,1% da variação dos resultados. Os melhores preditores para a estabilidade oxidativa dos alimentos a temperatura ambiente foram o AOX ($R^2=0,54$) e quando AOX foi associado ao teor de cinzas o coeficiente de regressão aumentou substancialmente ($R^2= 0,73$). Gatos tiveram preferência pelo alimento controle com IP de 0 mEq/kg de gordura, mostrando ser animais altamente exigentes quanto à qualidade oxidativa do alimento. Neste estudo, conclui-se que os métodos rápidos empregados apresentam baixa capacidade preditiva da estabilidade oxidativa em *pet food*.

Palavras-chaves: *Pet food*, oxidação, vida de prateleira, palatabilidade

Rapid methods for determining *shelf-life* in *pet food*

Abstract

Extruded foods for pet animals have a long *shelf-life*, between 12 and 18 months. During this period nutrients and palatability must be adequately preserved, as well as guaranteed food safety. In this sense, the evaluation of *shelf-life* is essential. To evaluate the oxidative stability of food, the conventional method at room temperature is considered the reference method. However, given the high time required obtaining the results by this method, faster alternative methods are proposed. This study, aimed to establish a temporal correlation between the results of oxidative stability of *pet food* by the conventional method with two other methods: the Schaal method (greenhouse at 60°C) and the oxygen pump (Oxipres). Eleven extruded dry foods were subjected to determination of oxidative stability in real time. For this the samples were kept at room temperature (23 ± 4.6 ° C) for 360 days and every 45 days a sub-sample was withdrawn for peroxide index (PI) analyzes. These results were used as reference to establish a relationship with other methods used: Schaal greenhouse test (60°C) and oxygen pump (Oxipres, 100°C and 5 bar of O₂). Foods were analyzed for their chemical and residual composition of synthetic antioxidants (AOX) to determine the factors that interfere in their oxidative stability. The effect of increasing PI levels on diets on cat's palatability was also evaluated. All foods remained stable for 360 days. Due to the great variation in the oxidative stability of each product, individualized models were created for each food at room temperature and in greenhouse. For the conventional method the adjustments of the equations were satisfactory, with regression coefficients varying from 0.67 to 0.91, except for a product that presented R² of 0.28. For the greenhouse method adjustments were variable adjustments, being low (<0, 50) the value of R² for five products. A

temporal relation was established between environment, greenhouse of 16.77 (IC - 8.29 to 25.26) and environment days for each greenhouse day. However, the results were very variable and isolated the greenhouse method explained only 1.8% of the results variation. The Oxipres method presented a weak relation with the conventional method, explaining only 1.1% of the variation of the results. The best predictors for food oxidative stability at room temperature were the AOX ($R^2 = 0.54$) and when AOX was associated with ash content the regression coefficient increased substantially ($R^2 = 0.73$). Cats showed preference for control food with IP of 0 mEq/ kg of fat, showing to be highly demanding animals to food oxidative quality. In this study it is concluded that faster methods employed have of low predictive quality of oxidative stability for *pet food*.

Keywords: *Pet food*, oxidation, *shelf-life*, palatability

1. Introdução

A indústria pet brasileira foi responsável por um faturamento de mais de R\$ 18,9 bilhões em 2016, com crescimento de 4,9% em relação a 2015 (PetBrasil, 2017). A maior fatia deste mercado é representada pelo setor *pet food*, que corresponde a 67,3% do mercado pet total (ABINPET, 2016). Recentemente o Brasil ultrapassou o Reino Unido em faturamento de mercado *pet food*, ocupando o segundo lugar absoluto, ficando atrás somente dos Estados Unidos (Pet Food Brasil, 2018). Junto com o crescimento desse mercado, a exigência dos proprietários de animais de companhia em relação à qualidade de produtos também passa por uma crescente. Com isso, os alimentos voltados para esses animais necessitam de maior atenção nos quesitos nutricionais, de qualidade e segurança alimentar.

Diferente dos alimentos para animais de produção, os alimentos para animais de companhia devem apresentar maior tempo entre a fabricação e o seu vencimento, conhecido como vida útil ou de prateleira (*shelf-life*).

Shelf-life tem como definição o tempo que determinado produto, mantido em condições adequadas de temperatura, mantendo-se próprio para o consumo, apresentando alterações que são consideradas aceitáveis pelo fabricante, consumidor e a legislação alimentar vigente (Vitali et al., 2004).

Alimentos para animais de companhia apresentam prazo de validade prolongado por lei, normalmente de 12 meses (Brasil, 2009), mas podendo ser estendido por até 18 meses (Brasil, 2009). Para que o tempo de vida útil seja aceitável e os alimentos mantenham-se em boas condições de qualidade antes de serem consumidos é importante ter cuidados especiais com alguns fatores, como atividade de água (a_w), umidade e parâmetros oxidativos.

A determinação do *shelf-life* em tempo real é crítica para a indústria de alimentos, ao se obter os resultados laboratoriais, é possível que o alimento já esteja fora dos padrões de comercialização e, a realização de novos ajustes nas formulações implicam em meses, até se obter novos resultados de estabilidade do produto, tornando, as metodologias em tempo real inconciliáveis com controle de qualidade em escala industrial (Silva et al., 1999).

Para tais situações, as aplicações de metodologias mais rápidas se mostram como alternativa, assumindo particular importância na rotina analítica. Dentre os métodos rápidos existentes, temos aqueles nos quais o processo oxidativo é catalisado por situações estressantes à amostra, tais como alta pressão de oxigênio, temperatura ou radiação UV ou ainda associação destes catalisadores. Como exemplo de técnicas que utilizam destes procedimentos temos o método de Schaal em estufa, o Oxipres, o Rancimat e o Oxitest (Silva et al., 1999).

Todos os testes apresentam resultados rápidos, no entanto, existe preocupação em estabelecer relações temporais entre estes métodos com as avaliações em tempo real e até mesmo sua validação. Diante disso, o presente trabalho tem como finalidade elaborar equações preditivas de *shelf-life* de *petfood* por dois métodos acelerados (método de Schaal em estufa e Oxipres), usando como referência o teste em tempo real (temperatura ambiente), de 12 meses. Ainda neste estudo determinou-se os efeitos da ingestão de alimentos com níveis crescentes de peróxido sobre a palatabilidade em gatos.

2. Material e métodos

2.1 Alimentos

Foram adquiridos de uma mesma empresa (Manfrim Industrial SA, Santa Cruz do Rio Pardo, Brasil) 11 diferentes alimentos secos e extrusados, sendo seis alimentos para cães e cinco alimentos para gatos. Todos os alimentos eram recém-produzidos e apresentavam-se em embalagens de polipropileno de amostra grátis contendo 80 gramas do produto, simulando situação real das amostras no mercado. Determinou-se a Proteína Bruta (método: 954.01), Extrato Etéreo por Hidrólise Ácida (método: 954.02), Fibra Bruta (método: 978.10), Matéria Mineral (método: 942.05), Umidade (método 930.15) e Atividade de Água (método 978.18) de todos os alimentos (Tabela 1), seguindo as metodologias descritas pela AOAC (1995). Os extrativos não nitrogenados foram determinados pela diferença dos demais componentes determinados da ração (umidade, PB, EEHA, MM e FB) para 100%.

Tabela 1

Composição Química dos 11 alimentos comerciais secos e extrusados com base na matéria natural.

Alimento	Espécie	Composição Química							
		Umidade (%)	a_w	PB (%)	EEHA (%)	FB (%)	MS (%)	MM (%)	ENN (%)
1	Cão	7,29	0,58	19,80	7,38	3,68	92,08	6,44	47,51
2	Cão	7,89	0,58	22,75	10,61	2,74	91,36	6,16	41,20
3	Cão	7,10	0,53	22,43	11,80	2,77	92,31	6,06	41,65
4	Cão	5,43	0,48	28,27	13,18	2,83	94,24	8,95	35,06
5	Cão	6,60	0,57	30,01	13,12	3,25	92,90	6,48	33,27
6	Cão	7,79	0,55	24,70	10,16	2,74	91,49	5,84	39,74
7	Gato	7,20	0,55	35,12	10,16	3,23	92,19	5,11	30,84
8	Gato	5,27	0,42	36,54	9,00	5,67	94,42	7,19	30,31
9	Gato	6,66	0,55	29,15	12,10	2,78	92,82	4,83	36,77
10	Gato	6,09	0,53	29,73	13,54	2,80	93,49	4,72	35,67
11	Gato	6,82	0,57	31,13	12,51	2,78	92,64	4,91	33,94

a_w : Atividade de água; PB: Proteína Bruta; EEHA: Extrato Etéreo por Hidrólise Ácida; FB: Fibra Bruta; MS: Matéria Seca; MM: Matéria Mineral (Cinzas); ENN: Extrativo não Nitrogenado.

2.2 *Métodos de determinação do shelf-life*

Para isto, utilizou-se três metodologias: tempo real em temperatura ambiente com a duração de 12 meses, a qual foi usada como referência, e outras duas de testes acelerados, sendo essas, o teste de Schaal em estufa a 60°C (480 horas) e o teste de Oxipres (20 horas).

2.2.1 *Teste em tempo real*

O teste foi realizado no Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Felinos Domésticos, na Fazenda Experimental de Iguatemi, pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM).

As amostras de cada alimento foram mantidas em temperatura ambiente nas suas respectivas embalagens em uma sala de alvenaria com dimensões de 3,5 m x 3,5 m x 2,8m (largura x profundidade x altura), com iluminação natural e artificial, com adequado controle de pragas e a temperatura ambiente. Leituras de temperatura e umidade relativa do ar eram realizadas diariamente.

A cada 45 dias três embalagens de cada produto eram coletadas, misturadas e embaladas a vácuo e posteriormente congeladas a -20°C até o momento das análises. Desta forma, totalizaram-se nove períodos de coleta: 0, 45, 90, 135, 180, 225, 270, 315 e 360 dias.

2.2.2 *Teste de Estufa de Schaal*

O teste foi realizado no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), localizado na Universidade Estadual de Maringá (UEM).

O teste de Estufa de Schaal (Antolovich et al., 2002) envolve o aquecimento das amostras em estufa a 60°C, visando acelerar o processo oxidativo. Para aplicação do mesmo as amostras foram armazenadas em estufa nas condições citadas em suas próprias

embalagens de amostra grátis (polipropileno), distribuídas aleatoriamente, e mantidas nestas condições por 20 dias, totalizando 480 horas.

A cada quatro dias, três amostras de cada produto eram retiradas da estufa, misturadas, embaladas a vácuo e congeladas a -20°C até o momento das análises. Com isso, procederam-se seis momentos de coleta: 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias.

2.2.3 Oxipres (*Bomba de oxigênio*)

O teste de Oxipres foi realizado por laboratório terceirizado (Kemin Nutrisurance, Indaiatuba, Brasil).

O método de Oxipres baseia-se no consumo de oxigênio em altas temperaturas e pressões. Para teste de estabilidade oxidativa através do Oxipre, as amostras foram colocadas em cápsulas de aço inoxidável fechadas hermeticamente, as mesmas foram sujeitas a altas pressões de oxigênio (5 bar) e temperatura de 100°C. Para este teste as amostras foram analisadas uma única vez no início do estudo. Os resultados de consumo de oxigênio em horas foram utilizados para se determinar o período de indução, que corresponde ao momento em que a amostra perde a estabilidade e inicia um consumo acelerado de oxigênio.

2.3 *Análises laboratoriais*

Exceto para o Oxipres, as seguintes análises foram realizadas nas amostras de tempo real e em estufa. Com exceção da análise de concentração de residuais de antioxidantes sintéticos, as demais análises foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), localizado na Universidade Estadual de Maringá (UEM).

2.3.2 *Índice de Peróxido*

Para avaliação do parâmetro de oxidação é geralmente efetuada análises de determinação do Índice de peróxidos (IP). Este representa a diferença entre a formação e a decomposição de peróxidos (Silva et al., 1999).

Para as análises do Índice de Peróxido nas rações, foi utilizado de forma adaptada o método oficial do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2009.

Primeiramente era pesado 20g da amostra em Erlenmeyer de 250 ml, quantidade suficiente para que contenha no mínimo 2g de óleo. Junto à amostra era adicionado 50 ml de metanol, 25 ml de clorofórmio e 18,2 ml de água, a quantidade de água era calculada para que somada a água da amostra (proveniente da umidade) resultasse em 20 ml de água, então os Erlenmeyer eram tampados hermeticamente e submetidos à agitação pelo período de 30 minutos. Passado o tempo de agitação, adicionava mais 25 ml de clorofórmio e 25 ml de solução de sulfato de sódio 1,5%, tampava-se novamente e agitava-se por mais 2 minutos. Posteriormente, a solução com a amostra era transferida para um funil de separação, em que se separava as camadas de forma natural. Deixava-se verter a camada inferior (clorofórmio + lipídeo) para um funil menor que continha papel e um pouco de sulfato de sódio anidro, para remover os traços de água que invariavelmente eram arrastados, recolhendo o filtrado em Erlenmeyer de 125 ml. Com auxílio de uma pipeta volumétrica era pipetado exatamente 20 ml do filtrado para outro Erlenmeyer de 125 ml e eram adicionados 20 ml de ácido acético concentrado e 0,5 ml de solução fresca e saturada de iodeto de potássio. A solução era levemente agitada e levada ao escuro por 1 minuto exato. Por fim, eram adicionados 30 mL de água destilada e 1 mL de solução 1% de amido, se ao acrescentar o amido fosse notado alguma alteração, mesmo que pequena, de coloração, passando de amarelo para roxo, a solução era titulada com solução de Tiossulfato de Sódio 0,1N, até que a coloração roxa desaparecesse.

Com a confirmação de peróxido, era pipetado 5 ml do filtrado em placas de gordura previamente taradas e colocadas em estufa a 105°C por uma hora. Passado o tempo de estufa, as placas de gordura eram resfriadas em dissecador e pesadas. Foi realizada uma prova em branco com o uso dos reagentes, mas sem a presença da amostra.

Com o volume de Tiosulfato de Sódio gasto na titulação de cada amostra eram feitos os cálculos do índice de peróxido através da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Peróxido} \frac{mEq}{1000g} \text{ de gordura} = \frac{(A - B) \times M \times F \times 1000}{P \times 4}$$

Em que:

A: Volume de Tiosulfato de sódio 0,1M gasto na titulação da amostra, em ml;

B: Volume de Tiosulfato de sódio 0,1 M gasto na titulação da prova branco, em ml;

M: Molaridade da solução de Tiosulfato de sódio;

F: Fator de correção da solução de Tiosulfato de sódio;

P: Peso da gordura extraída na alíquota x 4 (peso da placa com gordura – peso da placa vazia), em gramas;

1000: Conversão para miliequivalentes.

2.3.3 *Determinação das concentrações residuais de antioxidantes sintéticos*

A extração dos antioxidantes na gordura foi realizada de acordo com o método 983.15 da AOAC.

A análise cromatográfica para se quantificar as concentrações reais dos antioxidantes sintéticos presentes nos produtos (BHA, BHT e etoxiquim) também foi realizada em laboratórios terceirizados, empregando-se a cromatografia líquida de alta eficiência, equipada com módulo de separação, bomba quaternária e detector de fotodiodo. Foi empregada uma coluna ACE 3, C18-AR, 150 mm x 4,6 mm i.d. Estas

análises foram realizadas pela Kemin Nutrisurance seguindo o método GC-FID LB-IV-20/138-E.

2.3.4 Atividade de água e Umidade

A umidade foi determinada em estufa a 105°C conforme descrito pela AOAC (1995) e a atividade de água pelo método de ponto de orvalho, empregando-se metodologia aprovada também da AOAC (1995), em equipamento específico (Aqualab 4TE, Decagon Devices, Inc, USA).

2.4 Palatabilidade de alimento com diferentes níveis de peróxido para gatos

O procedimento experimental envolvendo animais foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá.

O teste de palatabilidade foi realizado no Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Felinos Domésticos, localizado na Fazenda Experimental de Iguatemi, pertencente à Universidade Estadual de Maringá. O objetivo do teste de palatabilidade foi verificar a percepção organoléptica dos gatos de um mesmo alimento com diferentes índices de peróxido (IP) e se o consumo da dieta é afetado de alguma forma. Para isso, uma amostra de 60 kg de alimento para gatos (Special Cat sabor peixe, Manfrim Industrial SA, Santa Cruz do Rio Pardo, Brasil) foi mantida em estufa a 60°C e os níveis de peróxido acompanhados a cada dois dias. Uma amostra inicial com mínimo teor de peróxido foi embalada e mantida fechada na embalagem original, em ambiente fresco, protegido de luz e seco até o momento dos testes de palatabilidade. O restante das amostras que foram levadas a estufa para atingiram 5 (T-5), 10 (T-10) e 15 (T-15) mEq/kg de IP, sendo retiradas da estufa e acondicionadas da mesma forma descrita acima até o momento do teste de palatabilidade.

O método aplicado foi o teste com duas vasilhas (A e B), em que cada uma continha um tipo de tratamento, os gatos eram alojados gaiolas individuais, para análise

de primeira escolha de consumo e olfato. A quantidade diária de alimento fornecido foi calculada baseando no peso do animal e na energia metabolizável da ração, no entanto eram fornecidas quantidades que excediam às exigências diárias de energia pelos animais (cerca de 30% a mais). As cores e tamanho dos potes eram iguais, com a finalidade de se eliminar qualquer possibilidade de interferência por fatores que não fossem os níveis de peróxido.

Para aplicação do teste foi utilizado 20 gatos (13 machos e sete fêmeas), sem raça definida com peso médio de 4,35 kg e idade média de quatro anos. O período experimental deste estudo foi de 12 dias, sendo que por dia os animais tinham quatro refeições/dia, duas vezes durante a manhã e duas vezes durante a tarde. O horário de alimentação era dividido conforme mostrado na tabela 2. O lado dos comedouros A e B eram invertidos para as refeições da tarde, de modo a evitar qualquer preferência de lado. A coleta de dados de primeira escolha de consumo e olfato era feita logo pela manhã, quando o animal era apresentado as duas vasilhas, simultaneamente. Ao final do dia, era pesada a sobra de ração de cada animal e assim calculado o consumo. Os desafios seguiram o esquema descrito na tabela 3.

A avaliação da palatabilidade foi feita através da razão de ingestão (RI), conforme à equação:

$$RI = \frac{\text{Ingestão Alimento A}}{(\text{Ingestão Alimento A} + \text{Ingestão Alimento B})}$$

Tabela 2

Cronograma de refeições dos animais.

Refeições	Manhã	Tarde
1	08h00min à 08h20min	-
2	10h00min à 10h20min	-
3	-	14h00min à 14h20min
4	-	16h00min à 16h20 min

Tabela 3

Desafios de preferência alimentar em gaiolas individuais (n=20), de uma dieta contendo diferentes índices de peróxido para gatos.

Desafios	Dieta A	Dieta B
1	Controle	T-5
2	T-10	T-15
3	Controle	T-10
4	T-5	T-15
5	Controle	T-15
6	T-5	T-10

2.5 Análises estatísticas

Na análise estatística dos dados, foram considerados modelos de regressão múltipla com erros normais (Montgomery, Peck & Vining, 2006). De acordo com dados de peróxido foram criados modelos matemáticos para os métodos aplicados no presente estudo. Com os dados para teste em tempo real (teste referência) foi usado o seguinte modelo:

$$y = \beta_0 + \beta_1 \text{Tempo real} + \beta_2 \text{Temperatura} + \beta_3 \text{Umidade} + \mathcal{E}$$

Em que:

β_0 : Intercepto;

β_1 : Estimativa em tempo real expresso em dias;

β_3 : Estimativa de umidade;

\mathcal{E} : Erro.

Enquanto para os resultados obtidos no teste de estufa (teste de Schaal) foi usado o seguinte modelo:

$$y = \beta_0 + \beta_1 \text{Tempo estufa} + \mathcal{E}$$

Em que:

β_0 : Intercepto;

β_1 : Estimativa em tempo de estufa expresso em dias;

\mathcal{E} : Erro.

O ajuste dos modelos foi realizado usando o programa R versão 3.3.3 (2017). A qualidade de ajuste dos modelos foi medida através do R^2 e o critério de informação de Akaike (1986). Para o diagnóstico e verificação de normalidade e heteroscedasticidade foi realizado gráficos de resíduos, entre eles gráfico de envelope simulado implementado no pacote HNP (versão 1.2-2).

Os dados obtidos através do teste de preferência alimentar foram tratados usando o programa estatístico R versão 3.3.3 (2017). Para verificação dos dados de normalidade (na razão de ingestão) foi usado teste Anderson-Darling e Shapiro-Wilks, ao verificar que os dados estavam fora da normalidade se aplicou teste de Wilcoxon Rank Sum. Por fim, para avaliação da primeira escolha (AxB) aplicou-se teste de proporções (Perform Exact Sign Test).

3. Resultados

A atividade de água (a_w) das amostras não foi modificada ($p > 0,05$) durante os testes em estufa e tempo real (Tabela 4). É possível também verificar na mesma tabela o índice de peróxido (IP) para ambos os métodos, o qual aumentou significativamente no período final em relação ao momento inicial ($p < 0,0001$), por ambos os métodos.

Tabela 4

Índice de peróxido e atividade de água dos alimentos secos e extrusados para cães e gatos durante análise de *shelf-life* em temperatura ambiente ($23,0\pm 4,6^{\circ}\text{C}$) e em estufa a 60°C .

Alimento	Espécie	IP		Aw	
		0 dias	360 dias	0 dias	360 dias
Tempo à Temperatura Ambiente					
1	Cão	0,00	18,90	0,58	0,56
2	Cão	2,00	11,40	0,58	0,56
3	Cão	2,53	8,57	0,53	0,55
4	Cão	1,14	11,12	0,48	0,46
5	Cão	1,40	9,28	0,57	0,55
6	Cão	2,24	12,24	0,55	0,55
7	Gato	0,00	6,10	0,55	0,55
8	Gato	1,98	11,06	0,42	0,44
9	Gato	1,63	6,80	0,55	0,56
10	Gato	1,68	4,23	0,53	0,53
11	Gato	1,88	5,40	0,57	0,55
Tempo em Estufa					
		0 dias	20 dias	0 dias	20 dias
1	Cão	0,00	7,87	0,58	0,57
2	Cão	2,00	11,52	0,58	0,57
3	Cão	2,53	5,12	0,53	0,55
4	Cão	1,14	5,36	0,48	0,55
5	Cão	1,40	4,29	0,57	0,55
6	Cão	2,24	7,45	0,55	0,56
7	Gato	0,00	10,78	0,55	0,55
8	Gato	1,98	8,39	0,42	0,48
9	Gato	1,63	7,53	0,55	0,57
10	Gato	1,68	8,62	0,53	0,55
11	Gato	1,88	9,86	0,57	0,55

Pelos resultados de IP obtidos nos testes de *shelf-life* a temperatura ambiente e em estufa, elaboraram modelos matemáticos para se estabelecer uma correspondência entre estes métodos, utilizando o método em temperatura ambiente como referência.

Em função da grande variação nas estimativas dos modelos matemáticos para prever o IP em função das variáveis independentes dos modelos em estufa e ambiente, elaborou-se uma equação para cada produto para posteriormente estabelecer a relação entre ambos (Tabelas 5 e 6). Os melhores ajustes foram obtidos em geral para os

alimentos mantidos a temperatura ambiente, considerando o R^2 e AIC. Ainda assim é possível verificar que para os alimentos 10 e 11 mantidos a temperatura ambiente os ajustes foram ruins, provavelmente em função da alta estabilidade destes produtos, que tiveram seu IP pouco aumentado durante o *shelf-life* em tempo real. Resultado semelhante foi obtido para o método de estufa, no qual os alimentos que foram mais estáveis apresentaram menores valores de R^2 para o ajuste do modelo.

Tabela 5

Estimativa dos parâmetros para o modelo em temperatura ambiente ($23\pm 4,6^\circ\text{C}$) de alimentos comerciais completos secos e extrusados para cães e gatos.

Alimento	Espécie	Qualidade do ajuste		Parâmetros			
		R^2	AIC	Intercepto	Tempo	Temperatura	Umidade
1	Cão	0,90	120,54	-2,6762	0,0432	0,7140	-1,6662
2	Cão	0,71	119,10	4,6876	0,0328	-0,0535	-0,2608
3	Cão	0,79	105,18	-7,9703	0,0266	-0,1117	1,8301
4	Cão	0,82	99,78	-4,4857	0,0240	0,2073	0,1477
5	Cão	0,91	77,19	-1,5688	0,1899	0,5191	-1,1799
6	Cão	0,75	124,13	16,7505	0,0251	0,1300	-2,1942
7	Gato	0,82	70,76	-0,3664	0,0157	0,2758	-0,6080
8	Gato	0,83	109,29	-10,5408	0,0227	0,6264	0,1298
9	Gato	0,68	94,02	-7,6544	0,0115	0,4307	0,1293
10	Gato	0,67	94,93	-12,1535	0,0077	0,3920	0,9212
11	Gato	0,28	116,51	3,1955	0,0127	0,0856	-0,3951

Tabela 6

Estimativa dos parâmetros para o modelo de teste em estufa (60°C) de alimentos comerciais completos secos e extrusados para cães e gatos.

Alimento	Espécie	Qualidade do ajuste		Parâmetros	
		R ²	AIC	Intercepto	Tempo
1	Cão	0,20	91,68	3,5997	0,2207
2	Cão	0,95	42,41	1,6401	0,4585
3	Cão	0,51	40,51	3,1788	0,1049
4	Cão	0,19	70,22	2,6432	0,1176
5	Cão	0,29	66,4	3,1661	0,1331
6	Cão	0,48	66,14	3,8190	0,1908
7	Gato	0,92	41,61	2,6255	0,5029
8	Gato	0,76	59,02	3,2631	0,2860
9	Gato	0,86	37,4	0,7510	0,2684
10	Gato	0,77	48,29	1,4165	0,2254
11	Gato	0,91	47,00	1,8473	0,4275

Com as equações dos modelos aplicados e os parâmetros obtidos foi possível correlacionar o tempo que as amostras precisariam ficar em estufa e ou à temperatura ambiente para se chegar a níveis pré-estabelecidos de IP (Tabela 7).

Tabela 7

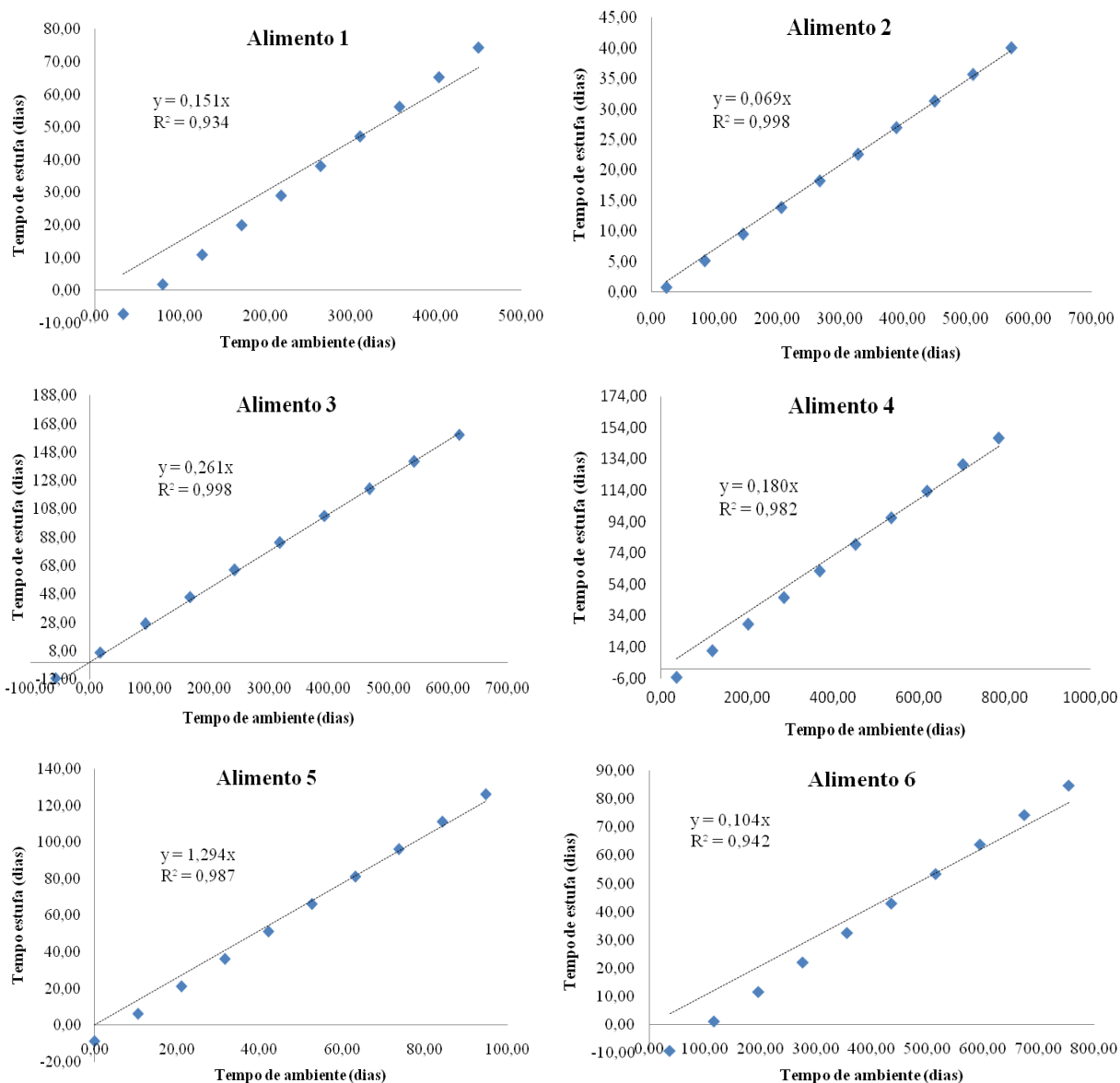
Relação de níveis de peróxido com tempo em ambiente (teste em tempo real) e tempo de estufa (teste de estufa de Schaal).

IP* (mEq/kg)	Alimentos comerciais										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	Tempo à Temperatura Ambiente (dias; 23±4,61°C)										
2	33,58	24,27	-57,67	36,13	0,04	37,14	49,14	-114,13	-102,62	-111,62	-20,19
4	79,87	85,25	17,52	119,46	10,57	116,82	176,53	-26,02	71,30	148,12	137,29
6	126,17	146,23	92,70	202,79	21,10	196,50	303,92	62,08	245,21	407,86	294,77
8	172,47	207,20	167,89	286,13	31,63	276,18	431,30	150,19	419,12	667,60	452,25
10	218,76	268,18	243,08	369,46	42,16	355,86	558,69	238,30	593,04	927,34	609,74
12	265,06	329,15	318,27	452,79	52,69	435,54	686,08	326,40	766,95	1187,08	767,22
14	311,35	390,13	393,46	536,13	63,23	515,22	813,47	414,51	940,86	1446,82	924,70
16	357,65	451,10	468,64	619,46	73,76	594,91	940,86	502,61	1114,78	1706,56	1082,18
18	403,95	512,08	543,83	702,79	84,29	674,59	1068,25	590,72	1288,69	1966,30	1239,66
20	450,24	573,06	619,02	786,13	94,82	754,27	1195,64	678,82	1462,60	2226,04	1397,14
	Tempo em Estufa (dias; 60°C)										
2	-7,25	0,78	-11,24	-5,47	-8,76	-9,53	-1,24	-4,42	4,65	2,59	0,36
4	1,81	5,15	6,98	11,54	6,27	0,95	2,73	2,58	12,11	11,46	5,04
6	10,88	9,51	26,89	28,54	21,29	11,43	6,71	9,57	19,56	20,33	9,71
8	19,94	13,87	45,96	45,55	36,32	21,91	10,69	16,56	27,01	29,21	14,39
10	29,00	18,23	65,03	62,56	51,34	32,40	14,66	23,56	34,46	38,08	19,07
12	38,06	22,60	84,09	79,56	66,37	42,88	18,64	30,55	41,91	46,95	23,75
14	47,12	26,96	103,16	96,57	81,40	53,36	22,62	37,54	49,36	55,83	28,43
16	56,19	31,32	122,22	113,58	96,42	63,84	26,59	44,53	56,81	64,70	33,11
18	65,25	35,68	141,29	130,59	111,45	74,32	30,57	51,53	64,27	73,57	37,78
20	74,31	40,04	160,35	147,59	126,48	84,81	34,55	58,52	71,72	82,45	42,46

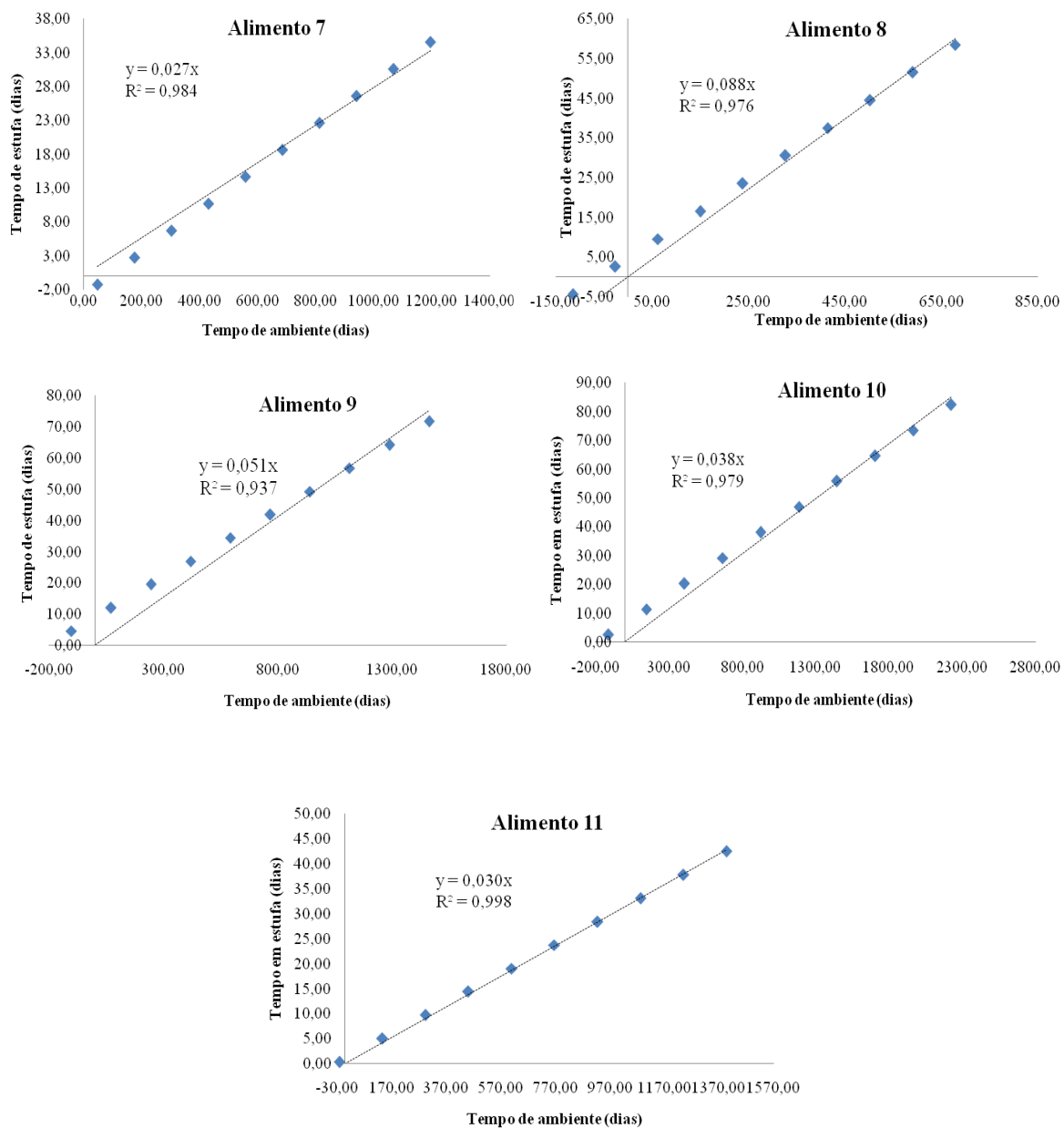
*Índice de peróxido (mEq/kg de gordura)

De maneira geral, pode se observar que as amostras se apresentaram estáveis, atingindo 10 mEq/kg de IP (valor limítrofe) pela estimativa dos modelos apenas após $402,1 \pm 74,9$ dias de estocagem a temperatura ambiente. Para estufa, as amostras atingiriam este mesmo valor de IP com $35,3 \pm 5,28$ dias, estimado pelo modelo, indicando a necessidade de se aumentar o período de avaliação por este método para se obter curvas de oxidação com melhores ajustes.

A partir destes modelos foi possível estabelecer uma relação linear temporal entre ambos os métodos (Figura 1 e 2). Apesar desta relação linear apresentar bom ajuste para todos os alimentos comerciais avaliados, pode-se verificar ampla variação nesta relação entre os mesmos, sendo difícil estabelecer uma correspondência simples e geral entre o período de estufa e ambiente, para alimentos extrusados (Tabela 8).

**Figura 1**

Análise de regressão linear entre tempo de estufa (dias) e tempo em ambiente (dias) em alimentos para cães, para atingir o mesmo nível de Índice de Peróxido (mEq/kg).

**Figura 2**

Análise de regressão linear entre tempo de estufa (dias) e tempo em ambiente (dias) em alimentos para gatos, para atingir o mesmo nível de Índice de Peróxido (mEq/kg).

Tabela 8

Correlação de dias em temperatura ambiente com um dia de estufa para alimentos secos e extrusados para cães e gatos.

Alimentos	Espécie	Tempo ambiente (dias) *
1	Cão	6,62
2	Cão	14,49
3	Cão	3,83
4	Cão	5,55
5	Cão	SC
6	Cão	9,62
7	Gato	37,04
8	Gato	11,36
9	Gato	19,61
10	Gato	26,32
11	Gato	33,33

* Valores determinados através das equações dos gráficos, considerando 1 dia de estufa; SC: “Sem correlação”.

É possível observar que cada alimento apresenta uma relação diferente entre dia de estufa com dias em temperatura ambiente, mesmo para alimentos para a mesma espécie.

As concentrações residuais de antioxidantes sintéticos foram determinadas nos 11 alimentos (Tabela 9). Os antioxidantes quantificados foram o BHT (Butilhidroxitolueno), BHA (Butilhidroxianisol) e etoxiquim, os quais apresentaram concentrações médias respectivamente de $165,86 \pm 30,1$; $19,60 \pm 7,7$ e $12,19 \pm 3,4$ mg/kg nos alimentos para cães e $177,92 \pm 63,9$; $25,22 \pm 9,6$ e $19,71 \pm 5,2$ mg/kg nos alimentos para gatos (Tabela 9). É possível também verificar na mesma Tabela o período de indução determinado pela Bomba de Oxigênio em cada alimento.

Como consta na Instrução Normativa 42/2010, a concentração máxima limite para BHT e BHA em rações é de 150 mg/kg na dieta total. Nota-se que alguns alimentos apresentaram quantia maior de BHT do que permitida. Já para BHA todos os alimentos comerciais se apresentaram dentro do limite.

Tabela 9

Concentrações residuais de antioxidantes sintéticos e período de indução obtido através do Oxipres.

Alimento	Espécie	Determinações Oxidativas			Oxipres	
		BHT mg/kg	BHA mg/kg	Etoxiqum mg/kg	Residual total AOX	PI* (horas)
1	Cão	149,71	14,09	14,42	178,22	2,33
2	Cão	137,04	14,65	7,48	159,17	1,67
3	Cão	147,64	16,23	10,41	174,28	1,67
4	Cão	221,23	14,92	12,51	248,66	4,33
5	Cão	168,11	24,38	16,13	208,62	1,67
6	Cão	171,44	33,35	ND	204,79	2,33
7	Gato	109,17	29,28	22,74	161,19	2,00
8	Gato	107,70	12,70	15,68	136,08	4,33
9	Gato	236,96	24,69	12,80	274,45	4,33
10	Gato	215,90	38,36	22,05	276,31	2,00
11	Gato	219,87	20,53	25,28	265,68	2,00
	Média cães	165,86	19,6	12,19	195,62	2,333
	Média gatos	177,92	25,112	19,71	222,742	2,933

ND: "Não detectado" ao limite mínimo de quantificação de: 1,0 mg/kg para BHT, BHA, Etoxiqum.

PI: Período de indução.

Para verificar a relação entre as variáveis estudadas com o *shelf-life* em temperatura ambiente, estabeleceu-se inicialmente uma análise de correlação entre as variáveis estudadas (Tabela 10), e posteriormente procedeu-se com modelo de regressão linear múltipla para verificar se as inserções de parâmetros no modelo melhoram a capacidade preditiva das equações para estimativa do *shelf-life* em temperatura ambiente ou estufa em função das demais variáveis (Tabela 11).

Foi possível verificar que para *shelf-life* a temperatura ambiente, os valores de residuais de antioxidantes foram os principais preditores, independente do antioxidante empregado. Porém, para estufa e Oxipres, apenas o BHT apresentou correlação positiva com o *shelf-life*. Os melhores preditores para tempo em estufa e Oxipres foram respectivamente EEHA e a_w . A predição do tempo necessário que a amostra seja mantida a temperatura ambiente, considerando 23°C, para atingir 10 mEq/kg de IP foi elaborada com diferentes preditores. Pode-se verificar que o residual de antioxidantes foi o melhor preditor, o qual isoladamente utilizado responde por 54,3% da variação dos resultados. A MM (Matéria Mineral) também apresentou importante influência nesta predição, possivelmente pelos metais de transição considerados pró-oxidantes.

Tabela 10

Matriz de correlação entre as variáveis de composição química e residual de antioxidante com a estabilidade oxidativa das amostras a temperatura ambiente, em estufa e submetidas à bomba de oxigênio.

	Tempo ambiente	Tempo estufa	Oxipres
BHT	0,64	0,33	0,26
BHA	0,64	-0,10	-0,28
ETOXQUIN	0,59	-0,39	-0,19
TOTAL AOX	0,64	0,24	0,17
PB	0,31	-0,32	0,33
Umidade	-0,14	-0,33	-0,67
a_w	0,03	-0,20	-0,70
EEHA	0,38	0,49	-0,08
MM	-0,61	0,47	0,42

PB: Proteína Bruta; a_w : Atividade de água; EEHA: Extrato Etéreo por Hidrólise Ácida; MM: Matéria Mineral.

Tabela 11

Equações de estimativa do tempo necessário em temperatura ambiente da amostra ($23\pm 4,6$ °C) para atingir 10 mEq/kg de IP, utilizando diferentes preditores.

Equação	Constantes do modelo					R ²	valor de p
	Intercepto	Estufa (dias)	Oxipres (horas)	Aox Total (mg/kg)	MM (%)		
1	497	-1,74				0,018	0,71
2	-142	-4,46		3,51		0,648	0,03
3	354	-1,44		2,75	-67,6	0,746	0,03
4	494		-20,6			0,011	0,77
5	-123		-48,5	3,33		0,596	0,042
6	425		3,3	2,42	-80,2	0,737	0,036
7	-215			3,14		0,543	0,016
8	418			2,55	-78,6	0,737	0,009

Ao testar a sensibilidade dos gatos para os testes de preferência com níveis de peróxido de 0, 5, 10 e 15 mEq/kg de rações com diferentes níveis de oxidação, os resultados de aptidão foram satisfatórios e podem ser verificados na tabela 12.

Tabela 12

Teste de preferência alimentar de alimentos comerciais secos e extrusados para gatos com diferentes níveis de oxidação.

DIETAS ¹	Olfato ²			Paladar ²			Razão de Ingestão ³		
	A	B	p-valor	A	B	p-valor	RI-A	Mediana	p-valor
Controle x 5 mEq	0,37	0,63	0,3588	0,42	0,58	0,6464	0,68	0,680	0,0074
Controle x 10 mEq	0,40	0,60	0,5023	0,65	0,35	0,2636	0,77	0,780	0,0005
Controle x 15 mEq	0,42	0,58	0,8137	0,58	0,42	0,4795	0,64	0,760	0,0636
5 mEq x 10 mEq	0,68	0,32	0,1687	0,47	0,53	1,000	0,63	0,680	0,1342
5 mEq x 15 mEq	0,55	0,45	1,0000	0,40	0,60	0,5023	0,5	0,610	0,8957
10 mEq x 15 mEq	0,35	0,65	0,2636	0,40	0,60	0,5023	0,36	0,305	0,1033

¹A versus B

²40 observações de 20 gatos em 2 dias

³Razão de ingestão A= ingestão (g) da dieta A/ ingestão total das duas dietas (g) (A+B).

Levando em consideração de que gatos são animais sensíveis e seletivos, e que se recusam a ingerir um alimento que não os agrada, foi possível observar que não houve diferença significativa quanto a primeira escolha por olfato e primeira escolha pelo paladar.

Por outro lado, em relação à razão de ingestão (RI-A), apenas as dietas Controle x 5 mEq, Controle x 10 mEq e Controle x 15 mEq apresentaram diferença significativa. Sendo possível verificar que os gatos preferiram consumir alimentos que não possuem indícios de processos oxidativos.

4. Discussão

A atividade de água para os métodos de estufa e tempo real se manteve estável nos alimentos estudados em todo período de estocagem. Todos os alimentos estavam abaixo valor máximo recomendado de atividade de água para *pet food*, sendo esse de 0,65

(FEDIAF, 2010). Isso mostra a boa estabilidade dos alimentos em relação a esse parâmetro, O teor de água livre é fundamental para determinação da vida de prateleira de um produto, pois se apresenta com fator importante para controle de taxa de deterioração (Fellows, 2006).

Um dos fatores mais decisivos para o desenvolvimento de fungos e bactérias está relacionado à elevada atividade de água dos produtos (Belitz et al., 2009). Por isso, esta representa um dos critérios mais utilizados a qualidade e segurança alimentar. De acordo com Beuchat (1983), a atividade de água determina o limite mínimo para o crescimento microbiano, no caso do crescimento de bactérias patogênicas como *E. coli* valor mínimo é de 0,90, enquanto para bolores como *Aspergillus niger* limite é menor, ficando próximo ao de 0,70. De acordo com Brandão et al., (2011), a contaminação de rações por micro-organismos é um dos principais responsáveis por danos na saúde de animais de companhia.

Para Park et al., (2008) a natureza dos ingredientes, o processamento industrial, as condições ambientais e a composição química podem modificar esses valores da atividade de água. No entanto, no presente estudo a alta temperatura usada no método acelerado de estufa não interferiu consideravelmente na pressão de vapor, assim a atividade de água do produto permaneceu sem alteração.

Os resultados obtidos correlacionando níveis de peróxidos com o tempo em dias para teste de estufa e teste convencional em temperatura ambiente mostram que as amostras necessitam de menor tempo em estufa para atingir os maiores níveis de peróxido. Esses resultados estão de acordo com o esperado, uma vez que por este método, a elevada temperatura na qual a amostra é submetida serve como catalisador de reações de oxidação (Barriuso et al., 2013; Medina-Meza et al., 2014).

Tran et al., (2011) ao analisar diferentes temperaturas de secagem em dietas para cães, verificou que altas temperaturas podem reduzir significativamente os nutrientes dos alimentos, principalmente reduzir os ácidos graxos essenciais, como ácido linoléico e linolênico, assim como catalisar os processos de oxidação. Tal depleção na qualidade oxidação também é discutida por outros autores como Barriuso et al., (2013) e Calligares et al., (2015), afirmando que além da diminuição dos ácidos graxos essenciais a oxidação pode reduzir o conteúdo de vitaminas lipossolúveis.

Ao avaliar o *shelf-life* de fatias de pão Calligares et al., (2008) verificou uma dependência do valor de peróxido em relação a temperatura, e o maior nível de peróxido foi obtido na maior temperatura.

Os dados encontrados corroboram com o de Al-Kadamany et al., (2003) em que ao testar a vida de prateleira de iogurte concentrado em três distintas temperaturas (5, 15 e 25°C), encontrou de acordo com os parâmetros de qualidade utilizado no estudo 18,5-18,9, 8,5-9 e 2,7-3,1 dias de *shelf-life* respectivamente.

Apesar das críticas existentes a determinação do índice de peróxido, por este ser um método subjetivo, uma vez que a titulação é feita de forma visual (Silva et al., 1999) os dados encontrados no presente estudo mostraram linearidade, demonstrando que índice de peróxido é uma análise confiável e precisa na avaliação do grau de oxidação lipídica para alimentos secos e extrusados de cães e gatos. Porém para Frankel et al., (1993), análises de índice de peróxido empregadas para acompanhar a evolução oxidativa em testes acelerados com tratamento térmico apresentam valores questionáveis, uma vez que os peróxidos se decompõe rapidamente em altas temperaturas.

Seguindo a premissa que o limites de tolerância no controle de qualidade industrial empregados em *pet food* para índice de peróxido é 10 mEq/kg (ABINPET, 2016), pode se

afirmar que todos os alimentos estudados apresentaram um *shelf-life* satisfatório correspondendo com o sugerido de 12 meses.

No entanto, a correspondência de dias de estufa com dias em temperatura ambiente não foi satisfatória. Cada alimento apresenta sua correlação de forma isolada de dia em estufa com dias em ambiente. Essa correlação apresenta grande variação até mesmo para o mesmo tipo de ração, sendo distinta entre as o mesmo grupo de alimento (cão e gato).

Através dos resultados obtidos se torna difícil adquirir equivalência e validação do método rápido (teste de estufa) de previsão do tempo de vida útil (*shelf life*) em comparação ao teste em tempo real (teste referência). Tal fato é contrário a Frankel et al., (1993) e Silva et al., (1999) que relatam que os resultados fornecidos por este teste apresentam boa correlação com a avaliação efetuada nas condições normais de armazenamento. Entretanto outros autores criticam o método acelerado em estufa pela inadequada condição na qual as amostras são submetidas, as quais inserem componentes em um sistema, que normalmente não estariam presentes (Hamilton et al., 1983; Berset et al., 1996; Schwarz et al., 1996). Para Malcolmson et al., (1994) e Warner et al., (1989) não existe padronização para o teste de Schaal.

Mesmo que o *shelf-life* de alimentos voltados para animais de companhia seja prolongado, a falta de correlação e variação entre os alimentos com o método de estufa faz com que seja mais seguro utilizar o método convencional. Como no trabalho de Chanadang et al., (2016) que ao investigarem os níveis crescentes de oxidação de dietas secas para animais de companhia optou pelo teste convencional armazenando as amostras em temperatura ambiente com coletas para análises em 0, 3, 6, 9 e 12 meses.

Foi possível verificar que para o teste em tempo real, os valores de residuais de antioxidantes se apresentam como os melhores preditores. Entretanto se observou correlação negativa entre tempo de estufa e residual de antioxidante. Isso pode ser

explicado pela alta temperatura usada para realização do teste, resultados semelhantes correlacionando a temperatura com a capacidade antioxidante foram encontrados por Paraginski et al., (2015) que ao testar o efeito da temperatura em compostos com potencial antioxidante em grão de milho verificou correlação negativa, ou seja, o aumento da temperatura reduz o potencial antioxidante dos compostos. O mesmo foi observado para correlação de BHA e etoxiquin com Oxipres, uma vez que esse método também utiliza alta temperatura e alta pressão de oxigênio. Para Tsutzuki et al., (2014), grande exposição ao oxigênio influencia negativamente na qualidade de farinha de trigo, aumentando significativamente os processos de oxidação.

A correlação positiva observada para residual de antioxidante, com tempo em ambiente, mostra que em condições adequadas de armazenamento, o produto se torna mais estável, pois os antioxidantes não são degradados em maior velocidade aumentando consequentemente o tempo de vida útil do alimento.

É possível que a estabilidade dos produtos comerciais dificulte a correlação entre os métodos (rápido e convencional), e as altas temperaturas usadas nos métodos acelerados se mostrem gargalos para sua relação uma vez que estas temperaturas são superiores as temperaturas médias no armazenamento.

A correlação entre a composição química dos alimentos e os métodos não apresentou resultados significativos. Visto que as correlações com maior significância foram entre Oxipres com umidade e atividade de água, apresentando correlação negativa, ou seja, quanto maior o teor de água livre do alimento menor será a estabilidade do alimento. Assim como uma correlação negativa para tempo de ambiente e matéria mineral, concluindo que quanto maior o teor de minerais (cinzas) do alimento menor será o tempo em temperatura ambiente para alcançar o valor máximo sugerido de IP.

Alguns minerais como ferro, cobre, cromo, zinco, entre outros, são conhecidos como metais de transição. Estes metais por sua vez são catalisadores eficientes da autooxidação (Miller et al., 1990). Isso explica a correlação negativa existente entre conteúdo mineral e estabilidade oxidativa.

Sarin et al., (2010) avaliaram o efeito de metais de transição em biodiesel de palma, considerado de boa estabilidade. Os autores observaram que a estabilidade do biodiesel foi prejudicada com a presença dos metais.

A água livre dos alimentos influencia a oxidação lipídica, a mesma intensifica a atividade catalítica dos metais de transição, com isso o risco de oxidação aumenta conforme ocorre aumento da atividade de água e umidade do alimento (Food Ingredients Brasil, 2014). Como já citado, os metais são catalisadores da oxidação, isso porque possuem a habilidade de catalisar a formação de radicais livres como na autooxidação (Miller et al., 1990). Tal fato explica a correlação negativa observada no método de bomba de oxigênio, em que quanto maior o teor de água livre do alimento menor será a estabilidade do alimento.

A palatabilidade está ligada a preferência alimentar do animal, é de fácil detecção e mensuração, além de trazer feedback importante para indústrias. A mesma é determinada pela associação de aspectos químicos e físicos, baseando-se no odor, na textura, no tamanho, na temperatura e no sabor (Pizzato & Domingues, 2008). Felinos domésticos por serem estritamente carnívoros apresentam uma necessidade particular de nutrientes e se mostram bastantes seletivos na escolha de seus alimentos (Becques et al., 2014). No teste de preferência alimentar aplicado no presente estudo, não foi observado diferença significativa para primeira escolha por olfato e paladar. Para Becques et al., (2014) o cheiro é importante sentido para gatos, desempenhando fundamental papel na escolha dos alimentos. Entretanto os resultados encontrados no presente estudo nos permitem concluir

que os gatos são indiferentes ao odor de alimentos com níveis de peróxido de 5, 10 e 15 mEq/kg.

Quando comparado o tratamento controle (sem peroxidação) com os tratamentos contendo níveis crescentes de peróxido, foi possível observar que os gatos preferiam as dietas controle. O que nos faz concluir que gatos são animais com capacidade de detectar a presença de processos oxidativos nas dietas. Tal fato pode ser explicado pela seletividade do animal, mesmo sem diferença significativa com relação ao odor, os felinos domésticos possuem tendência a ingerir alimentos odorizados com sabor já conhecido do que alimentos odorizados com o sabor desconhecido (Becques et al., 2009).

Uma vez que dietas oxidadas não fazem parte do cotidiano alimentar *pet food*, pela grande estabilidade dos alimentos extrusados e a adição de antioxidantes, é normal que os gatos tenham preferência as dietas sem a presença de peróxido.

5. Conclusão

Neste estudo, os métodos acelerados empregados para predizer o *shelf-life* de alimentos para cães e gatos (estufa e Oxipres) não se mostraram adequados, com pouca correlação com o método convencional em temperatura ambiente.

O melhor preditor para a estimativa da vida de prateleira em tempo real foi à análise de residual de antioxidantes, seguida pelo teor de cinzas do alimento, mostrando o primeiro uma relação direta e este último uma relação inversa com o *shelf-life*.

Apesar da obtenção dos resultados ser lenta, com os resultados deste estudo a utilização do método convencional para se estimar a vida útil de alimentos secos continua sendo o mais recomendado, em função dos resultados mais confiáveis obtidos.

6. Referências

- ABINPET. 2016. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de estimação.
- Al-kadamany, E., Khattar, M., Handdad, T., Toufeili, I. 2003. Estimation of shelf-life of concentrated yogurt by monitoring selected microbiological and physicochemical changes during storage. *U.-Technol.* 36, 407–414.
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E.; McDonald, S.; Robards, K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst.* 127, 183-198.
- AOAC. 1995. Association of official analytical chemists international. Official methods of analysis. 16th ed. Arlington.
- AOAC. 2002. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 18th ed. Washington, DC, USA.
- Barriuso, B., Astiasarán, I., D. Ansorena. 2013. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *Eur. Food Res. Technol.*, 236, 1-15.
- Becques, A., Larose, C., Baron, C., Niceron, C., Féron, C., Gouat, P. 2014. Behaviour in order to evaluate the palatability of pet food in domestic cats. *Applied Animal Behaviour Science.* 159, 55–61
- Becques, A., Larose, C., Gouat, P., Serra, J. 2009. Effect of pre- and postnatal olfactory experience on early preferences at birth and dietary selection at weaning in kittens. *Chem. Senses* 35, 41–45.

- Belitz, H., Grosch, W., Schieberle, P. 2009. Food Chemistry, 4ª edição. Springer, Berlim.
- Berset, C., Cuvelier, M.-E. 1996. Revue: méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et mesure du pouvoir antioxydant. Sciences des Aliments.16, 219.
- Beauchat, L. R. 1983. Influence of a_w on growth metabolic activities and survival of yeasts and molds. J. Food Protect. 46, 135-141.
- Brandão, P. A., Nascimento, T. R., Sobral, F. E. S., Freitas, M. R. V., Brito, I. C. A., Silva, S. G. 2011. Avaliação da qualidade bromatológica e microbiológica de rações para rãs. Rev. Cient. Prod. Animal.13, 71-74.
- Brasil. Instrução Normativa nº 42 de 16 de dezembro de 2010. Estabelece os critérios e os procedimentos para a fabricação, fracionamento, importação e comercialização dos produtos isentos de registro e aprova os modelos de formulários e as listas de produtos a serem isentos de registro. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- Brasil. Instrução Normativa nº 30 de 05 de agosto de 2009. Estabelece critérios e procedimentos para o registro de produtos, para rotulagem e propaganda e para isenção da obrigatoriedade de registro de produtos destinados à alimentação de animais de companhia. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- Calligares, S., Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, M. C. 2015. Shelf life assessment of food undergoing oxidation – a review. Food Science and Nutrition. 56, 1903-1912.
- Calligaris, S., Pieve, S. D., Kraving, G., Manzocco, L., Nicolli, C. M. 2008. Shelf life prediction of bread sticks using oxidation indices: a validation study. Journal Of Food Science. 73, 51-56.

Chanadang, S., Koppel, K., Aldrich, G. 2016. The impact of rendered protein meal oxidation level on shelf-life, sensory characteristics and acceptability in extruded pet food. *Animals*. 6, 44-61.

Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. 2009. São Paulo: Sindirações, 3.ed.

Fellows, P. J. 2006. Tecnologia do processamento de alimentos. Princípios e práticas. 2 ed. Artmed, Porto Alegre.

FEDIAF. 2010. European Pet Food Industry Federation. Guide to Good Practice for the Manufacturing of Safe Pet Foods.

FIB: Food Ingredientes Brasil. 2014. São Paulo: Fihba, Trimestral. <http://www.revista.fi.com>. Acesso em 17/03/2018.

Frankel, E.N. 1993. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends in Food Science & Technology*.4, 220-225.

Hamilton, R. J., Rossell, J. B., Hudson, B. J. F., Löliger, J. 1983. Chemistry of rancidity in foods. In: *Rancidity in Foods*. Allen J. C., Hamilton R. J., Ed.; Applied Science Publishers LTD.; London. p .1.

Malcolmson, L.J., Vaisey-Genser, M., Przybylski, R.; Eskin, N.A.M. 1994. Sensory stability of canola oil: present status of shelf life studies. *Journal of the American Oil Chemists' Society*.71, 435-440.

Medina-Meza, I. G., Barnaba, C., Barbosa-Cánovas. G.V. 2014. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: a review. *Innovative food Science and Emerging Technologies*. 22, 1-10.

- Miller, D. M., Buettner, G. R., D' Aust, S. 1990. Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions. *Free Radical Biology and Medicine*. 8, 95-108.
- Montgomery, D. C., Pack, E. A., Vining, G.G. 2006. *Introduction to linear regression analysis*. 4th Ed. Wiley- Intersciene.
- Paraginski, R. T., Talhamento, A., Oliveira, M., Elias, M. C. 2015. Efeitos da temperatura nas alterações do teor de compostos com potencial antioxidante em grãos de milho durante o armazenamento. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. 17, 159-167.
- Park, J. M., Shin, J. H., Bak, D. J., Kim, N. K., Lim, K. S., Yang, C. Y., Kim, J. M. 2014. Determination of shelf life for butter and cheese products in actual and accelerated conditions. *Korean J. Food Science*. 34, 245-251.
- Park, K. J. B, Park, K. J., Cornejo, F. E. P., Dal Fabbro, I. M. 2008. Considerações termodinâmicas das isotermas. *Revista Brasileira de Produtos Agropecuários*. 10, 83-94.
- Pet Brasil Mercado Brasileiro. Disponível em: <http://www.petbrasil.org.br/mercado-brasileiro>. Acesso em 05/01/2018.
- Pet Food Brasil. Mercado Pet Food brasileiro alcança Reino Unido. Disponível em <https://www.editorastilo.com.br/mercado-pet-food-brasileiro-alcanca-reino-unido-mexico-ultrapassa-canada>. Acesso em 20/03/2018.
- Pizzato, D. A., Domingues, J. L. 2008. Palatabilidade de alimentos para cães. *Revista Eletrônica Nutritime*. 5, 504-511.

- R Core Team. 2017. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Sarin, A., Arora, R., Singh, N. P., Rakesh, S., Malhotra, R. k. 2010. Oxidation stability of palm methyl ester: Effect of metal contaminants and antioxidants. *Energy Fuels*. 24, 2652-2656.
- Sakamoto, Y., Ishiguro, M., Kitagawa, G. 1986. Akaike information criterion statistics. D Reidel Publishing Company.
- Schwarz, K., Ernst, H.; Ternes, W. 1996. Evaluation of antioxidative constituents from thyme. *J. Sci. Food Agric.*70, 217.
- Silva, D.J., Queiroz, A.C. 2002. Análise de alimentos métodos químicos e biológicos. p 235. 3 ed. Viçosa, SP :Editora UFV.
- Silva, F. A. M., Borges, M. F. M., Ferreira, M. A. 1999. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*. 22, 94-103.
- Tran, Q. D., Hendriks, W. H., Van der Poel, A. F. B. 2011. Effects of drying temperature and time of a canine diet extruded with a 4 or 8mm die on physical and nutritional quality indicators. *Animal Feed Science and Technology*. 165, 258-264.
- Tsuzuki, W., Suzuki, Y., Yamada, S., Kano, S., Ohnishi, H., Fujimoto, T., Horigane, A. 2014. Effect of oxygen absorber on accumulation of free fatty acids in brown rice and whole grain wheat during storage. *Food Science Technology*. 58, 222-229.
- Vitali, A. A., Quast, D. G. 2004. Vida-de-prateleira de alimentos. In: Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. 3 rd ed., Campinas, SP, pp. 49-57.

Warner, K., Frankel, E.N., Mounts, T.L. 1989. Flavor and oxidative stability of soybean, sunflower and low erucic acid rapeseed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 66, 558-564.

CAPÍTULO III

ISOTERMA DE ADSORÇÃO EM ALIMENTOS SECOS EXTRUSADOS PARA CÃES E GATOS.

¹Artigo redigido conforme as normas da revista *Food Chemistry*

Isoterma de adsorção em alimentos secos e extrusados para cães e gatos.

Resumo

Com crescimento da indústria pet brasileira, os alimentos voltados a animais de companhia necessitam de maior atenção em relação à qualidade e conservação. As isotermas são parâmetros indispensáveis na avaliação dessa qualidade. Nesse estudo, foi investigada a aplicabilidade de isotermas de adsorção de 10 alimentos secos e extrusados para cães e gatos. Três condições de temperatura (30, 40 e 50°C) foram utilizadas para determinar as isotermas usando técnica gravimétrica. A curva obtida foi sigmóide do tipo II, os dados foram analisados pelo modelo de GAB e Peleg. Uma análise de regressão não linear foi utilizada para determinar o ajuste dos dados experimentais e constantes dos modelos. O modelo GAB teve melhor ajuste dos dados para todas as temperaturas. Utilizando o valor máximo seguro de 0,65 para *pet food*, obteve-se umidade de equilíbrio de 6,31 a 12,14 %.

Palavras-chave: Umidade de equilíbrio, modelos matemáticos, conservação, curvas de isoterma.

Adsorption isotherm in dried and extruded *pet food*

Abstract

With considerable growth in the Brazilian pet industry, pet food needs more attention to quality and conservation. Isotherms are indispensable parameters in the evaluation of this quality. This study investigated the applicability of adsorption isotherms of 10 dried and extruded foods for dogs and cats. Three temperature conditions (30, 40 and 50 °C) were used to determine the isotherms using a gravimetric technique. The obtained curve was type II sigmoid, the data were analyzed by the GAB and Peleg model. A nonlinear regression analysis was used to determine the fit of the experimental and model data. The GAB model had a better fit of the data for all temperatures. Using the maximum safe value of 0.65 for *pet food*, there was an obtained equilibrium moisture of 6,31 to 12,14 %.

Keywords: Equilibrium moisture, mathematical models, conservation, isotherm curves.

1. Introdução

Cada vez mais os animais de companhia são tratados como membro da família, fazendo com que a relação homem e animal se tornem cada vez mais efetiva (Borges, et al. 2003). Segundo dados do IBGE (2015), 44,3% dos lares brasileiros têm pelo menos um cão, enquanto 17,7% têm ao menos um gato, esses números levam o Brasil a ocupar o quarto lugar em maior população de animais de companhia do mundo. Essa aproximação homem e animal resulta em uma maior exigência por parte dos proprietários em relação à qualidade dos alimentos destinados aos seus animais de companhia (Gazzotti et al., 2015). Como consequência os fabricantes necessitam destinar uma maior atenção para quesitos nutricionais, controle de qualidade e segurança alimentar.

Aproximadamente 95% dos alimentos produzidos mundialmente para animais de companhia são processados por extrusão e apresentam baixo teor de umidade (Carciofi & Sá, 2014). Apesar do processo de extrusão promover a esterilização do alimento, contaminações e processos deteriorativos podem ocorrer após este processo. Nos Estados Unidos, de 2016 a 2018 o FDA notificou 08 processos de *recall* de *pet food* em função da contaminação microbiana, sendo destes 02 em alimentos secos. A água é o principal fator que interfere no risco de contaminação, este é fundamental para determinação da vida de prateleira dos produtos, pois se apresenta como um fator importante para controle de taxa de deterioração (Bone & Shannon, 1977; Fellows, 2006). Desta forma, o controle da água disponível para o crescimento microbiano é uma das principais preocupações dos fabricantes de alimentos secos para garantir a qualidade, e pode ser mensurado pela medida de atividade de água (a_w). Atividade de água é um dos fatores intrínsecos dos alimentos, sendo uma medida qualitativa que possibilita avaliar disponibilidade de água livre susceptível a reações (Scott, 1957). Alimentos secos e extrusados são considerados seguros quando apresentam a_w igual ou inferior a 0,65 (FEDIAF, 2010).

Em geral, os teores de umidade e a_w se relacionam, mas ambos são controlados no processo de fabricação de alimentos. Isso porque a natureza dos ingredientes, o processamento industrial, as condições ambientais e a composição química podem modificar as relações entre umidade e atividade de água (Park, et al., 2008). Por este motivo entender as relações existentes entre estas duas variáveis (umidade e a_w) em um alimento, seja ele ingrediente ou produto acabado, é importante para se conhecer os limites de segurança promovendo maior vida útil do produto.

Isotermas de sorção (adsorção ou dessorção) de água são gráficos que relacionam a quantidade de água de um alimento (umidade) com sua atividade de água, em função de temperatura constante (Kaymak-Ertekin & Gedik, 2005; Kurozawa, et al., 2005; Ordéñez et al., 2005). As isotermas fornecem dados específicos com aplicação direta na predição de tempo de secagem do alimento, na vida de prateleira, no crescimento microbiano, na determinação do tipo de embalagem, na predição do efeito do abuso da temperatura, nas especificações de controle de qualidade, definições de pontos críticos e na caracterização do produto, inclusive quando o mesmo é constituído por componentes de atividade de água diferentes (Gal, 1987; Pena, et al., 2000). Apesar de ainda pouco utilizada na prática, de acordo com as possibilidades de uso citadas para as curvas de isoterma é possível determinar nas condições de processo industrial de cada empresa, o teor máximo de umidade permitido para um alimento que não acarretará prejuízos na sua vida útil.

Diante do exposto, no presente trabalho objetivou-se estabelecer modelos matemáticos para a elaboração das curvas de isoterma de adsorção em *pet food*.

2. Material e métodos

2.1 Alimentos

Para elaboração das curvas de isoterma de equilíbrio de adsorção foram utilizados 10 alimentos comerciais completos secos e extrusados, provenientes de uma única empresa (Manfrim alimentos SA., Santa Cruz do Rio Pardo, Brasil). Foram empregados 6 alimentos para cães e 4 para gatos (Tabela 1). Todos os alimentos foram adquiridos em embalagens de polipropileno de amostras grátis, com lotes recém-produzidos pela empresa.

2.2 Análises químicas

Todas as amostras foram analisadas quanto à composição química no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), localizado na Universidade Estadual de Maringá (UEM). Análises do teor de Proteína Bruta (método: 954.01), Extrato Etéreo por Hidrólise Ácida (método: 954.02), Fibra Bruta (método: 978.10), Matéria Mineral (método: 942.05), Umidade (método 930.15) e Atividade de Água (método 978.18) (Tabela 1) foram realizadas seguindo as metodologias descritas pela AOAC (1995). Os teores de Extrativos não nitrogenados (ENN) foram calculados pela diferença das análises citadas anteriormente para 100%.

Tabela 1

Composição Química dos alimentos submetidos à análise de isoterma de adsorção com base na matéria natural.

Alimento	Espécie	Composição Química							
		Umidade (%)	a_w	PB (%)	EEHA (%)	FB (%)	MS (%)	MM (%)	ENN (%)
1	Cão	7,29	0,58	19,80	7,38	3,68	92,08	6,44	47,51
2	Cão	7,89	0,58	22,75	10,61	2,74	91,36	6,16	41,20
3	Cão	6,02	0,51	30,13	10,53	3,74	93,57	6,61	36,55
4	Cão	7,10	0,53	22,43	11,80	2,77	92,31	6,06	41,65
5	Cão	6,60	0,57	30,01	13,12	3,25	92,90	6,48	33,27
6	Cão	7,79	0,55	24,70	10,16	2,74	91,49	5,84	39,74
7	Gato	7,20	0,55	35,12	10,16	3,23	92,19	5,11	30,84
8	Gato	6,66	0,55	29,15	12,10	2,78	92,82	4,83	36,77
9	Gato	6,09	0,53	29,73	13,54	2,80	93,49	4,72	35,67
10	Gato	6,82	0,57	31,13	12,51	2,78	92,64	4,91	33,94

a_w : Atividade de água; PB: Proteína Bruta; EEHA: Extrato Etéreo por Hidrólise Ácida; FB: Fibra Bruta; MS: Matéria Seca; MM: Matéria Mineral (Cinzas); ENN: Extrativo não Nitrogenado

2.3 *Determinações das isotermas de equilíbrio de adsorção*

As isotermas de equilíbrio de adsorção foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), localizado na Universidade Estadual de Maringá (UEM), obtidas através do método gravimétrico estático, baseando-se na metodologia descrita por Yogendrarayah et al., (2015) e Wani & Kumar (2016).

Para isto soluções saturadas de Cloreto de lítio, acetato de potássio, nitrito de sódio, cloreto de magnésio, cloreto de sódio e cloreto de potássio foram preparadas para que as amostras fossem mantidas em atmosferas com valores de a_w crescentes. Todos os sais eram de alta pureza (Labsynth, P. A).

Por serem alimentos secos, nenhuma secagem prévia foi realizada. As curvas de isotermas foram determinadas em três temperaturas diferentes (30°C, 40°C e 50°C).

Vinte gramas de cada alimento sem moer foram pesadas e colocados em recipientes plásticos com furos para permitir a estabilização da a_w no ambiente interno do pote. Os recipientes plásticos em que as amostras estavam mantidas foram colocados dentro de recipientes herméticos, o qual foi fechado de forma a isolar a atmosfera externa da interna do ambiente ao qual a amostra estava mantida. Internamente no recipiente hermético, as amostras foram apoiadas em um suporte plástico acima das soluções para evitar contato direto com as mesmas. Por fim, os recipientes foram levados para estufa de ventilação forçada nas temperaturas determinadas.

Pesagens periódicas das amostras foram realizadas em balanças analíticas, até a determinação de peso constante. O equilíbrio foi atingido quando três medidas de peso sucessivas não diferiam de mais de 0,01g. A fim de estabelecer isotermas de adsorção, os resultados de umidade de equilíbrio foram plotados em relação à atividade de água.

2.4 Modelagem das curvas de adsorção

Para obtenção de isotermas de equilíbrio de adsorção os resultados de umidade de equilíbrio de cada amostra foram plotados em relação à atividade de água, para cada temperatura determinada. Os modelos matemáticos exponenciais de Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) e Peleg (1993), foram usados para modelagem dos dados com base em análise de regressão (Tabela 2).

A qualidade de ajuste de cada modelo foi avaliada em relação ao R² ajustado, Critério de informação de Akaike (AIC) e Desvio padrão médio (DPM).

Tabela 2

Modelos matemáticos usados para determinação de isotermas de adsorção de alimentos secos e extrusados para cães e gatos.

Nome dos Modelos	Modelos matemáticos ¹
GAB	$X_{eq} = \frac{X \cdot c \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w)(1 - k \cdot a_w + C \cdot k \cdot a_w)}$
Peleg	$X_{eq} = a \cdot a_w^b + c \cdot a_w^d$

¹ X_{eq} = conteúdo de umidade de equilíbrio, kg/kg; A_w = atividade de água, adimensional; X = conteúdo de água na monocamada, kg/kg; a, b, c, d, k = constantes das equações.

2.5 Umidade das amostras e atividade de água das soluções salinas

A umidade inicial das amostras foi determinada em estufa a 105°C conforme descrito por AOAC (1995) e a atividade de água dos sais pelo método de ponto de orvalho, empregando-se metodologia aprovada pela AOAC (método 978.18) em equipamento específico (Aqualab 4TE, Decagon Devices, Inc, USA). Aparecimento de corpo de fundo foi usado como critério para estabelecer o ponto de saturação das soluções salinas.

2.6 *Análises estatísticas*

Os modelos foram ajustados com o uso do pacote `minpack.lm` do ambiente estatístico R v3.4.3 (R Development Core Team, 2017). Uma análise de regressão não linear foi utilizada para determinar o ajuste dos dados experimentais e constantes dos modelos.

3. **Resultados e Discussão**

A umidade de equilíbrio (X_{eq}) dos alimentos para cães e gatos apresentou relação inversa com a temperatura, ou seja, à medida que a temperatura aumentou, a X_e foi reduzida (Figura 1). Esse efeito inverso entre temperatura e umidade de equilíbrio é comum pra isoterma de alimentos, apresentado por diversos autores como Kaymark-Ertekin & Gedik, (2005), Samapundo, et al., (2007), Yogendrarajah, et al.; (2015) e Wani & Kumar, (2016). Isso pode ser explicado devido à redução de sítios ativos para ligação de água com o aumento de temperatura. Altas temperaturas aumentam a energia cinética de moléculas de água fazendo com que as ligações de hidrogênio se quebrem, permitindo que as moléculas de água escapem para o ar em forma de gás (Palipane & Driscoll, 1992). Com isso é possível inferir que o aumento da temperatura eleva concomitantemente a pressão de vapor na amostra e conseqüentemente a a_w , propiciando maior deterioração da amostra.

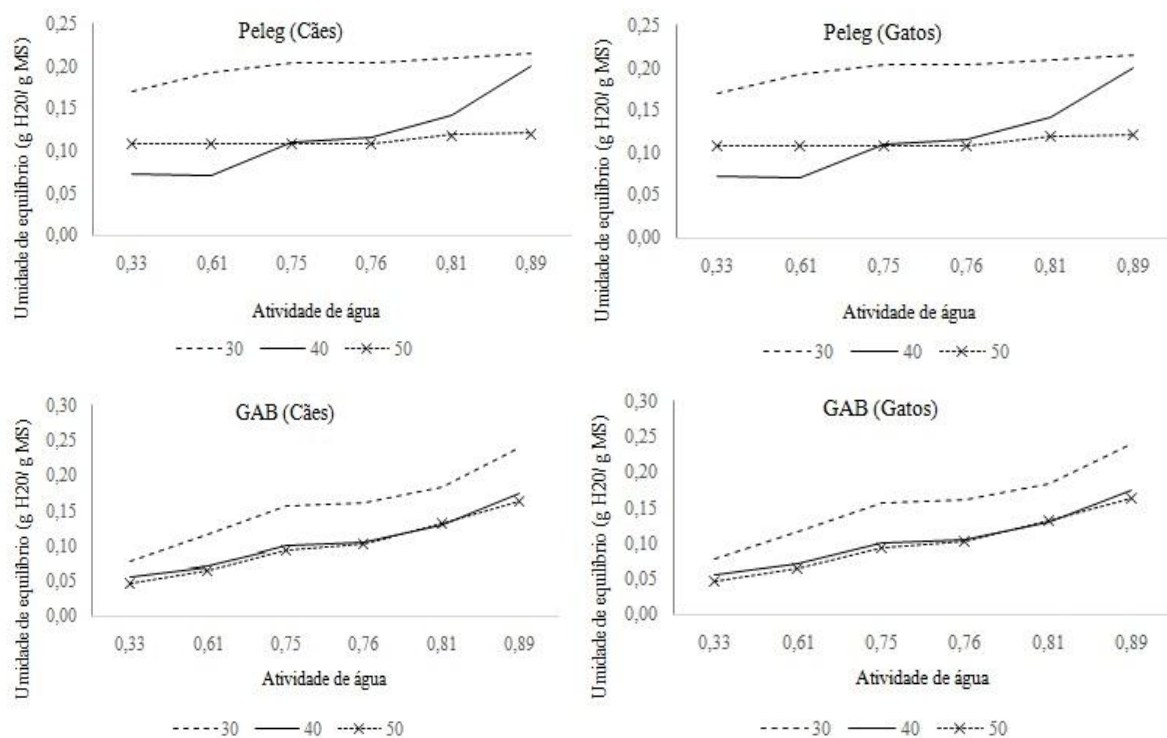


Figura 1. Gráficos de isoterma de adsorção em temperaturas distintas para alimentos de cães e gatos

As curvas obtidas para todas as temperaturas foram sigmóides do tipo II segundo a classificação de Brunauer et al., (1938). De acordo com Al-muhtaseb et al., (2002), as curvas de produtos alimentícios apresentam esse formato. Um comportamento semelhante também foi observado nas curvas de isotermas de biscoitos extrusados apresentadas por Lazou & Krokida, (2011) e por Wani & Kumar, (2016). Curvas sigmóides do tipo II também foram observadas por Al-muhtaseb et al., (2010), ao testarem diferentes tipos de farinhas para bolo.

Os dados obtidos a partir da manutenção das amostras na estufa permitiram a realização de análise de regressão não linear para verificar os ajustes dos modelos de GAB e Peleg, levando em consideração todos os parâmetros de ambos os modelos matemáticos. A qualidade destes modelos foi avaliada através do R- quadrado (R^2 ajustado), de informação de Akaike (AIC) e Desvio padrão médio (DPM) (Tabelas 3 e 4).

Nota-se que o modelo matemático GAB melhor se ajustou para os dados experimentais desses alimentos. Apresentando de uma maneira geral melhores coeficientes de regressão ajustados, menores valores de AIC's e DPM's.

Em alimentos, equações obtidas pelo modelo de GAB apresentam uma previsão satisfatória de isothermas de adsorção e teores de umidade de equilíbrio de alimentos, conforme apresentado nos trabalhos de Tsami et al., (1990), e Wang & Brennan (1991), Kiranoudis, et al., (1993), Maroulis et al., (1988), McLaughlin & Magee, (1998), Kaymark-Ertekin & Gedik, (2005) e Wani & Kumar, (2016), que trabalharam com frutas, vegetais e biscoitos extrusados. O modelo GAB é amplamente utilizado para descrever o comportamento de isothermas de alimentos. Unadi et al., (1998) observaram que GAB foi a equação mais satisfatória para prever isothermas de tomates. Assim como Telis et al., (2000) que obtiveram bom ajuste para GAB em isothermas de casca e polpa de uva em temperaturas de 20°C a 70 °C.

Em geral os dados experimentais da temperatura de 50°C não tiveram bons ajustes para nenhum dos modelos. Possivelmente a temperatura afetou as características do produto, fazendo com que ocorresse grande variação nos dados.

O conhecimento do mecanismo de troca de vapor d'água entre os materiais biológicos e o ambiente é de grande importância no processamento de alimentos, particularmente na secagem e na armazenagem. Como todo material higroscópico, os alimentos secos e extrusados para cães e gatos têm a propriedade de ceder ou absorver umidade do ar que os envolve.

A partir das equações dos modelos matemáticos (GAB e Peleg) é possível determinar a umidade de equilíbrio dos 10 alimentos submetidos às curvas de isoterma. Esse é o teor de umidade constante que os alimentos adquirem quando mantidos em determinada faixa de umidade relativa e temperatura. Isso torna possível a estimativa de

umidade dos alimentos em diversas condições ambientais. É possível ainda utilizar as isotermas para o estudo de embalagens, processamento dos alimentos e composição de ingredientes das dietas, favorecendo a indústria nos aspectos econômicos destes fatores.

Tabela 3

Estimativa dos parâmetros para o modelo de Peleg de alimentos comerciais completos secos e extrusados para cães e gatos.

Alimento	Espécie	T (°C)	Qualidade de ajuste			Constantes do modelo			
			AIC	R ²	DPm	A	B	C	D
1	Cão	30	-36,92	0,98	1,97	0,2989	12,7233	0,1884	0,7745
		40	-26,68	0,81	8,20	0,7375	17,1259	0,1394	0,5773
		50	-24,72	0,75	10,55	0,5978	12,7834	0,1181	0,5050
2	Cão	30	-27,38	0,87	4,58	0,1415	10,9904	0,2022	0,9525
		40	-31,47	0,90	4,58	0,3085	7,2511	0,0735	-0,0717
		50	-21,20	0,47	12,71	0,5483	15,3624	0,1319	0,7250
3	Cão	30	-26,39	0,88	5,24	0,2301	6,8526	0,1458	0,6726
		40	-29,59	0,92	6,18	0,3716	7,2904	0,0642	0,0588
		50	-11,71	-0,15	20,82	226214	103,0938	0,2008	1,1000
4	Cão	30	-31,35	0,93	3,23	0,1540	6,3538	0,1703	0,6839
		40	-24,42	0,75	7,78	0,2898	5,7796	0,0647	-0,1810
		50	-19,97	0,44	14,52	0,8445	16,2088	0,1297	0,5383
5	Cão	30	-31,35	0,93	3,47	0,1512	6,4551	0,1634	0,7668
		40	-26,72	0,83	7,18	0,3038	5,4730	0,0444	-0,4001
		50	-20,82	0,53	12,52	0,3844	11,7193	0,1281	0,7117
6	Cão	30	-27,74	0,88	3,86	0,1956	5,6552	0,1461	0,4426
		40	-30,67	0,90	4,51	0,2844	6,5056	0,0841	0,0468
		50	-14,98	0,98	14,51	0,3615	3,4507	0,0012	-6,0854
7	Gato	30	-24,67	0,87	5,36	0,2654	12,9441	0,2278	1,0546
		40	-34,84	0,97	3,23	0,3437	4,1249	0,0114	-1,4413
		50	-19,73	0,63	13,60	0,9143	15,4377	0,1387	0,8909
8	Gato	30	-30,44	0,94	3,86	0,2532	8,0837	0,1524	0,7112
		40	-26,76	0,76	9,58	0,2683	5,7130	0,0393	-0,5225
		50	-22,82	0,69	12,07	0,8029	14,8434	0,1183	0,6365
9	Gato	30	-34,01	0,96	3,17	0,2118	9,4053	0,1622	0,7710
		40	-30,60	0,91	5,39	0,2872	4,6969	0,0262	-0,7229
		50	-28,72	0,72	8,56	0,5568	18,1907	0,1159	0,7636
10	Gato	30	-27,70	0,90	4,15	0,2188	8,6179	0,1760	0,8357
		40	-26,86	0,82	7,06	0,2723	4,7143	0,0413	-0,4529
		50	-21,33	0,48	12,21	0,1990	7,9441	0,1172	0,6208

Tabela 4

Estimativa dos parâmetros para o modelo de GAB de alimentos comerciais completos secos e extrusados para cães e gatos.

Alimento	Espécie	T(°C)	Qualidade de ajuste			Constantes do modelo		
			AIC	R ² ajustado	DPm	X	C	K
1	Cão	30	-35,16	0,97	3,90	0,0585	7210768,9802	0,8459
		40	-25,73	0,79	10,38	0,0378	-8,5949	0,9169
		50	-25,25	0,79	12,17	0,0326	-7,3305	0,9585
2	Cão	30	-29,04	0,91	5,53	0,0800	6,3643	0,7427
		40	-33,67	0,94	4,22	0,0293	-4,6552	0,9604
		50	-22,93	0,63	11,84	0,0370	-16,4928	0,9010
3	Cão	30	-28,50	0,92	4,97	0,0533	33,1060	0,8745
		40	-30,91	0,94	6,29	0,0264	-6,0256	0,9919
		50	-13,28	0,18	24,56	0,0525	-6454244,3324	0,8474
4	Cão	30	-33,24	0,96	3,37	0,0705	15,0564	0,7887
		40	-26,59	0,84	7,75	0,0325	-5,4004	0,9523
		50	-20,99	0,56	16,69	0,0362	-8,2711	0,9271
5	Cão	30	-33,25	0,96	3,60	0,0666	9,7195	0,7974
		40	-28,23	0,88	8,97	0,0282	-5,3196	0,9722
		50	-22,55	0,67	13,93	0,0368	-20,7433	0,9181
6	Cão	30	-29,70	0,92	4,16	0,0646	8614713,8748	0,8204
		40	-32,45	0,93	4,76	0,0353	-6,1850	0,9369
		50	-15,89	0,99	15,48	0,0296	-2,1772	0,9917
7	Gato	30	-25,17	0,89	9,55	0,0602	-64009060,4172	0,8653
		40	-31,08	0,95	9,18	0,0304	-10,3821	0,9801
		50	-21,28	0,73	15,34	0,0313	-14,5168	0,9831
8	Gato	30	-32,48	0,96	3,87	0,0501	311,0468	0,8879
		40	-27,74	0,81	9,27	0,0245	-4,4167	0,9685
		50	-23,78	0,75	14,47	0,0292	-7,6616	0,9768
9	Gato	30	-35,66	0,97	3,32	0,0526	66,5757	0,8536
		40	-31,06	0,92	8,77	0,0265	-6,4327	0,9746
		50	-29,36	0,77	10,24	0,0365	-1345568,1426	0,8442
10	Gato	30	-29,53	0,93	5,10	0,0588	16,4215	0,8522
		40	-28,86	0,88	7,55	0,0306	-6,2036	0,9548
		50	-23,25	0,65	12,86	0,0412	-96,1526	0,8724

O modelo GAB fornece em sua equação o parâmetro de água na monocamada, parâmetro este não fornecido pela maioria dos outros modelos. De acordo com Wani & Kumar (2016), a água na monocamada, indica a quantidade de água que é fortemente adsorvida em locais específicos do alimento. Essa umidade adsorvida nada mais é que a água presente na superfície dos alimentos. Esse valor representa o teor de umidade no qual o alimento apresenta estabilidade, ou seja, está diretamente ligado com sua vida de prateleira (Fellows, 2006). O parâmetro de água na monocamada pode ser observado na tabela 5 para os 10 alimentos avaliados.

Os valores de água na monocamada (X) para os 10 alimentos variaram de 0,026 à 0,080gH₂O/gMS, valores aproximados ao de Kaymark-Ertekin & Gedik, (2005), que ao avaliarem frutas encontraram uma faixa de variação de 0,022 à 0,095gH₂O/gMS.

A partir desses resultados é possível se estimar o tempo que o alimento, mantido em condições adequadas de temperatura, se mantém próprio para o consumo, apresentando alterações que são consideradas aceitáveis pelo fabricante, consumidor e a legislação alimentar vigente (Vitali et al., 2004).

Tabela 5
Água na monocamada estimada pelo modelo de GAB.

Alimento	Espécie	X (g H ₂ O/g MS)		
		30°C	40°C	50°C
1	Cão	0,059	0,038	0,033
2	Cão	0,080	0,029	0,037
3	Cão	0,053	0,026	0,053
4	Cão	0,071	0,032	0,036
5	Cão	0,067	0,028	0,037
6	Cão	0,065	0,035	0,030
7	Gato	0,060	0,030	0,031
8	Gato	0,050	0,024	0,029
9	Gato	0,053	0,027	0,037
10	Gato	0,059	0,031	0,041

Conhecer o mecanismo de troca de vapor d'água entre os materiais biológicos e o ambiente é de grande importância no processamento de alimentos, particularmente na secagem e na armazenagem. Como todo material higroscópico, os alimentos secos e extrusados para cães e gatos têm a propriedade de ceder ou absorver umidade do ar que os envolve.

Esses alimentos, em um determinado ambiente onde a umidade relativa do ar oscila, vão absorver ou ceder certa quantidade de água quando a variação da umidade relativa ambiente é aumentada ou diminuída, tendendo sempre para um ponto de equilíbrio. No ponto de equilíbrio a pressão de vapor d'água dentro do alimento é igual à pressão de vapor contida no ar.

Toda substância que contém umidade possui uma pressão de vapor d'água. Quanto maior o teor de umidade maior é a pressão de vapor e vice-versa. Quando o alimento e o ar que o envolve apresentam diferentes pressões de vapor, a umidade movimenta-se da substância com maior pressão de vapor para aquela de menor pressão até atingir um ponto de equilíbrio. Neste ponto cessa o movimento de umidade e diz-se então que o extrusado atingiu o teor de umidade de equilíbrio.

Segundo a FEDIAF (2010), o valor máximo seguro para alimentos secos e extrusados para cães e gatos é de 0,65 para atividade de água e 14% de umidade. No entanto não se sabe se esse valor pode ser alterado para mais sem o alimento sofrer processos de deterioração. A partir das equações geradas pelos modelos GAB e Peleg é possível fixar o nível máximo seguro de atividade de água para *pet food* e com isso determinar a umidade de equilíbrio de cada alimento (Tabelas 6 e 7).

Com esses valores é possível determinar o quanto de água o alimento pode receber sem que sofra danos de qualidade, diminuindo seu *shelf-life*. Tal informação é bastante interessante e aplicável para indústrias, que poderão trabalhar com faixas seguras de

umidade para os alimentos pet. No entanto, vale lembrar que o processamento afeta o teor de umidade no produto final, por isso se trabalhar com percentagem menor do que a estimada garante que o produto atingirá o máximo estabelecido.

A partir dos resultados obtidos é possível observar uma variação maior entre as umidades para o modelo Peleg, no qual apresenta um coeficiente de variação de 19,5% enquanto o GAB de 16,6. Nota-se também que todas as umidades de equilíbrio encontradas são maiores que a umidade real do produto (Tabela 1), com isso pode-se concluir que os alimentos podem conter mais água em sua fórmula sem apresentarem problemas com seu *shelf-life*.

A umidade de equilíbrio a partir da atividade de água fixada para Peleg variaram de 6,31 a 12,14 % dentro das temperaturas utilizadas. Enquanto para GAB a faixa de umidade de equilíbrio ficou entre 6,73 a 11,62%.

Segundo Brito et al., (2010) a umidade é um ponto importante na palatabilidade e textura dos alimentos voltadas a animais de companhia. Segundo estudo do autor os cães preferem dietas contendo 10% de umidade do que 8%.

No entanto teores altos de umidade podem acarretar problemas na conservação do alimento. Para Bueno et al., (2001) um teor inferior de 11,5% de umidade é suficiente para anular o crescimento fúngico em alimentos para cães e gatos. Uma vez que é necessária a água para o desenvolvimento de fungos.

Rupollo et al., (2006), ao estudarem o efeito da umidade na qualidade de grãos de aveia, concluíram que o teor de umidade influencia a incidência fúngica durante o armazenamento, sendo mais evidente a presença de fungos em umidades maiores. Também observaram que teores de umidade superiores a 12% intensificaram a redução dos ácidos graxos insaturados, com maior evidência sobre o linoleico e linolênico.

Diante do exposto, predizer a umidade de equilíbrio do alimento em diferentes temperaturas, simulando adversas condições de processo e armazenagem, fixando o teor máximo e seguro de atividade de água é de extrema importância para o controle de qualidade e prorrogação do *shelf life*.

Tabela 6

Umidade de equilíbrio estimada pelo modelo de Peleg com atividade de água fixada em 0,65.

Alimento	Espécie	Umidade de equilíbrio (%)		
		30°C	40°C	50°C
1	Cão	11,57	9,58	8,60
2	Cão	11,43	7,89	8,56
3	Cão	10,27	6,88	10,61
4	Cão	11,52	8,16	9,14
5	Cão	10,73	7,06	8,47
6	Cão	11,61	8,67	8,42
7	Gato	12,14	6,59	8,36
8	Gato	10,22	6,36	8,08
9	Gato	10,28	6,31	7,46
10	Gato	10,84	7,39	8,39

Tabela7

Umidade de equilíbrio estimada pelo modelo de GAB com atividade de água fixada em 0,65.

Alimento	Espécie	Umidade de equilíbrio (%)		
		30°C	40°C	50°C
1	Cão	10,96	8,76	8,13
2	Cão	11,13	7,83	8,08
3	Cão	10,20	7,11	9,96
4	Cão	11,43	8,34	8,54
5	Cão	10,66	7,50	8,14
6	Cão	11,62	8,71	9,73
7	Gato	11,50	7,62	7,74
8	Gato	10,00	6,73	7,48
9	Gato	9,93	6,95	7,11
10	Gato	10,57	7,79	8,29

4. Conclusão

Ao comparar as isotermas de adsorção para os 10 alimentos completos comerciais secos e extrusados para cães e gatos, se pode concluir que a temperatura afeta os resultados de umidade de equilíbrio, estabelecendo uma relação inversa, ou seja, conforme ocorre aumento da temperatura a umidade de equilíbrio diminui.

Entre os dois modelos matemáticos aplicados, o GAB apresentou um melhor ajuste. Com isso conclui-se que GAB é recomendado para caracterizar o comportamento de adsorção de alimentos secos e extrusados para animais de companhia.

Fixando o valor máximo seguro de a_w para *pet food* foi possível determinar a umidade de equilíbrio dos alimentos, e com isso estabelecer uma segura formulação, processamento e armazenagem, visando um produto acabado de qualidade e seguro. Diante disso foi possível concluir que as isotermas são ferramentas que apresentam resultados importantes para indústrias *pet food*.

5. Referências

- AOAC. 1995. Association of official analytical chemists international. Official methods of analysis. 16th ed. Arlington.
- Al-Muhtaseb, A. H., Mcminn, W. A. M., Magee, T. R. A. (2002). Moisture sorption isotherm characteristics of food products: a review. *Trans IChemE*, 80, 118-128.
- AOAC. (2003). Official methods of analysis of AOAC international. Arlington, Texas, USA: Association of official analytical chemists (AOAC).
- Bone, D.P., Shannon, E.L. (1977). Process for making a dry *pet food* have a hard component and a soft component, 4, 59-66.
- Bueno, D. J., Silva, J. O., Oliver, G. (2001). Mycoflora in commercial *pet foods*. *J. Food Protec*, 64, 741-743.
- Brito, C.B.M., Felix, A.P., Jesus, R. M., França, M. I., Krabbe, E.L., Oliveira, S.G., Maiorka, A., (2010). Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. *Animal Feed Science and Technology*, 159,150-155.
- Brunauer, S., Emmett, P. H., & Teller, E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60, 309-320.
- Carciofi, A. C., Sá, F. C.(2014). Extrusion processing conditions and food utilization by dogs and cats. In: VI Congresso Internacional e XII Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação CBNA. Anais... Campinas-SP.

FEDIAF.(2010). European Pet Food Industry Federation. Guide to Good Practice for the Manufacturing of Safe Pet Foods.

Fellows, P. J. (2006). Tecnologia do processamento de alimentos. Princípios e práticas. (2th ed). Artmed, Porto Alegre.

Gal, S. 1987. The need for, and practical applications of sorption data. In R. Jowitt, F. Escher, B. Hallström, H. Mefert, W. Spiess, & G. Vos (Eds.), Physical properties of foods. London., pp. 13–25.

Gazzotti, T.; Biagi, G., Pagliuca, G., Pinna, C., Scardilli, M., Grandi, M.;Zaghini, G. (2015). Occurrence of mycotoxins in extruded commercial dog food. *Animal Feed Science and Technology*, 202, 81–89.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2013). População de animais de estimação no Brasil. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 02 de janeiro de 2018.

Kaymak-Ertekin, F., & Gedik, A. (2005). Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technology*, 37, 429–438.

Kiranoudis, C. T., Tsami, E., Maroulis, Z. B., & Morunos-Kouris, D. (1993). Equilibrium moisture content and heat of desorption of some vegetables. *Journal of Food Engineering*, 20(1), 55-74.

Kurozawa, L. E., El- Aouar, A. A., Murr, F. E. X. (2005). Obtenção de isotermas de dessecção de cogumelo *in natura* e desidratado osmoticamente. *Ciênc. Tecnol. Alimentos*, 25, 828-834.

- Lazou, A.; & Krokida, M. (2011). Thermal characterisation of corn–lentil extruded snacks. *Food Chemistry*, 127, 1625-1633.
- Maroulis, Z. B., Tsami, E., Marinos-Kouris, D., & Saravacos, G. D. (1988). Application of the GAB model to the moisture sorption isotherms for dried fruits. *Journal of Food Engineering*, 7(1), 63–78.
- McLaughlin, C. P., & Magee, T. R. A. (1998). The determination of sorption isotherm and the isosteric heats of sorption for potatoes. *Journal of Food Engineering*, 35, 267e280.
- Muhtaseb, A. H., Hararah, M. A., Megahey, E.K., McMinn, W.A.M., Magee T.R.A. (2010). Moisture adsorption isotherms of microwave-baked Madeira cake. *Food Science and Technology*, 43, 1042–1049.
- Ordóñez, J. A. (2005). *Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos*. (1th ed). Artmed. Porto Alegre.
- Palipane, K. B., & Driscoll, R. H. (1992). Moisture sorption characteristics of inshell macadamia nuts. *Journal of Food Engineering*, 18, 63-76.
- Park, K. J. B., Park, K. J., Cornejo, F. E. P., Dal Fabbro, I. M. (2008). Considerações termodinâmicas das isotermas. *Revista Brasileira de Produtos Agropecuários*. 10, 83-94
- Peleg, M., 1993. Assessment of a semi-empirical four parameter general model for sigmoid moisture sorption isotherms. *Journal of Food Process Engineering*. 16, 21-37.

- Pena, R. S., Ribeiro, C.C., Grandi, J. G. (2000). Aplicação de modelos matemáticos bi e triparamétricos na predição de isotermas de adsorção de umidade de guaraná (*Paullinia Cupuna*) em pó. *Ciência e Tecnologia de alimentos*, 20, 8-11.
- Rupollo, G., Gutkoski, L. C., Martins, I. R., Elias, M. C. (2006). Efeito da umidade e do período de armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia. *Ciências Agrotec*, 30 (1), 118-125.
- Samapundo, S., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Atukwase, A., Lamboni, Y., Debevere, J.M. (2007). Sorption isotherms and isosteric heats of sorption of whole yellow dent corn. *Journal of Food Engineering*, 79, 168–175.
- Silva, D.J.; Queiroz, A.C. (2002). *Análise de alimentos métodos químicos e biológicos*. (3 ed). Viçosa, SP.
- Telis, V.R.N., Gabas, A.L., Menegalli, F.C., Telis-Romero, J. (2000). Water sorption thermodynamic properties applied to persimmon skin and pulp. *Thermochemical Acta*, 343, 49-56.
- Tsami, E., Maroulis, B., Marinos-Louris, D., Saravacos, G.D. (1990). Heat of sorption of water in dried fruits. *Int J Food Sci Technol*, 25, 350–359.
- Unadi, A., Fuller, R.J., Macmillan, R.H. (1998). Prediction of the equilibrium moisture content of tomatoes. *Food Australia*, 50(4), 200-203.
- Vitali, A. A., Quast, D. G. (2004). Vida-de-prateleira de alimentos. In: *Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados*. (3 rd ed). Campinas, SP, pp. 49-57.

Wang, N., & Brennen, J. G. (1991). Moisture sorption isotherm characteristics of potatoes at four temperatures. *Journal of Food Engineering*, 14, 269e282.

Wani, S. A., & Kumar, P. (2016). Moisture sorption isotherms and evaluation of quality changes in extruded snacks during storage. *Food Science and Technology*, 74, 448-455.

Yogendrarajah, P., Samapundo, S., Devlieghere, F., De Saeger, S., De Meulenaer, B. (2015). Moisture sorption isotherms and thermodynamic properties of whole black peppercorns (*Piper nigrum* L.). *Food Science and Technology*, 64, 177-188.