

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SEMENTE DE AÇAÍ
(*Euterpe oleracea* Mart.) COMO INGREDIENTE EM
ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES

Autora: Karla dos Santos Felssner
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos
Coorientador: Prof. Dr. Claudio Scapinello

MARINGÁ
Estado do Paraná
março – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SEMENTE DE AÇAÍ
(*Euterpe oleracea* Mart.) COMO INGREDIENTE EM
ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES

Autora: Karla dos Santos Felssner

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

Coorientador: Prof. Dr. Claudio Scapinello

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

MARINGÁ
Estado do Paraná
março – 2016

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

F324a Felssner, Karla dos Santos, 1980-
Avaliação nutricional da semente de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) como ingrediente em alimentos extrusados para cães / Karla dos Santos Felssner. -- Maringá, 2016.
x, 78 f. : figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos.
Coorientador: Prof. Dr. Claudio Scapinello.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2016.

1. Semente de açaí - Composição química. 2. Cães - Alimentação - Semente de açaí. 3. Semente de açaí - Ação antioxidante. 4. Fibra insolúvel - Dieta de cães. 5. Taninos. 6. Extrusão. I. Vasconcellos, Ricardo Souza, orient. II. Scapinello, Cláudio, 1956-, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 21.ed. 636.7085

GVS-002731



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SEMENTE DE AÇAÍ
(*Euterpe oleraceae* Mart.) COMO INGREDIENTE EM
ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES**

Autora: Karla dos Santos Felssner
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos


TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

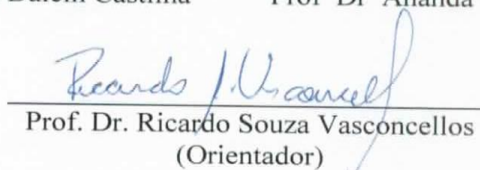
APROVADA em 22 de março de 2016.


Prof.^a Dr.^a Simara Márcia Marcato


Prof.^a Dr.^a Juliana Beatriz Toledo


Prof. Dr. Leandro Dalcin Castilha


Prof.^a Dr.^a Ananda Portela Félix


Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos
(Orientador)

Oração Nossa

“Senhor,
ensina-nos a orar sem esquecer o trabalho,
a dar sem olhar a quem,
a servir sem perguntar até quando,
a sofrer sem magoar seja a quem for,
a progredir sem perder a simplicidade,
a semear o bem sem pensar nos resultados,
a desculpar sem condições,
a marchar para a frente sem contar os obstáculos,
a ver sem malícia,
a escutar sem corromper os assuntos,
a falar sem ferir,
a compreender o próximo sem exigir entendimento,
a respeitar os semelhantes sem reclamar consideração,
a dar o melhor de nós, além da execução do próprio dever
sem cobrar taxas de reconhecimento.

Senhor,
fortalece em nós a paciência para com as dificuldades
dos outros, assim como precisamos da paciência dos outros
para com as nossas próprias dificuldades.
Ajuda-nos para que a ninguém façamos aquilo
que não desejamos para nós.
Auxilia-nos sobretudo a reconhecer que a nossa
felicidade mais alta será invariavelmente
aquela de cumprir os desígnios, onde e
como queiras, hoje, agora e sempre”.

Francisco Cândido Xavier

*À minha família que tanto amo,
em retribuição ao apoio e afeto*

Aos amados cães

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus todo poderoso e misericordioso por me guiar e iluminar meus caminhos!

Aos amados pais Iraci Joana e Carlos Hermano Felssner e amados irmãos Kati Felssner e Carlos H. Santos Felssner por serem as razões da minha vida e motivo maior de minhas lutas diárias.

A minha adorada irmã e amiga Kati, agradeço de forma especial, pelo imenso apoio em diversas ocasiões, as quais me fizeram seguir adiante e confiante. És meu maior exemplo de vida! Obrigada minha família por todo amor, apoio, vibrações em forma de orações e paciência diante destes longos anos em que, na maior parte do tempo, minha ausência se fez presente. Amo vocês!

Ao Humberto Todesco pela fundamental ajuda na produção das rações em Jaboticabal e pelas inúmeras vezes em que colaborou de forma valiosa em diversas etapas deste estudo.

Ao estimado Prof. Dr. Claudio Scapinello por todos os ensinamentos e por ter me concedido tão valiosa oportunidade, sobretudo pelo incentivo desde a graduação a prosseguir com meus estudos na área *pet food*.

Ao meu orientador de mestrado e doutorado, Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos pela confiança que depositou em mim desde meu egresso na pós-graduação em 2011. Sem dúvida, considero um enorme privilégio ter recebido sua orientação, pois assim,

valiosas lições aprendi, as quais levarei por toda minha vida. És um exemplo de como é possível exercer com competência e humildade a carreira acadêmica, incentivando aos demais com sua nobre maneira de ser. Muito obrigada por tudo professor Ricardo!

Ao prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, por disponibilizar uma excelente estrutura, viabilizando, meu trabalho a campo. Foram meses valiosos de constante aprendizado em que pude crescer profissionalmente.

Ao prof. Dr. João Carlos Palazzo de Mello por seu generoso gesto em disponibilizar seu laboratório de pesquisa e a Dra. Gisely Lopes e Ma. Larissa Lachi por toda ajuda e apoio no estudo com os taninos.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pelos ensinamentos transmitidos e competência com que administraram suas aulas na pós-graduação.

Aos funcionários e técnicos e aos estagiários do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos da UNESP pela fundamental ajuda nos experimentos e à Dra. Thaila C. Putarovi pela colaboração e grande ajuda.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Denilson dos Santos Vicentin, por toda paciência e atenção.

Aos técnicos do LANA/UEM, Creusa de Azevedo e Osvaldo Tarelho Jr, pelo auxílio nas técnicas de laboratório.

À Fundação Araucária do Paraná pelo fomento à pesquisa e a CAPES pela concessão de bolsa de doutorado.

Às queridas amigas de longa data: Joyce Sato, Bruna Ponciano Neto, Marianne de Alvarenga Boyd, pela amizade verdadeira, pelos momentos de estudo, pelas risadas e desabafos.

Aos amados e fiéis companheiros cães: Ariel, Lilica, Nina, Manu, Bred, Fred, Tobias, Valentim, Thomas, Sivi, Pepe, Coragem, Bruno, Marley, Joaquim, Luigi, Brad e Bola.

BIOGRAFIA

KARLA DOS SANTOS FELSSNER, filha de Carlos Hermano Felssner e Iraci Joana dos Santos, nasceu na cidade de Paranavaí - Paraná, no dia 26 de setembro de 1980.

Em março de 2006, iniciou o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá – Paraná, concluindo-o em dezembro de 2010.

Em março de 2011, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição e Alimentação de Cães e Gatos.

Em março de 2013, defendeu dissertação, na área de Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2013, ingressou pelo mesmo Programa de Pós-Graduação, em nível de Doutorado, na área de Produção Animal, realizando estudos na área de nutrição e alimentação de cães e gatos.

Submeteu-se ao Exame Geral de Qualificação em dezembro de 2015, em no mês de março de 2016, submeteu-se a defesa de Tese de Doutorado.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
I- INTRODUÇÃO GERAL	1
2. Revisão de Literatura	3
2.1 Produção de alimentos para cães.....	3
2.2 Extrusão.....	4
2.3 Mudanças nutricionais durante o processamento por extrusão	6
2.3.1 Proteínas	6
2.3.2 Amido.....	7
2.3.3 Perdas de compostos bioativos na extrusão	7
2.4 Coprodutos na indústria de alimentos para cães	8
2.5 Açaí (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.)	10
2.5.1 Constituintes fitoquímicos	13
2.5.2 Taninos	18
2.6 Atividade antioxidante	22
2.7 Fibras na alimentação de cães	28
II – OBJETIVOS GERAIS	45
III – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SEMENTE DE AÇAÍ (<i>Euterpe Oleracea</i> Mart.) COMO INGREDIENTE EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES	46
RESUMO	46

ABSTRACT	47
1. Introdução	48
2. Material e Métodos	46
2.1 Preparo do Ingrediente	46
2.2 Análises laboratoriais do ingrediente	46
2.3 Dietas experimentais	49
2.4 Estudos <i>in vivo</i>	51
2.4.1 Ensaio de digestibilidade e energia metabolizável.....	52
2.4.2 Mensuração do <i>status</i> oxidativo sérico	54
2.4.3 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).....	54
2.4.4 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) - Método induzido ..	55
2.4.5 Capacidade antioxidante total (TAC).....	55
2.4.7 Análise cromatográfica dos compostos antioxidantes no soro dos animais	56
2.5 Análise estatística.....	57
3. Resultados	58
4. Discussão.....	65
5. Conclusões	73
6. Referências	74
7. Considerações finais.....	78

LISTA DE TABELAS

	Página
I. Revisão de literatura	
Tabela 1. Ranking estadual da produção de açaí (fruto).....	11
Tabela 2. Representação dos maiores constituintes fenólicos isolados do Açaí (<i>Euterpe Oleracea</i> Mart.)	18
Tabela 3. Estrutura das catequinas e procianidinas.	20
II. Características físico-químicas e avaliação nutricional da semente de açaí (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.) como ingrediente em alimentos extrusados para cães	
Tabela 1. Composição de ingredientes e composição química analisada (na matéria seca) das dietas experimentais	50
Tabela 2. Composição química analisada (g/kg) e parâmetros qualitativos da semente de açaí (<i>E. oleracea</i> Mart.)	58
Tabela 3. Consumo, coeficientes de digestibilidade aparente e energia metabolizável dos cães	60
Tabela 4. Características das fezes, e indicadores de fermentação intestinal cães alimentados com níveis crescentes de fibra de açaí na dieta	61
Tabela 5. Concentração sérica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e TBARS-induzido), capacidade antioxidante total (TAC, expresso em Eq de Trolox nmol/L), e tióis totais dos cães nos momentos inicial, 30 e 60 dias.....	62
Tabela 6. Parâmetros do processo de extrusão e características dos extrusados.....	64
Tabela 7. Concentração de taninos (expresso em equivalente grama de ácido tânico/kg de matéria seca) em dietas contendo diferentes níveis de semente de açaí, nas diferentes etapas do processo de extrusão	64

LISTA DE FIGURAS

	Página
I. Revisão de literatura	
Figura 1. Sementes e palmeiras de (a) <i>E. precatoria</i> e (b) <i>E. oleracea</i> e (c) distribuição botânica das duas espécies (Yamaguchi et al., 2015).	11
Figura 2. Taninos típicos: 1- procianidina ou tanino condensado (TC), composta de catequina e epicatequina; 2- tanino hidrolisável (glicose poligaloil), constituído por um núcleo de glucose esterificada com resíduos de ácido gálico. 3- florotaninos (algas) ...	19
II. Características físico-químicas e avaliação nutricional da semente de açai (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.) como ingrediente em alimentos extrusados para cães	
Figura 1. Percentual (%) de descoloração dos extratos etéreo (EE), etanólico (EAL) e aquoso (EAQ) da semente de açai e do padrão BHT nas concentrações de 0,1 mg/mL (BHT-1) e 0,2 mg/mL (BHT-2) após 15 minutos do teste, o que representa o sequestro do radical DPPH	59
Figura 2. Parâmetros oxidativos das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), TBARS-induzido e tióis das amostras de soro de cães.	63
Figura 3. Capacidade antioxidante total das amostras de soro de cães.....	63

I- INTRODUÇÃO GERAL

A utilização de coprodutos industriais na alimentação animal é de fundamental importância, uma vez que os resíduos de uma etapa da cadeia podem ser usados nas etapas seguintes, sem que sejam descartados na natureza, contribuindo com a chamada ecologia nutricional (Gameiro & Silva, 2007). Os ingredientes de origem vegetal, quando processados, geram coprodutos fibrosos que, em geral, são usados na alimentação de ruminantes. No entanto, estes coprodutos não possuem valor agregado quando utilizados desta forma.

O mercado de animais de companhia, semelhante ao mercado de produtos para a nutrição humana, possui esta característica de utilizar coprodutos na alimentação visando seus papéis não somente nutricionais, mas também funcionais. Neste sentido, as fontes de fibra possuem propriedades importantes na nutrição de cães, tais como estímulo à motilidade intestinal, redução da densidade energética do alimento, fermentabilidade intestinal visando prevenir doenças e auxiliar na imunidade, além de melhorarem a qualidade fecal dos animais (Carciofi et al., 2005; Barry et al., 2010; Fahey, 2015).

Considerado um dos alimentos funcionais mais populares da Amazônia e amplamente utilizados no mundo, o açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) tem recebido muita atenção nos últimos anos como uma das novas "superfrutas", em virtude dos benefícios que estão sendo relatados por trabalhos científicos decorrentes dos compostos fenólicos, tais como as antocianinas, presentes neste alimento (Schauss et al., 2006b; Jensen et al., 2008; Mertens-Talcott et al., 2008; Spada et al., 2009; Hogan et al., 2010; Poulouse et al., 2012; Fragoso et al., 2013). Apesar da importância econômica da polpa do açaí, esta representa apenas 10% da massa total do fruto, sendo o restante descartado pela indústria no processo de produção de polpa e, atualmente utilizado como resíduo industrial. No entanto, devido ao seu elevado teor de fibras e propriedades antioxidantes (Rodrigues et al., 2006), este ingrediente torna-se passível de uso pela indústria *pet food*.

Outros compostos fenólicos presentes no açaí são os taninos classificados em duas classes: hidrolisáveis e taninos condensados, e são considerados como tendo ambos os efeitos adversos e benéficos, dependendo da sua concentração e natureza, além de

outros fatores tais como a espécie animal, o estado fisiológico do animal e composição da dieta. A principal desvantagem em relação à presença de taninos está relacionada ao seu efeito antinutricional, causado pelo complexo tanino-proteína, o qual provoca diminuição na digestibilidade e da palatabilidade em decorrência do sabor adstringente. No entanto, esse fator antinutricional é considerado termolábil podendo ser inativado durante o processamento das dietas *pet food*, o qual envolve elevadas temperaturas, umidade e pressão (Butolo, 2010).

Se, por um lado, o tanino apresenta atividades antinutricionais nos alimentos, por outro, atualmente, muitos estudos tem mostrado que, uma vez no intestino, os taninos hidrolisáveis podem ser fermentados por bactérias, liberando compostos com atividade antioxidante, tais como os ácidos elágico e gálico, os quais podem ser absorvidos e atuarem como antioxidante no organismo do animal (Barbehenn & Constabel, 2011). Desta forma, é possível que a semente de açaí, hoje considerada um resíduo industrial, tenha algumas propriedades nutricionais que viabilizem seu uso na nutrição animal.

Considerando o exposto, neste projeto foram avaliadas as propriedades nutricionais e funcionais da semente de açaí como fonte de fibras e antioxidantes para cães. Adicionalmente, avaliou-se o efeito do processo de extrusão sobre as concentrações de taninos nas dietas, visando relacionar tais efeitos com as propriedades nutricionais e funcionais do ingrediente.

2. Revisão de Literatura

2.1 Produção de alimentos para cães

Evidências arqueológicas indicam que o cão foi a primeira espécie animal a ser domesticada e que isso ocorreu no final da última Era Glacial, quando toda a existência humana ainda dependia de caça, e outros meios arcaicos de sobrevivência (Clutton-Brock, 1995). Desde então, os cães demonstraram grande capacidade de assimilar nosso estilo de vida, desempenhando importante papel na vida dos seres humanos.

Segundo dados da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) realizada em 2013 e divulgada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em junho de 2015, existem 52,2 milhões de cães e 22,1 milhões de gatos criados em domicílio no Brasil, representando a segunda maior população mundial. O levantamento demonstrou que os lares brasileiros são constituídos por uma população de cães maior do que de crianças, uma vez que, no mesmo período da pesquisa, havia no país 44,9 milhões de crianças entre um e 14 anos de idade (IBGE, 2015).

O segmento brasileiro de alimentos para animais de companhia manteve um crescimento consistente ao longo dos últimos anos, com produção de 2,20 milhões de toneladas vendidas e faturamento em torno de US\$ 16 a 17 bilhões em 2014 (Euromonitor Internacional, 2014). Projeções apontam que as vendas de *pet food* no Brasil alcançarão US\$ 6,4 bilhões até 2019 (ABINPET, 2014).

Pesquisas recentes revelam que a evolução da população humana apresenta diminuição da natalidade e das famílias tradicionais e aumento do envelhecimento da sociedade (Champion, 2015). Todos esses fatores impactam amplamente a demanda por vínculos emocionais. Consequentemente, o animal de estimação não é visto somente como um animal, mas como um membro da família e pode, até mesmo, ser considerado como uma criança, fenômeno denominado nos últimos anos como “Humanização”. Desse modo, isto reflete em profundo impacto sobre a indústria de ração animal, na condução da comunicação com o proprietário (consumidor) e desenvolvimento de produtos no sentido de um apelo emocional (Champion, 2015). Paralelo a este fenômeno, está a “Premiunização”, considerada uma consequência da nossa sociedade de consumo. O crescimento das famílias não tradicionais sem filhos e altos níveis de renda disponível impulsiona o aumento das despesas *per-capita* animal

de estimação. O aumento na renda dos consumidores resulta em mais renda disponível para gastos com seus animais de estimação. E, finalmente, o crescimento da cultura da celebridade fez com que os mimos aos animais de estimação se tornassem mais socialmente aceitáveis. A consequência disso é que os donos estão dispostos a pagar mais por produtos de valor agregado.

Prazer, saúde e bem-estar, responsabilidade e conveniência são as quatro megatendências que dominam o desenvolvimento do mercado de alimentos para animais de estimação em todo o mundo (Champion, 2015). Em consequência disto, os fabricantes estão procurando novos ingredientes para uma melhor diferenciação de marca. Um número crescente de produtos contendo frutas (principalmente frutas vermelhas com conteúdo antioxidante) e ervas (ginkgo, ginseng, valeriana, camomila, especiarias etc.) estão sendo incluídos como ingredientes da fórmula ou como partículas integrais na preparação.

Em análise dos lançamentos do mercado de alimentos para animais de estimação, a agência Mintel's Global New Products Database (GNPD) forneceu um banco de dados de todos os produtos *pet food* lançados em 53 países. O levantamento revelou que entre 2011 e 2013 a maioria dos produtos exibiam apelações relacionadas com a responsabilidade com o meio ambiente, a manutenção de peso focada em produtos com maiores teores de fibras e apelações relacionadas ao uso de produtos com propriedades funcionais.

Nota-se no mundo uma explosão do número de marcas de dietas comerciais prontas para o consumo, com formulações cada vez mais sofisticadas e específicas. Estabeleceu-se, com isto, elevada competitividade, o que tem levado à segmentação de produtos que apresentam padrões comerciais e nutricionais distintos (Carciofi, 2008). Atualmente, 95% dos alimentos secos destinados a animais em todo o mundo são produzidos com a tecnologia de extrusão (Carciofi & Sá, 2014).

2.2 Extrusão

Extrusão termoplástica é uma das mais importantes tecnologias de processamento de alimentos, que tem sido usado desde meados de 1930 para a produção de uma variedade de alimentos processados como alimentos para bebês, cereais matinais prontos para comer, salgadinhos e outros alimentos com textura (Brennan et al., 2011; Sharma et al., 2012).

O desenvolvimento de novas extrusoras de roscas simples, na década de 50, expandiu sua aplicação na produção de alimentos secos para animais de companhia (Riaz, 2000). Ao longo dos anos, tornou-se o principal método de processamento para as indústrias de alimentos e rações (Brennan et al., 2011). A extrusão é um método de processamento industrial econômico (Alonso et al., 2001) que combina alta pressão, umidade, temperatura moderadamente alta e atrito mecânico, no interior de um tubo. Isso resulta em elevadas temperaturas, promovendo a gelatinização de amidos, desnaturação de proteínas, expansão e reestruturação de componentes nutricionais e a expansão exotérmica do extrusado (Smith, 1975).

O processo de extrusão utiliza um sistema de alimentação, um pré-condicionador, um extrusor e um secador (Riaz, 2000), os quais tendem a modificar a composição e a disponibilidade dos nutrientes em materiais crus (Alonso et al., 2001). A mistura é primeiramente transportada para o pré-condicionador da extrusora, onde recebem líquidos e vapor, responsáveis por aumentar a umidade (que pode variar de 15 a 35%) e temperatura (que pode variar de 64 a 99 °C) dos ingredientes. No pré-condicionador inicia-se o processo de gelatinização do amido e a massa é preparada para ser extrusada. Posteriormente, o material é conduzido ao canhão da extrusora, onde a massa pode alcançar temperaturas e pressões acima de 130°C e 40bars, respectivamente. Este segmento do equipamento é composto por um cilindro com rosca interna, a qual pode ser simples ou dupla.

Para alimentos pets, cerca de 90% das fábricas adotam extrusoras de rosca simples. A rosca é firmemente montada sobre um eixo que promove sua circunvolução, internamente e em contato com camisas cuja configuração geométrica pode aumentar ou diminuir o atrito da massa com esses componentes internos. O movimento da rosca comprime a massa contra uma matriz, fazendo com que esta seja pressurizada, aquecida e derretida, adquirindo consistência semilíquida. Na saída da extrusora o material derretido passa por meio dos orifícios da matriz. Ao ganhar a atmosfera a água se vaporiza e expande a estrutura plástica criada pelo amido e proteínas funcionais fundidos que retém parcialmente o vapor de água, promovendo a expansão e formação da estrutura celular dos extrusados (Sá et al., 2015).

No processo de produção de alimentos secos para cães a extrusão desempenha um papel de grande importância na qualidade final do alimento, principalmente, pelo aumento da digestibilidade de dois grupos de nutrientes: amidos e proteínas. (Lara,

2015). O calor e o atrito facilitam a hidratação do amido e das proteínas, ambos classificados como materiais de formação os quais são transformados e plasticizados com a umidade presente. Além disso, o processo de extrusão desnatura enzimas indesejáveis, inativa alguns fatores antinutricionais (inibidor de tripsina, hemaglutinina (lectina), taninos e fitatos) e esteriliza o produto final (Singh et al., 2007).

2.3 Mudanças nutricionais durante o processamento por extrusão

Desnaturação proteica, gelatinização do amido, reação de Maillard, formação de complexos entre a amilose e lipídios, e entre proteínas e lipídios e perdas de vitaminas, são as principais alterações nutricionais que ocorrem durante a extrusão.

2.3.1 Proteínas

As proteínas são bipolímeros que contém grande quantidade de grupamentos químicos em relação aos polissacarídeos e, por isso, são mais reativos e sofrem muitas alterações durante o processo de extrusão, sendo a mais importante a desnaturação. O desdobramento de uma proteína globular e a perda consecutiva das estruturas secundárias e terciárias constitui a desnaturação (Harper, 1981). As proteínas estão dispostas na matéria-prima em estruturas lineares, secundárias, terciárias ou quaternárias sendo as estruturas lineares de digestão facilitada. Estruturas complexas podem ser desnaturadas em estruturas cada vez mais lineares dependendo da temperatura, fricção e batimento da massa dentro do canhão do extrusor (Lara, 2015).

Variáveis de processamento e a inclusão de proteína foram investigadas por Johnson et al. (1998) em dietas extrusadas para cães, que verificaram menor coeficiente de digestibilidade total dos aminoácidos totais em dietas para cães, contendo farinha de carne e ossos processada à 143 °C, em relação à processada a 129 °C. Por outro lado, as fontes proteicas vegetais apresentam composição mais uniforme, com menor variação entre partidas e fornecedores. No entanto, possuem fatores antinutricionais como inibidores de enzimas, lectinas, tanino, fitato, polissacarídeos não amiláceos, dentre outros, e, quando presentes, podem influenciar negativamente a disponibilidade de seus nutrientes. O tratamento térmico e industrial a que são submetidos, no entanto, pode reduzir e ou mesmo eliminar alguns destes fatores, melhorando significativamente a qualidade destas matérias-primas (Carciofi et al., 2008).

2.3.2 Amido

Durante o processo de extrusão ocorre a gelatinização parcial ou total da partícula de amido em presença de água, aquecimento e tempo de retenção dentro do extrusor (Harper, 1981). O amido sofre mudanças durante o processo devido ao inchamento do grânulo, perda da cristalinidade e birrefringência, acarretando em aumento da viscosidade e solubilização da amilose (Harper, 1994).

Os amidos estão dispostos na matéria-prima dos alimentos em grânulos densos de difícil digestão por cães. Durante o processo de extrusão, o amido presente nestes grânulos pode sofrer diferentes graus de gelatinização, dependendo de fatores extrínsecos ao alimento como a temperatura, umidade, pressão e tempo de exposição às condições do canhão do extrusor e fatores intrínsecos ao alimento como teor de amilose ou amilopectina do grânulo e interação com outros nutrientes e substâncias não nutrientes presentes na própria matéria prima ou na mistura exatamente no momento da extrusão. O processo de extrusão é baseado no conceito da digestão do amido gelatinizado ser mais fácil que a do amido cru (Lara, 2015). Rações extrusadas adequadamente processadas apresentam elevados valores de digestibilidade para o amido, superior a 98% para cães (Carciofi, et al. 2008).

2.3.3 Perdas de compostos bioativos na extrusão

Frutas e vegetais são considerados como importantes fontes de compostos bioativos, no entanto, os grãos também são potenciais fontes de compostos bioativos e ácidos fenólicos, particularmente. A maioria destes compostos é perdida durante o processamento devido à sua sensibilidade para as condições de processamento, tais como a temperatura (Riaz et al., 2009). Os componentes não nutritivos principalmente os polifenóis que possuem propriedades antioxidantes podem sofrer várias alterações, alterando, assim, a sua atividade antioxidante (Sharma et al., 2012).

Diversas variáveis de processo de extrusão podem influenciar a composição dos produtos acabados, incluindo características das matérias-primas, mistura e acondicionamento de matéria-prima, temperatura de extrusão, pressão, velocidade da rosca, teor de umidade, taxa, entrada de energia e propriedades físico-químicas dos extrusados.

Estas condições têm a capacidade de produzir influências positivas ou negativas sobre os compostos bioativos dos extrusados. Vários estudos têm mostrado que o

processamento por extrusão reduz significativamente os compostos bioativos mensuráveis em produtos alimentares. Korus et al. (2007) investigaram o efeito de extrusão no teor de polifenóis e atividade antioxidante do feijão e foi observada uma diminuição significativa no teor de polifenóis e atividade antioxidante. Da mesma forma, Delgado-Licon et al. (2009) observaram redução de polifenóis e atividade antioxidante durante a extrusão de uma mistura de feijão e milho, e tal redução era dependente das condições do processo. Shih et al. (2009) observaram diminuição significativa no β -caroteno e antocianina para duas variedades de batata doce (amarela e laranja) após extrusão.

Alguns estudos mostram redução de até 80,3% no nível de ácido fenólico total após extrusão de kiwicha (*Amaranthus caudatus*) (Brennan et al., 2011). Esta diminuição pode ser devido a descarboxilação dos ácidos fenólicos durante a extrusão. Yagci e Gogus (2009) também observaram que o teor de umidade e a temperatura do canhão extrusor provocam redução no teor de fenólicos totais. Os compostos fenólicos, durante a extrusão, podem sofrer descarboxilação devido à temperatura elevada e alto teor de umidade, podendo promover polimerização de fenóis e taninos levando à redução da atividade antioxidante (Brennan et al., 2011). Ainda Anuonye et al., 2010 observaram redução no conteúdo de tanino de uma mistura de farinha de soja e Acha (*Digitaria exilis*) após extrusão termoplástica a uma temperatura de 150°C no canhão extrusor.

2.4 Coprodutos na indústria de alimentos para cães

À semelhança dos humanos, o foco principal da alimentação de cães e gatos é a saúde e longevidade. No entanto, tendo em vista que o processo produtivo para a alimentação da população mundial gera enorme quantidade de resíduos e subprodutos, sendo importante que estes últimos sejam aproveitados, tendo em vista principalmente, as preocupações ambientais. Além disto, as exigências nutricionais de todas as espécies são baseadas nas suas necessidades em nutrientes essenciais e não de alimentos, ou seja, independente do produto consumido, este deve atender aos requisitos de biodisponibilidade de nutrientes, composição nutricional adequada, aceitação voluntária (palatabilidade razoável) e não apresentar fatores tóxicos e, quando presentes, que estes estejam inativados ou eliminados durante o processamento (Vasconcellos, 2010).

Os coprodutos de origem agroindustrial, que até pouco tempo eram considerados subprodutos ou resíduos da indústria alimentícia, cada vez mais tem seu uso reconhecido para a indústria de *pet food*. Sobre a terminologia, é importante esclarecer a diferença conceitual entre resíduo, subproduto e coproduto e as características que os distinguem. Basicamente resíduo e subproduto são usados para caracterizar substâncias ou materiais gerados secundariamente em um processo de industrialização de produtos agrícolas. O que distingue resíduo de subproduto é a existência ou não de um mercado definido para a sua comercialização, de forma que os que apresentam valor de comercialização definido são chamados de subprodutos e aqueles que não tem potencial mercadológico são chamados de resíduos. Como as duas terminologias passam a ideia de inferioridade ou mesmo a impressão de contaminação, o termo “coproduto” começou a ser adotado há alguns anos pela comunidade científica nacional e internacional, de forma a não denegrir esses ingredientes. Nesse sentido, atualmente o conceito de coproduto tem ganhado força, uma vez que estes produtos podem ser tão importantes industrial e comercialmente, como o produto principal objetivado no processamento (De-Oliveira, 2014).

Também é importante considerar o uso dos coprodutos em termos mais amplos, citando especificamente a questão da produção mais limpa e ecologia industrial que são cada vez mais discutidas. A produção mais limpa e a ecologia industrial em conjunto, buscam por caminhos mais limpos e sustentáveis de produção e consumo, ganhando força como uma estratégia integradora dos processos industriais e sua inserção no ecossistema. Sucintamente, a filosofia da ecologia industrial sugere a modelação de sistemas industriais como os ecológicos, onde muito pouco é descartado ou perdido, o que a torna um potencial guia para a melhoria da sustentabilidade. Desse modo, representa um conjunto de princípios de projetos em que a matéria-prima e rejeitos têm a mesma função para diferentes organismos, propiciando a minimização de desperdícios e a eficiência ambiental (Gameiro & Silva, 2007).

Dessa forma, a utilização de coprodutos na alimentação animal apresenta dois benefícios, os quais são: preservação ambiental e maior número de opções para o nutricionista no momento de formular rações, possibilitando formulação de alimentos por menor custo ou melhores balanceados do ponto de vista de saúde. No entanto, para que isto ocorra é necessário conhecimento técnico-científico sobre a composição

química, valores energéticos, benefícios à saúde e limitações de uso nas diferentes espécies e estágio fisiológico (Vasconcellos, 2010).

A polpa do açaí, apesar da importância econômica, representa apenas 10% da massa total do fruto, sendo o restante descartado pela indústria no processo de produção de polpa e atualmente utilizado como resíduo industrial. Com isso, devido ao seu elevado teor de fibras e possíveis propriedades antioxidantes (Schauss et al., 2010), este ingrediente é passível de uso pela indústria *pet food*. Em virtude disso, a pesquisa com ingredientes é de extrema importância para a área de nutrição de animais de companhia, uma vez que esta área tem uma característica importante para o mercado que é a de agregar valor a ingredientes considerados subprodutos.

2.5 Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)

O açaí é uma palmeira indígena comumente encontrada na bacia amazônica. Densas concentrações dessa palmeira são encontradas em uma área de aproximadamente 11.000.000 hectares dentro das várzeas da bacia, incluindo margens de rios e zonas de montanha (Odendaal & Schauss, 2014).

O gênero *Euterpe* tem cerca de 28 espécies localizadas na América do Sul e Central, e distribuídos por toda a bacia amazônica. As três espécies que ocorrem mais frequentemente são *E. oleracea*, *E. precatoria* e *Euterpe edulis*. No entanto, apenas as duas primeiras espécies são comercialmente utilizadas por seus frutos. A principal diferença entre as duas espécies está relacionada ao tipo de crescimento. *E. precatoria* é nativa do estado do Amazonas, popularmente conhecido como "Açaí-do-amazonas" e é encontrada na Bacia do Rio Amazonas, em uma área de planalto e de planície, mais comumente encontrado ao sul do equador e, especialmente, na Amazônia Ocidental. Por outro lado, *E. oleracea*, popularmente conhecido como "açaí do-pará", é encontrada principalmente na várzea e em solos de floresta alagada do estuário do Rio Amazonas, nos estados brasileiros do Pará, Maranhão, Tocantins, Amapá, e também na Guiana e Venezuela (Yamaguchi et al., 2015).

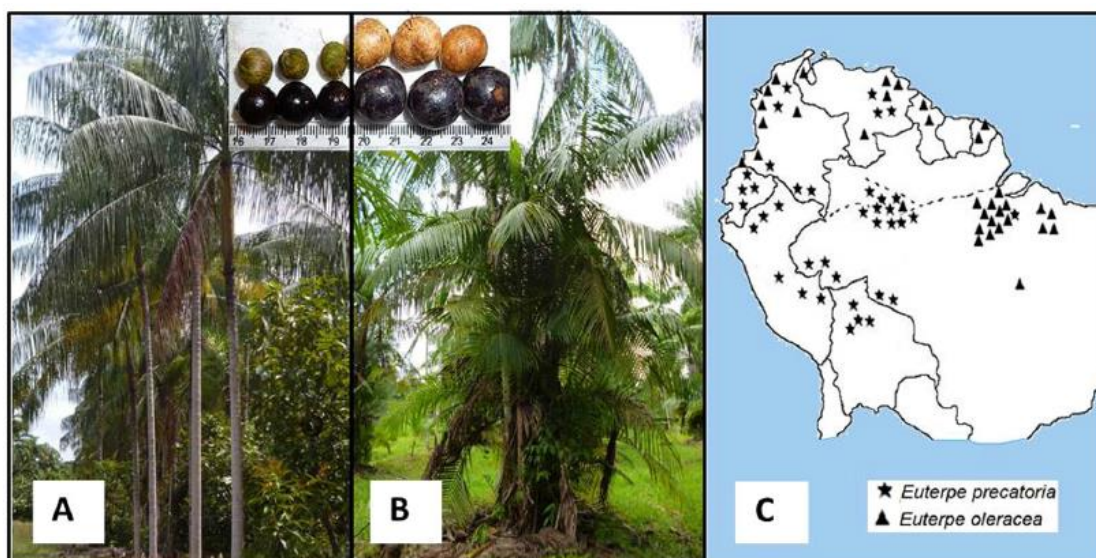


Figura 1. Sementes e palmeiras de (a) *E. precatoria* e (b) *E. oleracea* e (c) distribuição botânica das duas espécies (Yamaguchi et al., 2015).

Segundo Henderson (1995) a *E. oleracea* é uma palmeira multicaule, com até 25 colmos por touceira. Os troncos adultos variam entre 3 e 20 m, e um diâmetro de 9 a 18 cm. Cada caule possui, na sua extremidade, um conjunto de folhas pinadas e arranjo espiral, com 40 a 80 pares de folíolos opostos, ou sub-opostas. Nos primeiros dois terços de cada raquila, as flores estão dispostas em tríades, com cada flor fêmea ladeada por duas flores masculinas. No terceiro terminal das ráquulas, normalmente, predominam as flores masculinas. Em relação às inflorescências, aproximadamente 50,5% das flores são masculinas e 19,5% são femininas. A maturação do fruto é completada em cerca de 175 dias, apresentando uma cor violeta e diâmetro de cerca de 13,5 mm.

A tabela 1 apresenta o ranking dos estados brasileiros em que houve maior extração de açaí em 2013.

Tabela 1. Ranking estadual da produção de açaí (fruto).

Unidade da Federação	Produção (t)	Porcentagem do total
Pará	111.073	55
Amazonas	71.783	35
Maranhão	12.837	6
Acre	3.050	2
Amapá	2.036	1
Rondônia	1.435	1
Total	202.214	100

Fonte: Almudi & Pinheiro (2015).

O estado do Amazonas desponta na segunda colocação com 35% da produção nacional, atrás apenas do estado do Pará, que juntos correspondem a 90% da produção nacional (Almudi & Pinheiro 2015). Quando somados, a produção de todos os estados produtores brasileiros a produção de açaí em 2011 foi de aproximadamente 215,3 mil toneladas, com aumento de 73,1% em relação ao ano de 2010, gerando um movimento monetário estimado de US\$ 700.000 (IBGE, 2013).

Estima-se que cerca de 111 mil toneladas de frutas sejam processadas comercialmente a cada ano na cidade de Belém (PA), produzindo aproximadamente 110 mil toneladas de sementes de açaí. Cada fruto de açaí contém uma semente castanha clara, responsável por cerca de 90% do diâmetro do fruto (1-2 cm) e até 90% do seu peso (0,7-1,9 g). As sementes são cobertas por uma camada de fibras ásperas sob uma fina polpa comestível de cor violeta. Fibras, tais como celulose e hemicelulose, compõem cerca de 63 a 81% do peso das sementes, seguido por cerca de 5-6% de proteínas, 2-6% de sais minerais, e 2-3% de lipídeos (Rodrigues et al., 2006).

A separação das sementes da polpa consiste nas seguintes etapas: recebimento dos frutos; seleção manual; pré-lavagem; lavagem (com cloro); remoção do cloro (aspersão com água potável); amolecimento ou maceração; despulpamento e refino (centrifugação) (Rodrigues et al., 2006).

Considerado um dos alimentos funcionais mais populares da Amazônia, e amplamente utilizados no mundo, a polpa de açaí tem recebido muita atenção nos últimos anos como uma das novas "superfrutas" em virtude dos benefícios que estão sendo relatados. Benefícios para a saúde estão associados com a sua composição química, em especial a presença de substâncias bioativas, tais como compostos fenólicos, flavonoides e antocianidinas. O açaí tem sido objeto de estudos para a indústria alimentar e também para as indústrias cosmética e farmacêutica (Yamaguchi et al., 2015).

Recentemente, cientistas no Brasil descobriram que a semente do açaí possui propriedades funcionais que podem transformá-la em um produto de valor agregado como o seu próprio produto nutracêutico (Odendaal & Schauss, 2014). Rodrigues et al. (2006) identificaram diversos oligômeros de procianidina (dímero, trímero, tetrâmero e dois pentâmeros), juntamente com o ácido protocatecoico, um ácido di-hidroxibenzoico fenólico, e (-)-epicatequina, no extrato da semente do açaí. O teor de polifenóis variaram de 683 mg/L para 2.532 mg/L no extrato de semente de açaí (Odendaal &

Schauss, 2014). A partir desses resultados os autores concluíram que o extrato das sementes de açaí exibe capacidade antioxidante, parcialmente devido ao conteúdo de procianidinas oligoméricas. A concentração (18 mg/L) necessária para 50% de inibição contra os radicais peroxil está na mesma ordem de grandeza que a encontrada para o Trolox (21 mg/L). Ainda, segundo os autores, desde que a segurança toxicológica do extrato da semente de açaí seja confirmada por estudos adicionais, a semente do açaí pode ser utilizada como uma fonte natural, para a preparação de um novo antioxidante com função de prolongar a vida de prateleira de alimentos. Além disso, Odendaal & Schaus (2014) também relataram elevada atividade antioxidante do extrato da semente de açaí contra a oxidação do ácido linoleico, e capacidade de eliminação de radicais DPPH e ânion superóxido.

2.5.1 Constituintes fitoquímicos

Fitoquímicos podem ser definidos, no sentido mais estrito, como produtos químicos produzidos por plantas. No entanto, o termo é geralmente utilizado para descrever os produtos químicos a partir de plantas que podem afetar a saúde, mas não são nutrientes essenciais (Gharras, 2009).

Dentro desse contexto, os compostos fenólicos são produtos naturais do metabolismo secundário das plantas. Apresentam diferentes funções na ecologia, fisiologia e bioquímica das plantas, incluindo a formação dos pigmentos em flores e frutos, e contribui para a tolerância ao estresse biótico e abiótico e na fertilidade do pólen (Vallespí, 2013).

Os compostos essenciais para a sobrevivência e bem-estar dos organismos são chamados metabólitos primários. A maioria dos organismos também utilizam outros caminhos metabólicos, produzindo compostos que usualmente não possuem nenhuma utilidade aparente, e são denominados produtos naturais ou metabólitos secundários, e seus caminhos de síntese e utilização constituem o metabolismo secundário. Os metabólitos secundários são uma resposta à adaptação dos organismos a sobrevivência e os processos biossintéticos secundários se ativam em etapas particulares do crescimento e desenvolvimento, ou durante períodos de estresse devido a limitações nutricionais ou ataques microbianos. Os metabólitos secundários não são unicamente produtos finais do metabolismo, alguns são vitais para a sobrevivência de diversas espécies (Vallespí, 2013).

Compostos fenólicos estão entre os fitoquímicos mais estudados nas plantas, em virtude das suas propriedades em frutas, sucos e bebidas fermentadas, tais como cor, escurecimento, amargor e adstringência (Ananga et al., 2013). Os polifenóis estão amplamente distribuídos na dieta humana e têm demonstrado desempenhar importante papel na saúde. Estes compostos estão entre os produtos naturais nas plantas, que suprimem a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), tornando-o potente antioxidante e, por isso, a alta correlação entre seu consumo e a redução nos riscos de doenças coronárias têm sido observada em humanos. Estes compostos fenólicos podem ser classificados em diferentes grupos, conforme a função do número de anéis fenólicos que eles contêm e dos elementos estruturais que se ligam a estes anéis (El-Gharras et al., 2009). São divididos em várias classes, ou seja, ácidos fenólicos (ácidos hidroxicinâmicos e ácidos hidroxibenzoicos), flavonoides (flavonois, flavanonas, isoflavonas, proantocianidinas) estilbenos, e lignanas, que são distribuídos em plantas e alimentos de origem vegetal (Manach et al., 2004, Manach et al., 2005).

Recentemente Ananga et al. (2013) descreveram um breve histórico em relação à definição dos polifenóis, sendo que a importância dessa definição está relacionada com a diferenciação dos diversos compostos e suas estruturas químicas, os quais fazem parte da ampla família dos polifenóis. De acordo com estes autores, os polifenóis constituem o grupo mais abundante, amplamente distribuído e complexo do metabolismo secundário das plantas. Conhecidos como “taninos vegetais” essas substância têm sido associada principalmente a sua habilidade em curtir peles de animais em couro (o termo “tanino” vem da palavra francesa “tan”, o qual é utilizado para descrever o extrato em pó da casca de carvalho utilizado na indústria do couro). Com o avanço da química, durante a segunda metade do século XX, White (1957) formulou a primeira definição de taninos como Polifenóis: “Todos os taninos vegetais são polifenóis, mas eles constituem somente a proporção dos polifenóis (por exemplo, fenóis polihídricos) presente nas plantas”. Conforme White, os polifenóis devem apresentar massas moleculares entre 500 e 3.000 Da e um grande número de grupos fenólicos, permitindo a formação de estruturas de ligações cruzadas com o colágeno. Swain & Bate Smith modificaram esta definição, e de acordo com tais autores, os polifenóis são “Compostos fenólicos solúveis em água tendo pesos moleculares entre 500 e 3.000 Da e, além de fornecer as reações fenólicas normais, têm propriedades especiais como a habilidade em precipitar alcaloides, gelatina e outras proteínas.

Décadas mais tarde, Haslam expandiu esta definição ao sugerir uma faixa de peso molecular de 500 a 3.000-4.000 Da focando a atenção sobre sua estrutura e caráter polifenólico como: Polifenóis possuem de 12 a 16 grupos fenólicos e entre 5 e 7 anéis aromáticos por 1000 de massa molecular relativa. É evidente que para ser classificado como polifenóis os compostos fenólicos devem possuir mais de uma anel areno, substituído pelo menos um ou mais grupos hidroxil, os quais restringe significativamente as estruturas por ser abrangida pela definição inicial. Seguindo a definição ampliada por Swain e Bate-Smith, Haslam reconheceu somente três classes de polifenóis naturais: 1) proantocianidinas condensados; 2) ésteres de galoil e hexahidroxidifenoil e seus derivados; e 3) florotaninos (identificado somente em algas marrom avermelhadas). Segundo esses entendimentos, flavonoides, oligômeros derivados de flavonoides e polihidroxiestilbenos não podem ser classificados como polifenóis por causa de seu baixo peso molecular e ausência de ação de curtimento. No entanto, do ponto de vista químico, estes compostos possuem mais de uma fração fenólica e podem sofrer polimerização adicional para estruturas mais complexas com propriedades semelhantes ao tanino. A definição também exclui algumas proantocianidinas isoladas com grandes massas moleculares acima de 20.000 Da com características de promover curtimento.

Além disso, nem todas as substâncias que possuem característica de curtimento podem ser classificadas como taninos e muitos compostos, sem nenhuma propriedade de curtimento, mas que apresentam características fenólicas estruturais semelhantes aos taninos tem sido inseridos na classificação de taninos. Para distinguir tanino de outros compostos fenólicos derivados de plantas, Khanbabaee & Ree (2001) introduziram uma definição modificada: “taninos são metabólitos fenólicos secundários das plantas superiores, e são ambos os ésteres galoil e seus derivados, na qual a unidade galoil, ou seus derivados são ligados a uma variedade de poliol-catequina e núcleos triterpenoides (galotaninos, elagitaninos e taninos complexos), ou eles são proantocianidinas oligoméricas e poliméricas que podem possuir diferentes padrões de acoplamento e substituição interflavanil (taninos condensados).

Os taninos são classificados como uma parte de um grande grupo de polifenóis nas plantas, mas a definição também permite que alguns compostos com estrutura triterpenoide (tanino complexo) serem classificados como taninos. Muitas classes de metabólitos secundários, incluindo terpenoides e alcaloides, podem conter uma ou mais

unidades fenólicas ligadas, mas isso não significava que podem ser classificados como polifenóis.

Para diferenciar os polifenóis de alguns terpenoides e alcaloides derivados da tirosina, Quindeau et al. (2011) propuseram uma nova e revisada definição: “o termo polifenol deve ser usado para definir os derivados chiquimato e/ou pelas vias de síntese dos policétidos, apresentando mais de um anel fenólico e sendo desprovido de qualquer grupo funcional nitrogenado em sua estrutura. Estritamente, estruturas fenólicas não-monoméricas podem ser classificadas como polifenóis, mas a origem biossintética dos polifenóis tem sido claramente indicada como produtos derivados de fenilpropanoides chiquimato derivados e/ou pelas vias de síntese dos policétidos.

Por fim, Ananga et al. (2013) relatam que o grande número e ampla diversidade das estruturas químicas tornam a classificação dos polifenóis confusa, mesmo entre os cientistas. Estas definições são importantes e relevantes no contexto de que os metabólitos das plantas podem ser biossintetizados, seja por meio da manipulação e/ou da engenharia genética, por meio de suas vias metabólicas.

Os imensos benefícios à saúde, assim como o uso de muitos compostos fenólicos como agentes anti-infecciosos contra doenças em humanos, têm intensificado a necessidade de contínuo fornecimento desses raros e caros metabólitos secundários.

Quimicamente, as bagas de fruta a partir de *E. oleracea* são caracterizadas pela presença dessas substâncias bioativas. Cerca de 90 substâncias foram descritas, das quais cerca de 31% consiste em flavonoides, seguido de compostos fenólicos (23%), lignoides (11%) e antocianinas (9%). Outras classes incluem ácidos graxos, quinonas, terpenos e norisoprenóides (Yamaguchi et al., 2015). Ainda, de acordo com Schauss et al., (2006a), polímeros de antocianinas, proantocianidinas e outros flavonoides são os fitoquímicos predominantes no açaí.

Estudo desenvolvido em ratos demonstrou que as antocianinas do açaí contribuíram com a atividade antiproliferativa de células C6 tumorais do tecido cerebral (Hogan et al., 2010) e apresentou atividade antioxidante no tecido cerebral (córtex, cerebelo e hipocampo) de ratos (Spada et al., 2009). Demais estudos têm demonstrado que os flavonoides apresentam elevada atividade antioxidante *in vitro*, assim como propriedades anti-inflamatórias em humanos (Leong et al, 2010). Em virtude da alta concentração de antocianinas na polpa de açaí, Gouvêa et al. (2012) utilizaram amostras liofilizadas para obtenção de padrões isolados de cianidina-3-*O*-glicosídeo e cianidina-

3-*O*-rutinosídeo. As antocianinas são glicosídeos de antocianidinas, pertencentes à classe dos flavonoides, e apresentam, o íon 4-*hidroxiflavilium* em seu núcleo básico. Eles têm sido caracterizados como os compostos responsáveis pela determinação da cor de uma variedade de vegetais, flores e frutos, incluindo as cores vermelho, azul e púrpura, e também como o responsável por exercer a atividade antioxidante do açaí (Gouvêa et al., 2012; Yamaguchi et al., 2015).

Os flavonoides representam grande família de metabolitos secundários e cerca de 6.000 estruturas foram identificados em plantas. A diversidade nas suas estruturas químicas contribui para a sua vasta gama de atividades fisiológicas e biológicas (Georgiev et al., 2014). Os diferentes flavonoides têm diversas funções biológicas, incluindo a proteção contra a radiação ultravioleta (UV) e fitopatógenos, sinalização durante a nodulação, a fertilidade masculina, do transporte de auxina, bem como a coloração de flores como um sinal visual que atrai polinizadores. Em relação ao perfil fenólico, na caracterização descrita por Del Pozo-Insfran et al. (2004), os ácidos fenólicos predominantes em ordem decrescente na polpa de açaí foram: ácido ferúlico, gálico, protocatecuico, ácidos *p*-cumárico e ácido elágico.

Tais compostos foram identificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Tabela 2). Este perfil de compostos fenólicos foi, posteriormente, confirmado por outros estudos e, além disso, outras substâncias (cafeico, benzoico, siringico, ácidos clorogênicos e resveratrol) também foram descritas (Odendaal & Schauss (2014).

Tabela 2. Representação dos maiores constituintes fenólicos isolados do Açaí (*Euterpe Oleracea* Mart.).

Composto	Parte da planta	Resultado	Unidade
<i>Antocianinas</i>			
Cianidina-3-glucoside	Polpa <i>in natura</i>	1040	mg/L
Cianidina-3-rutinosie	Polpa <i>in natura</i>	1256	mg/kg
Cianidina-3-sambubioside	Polpa liofilizada	0,04	mg/g
Pelargonidin-3-glucoside	Polpa <i>in natura</i>	74,4	mg/L
Peonidin-3-glucoside	Polpa <i>in natura</i>	0,08	mg/100g
Peonidin-3-rutinoside	Polpa <i>in natura</i>	44,0	mg/kg
<i>Flavonas</i>			
Homo-orientin	Polpa <i>in natura</i>	34,8	mg/kg
Orientina	Polpa <i>in natura</i>	53,1	mg/kg
<i>Flavan-3-ols (catequinas)</i>			
(+)-Catequina	Polpa <i>in natura</i>	60,8	mg/L
(-)-Epicatequina	Polpa <i>in natura</i>	129	mg/L
<i>Flavanonas</i>			
Taxifolin-3-ramosídeo	Polpa <i>in natura</i>	30,3	mg/100g
<i>Proantocianidinas</i>			
Monômeros – Decâmeros	Polpa liofilizada	3,61	mg/g
<i>Ácidos Fenólicos</i>			
Ácido p - cumárico	Polpa <i>in natura</i>	17,1	mg/L
Ácido ferúlico	Polpa <i>in natura</i>	212	mg/L
Ácido gálico	Polpa <i>in natura</i>	64,5	mg/L
Ácido p-hidroxibenzoico	Polpa <i>in natura</i>	80,5	mg/L
Ácido elágico	Polpa <i>in natura</i>	55,4	mg/L
Ácido vanílico	Polpa <i>in natura</i>	33,2	mg/L
<i>Carotenóides</i>			
Luteína	Polpa <i>in natura</i>	0,15	mg/100g
β-Caroteno	Polpa <i>in natura</i>	0,24	mg/100g

Adaptado de Odendaal & Schauss (2014).

2.5.2 Taninos

Os taninos têm sido estudados por muitas décadas, e os avanços significativos na elucidação dos seus constituintes e conformações, bem como no amplo reconhecimento das suas atividades biológicas, farmacológicas e fisiológicas fascinantes conduziram a atenção cada vez maior a estes metabólitos (Kolodziej & Hagerman, 2011).

Como descrito anteriormente, os taninos possuem pesos moleculares relativamente elevados e uma complexidade variável. Seus vários grupos hidroxil fenólicos levam à formação de complexos com proteínas e, principalmente, a um menor grau, com íons

metálicos, aminoácidos e polissacarídeos. Existem duas classes principais de taninos, os hidrolisáveis (THs) e condensados (TCs), também conhecidos como proantocianidinas (Hagerman e Butler, 1991). Entre os THs estão glicoses galoil (GGs) e elagitaninos (ETs) (Fig.2).

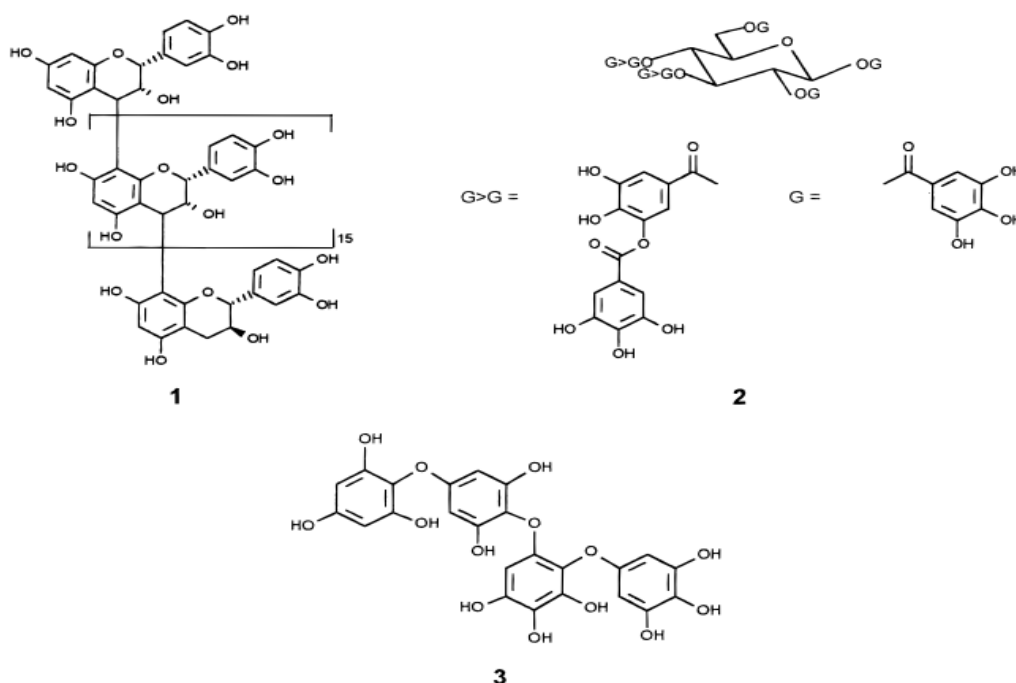


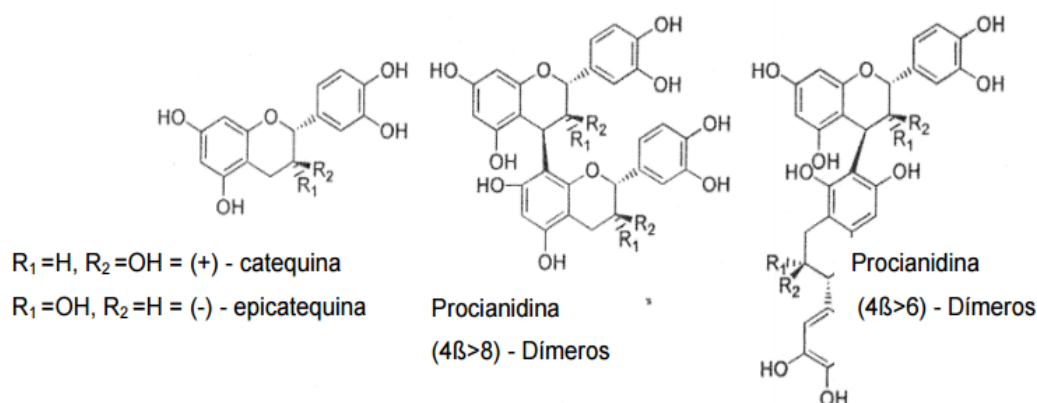
Figura 2. Taninos típicos: 1- procianidina ou tanino condensado (TC), composta de catequina e epicatequina; 2- tanino hidrolisável (glicose poligaloil), constituído por um núcleo de glicose esterificada com resíduos de ácido gálico. 3- florotaninos (algas)

(Hagerman et al., 1998).

As estruturas destes compostos contêm um núcleo de polioli (geralmente glicose), que é esterificado com grupos galoil. Os GGs podem ser considerados galotaninos (GTs), quando os seus pesos moleculares são suficientemente grandes para causar a precipitação da proteína *in vitro* (por exemplo, glicose pentagaloil). Os elagitaninos são também sintetizadas por plantas de GGs, pelo acoplamento oxidativo de grupos galoil (Barbehenn & Constabek, 2011). Dentro dos TCs existem vários sub-tipos que diferem na estereoquímica e padrão de hidroxilação dos grupos constitutivos dos flavonoides. Os TCs são oligômeros ou polímeros de dois ou mais flavan-3-ols, geralmente catequina e epicatequina, e frequentemente a galocatequina trihidroxilada correspondente.

Os taninos hidrolisáveis são um grande grupo de polifenóis solúveis em água, com uma distribuição taxonômica muito restrita. De acordo com sua estrutura química, e produtos fenólicos liberados após hidrólise (ácidos gálico e elágico), os taninos

hidrolisáveis são geralmente subdivididos em galotaninos e elagitaninos, respectivamente (Ananga et al., 2013). As procianidinas são uma classe de compostos polifenólicos encontradas em várias espécies de plantas e podem estar presentes como monômeros individuais ou, em alguns casos, como unidades oligoméricas. No entanto, algumas espécies de ligações (do tipo A) consistem de duas ligações C-C (Barbehenn & Constabek, 2011). Polímeros de TC às vezes são classificados de acordo com a proporção de monômeros cis vs. trans, refletindo a proporção de epicatequina para catequina.



As procianidinas são catequinas oligoméricas ligadas covalentemente entre si, sendo que os dímeros e trímeros são os mais comuns, mas o grau de oligomerização pode ser maior. Estão em altas concentrações no cacau, uvas/vinho, e outras frutas como a amora, mirtilo, ameixa, cereja e açaí (Williamson & Manach, 2005). Ocorrem pela associação de várias unidades monoméricas (+)-catequinas e (-)-epicatequinas: 2 a 5 unidades para catequinas oligoméricas; e acima de 5 unidades para catequinas poliméricas. As procianidinas diferem na posição e na configuração de suas ligações monoméricas. As estruturas mais bem conhecidas são os dímeros de procianidinas B1, B2, B3 e B4; e os trímeros, C1 e C2 (Tabela.3).

Tabela 3. Estrutura das catequinas e procianidinas.

Nome	Estrutura
Procianidina B1	(-)-epicatequina-(4-8)-(+) - catequina
Procianidina B2	(-)-epicatequina-(4-8)-(-) - epicatequina
Procianidina B3	(+) - catequina-(4-8)-(+) - catequina
Procianidina B4	(+) - catequina-(4-8)-(-) - epicatequina
Procianidina C1	(-) - epicatequina-(4-8)-(-) - epicatequina-(4-8)-(-) - epicatequina
Procianidina C2	(-) - epicatequina-(4-8)-(-) - epicatequina-(4-8)-(+) - catequina

Adaptado de Bravo (1998).

O comprimento dos polímeros varia tipicamente de um grau de polimerização de dois a mais de 20, e pode variar mesmo dentro do mesmo gênero. No entanto, as diferenças de ligações e composição de subunidades também contribuem para a diversidade das estruturas dos TCs. Por fim, outros tipos de compostos fenólicos podem ser conjugados com TCs oligoméricos, tais como ácido gálico (Fig 5). Outros compostos fenólicos, como o, p-cumarato, também pode ligar-se à TCs nas camadas epidérmicas ou subepidérmicas de folhas e frutos. Em contraste, os THs são conhecidos por estarem concentrados na parede da célula, por exemplo, nas células de mesófilo, em carvalho (*Quercus robur*.) (Barbehenn & Constabek, 2011).

Algumas plantas sintetizam taninos apenas no revestimento da semente, onde eles são incorporados num polímero complexo incluindo outros flavonoides com função de proteção da semente contra dessecação e outros estresses abióticos (Lepiniec et al., 2006). Em ruminantes, galotaninos e elagitaninos presentes em folhas jovens de carvalho (*Quercus robur*) são hidrolisados no rúmen para compostos fenólicos, tais como o ácido gálico (AG) e os metabolitos pirogalol e resorcinol, ácido elágico (AE) e várias outras moléculas menores. Para estes animais, estes compostos podem ser tóxicos (Díez et al., 2008). Devido à sua carga negativa e/ou elevado peso molecular, acredita-se que os taninos e as suas semiquinonas e quinonas permanecem no lúmen intestinal.

Produtos de baixo peso molecular da hidrólise dos taninos são muito mais susceptíveis de serem absorvidos nos tecidos do intestino delgado do que os taninos. Taninos são frequentemente associados por atuarem como antioxidantes no intestino de vertebrados (Hagerman et al, 1998). No entanto, estudos mostrando que a qualidade nutricional das proteínas dietéticas pode ser prejudicada por taninos ou radicais semiquinona sugerem que são necessários mais estudos *in vivo* (Hagerman et al., 2003; Halliwell et al., 2000).

O metabolismo das procianidinas ainda não está completamente elucidado. Após o consumo de 2g de extrato de semente de uva, com alto teor de procianidinas, observou-se que, as concentrações plasmáticas de procianidina B1, em seres humanos, atingiram somente 10 nmol/L. Após o consumo de 0,375g de cacau/Kg de peso corporal a concentração no plasma atingiu somente 41 nmol/L. Em estudo com ratos, quando administrado na forma purificada, dímeros de procianidina B3 não foram encontrados no plasma. Contudo, estudo em humanos que ingeriram alimentos ricos em procianidina, mostrou efeitos biológicos que podem ser atribuídos a metabólitos ainda

não identificados, ou os efeitos são atribuídos a outro componente, como as catequinas monoméricas (ou ambos) (Williamson & Manach, 2005).

Os dados de biodisponibilidade dos polifenóis em alguns estudos têm considerado somente a presença dos polifenóis intactos no sangue, ou seja, o composto ingerido ou seus conjugados. A extensa microbiota do cólon também desempenha um papel crítico no metabolismo dos polifenóis. Após a desconjugação catalisada pela enzima microbiana de qualquer conjugado de polifenóis que alcançam o cólon, existem duas possíveis vias disponíveis, isto inclui a absorção do polifenol intacto através do epitélio do cólon e a passagem para a corrente sanguínea (na forma livre ou conjugada) ou pela degradação da estrutura original do polifenol em metabólitos. Muitos dos diferentes polifenóis são quebrados em compostos fenólicos simples que são comuns a muitos polifenóis diferentes. Além disso, alguns dos metabólitos microbianos podem apresentar efeitos únicos. Por exemplo, a daidzeína, uma isoflavona, é convertida para equol (composto isolado pela primeira vez em 1932 por Marrian & Haslewood na urina de éguas prenhas, recebendo esta denominação devido a sua origem equina) pela microbiota intestinal em 30-40% da população e absorvido dessa forma para a corrente sanguínea. Indivíduos produtores de equol demonstram melhores efeitos sobre alguns biomarcadores, tais como a densidade mineral óssea, após o consumo de isoflavonas em comparação com indivíduos não produtores. Este é um exemplo em que a microbiota ativa um polifenol para um composto ativo mais potente. Embora estudos de intervenção para demonstrar os efeitos das procianidinas, a identidade do componente ativo (ou componentes) ainda não esteja clara o suficiente. Embora as procianidinas intactas promovam efeitos biológicos, geralmente são pouco absorvidos desta forma. Alguns metabólitos de baixo peso molecular foram identificados em humanos após o consumo de procianidinas de cacau, mas as atividades biológicas destes metabólitos não são conhecidas e continuam sendo investigados (Williamson & Manach, 2005).

2.6 Atividade antioxidante

Os radicais livres foram descritos pela primeira vez por Moses Gomberg há mais de um século (Lushchak, 2014). Pesquisas envolvendo compostos antioxidantes, oriundos de fontes naturais têm sido desenvolvidas devido ao seu potencial na prevenção do desencadeamento das reações oxidativas no organismo, que muitas vezes podem levar ao desenvolvimento de doenças (Halliwell et al., 1995). Substâncias

fenólicas são reconhecidamente detentoras de pronunciada atividade antioxidante, atuando como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais, despertando interesse sobre a possibilidade de serem utilizados em várias doenças degenerativas, como envelhecimento prematuro, processos inflamatórios, cicatrização, câncer, entre outras (Haslam et al., 1998). O perfil fitoquímico dos polifenóis presentes no açaí inclui inúmeros flavonoides, incluindo as antocianinas, as quais é atribuída elevada capacidade antioxidante do fruto.

Desse modo, estes compostos podem ser divididos em três principais classes de antioxidantes naturais segundo Afzal & Armstrong (1998b) como:

- *Antioxidantes solúveis em água*: estes incluem ácido ascórbico, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, flavonoides e outros glicosídeos fenólicos. O ácido ascórbico (vitamina C) é o antioxidante mais comum presentes nos citrinos. Nas plantas, esta vitamina é sintetizada a partir da glucose, no entanto, devido à ausência de uma enzima, ela não pode ser sintetizada por humanos. Além da sua atividade antioxidante, é essencial para a prevenção de gengivite e escorbuto. Glicosídeos de compostos fenólicos, tais como os flavonoides, apresentam diversas atividades terapêuticas, incluindo o aumento do sistema imune, citotóxica, e antioxidantes. Além disso, glicosídeos de compostos fenólicos como a filoquinona, presentes em muitas plantas comuns, pode ser valiosa para eliminação de radicais livres.

- *Antioxidantes solúveis em gordura*: antioxidantes solúveis em gordura incluem as vitaminas A e E; carotenóides, incluindo β -caroteno; licopeno; e muitos compostos quinonóide (filoquinonas). Muitos destes compostos contêm hidrocarbonetos de cadeia longa com ligações duplas conjugadas e anéis β -ionona. A vitamina A está presente em duas formas: retinol e retinal, e ambos são considerados bons antioxidantes. A vitamina A, além de sua atividade antioxidante, é também essencial para o crescimento e desenvolvimento, especialmente em crianças. A vitamina E está presente em quatro formas isoméricas chamadas α , β , γ , e δ -tocoferóis. A forma α tocoferol é a mais potente de todos os outros tocoferóis presentes nas plantas.

- metais antioxidante: selênio também é encontrado em muitas plantas como a cebola e alho.

O stress oxidativo tem sido definido como um distúrbio do estado de equilíbrio dos sistemas pró-oxidante/antioxidantes em células intactas, resultando em danos oxidativos

de lípidos, proteínas, hidratos de carbono, e ácidos nucleicos, contribui para a disfunção patológica no organismo (Lushchak, 2014).

O estresse oxidativo por meio do desequilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes tem sido associado com várias doenças (Odendaal & Schauss, 2014). Dentre os nutraceuticos, os antioxidantes têm ganhado destaque recentemente, uma vez que a atividade oxidativa dos sistemas orgânicos, normal se faz necessária para manter a homeostase, contribui para o desenvolvimento de uma série de doenças crônicas (Stowe et al., 2006). Para prevenir os danos oxidativos, os antioxidantes são biomoléculas que atuam na redução da formação de espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio formadas no organismo ou no sequestro destas substâncias antes que seja causado algum dano, especialmente ao DNA (Lushchak, 2014). Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos específicos a essa função.

Antioxidantes e radicais livres derivam sua terminologia a partir do campo da eletroquímica. A perda de elétrons a partir de uma substância é chamada de oxidação, e o ganho de elétrons é referido como redução. Uma terminologia alternativa é chamar uma substância que doa elétrons (que está sendo oxidada) de outra substância um agente redutor e o aceptor de elétrons (que está sendo reduzida), um agente oxidante. O agente oxidante está sempre sendo reduzido numa reação, e o agente redutor está sempre sendo oxidado. Quando a oxidação e a redução ocorrem na mesma equação química entre duas substâncias, é denominada uma *reação redox* (Zicker et al., 2006). Segundo Halliwell (2002) um antioxidante é uma substância que, quando presente em baixas concentrações em comparação com as de um substrato oxidável, atrasa significativamente ou evita a oxidação do referido substrato em atender esta função antioxidante e pode preservar a integridade ou a função estrutural de uma molécula biológica, e, portanto, preservar a sua função na célula.

Os radicais livres são constantemente formados como subprodutos do metabolismo aeróbio no corpo humano e podem ser definidos como moléculas ou fragmentos moleculares que contenham um ou mais elétrons não emparelhados nos orbitais atômicos ou moleculares (Halliwell & Gutteridge, 1999). Este elétron não emparelhado confere considerável grau de reatividade à molécula. Uma vez que esta molécula reativa procura outro elétron para emparelhar, esta inicia uma reação em cadeia descontrolada que pode danificar a função natural da célula viva, e a

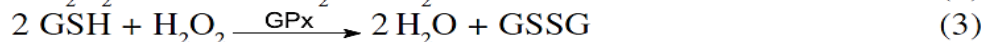
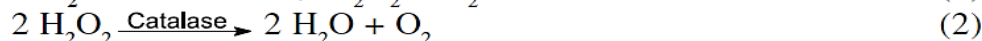
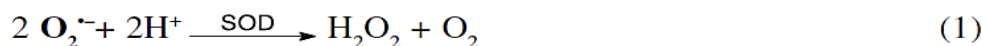
superprodução desenfreada de radicais livres pode levar a consequências indesejáveis (Afzal & Armstrong, 1998).

O termo espécies oxigênio reativas (ROS) se refere aos radicais livres ou espécies de oxigênio ativas, tais como radical livre superóxido (adição de um elétron ao oxigênio), radical hidroxil, peróxido de hidrogênio (que não é um radical livre, mas um metabólito do oxigênio extremamente deletério) e oxigênio “*singlet*”, que podem causar injúria oxidativa em membranas lipídicas, proteínas trans-membranas e carboidratos, danificando ácidos nucléicos e despolimerizando ácidos hialurônicos (Ochsendorf, 1999; Valko et al., 2007).

A maioria destas reações ocorre nas mitocôndrias, a qual é considerada como sendo o depósito de energia da célula viva. A cadeia transportadora de elétrons mitocondrial é a principal fonte de ATP na célula de mamífero e, assim, é essencial para a vida. A oxidação de lipídios é um exemplo típico de reação envolvendo radicais livres e a velocidade da reação de oxidação depende do grau de insaturação na molécula do ácido graxo, assim, quanto maior o grau de insaturação, maior será a susceptibilidade à oxidação. Desta maneira, os ácidos graxos insaturados podem ser atacados quimicamente pelo radical livre, fazendo com que ocorra reação propagadora de auto-oxidação, na formação de novos radicais livres (Afzal et al., 1998a). Sendo as membranas biológicas ricas em ácidos graxos poli-insaturados estas se tornam altamente sensíveis às ROS (Zicker et al., 2006).

O balanço entre produção e eliminação de ROS é mantido graças à atividade dos antioxidantes, que podem ser produzidos endógena ou exogenamente. A exposição a radicais livres, a partir de uma variedade de fontes, levou organismos a desenvolver uma série de mecanismos de defesa (Valko et al., 2007). A análise do balanço redox pode ser feita em soro, e/ou plasma e/ou eritrócitos. O sistema antioxidante sanguíneo é classificado em enzimático e não enzimático. O enzimático é representado, principalmente, pelas enzimas antioxidantes: a superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do ânion radical superóxido ($O_2\bullet$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 (Equação 1), a catalase (CAT) que atua na decomposição de H_2O_2 a O_2 e H_2O (Equação 2) e a glutatona peroxidase (GPx), que atua sobre peróxidos em geral,

com utilização da glutathione como cofator (Equação 3) (Vasconcelos et al., 2007).



O sistema antioxidante não enzimático é formado por muitas substâncias, como a glutathione (GSH), principal composto antioxidante intracelular, tocoferóis, ascorbato, ácido úrico e β -caroteno, além de proteínas de transporte de metais de transição, como a transferrina (transporte do ferro) e ceruloplasmina (transporte do cobre) e oxidação do ferro para ser captado pela transferrina. Os metais de transição são potenciais formadores de espécies reativas por meio da reação com outros compostos, uma vez que sofrem reações redox. Decorre, desse modo, a necessidade de serem transportados associados a proteínas, impedindo que essas reações ocorram (Vasconcelos et al., 2007).

O sistema antioxidante enzimático e a glutathione estão presentes, predominantemente, no meio intracelular, daí a utilização do eritrócito para sua análise. Por outro lado, o sistema antioxidante não enzimático localiza-se, principalmente, no meio extracelular, sendo por isso analisado em plasma e soro. No sangue circulam importantes antioxidantes, a exemplo das vitaminas C, E, β -caroteno etc., bem como biomarcadores do dano causado por ERO e ERN e outros, como malondialdeído (MDA), isoprostanos, lipoperóxidos e outros derivados da peroxidação lipídica das membranas celulares (Vasconcelos et al., 2007).

Além dos sistemas supracitados, compostos que contêm o grupo sulfidrílico (-SH) ligado a um átomo de carbono como os tióis, tem ganhado destaque em pesquisas, pois são capazes de realizar reação redox similar ao oxigênio. São moléculas endógenas que ajudam as células aeróbias a manter um estado de redução, apesar de um ambiente oxidante. Os tióis são antioxidantes eficazes que protegem as células contra danos induzidos por consequência de radicais livres, devido à sua capacidade para reagir com o último. Os dois estados redox intracelular e extracelulares dos tióis desempenham um papel crítico na determinação da estrutura e função das proteínas, a regulação da atividade enzimática de fatores de transcrição e proteção antioxidante.

Os grupos tiol são encontrados em todas as células do corpo e são indispensáveis para a vida. Alguns compostos antioxidantes contendo enxofre são a cisteína, metionina, taurina, glutathione, ácido lipóico, mercaptopropionilglicina e N-acetilcisteína (Costa et al., 2009). Desse modo, as proteínas constituem o principal componente

antioxidante do soro e seus grupos sulfidríla são os principais responsáveis por seus efeitos antioxidantes.

O metabolismo dos tióis (S-adenosil-L-metionina, ácido α -lipóico, e N-Acetilcisteína) têm muitas correlações metabólicas no interior da célula. Glutathione, S-adenosil-L-metionina, tioredoxina e outras moléculas que contêm enxofre demonstraram ter papéis importantes no metabolismo e defesas antioxidantes (Zicker et al., 2006).

Quando os taninos sequestram os radicais livres ou reduzem outros compostos oxidados e formam radicais semiquinona relativamente estáveis, podem atuar como antioxidantes no intestino de vertebrados (Hagerman et al, 1998). No entanto, estudos mostrando que a qualidade nutricional das proteínas dietéticas pode ser prejudicada por taninos ou radicais semiquinona sugerem que são necessários mais estudos *in vivo* (Hagerman et al., 2003; Halliwell et al., 2000; Barbehenn & Constabel, 2011). Os destinos químicos dos taninos no intestino dependem das suas estruturas químicas, bem como o ambiente físico-químico (pH, potencial redox, concentrações de oxidantes e antioxidantes (Hassimoto et al., 2005).

Os radicais livres possuem curta duração e difícil mensuração como às suas espécies nativas. Em vez de medir diretamente os radicais livres em tecidos-alvo, uma variedade de novos métodos laboratoriais têm sido desenvolvidos os quais medem moléculas biologicamente estáveis produzidos através de reações químicas de radicais livres como marcadores de produção de radicais livres em um sistema biológico. Se estes marcadores aumentam no soro ou tecido, presume-se que existam mais radicais livres sendo produzidos, e assim mais danos. Se eles diminuem, presume-se que a produção de radicais livres foi diminuída. A medição do consumo de oxigênio, dienos conjugados, e os produtos de decomposição de hidroperóxido lipídico, tais como o malondialdeído (MDA), substâncias reativas ao tiobarbiturato (TBARS), prostaglandinas (isoprostanos), foram extensivamente utilizados como marcadores de peroxidação lipídica (Zicker et al., 2006) os quais são específicos para as diferentes biomoléculas.

Cães adultos suplementados com um *blend* de antioxidantes nas dosagens quatro vezes superior as recomendadas de vitamina E, em alimentos para animais adultos, apresentaram elevação nas concentrações séricas de taurina e vitamina E, que foram associadas com menor dano sofrido ao DNA, melhora na resposta vacinal e melhor

atividade antioxidante do plasma sanguíneo (Heaton et al., 2002). Avaliando a suplementação dietética com antioxidantes não enzimáticos a base de algas sobre os índices de *status* oxidativo de gatos induzidos ao estresse, Ogoshi et al. (2014), relataram efeitos positivos no combate ao estresse oxidativo, ao observarem diminuição linear nos níveis de cortisol, menor atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase, demonstrando maior remoção das espécies reativas de oxigênio (ERO). Os autores relataram ainda que, após a ação de um agente estressor, os níveis de 500 e 750 mg do antioxidante não elevaram o TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), concluindo desta forma que as maiores doses de antioxidantes da dieta atuaram fortalecendo a defesa não enzimática do sistema antioxidante, os quais combateram as ERO nos gatos.

A luteína, um oxicarotenoide (β , ϵ -caroteno-3,30-*diol*) encontrado em plantas e micro-organismos (Kim et al., 2000a), foi avaliada como uma possível ação imunomoduladora em cães adultos. Os autores relataram aumento na proliferação de linfócitos T (LT) ao marcador auxiliar CD4+ e ao marcador citotóxico CD8+ em cães adultos (Kim et al., 2000a) e aumento nas concentrações dos subtipos de linfócitos CD4+ e CD21+ no nível mais alto de suplementação (10 mg de luteína/kg de dieta) em gatos com 10 meses de idade (Kim et al., 2000b). Alarça et al. (2012) também relataram aumento nas concentrações de LT, CD4+ e CD8+ de cães, demonstrando a eficácia do efeito imunomodulador da luteína, fortalecendo a saúde dos animais. Ainda, Harper et al. (2001), avaliando a ação da luteína suplementada para gatos idosos como antioxidante, sugerem que há aumento na proliferação de LT e quantificação de anticorpos.

2.7 Fibras na alimentação de cães

A fibra dietética pode ser um importante ingrediente em dietas para cães quando se considera a saúde em longo prazo e bem-estar do animal de estimação. A fibra é um material heterogêneo fisicamente, quimicamente e nutricionalmente. Esta mistura heterogênea pode ser classificada dentro de duas subclasses, por exemplo, fibra solúvel viscosa e fermentável (solúvel) e fibra insolúvel não viscosa e não fermentável (insolúvel) (Burkhalter et al., 2001). Características como solubilidade e fermentabilidade definem a funcionalidade da fibra para cães (Carciofi, 2000; NRC, 2006). Os cães não produzem enzimas para digerir os carboidratos estruturais da parede

celular, sendo que a fração fibrosa insolúvel sofre mínima alteração em seu sistema gastrointestinal (NRC, 2006), com digestibilidade aparente da celulose variando de -0,2 a 1,9% nessa espécie (Lewis et al., 1994).

Tais compostos também podem ser classificados, de acordo com a fermentabilidade, em alta, média e baixa. Neste caso, as fibras solúveis têm a capacidade de se ligar à água e formar géis. Esses tipos de fibras geralmente são fermentáveis, viscosas e gelificantes, com exceção do Psyllium (*Plantago psyllium*) que é uma fibra solúvel, porém muito pouco fermentada. As fibras insolúveis podem ser definidas como polissacarídeos não-amiláceos insolúveis em água, sendo, em geral, pouco fermentáveis e não viscosas, e eliminadas, praticamente, na sua forma intacta (NRC, 2006). Devido à sua indigestibilidade, aumentam o bolo fecal e, conseqüentemente, o peso das fezes, além de estimular o peristaltismo por meio de sua ação agressiva na musculatura da parede intestinal (NRC, 2006).

As fibras pouco fermentáveis, como a celulose, retêm água e aumentam o volume das fezes diminuindo o tempo de trânsito. No entanto, em excesso, resulta em ação agressiva na mucosa intestinal, diminuindo a altura de vilosidade, podendo levar a um decréscimo importante na absorção de nutrientes e inflamação das microvilosidades do cólon (Case et al., 1998). As fibras de média fermentabilidade fornecem energia às células que revestem o intestino e também formam uma massa removendo os resíduos, tendo como exemplo a polpa de beterraba e o farelo de arroz (Case et al., 1998). Já as fibras altamente fermentáveis como pectinas e casca de soja, segundo Sunvold et al. (1995), podem causar alguns transtornos digestivos, como gases e diarreia, além de aumentar a produção de AGCC.

A busca de alimentação saudável para animais de companhia tem se tornado cada vez mais frequente por parte dos proprietários, visando aumentar a longevidade e prevenir o desenvolvimento de doenças, como a obesidade (Bontempo, 2005). Em virtude do aumento atual desta enfermidade (German, et al, 2012), a inclusão de fibras na dieta tornou-se realidade por parte das indústrias de *pet food* (Kawauchi, et al., 2011). O emprego da fibra tem sido justificado por apresentar diversos benefícios, entre eles, redução do valor energético da dieta, favorecendo o ajuste entre ingestão e gasto calórico, resultando na manutenção de condição corporal saudável. Já é estabelecida a influência da fibra na digestibilidade da energia e, segundo o NRC (2006), para cães, cada ponto percentual de fibra adicionada ao alimento ocasiona redução de 1,43% da

digestibilidade da energia da ração. A redução da densidade energética dos alimentos, pela diminuição do teor de gordura e elevação nas concentrações de fibra da ração, é uma estratégia amplamente utilizada no manejo da obesidade em animais de companhia, visando maior estímulo de saciedade e maior volume de ingestão alimentar (Carciofi et al., 2005; Vasconcellos et al., 2005).

A importância do consumo de fibras pelos animais domésticos reflete na manutenção da saúde do trato gastrintestinal (Reinhart & Sunvold, 1996; Case et al., 1998; NRC, 2006). A capacidade de manter a higidez do trato gastrintestinal está associada a diversas propriedades atribuídas às fibras, como função prebiótica (Swanson et al., 2002; Barry et al., 2010), redução na absorção intestinal de amônia e, conseqüentemente, nas concentrações séricas de ureia (Felssner et al., 2013). Ainda, na modulação do tempo de trânsito do alimento pelo trato gastrintestinal (Fahey et al., 1990a; Lewis et al., 1994; Hill et al., 2000; Hernot et al., 2005, 2006), formação e consistência das fezes (Burkhalter et al., 2001; Félix et al., 2009), diluição da energia do alimento (Fekete et al., 2004) e regulação do apetite e saciedade (Jackson et al., 1997; Jewell et al., 2006; Weber et al., 2007; Bosch et al., 2009). Além disso, a fibra tem importante papel auxiliar no tratamento e prevenção da obesidade (Butterwick & Markwell, 1997; Nelson et al., 2000; Bissot et al., 2010). Mesmo em gatos, considerados carnívoros estritos, são relatados efeitos importantes em resposta à suplementação dietética com fibras, destacando a importância fisiológica deste nutriente também para estes animais.

Embora sejam muito discutidos os benefícios das fibras em animais de companhia, ainda são poucas as alternativas de ingredientes, sendo os mais empregados a polpa de beterraba, o farelo de trigo, a fibra de cana, a celulose, a casca de soja e de ervilha. Além das fibras supracitadas, atualmente a indústria tem utilizado alguns coprodutos derivados de frutas, por possuírem as fibras e, além disto, alguns compostos bioativos com propriedades antioxidantes e imunomoduladoras (Vasconcellos & Felssner, 2015).

3. REFERÊNCIAS

- Alarça, L.G., 2012. Uso da luteína em dietas para cães. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, 61 p.
- Afzal, M., Afzal, A., Jones, A., Armstrong, D., 1998a. A rapid method for the quantification of GSH and GSSG in biological samples. In: Armstrong, D. Free Radical and Antioxidant Protocols, Methods in Molecular Biology, 108. Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Afzal, M.; Armstrong, D., 1998b. Fractionation of Herbal Medicine for Identifying Antioxidant Activity. In: Armstrong, D. Free Radical and Antioxidant Protocols, Methods in Molecular Biology, 108. Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Almudi, T., Pinheiro, J.O.C., 2015. Dados estatísticos da produção agropecuária e florestal do Estado do Amazonas: ano 2013. Brasília, DF : Embrapa, 105 p.
- Alonso, R., Rubio, L.A., Munzquiz, M., Marzo, F., 2001. The effects of extrusion cooking on mineral bioavailability in pea and kidney bean seed meals. Anim. Feed Sci. Technol. 94, 1-13.
- Ananga, A., Georgiev, V., Tsoleva, V., 2013. Manipulation and engineering of metabolic and biosynthetic pathway of plant polyphenols. Current Pharm. Design, 19, 6186–6206.
- Anuonye, J.C., Onuh, J.O., Egwim, E., Adeyemo, S.O., 2010. Nutrient and antinutrient composition of extruded acha/soybean blends. J. Food Proc. Pres., 34, 680-691.
- Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET), 2014. Perfil Pet Food. Disponível em: <<http://abinpet.org.br>>. Acesso em: ago. 2014.
- Barbehenn, R.V., Constabel, P.C., 2011. Tannins in plant–herbivore interactions. Phytochem. 72, 1551–1565.
- Barbehenn, R.V., Jones, C.P., Karonen, M., Salminen, J.P., 2006b. Tannin composition affects the oxidative activities of tree leaves. J. Chem. Ecol. 32, 2235–2251.
- Barry, K.A., Wojcicki, B.J., Middelbos, I.S., Vester, B.M., Swanson K S., Fahey, G.C., 2010. Dietary cellulose, fructooligosaccharides, and pectin modify fecal protein catabolites and microbial populations in adult cats. J. Anim. Sci. 88, 2978-2987.
- Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutrition significance. Nutr. Rev. 56, 317-333.
- Brennan, C., Brennan, M., Derbyshire, E., Tiwari, K. B., 2011. Effects of extrusion on the polyphenols vitamins and antioxidants activity of foods. Food Sci. Technol. 22, 570-575.

- Bissot T., Servet E., Vidal S., 2010. Novel Dietary Strategies Can Improve the Outcome Of Weight Loss Programmes In Obese Client-Owned Cats. *J. Feline Med. Sur*, 12, 104-112.
- Bontempo, V., 2005. Nutrition and health of dogs and cats: Evolution of Petfood. *J. Vet. Res.* 29, 45-50.
- Bosch G., Verbrugghe A., Hesta M., 2009. The Effects of Dietary Fibre Type on Satiety-Related Hormones and Voluntary Food Intake in Dogs. *Brit. J. Nutr.* 102, 318-325.
- Butolo, J.E., 2010. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. Campinas: Colégio Brasileiro de Alimentação Animal, 2ª ed, 430 p.
- Burkhalter, T.M., Merchen, N.R., Bauer, L.L., Murray S. M., Patil. J.L., Brent, Fahey, G.C., 2001. The Ratio of Insoluble to Soluble Fiber Components in Soybean Hulls Affects Ileal and Total-Tract Nutrient Digestibilities and Fecal Characteristics of Dogs. *J. Nutr.* 131, 1978–1985.
- Butterwick, R.F., Markwell, P.J., 1997. Effect of Amount and Type of Dietary Fiber on Food Intake in Energy-Restricted Dogs. *Am. J. Vet. Res.* 58 (3), 272-276.
- Case, L.P., Carey, D.P., Hirakawa, D.A., Daristotle, L., 2000. Canine and Feline Nutrition: A Resource for Companion Animal Professionals, 2nd ed. Mosby, St. Louis, 605 p.
- Carciofi, A.C., 2000. O uso de carboidratos em alimentos para cães. In: Simpósio Sobre Animais de Estimação, Anais...Campinas – SP, CBNA, p.17-46.
- Carciofi, A.C., 2005. Emprego de fibras em alimentos para cães e gatos. In: Simpósio Sobre Nutrição de Animais de Estimação. Anais... Campinas: CBNA, p.95-108.
- Carciofi, A. C., 2008. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. *R. Bras. Zootec.* 37, 28-41.
- 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.
- Companhia Nacional de Abastecimento. Estudos de preços mínimos- Produtos da Sociobiodiversidade/safra 2013/2014 - Brasília (DF), abril de 2013. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_11_22_15_25_35_pm_so_ciobio_13_14.pdf. Acesso em: 17/09/15.
- Costa, M.C., Santos, R.C.C., Lima, E.L., 2006. A simple automated procedure for thiolmeasurement in human serum samples. *J. Bras. Patol. Med Lab.* 42 (5), 345-350.

- Clutton-Brock J., 1995. Origin of the dog: domestication and early history. In: Serpell J, editor. *The Domestic Dog: Its Evolution, Behaviour and Interaction with People*. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 7–20.
- Champion, C., 2015. World pet food market trends. In: XIV CONGRESSO CBNA PET. Anais... Ribeirão Preto-SP.
- De-Oliveira, L.D., 2014. Coprodutos com potencial econômico no Brasil. VI Congresso Internacional e XIII Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação CBNA. Anais... Valinhos, SP.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C.H., Talcott, S.T., 2004. Phytochemical Composition and Pigment Stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *J. Agr. Food Chem.*, 52 (6), 1539–1545.
- Delgado-Lincon, E., Ayala, A.L.M., Rocha-Guzman, N.E., Galledos-Infante, J.A., Atienzo-Lazos, M., Drzewiecki, L., 2009. Influence of extrusion on the bioactive compounds and the antioxidant capacity of the bean/corn mixture. *I. J. Food Sci. Nutr.* 60, 522-532.
- Díez, M.T., del-Moral, P.G., Resines, J.A., Arín, M.J., 2008. Determination of phenolic compounds derived from hydrolysable tannins in biological matrices by RP-HPLC. *J. Sep. Sci.* 31, 2797-2803.
- Euromonitor International. Viana, M., 2014. Tendências Globais do Mercado Pet Care. In: VI Congresso Internacional e XII Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação, 2014, Campinas, **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal.
- El-Gharras, H., 2009. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. *I. J. Food Sci. Technol.* 44, 2512–2518.
- Fahey, G.C., Merchen, N.R., Corbin, J.E., 1990a. Dietary fiber for dogs: I. Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *J. Anim. Sci.* 68, 4221-4228.
- Fahey, G.C., Merchen, N.R., Corbin, J.E., 1990b. Dietary fiber for dogs: II. Iso-total dietary fiber (TDF) additions of divergent fiber sources to dog diets and their effects on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *J. Anim. Sci.* 68 (12), 4229-4235.
- Fahey, G.C., Merchen, N.R., Corbin, J.E., 1992. Dietary fiber for dogs: III. Effects of beet pulp and oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. *J. Anim. Sci.* 70, 1169-1174.
- Fahey, G.C., 2015. The Future of Pet Food and Pet Animal Nutrition: The Role of Dietary Fiber. In: XIV CONGRESSO CBNA PET, Anais... Ribeirão Preto, SP.
- Félix, A.P., Zanatta, C.P., Brito, C.B.M., Murakami, F.Y., França, M.I., Maiorka, A., Flemming, J.S., 2009. Suplementação de mananoligossacarídeos (MOS) e uma

- mistura de aluminosilicatos na qualidade das fezes de cães adultos. Arch. Vet. Sci. 14 (1), 31-35.
- Felssner, K.S., 2013. Efeito da adição de MOS e FOS, associados antes ou após a extrusão, em dietas para cães. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil, 64p.
- Fekete, S.G., Hullár, I., Andrásófszky, E., 2004. Effect of different fibre types on the digestibility of nutrients in cats. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr, Berlin, Germany. 88, 138-142.
- Fragoso, M.F., Romualdo, R.G., Ribeiro, D.A., Barbisan, L.F., 2013. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) feeding attenuates dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. Food Chem. Tox. 58, 68–76.
- Gameiro, J., Silva, M.L.P., 2009. Aplicação do conceito de ecologia industrial ao sistema de gestão integrada: vantagens e melhorias ambientais associadas. In: International Workshop Advances in Cleaner production, Key Elements for a Sustainable World: Energy, Water na Climate Change, 2., São Paulo. Anais...São Paulo.
- Genovese, M.I., Santos, R.J., Hassimoto, N.M.A., Lajolo, F.M., 2003. Determinação do conteúdo de fenólicos totais em frutas. R. Bras. C. Farm. 39, 67-69.
- Georgiev, V., Ananga, A., Tsoleva, V., 2014. Recent Advances and Uses of Grape Flavonoids as Nutraceuticals. Nutr. 6, 391-415.
- German, A.J., Holden, S.L., Wiseman-orr, M. L., 2012. Quality of life is reduced in obese dogs but improves after successful weight loss. Veterinary J. 192, 428-434.
- Gouvêa, A.C.M.S., Araujo, M.C.P., Schulz, D.F., Pacheco, S., Godoy, R.L.O., Cabral, L.M.C., 2012. Anthocyanins standards (cyanidin-3-O-glucoside and cyaniding-3-O-rutinoside) isolation from freeze-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 32, 43–46.
- Gharras, H.E., 2009. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. I. J. Food Sci. Technol. 44, 2512–2518.
- Hagerman, A.E., Klucher, K.M., 1986. Tannin–protein interactions. In: Cody, V., Middleton, E., Harborne, J. (Eds.), Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochem. Pharmacological and Structure Activity Relationships. Alan R. Liss, Inc., New York, pp. 67–76.
- Hagerman, A.E., Robbins, C.T., 1987. Implications of soluble tannin–protein complexes for tannin analysis and plant defense mechanisms. J. Chem. Ecol. 13, 1243–1259.
- Hagerman, A.E., Butler, L.G., 1991. Tannins and lignins. In: Rosenthal, G.A., Berbenbaum, M.R. (Eds.), Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites, vol. 1. Academic Press, New York, pp. 355–388.

- Hagerman, A.E., Riedl Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W., Riechel, T.L., 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1887–1892.
- Hagerman, A.E., Dean, R.T., Davies, M.J., 2003. Radical chemistry of epigallocatechin gallate and its relevance to protein damage. *Arch. Biochem. Biophys.* 414, 115–120.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford.
- Halliwell, B., 2002. Food derived antioxidants. In: Cadenas, E., Packer, L., editors. *Handbook of antioxidants*. 2nd edition. New York: Marcel Dekker; p. 1–46.
- Halliwell, B., Rafter, J., Jenner, A., 2004b. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols and other phenols. Direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am. J. Clin. Nutr.* (in press).
- Haslam, E., 1998. *Practical Polyphenolics from structure to molecular recognition and physiological action*, Cambridge University Press: Cambridge.
- Harper, J.M., 1981. *Extrusion in foods*. CRC press, Boca Raton, v. II, PP. 174.
- Harper, J.M., 1994. Extrusion processing of starch. In: Alexander, R.J.; Zobel, H.F. *Developments in carbohydrate chemistry*. 2nd edition. Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, 37-64.
- Harper, J., 2001. Feline immunocompetence, ageing and role of antioxidants. In: WSAVA CONGRESS, Vancouver. **Abstracts...Vancouver**, p.63.
- Hassimoto, N.M.A., Genovese, M.I., Lajolo, M.F., 2005. Antioxidant Activity of Dietary Fruits, Vegetables, and Commercial Frozen Fruit Pulps. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2928–2935.
- Heaton, P.R., Reed, C.F., Mann, S.J., Ransley, R., Stevenson, J., Charlton, C.J., Smith, B.H.E., Harper, J., Rawlings, J.M., 2002. Role of Dietary Antioxidants to Protect against DNA Damage in Adult Dogs. *J. Nutr.* 132 (6), 1720-1724.
- Henderson, A., 1995. *The Palms of the Amazon*. New York: Oxford University Press.
- Hernot, D.C., Biourge, V.C., 2005. Martin, L.J. et al. Relationship between total transit time and faecal quality in adult dogs differing in body size. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* (Berlin), 89, 189-193.
- Hernot, D.C., Dumon, H.J., Biourge, V.C., Martin, L.J., Nguyen, P.G., 2006. Evaluation of association between body size and large intestinal transit time in healthy dogs. *A. J. Vet. Res.* 67, 342-347.
- Hill R.C., Burrows C.F., Ellison G.W., 2000. The effect of texturized vegetable protein from soy on nutrient digestibility compared to beef in cannulated dogs. *J. Anim. Sci.* 79, 2162–2171.

- Hogan, S., Chung, H., Zhang, L., Li, J., Lee, Y., Dai, Y., 2010. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from acaí. *Food Chem.* 118 (2), 208–214.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Contas Regionais do Brasil 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 26 jun. 2014.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa Nacional de Saúde 2013: acesso e utilização dos servidores de saúde, acidentes e violências. Presença de animais no domicílio. 2015. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94074.pdf>. Acesso em: ago. 2015.
- Jackson, J.R., Laflamme, D.P., Owens, S.F., 1997. Effects of Dietary Fiber Content on Satiety in Dogs. *Vet. Clin. Nutr.* 4 (4), 130-134.
- Jewell D.E., Toll, P.W., 1996. Effects of fiber on food intake in dogs. *Vet. Clin. Nutr.* 3 (4), 115-118.
- Johnson, M.L.; Parson, C.M.; Fehey, G.C., 1998. Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ilealy cannulated dogs. *J. Anim. Sci.* 76 (4), 1112-1122.
- Kawauchi, I.M., Sakomura, N.K., Vasconcellos, R.S., 2011. Digestibility and metabolizable energy of maize gluten feed for dogs as measured by two different techniques. *Anim. Feed Sci. Technol.* 169, 96-103.
- Kim, H.W., Chew, B.P., Wong, T.S., Park, J.S., Weng, B.B.C., Byerne, K.M., Hayek, M.G., Reinhart, G.A., 2000a. Dietary Lutein Stimulates Immune Response In The Canine. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 74, 315–327.
- Kim, H.W., Chew, B.P., Wong, T.S., Park, J.S., Weng, B.B.C., Byerne, K.M., Hayek, M.G., Reinhart, G.A., 2000b. Modulation Of Humoral And Cell-Mediated Immune Responses By Dietary Lutein In Cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 73, 331–341.
- Kolodziej H., Hagerman A.E., 2011. Polyphenols., Ethnomedicine, and Benefit Sharing. *Planta Med.* 77, 1069–1070.
- Korus, J., Gumul, D., Czechowska, K., 2007. Effect of Extrusion on the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Dry Beans of *Phaseolus vulgaris* L. *Food Technol. Bio.* 45 (2), 139–146.
- Lara, L.B., 2015. Efeito do processo de extrusão sobre a digestibilidade de alimentos para cães e gatos. In: XIV Congresso CBNA PET. Anais... Ribeirão Preto-SP.
- Lepiniec, L., Debeaujon, I., Routaboul, J.M., Baudry, A., Pourcel, L., Nesi, N., Caboche, M., 2006. Genetics and biochemistry of seed flavonoids. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 405–430.

- Leong, A.C.N., Kinjo, Y., Tako, M., Iwasaki, H., Oku, H., Tamaki, H., 2010. Flavonoid glycosides in the shoot system of Okinawa Taumu (*Colocasia esculenta* S.). Food Chem. 119 (2), 630–635.
- Lewis, L.D., Magerkurth, J.H., Roudebush, P., Mitchell, J.R., Emmett, E., 1994. Stool characteristics, gastrointestinal transit time and nutrient digestibility in dogs fed different fiber sources. J. Nutr. 2716-2718.
- Li, C., Du, H., Wang, L., Shu, Q., Zheng, Y., Xu, Y., 2009. Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*paeonia* section *moutan*) yellow flowers. J. Agric. Food Chem. 57(18), 8496–8503.
- Lowe, J.E., 2008. Adding Value to Petfood by Utilizing Novel Ingredients and Developments in Applied Nutrition. In: Petfood Forum, Anais... São Paulo-SP.
- Lushchak, V.I., 2014. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification- Mini-review. Chem. Biol. Inter. 224, 164–175.
- Makkar, H.P.S., Blummel, M., Borowy, N.K., Becker, K., 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlation with chemical and protein precipitation methods. J. Sci. Food Agric.61, 161-165.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. Am. J. Clin. Nutr, 79, 727–747.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Remesy, C., 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. Am. J. Clin. Nutr. 81, 230–242.
- Menezes, E.M. da Silva., Torrea, A.T., Srur, A.U.S., 2008. Valor nutricional da polpa de açai (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. Acta Amazônica. 38 (2), 311 - 316.
- Mertens-Talcott. S., Rios, J., Jilma-Stohlawetz, P., Pacheco-Palencia, L.A., Meibohm, B., Talcott, S.T., Derendorf, D., 2008. Pharmacokinetics of Anthocyanins and Antioxidant Effects after the Consumption of Anthocyanin-Rich Açai Juice and Pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in Human Healthy Volunteers. J. Agric. Food Chem, 56, 7796–7802.
- Mintel GNPD®. The GNPD service advantage. Disponível em: <http://www.gnpd.com/sinatra/anonymouse_frontpage/>. Acesso em: 12/08/2015.
- NRC, 2006. Nutrient Requirements of Dogs and Cats, 3rd rev. ed. National Academic Press, Washington, DC.
- Nelson, R.W., Scott-Moncrieff, J.C., Feldman, E.C., 2000. Effect of dietary insoluble fiber on control of glycemia in cats with naturally acquired diabetes mellitus. J. Am. Vet. Medical Assoc. 216, 1082–1088.
- Odendaal, A.Y., Schauss, A.G., 2014. Potent Antioxidant and Anti-Inflammatory Flavonoids in the Nutrient-Rich Amazonian Palm Fruit, Açai (*Euterpe* spp.). Chapter 18. In: Polyphenols in Human Health and Disease. p. 219–239.

- Ochsendorf, F.R., 1999. Infection in the male genital tract and reactive oxygen species. *Human Reproduction Update*, 5, 399-420.
- Ogoshi, R.C.S, Saad, F.M.O.B, Zangeronimo M.G., Reis, J.S., Caetano, A.P., 2014. Suplementação com antioxidante à base de algas: efeitos no status oxidativo de gatos submetidos ao estresse. VI Congresso Internacional e XIII Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação CBNA – Anais... Valinhos, SP.
- Poulose, S.M., Fisher, D.R., Larson, J., Bielinski, D.F., Rimando, A.M., Carey, A.N., 2012. Anthocyanin-rich acai (*Euterpe oleracea* Mart.) fruit pulp fractions attenuate inflammatory stress signaling in mouse brain BV-2 microglial cells. *J. Agric. Food Chem.* 60, 1084–1093.
- Reinhart, G.D., Sunvold, G.D., 1996. In vitro fermentation as a predictor of fiber utilization. In: *Recent Advances in Canine and Feline Nutritional Research; iams international nutrition symposium, 1996, Ohio. Proceedings...* Wilmington, p.15-24.
- Riaz, M.N., 2000. *Extruders in Food Applications*. Technomic Publishing, Lancaster.
- Riaz, M., Asif, M., Ali, R., 2009. Stability of vitamins during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(4), 361e 368.
- Rodrigues, R.B., Lichtenthaler, R., Zimmerman, B. F., Papgiannopoulos, M., Fabricius, H., Marx, F., 2006. Total oxidant scavenging capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) seeds and identification of their polyphenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 54, 4162–4167.
- Sá, F.C., 2015. Energia mecânica, energia térmica e moagem na extrusão de alimentos para cães e gatos. (Tese-Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil, 104 p.
- Sabchuk, T.T., 2014. Fontes de fibras na alimentação de cães, Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, 74 p.
- Schauss, A.G., Wu, X., Prior, R.L., Ou, B., Huang, D., Owens, J., Agarwal, A., Jensen, G.S., Hart, A.N. and Shanbrom, E., 2006a. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleraceae* mart. (acaí). *J. Agric. Food Chem.* 54, 8604-10.
- Schauss, A.G., Wu, X., Prior, R.L., Ou, B., Patel, D., Huang, D., Kababick, J.P., 2006b. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* mart. (açai). *J. Agric. Food Chem.*, v. 54, p. 8598-8603.
- Schauss, A.G., 2008. Açai: An Extraordinary Antioxidant-Rich Palm Fruit from the Amazon. Bio Social Publications, Tacoma.
- Schauss, A.G., Jensen G.S., Wu, X., 2010. Açai (*Euterpe oleracea*): An Amazonian Palm Fruit with Broad Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities. *The American Chemical Society*, vol. 1035, pp. 213-223.

- Silva, D.J., Queiroz, A.C., 2002. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos), 3rd ed. UFV, Viçosa, MG, 235 pp.
- Singh, S., Gamlath, S., Wakeling, L., 2007. Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 916–929.
- Smith, O.B. 1975. Extrusion and forming; creating new foods. *Food. Eng.* 7, 48.
- Smith, E.A., Macfarlane, G.T., 1997. Formation of phenolic and indolic compounds by anaerobic bacteria in the human large intestine. *Microb.Ecol.* 33, 180–188.
- Sunvold, G.D., 1995b. In vitro fermentation of selected fibrous substrates by and cat fecal inoculum: influence of diet composition on substrate organic matter disappearance and in vitro fermentation of selected fibrous substrates by dog and cat fecal inoculum : Influence. *J. Anim. Sci.* 1110–1122.
- Spada, P.D.S., Dani, C., Giovana V. Bortolini, G.V., Funchal, C., Henriques, J.A.P., Salvador, M. 2009. Frozen Fruit Pulp of *Euterpe Oleracea* Mart. (Acai) Prevents Hydrogen Peroxide-Induced Damage in The Cerebral Cortex, Cerebellum, and Hippocampus of Rats. *J. Med. Food.* 12 (5), 1084–1088.
- Swanson, K.S., Christine M., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L., Healy, H.P., Dawson, K.A., Merchen, N.R., Fahey, G.C., 2002. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in large bowel of dogs. *J. Nutr.* 132, 980-989.
- Sharma, P. A., Singh, H.G., Singh, B., 2012. Antioxidant activity of barley as affected by extrusion cooking. *Food Chem.* 131, 1406–1413.
- Shih, M.C., Kuo, C.C., Chiang, W., 2009. Effects of drying and extrusion on colour chemical composition, antioxidant activities and mitogenic response of spleen lymphocytes of sweet potatoes. *Food Chem.* 117 (1), 114-121.
- Stowe, H.D., Lawlwe, D.F., Kealy, R.D., 2006. Antioxidant Status of Pair-Fed Labrador Retrievers Is Affected by Diet Restriction and Aging. *J. Nutr.* 136 (7), 1844-1848.
- Teixeira, L.N.; Stringheta, P. C.; Oliveira, F.A., 2008. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. *Ver. Ceres.* 55 (4), 297-304.
- Tibe, O., Meagher, L.P., Fraser, K., Harding, D.K., 2011. Condensed Tannins and Flavonoids from the Forage Legume *Sulla* (*Hedysarum coronarium*). *J. Agric. Food Chem.* 59, 9402–9409.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M. T.D., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *I. J. Biochem. Cell Biol.* 39, 44–84.

- Vallespí, R.M.C., 2013. In: Química Bioorgânica y Productos Naturales. Vallespí, R.M.C.; Morales, M.; de-Los, A.F.; Garcia, C.L.; Torralba, M.P.; Gutiérrez, D.S.M. Universidad Nacional de Educacion a Distancia, Madri, Espanha.
- Vasconcelos, S.M.L., Goulart, M.O.F., Moura, J.B de França, Benfato, V.M., Silveira, M., Kubota, L.T., 2007. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim. Nova.* 30 (5), 1323-1338.
- Vasconcellos, R.S., 2010. Uso de coprodutos na alimentação de cães e gatos. II Congresso Internacional e IX Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação CBNA, Anais...Valinhos, SP.
- Vasconcellos, R.S.; Felssner, K.S., 2015. Fontes de fibras alternativas para utilização em petfood: semente do açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). Caderno Científico. In: REVISTA PET FOOD – Edição: março-abril.
- Weber, M., Bissot, T., Servet. E., 2007. High protein and high fiber diet designed for weight loss improves satiety in dogs. *J. Vet. I. Medicine.* 21, 1203-1208.
- Williamson, G., Manach, C., 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J. Clin. Nutr.* 81, 243S–55S.
- Yagci, S., Gogus, F., 2009. Effect of incorporation of various food by-products on some nutritional properties of rice-based extruded foods. *Food Sci. Technol.* 15, 571-581.
- Yamaguchi, K.K.L., Pereira, L.F.R., Lamarão, C.V., Lima, E.S., Veiga-Junior, V.F., 2015. Amazon açaí: Chemistry and biological activities: A review. *Food Chem.* 179, 137-151.
- Zicker, S.C., Wedekind, K.J., Jewell, D.E., 2006. Antioxidants in veterinary nutrition. *Veterinary Clinics Small Animal Practice,* 36, 1183-1198.

II – OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar a composição química e de antioxidantes da semente de açaí;
- Avaliar o *status* oxidativo sérico de cães adultos frente ao consumo de dietas com a inclusão de níveis crescentes de semente de açaí;
- Avaliar o efeito do processo de extrusão sobre as concentrações de taninos das dietas.

II.1 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a composição química-bromatológica da semente de açaí;
- Avaliar a composição de antioxidantes e a atividade antioxidante da semente de açaí *in vitro*;
- Determinar os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e a energia metabolizável da dieta para cães;
- Avaliar os efeitos de inclusões crescentes (2,0%; 4,0%; 6,0%; 8,0%) da semente de açaí em alimentos extrusados para cães, sobre a digestibilidade dos nutrientes, energia metabolizável da dieta, parâmetros fermentativos intestinais (ácidos graxos voláteis e lactato) e ácidos graxos de cadeia ramificada fecais;
- Determinar o efeito de diferentes inclusões da semente de açaí na dieta sobre os marcadores do *status* oxidativo sérico de cães;
- Avaliar o efeito do processo de extrusão sobre as concentrações de taninos nas dietas, visando relacionar tais efeitos com as propriedades nutricionais e funcionais do ingrediente.

III – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SEMENTE DE AÇAÍ (*Euterpe Oleracea* Mart.) COMO INGREDIENTE EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES

RESUMO

Objetivou-se avaliar a composição química e de antioxidantes da semente de açaí, assim como determinar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), os parâmetros fermentativos intestinais e a ação antioxidante da semente de açaí empregada na dieta de cães adultos. Foram avaliados os efeitos do processo de extrusão das dietas sobre a destruição do tanino. Cinco dietas isonutritivas para cães adultos foram formuladas e a fibra de cana foi empregada na dieta Controle. Os demais alimentos foram formulados pela inclusão de 2%, 4%, 6% e 8% da semente de açaí em substituição à fibra de cana, mantendo-se a Fibra Dietética Total (FDT) semelhante entre as dietas. Foram coletadas quatro amostras das dietas em cada etapa do processo de extrusão (alimento farelado, após saída do pré-condicionador, após saída da extrusora e após saída do secador) e as concentrações de taninos totais determinadas. No ingrediente determinou-se a composição bromatológica, a FDT, os teores de polifenóis, taninos totais, e a atividade antioxidante *in vitro*. Trinta cães Beagle adultos foram incluídos no estudo, o qual seguiu o protocolo de digestibilidade com coleta total de fezes e urina. Determinou-se, o pH fecal e concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada. Para avaliar a atividade antioxidante da semente de açaí em cães, os animais foram alimentados com as respectivas dietas por um período de 60 dias, sendo as amostras de sangue coletadas nos dias 0, 30 e 60 para a quantificação de ácido elágico e gálico no soro sanguíneo, determinação da capacidade antioxidante total, de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, da susceptibilidade sérica à oxidação e de tióis totais. Os teores de taninos reduziram após a saída do condicionador ($p < 0,0001$). A semente de açaí apresentou elevada capacidade antioxidante, observada pelo percentual de descoloração do radical DPPH pelos antioxidantes, os quais foram de 49,8%; 93,4% e 66,8% para os extratos etéreo, etanólico e aquoso, respectivamente. A elevada atividade antioxidante *in vitro* não refletiu nos resultados do estudo *in vivo*. A inclusão da semente de açaí até 8% da dieta foi comparável à fibra de cana usada na dieta Controle. O consumo das dietas não alterou as concentrações de AGCC fecais dos cães. A semente de açaí se mostrou uma fonte de fibra insolúvel na dieta de cães e o tanino presente neste ingrediente é eliminado em sua maior parte no processo de extrusão.

Palavras-chave: Antioxidante; Extrusão; Fibra insolúvel; Taninos.

PHYSICOCHEMICAL AND NUTRITIONAL EVALUATION OF THE AÇAÍ SEED
(*Euterpe Oleracea* Mart.) AS INGREDIENT IN EXTRUDED DIETS FOR DOGS

ABSTRACT

Due to its high fiber content and antioxidant potential in açai seed, the aim of this study was to evaluate the nutritional and antioxidant composition of the açai seed, and also to determine the inclusion effect of this ingredient in extruded diets on the coefficient of the total tract apparent digestibility (CTTAD), intestinal fermentation and antioxidant status of the adult dogs. Considering the high tannin content of this ingredient, the effect of the extrusion process on the tannins losses was also evaluated. The açai seed showed high levels of total phenolic compounds (5, 95%) and total tannins (3, 43%). The extracts obtained from açai seed showed high antioxidant activity by DPPH method, which were 49.8%; 93.4% and 66.8% for the ether, ethanol and aqueous extracts, respectively. For the nutritional study, five isonutritive diets were formulated. The açai seed was included replacing the sugarcane fiber. The açai seed was included in the following levels: 2%, 4%, 6% and 8%. To evaluate the tannin losses, four samples were collected at each step of the extrusion process (non-processed, after the preconditioning, after the extrusion and the dried kibbles). Total tannin concentrations were significantly decreased after the preconditioning (75% of the loss), but the extrusion process also destroyed this compound. Thirty adult Beagle dogs were included in the study. The effects of the açai seed inclusion up to 8% on CTTAD, stool quality and fecal SCFA in the dogs was comparable to sugarcane fiber used as Control in this study. The dogs were fed their respective diets for a period of 60 days, and blood samples were collected at the days 0, 30 and 60 for the quantification of ellagic acid and gallic in blood serum, determination of the total antioxidant capacity of thiobarbituric acid reactive substances, serum susceptibility to oxidation and total thiols. Açai seed did not present antioxidant effects in the dogs, probably due the phenolic compounds losses quantified in the extrusion. The açai seed is a low cost insoluble fiber source for dogs. The industrial processing decreases the tannin concentration in this ingredient and probably other phenolic compounds with antioxidant properties.

Keywords: Antioxidant; Extrusion; Insoluble fiber; Tannins.

1. Introdução

O mercado de animais de companhia, semelhante ao mercado de produtos para a nutrição humana, possui a característica de utilizar coprodutos na alimentação visando seus papéis não somente nutricionais, mas também funcionais. Neste sentido, as fontes de fibra possuem propriedades importantes na nutrição de animais de companhia, a depender das suas características de solubilidade e fermentabilidade, tais como modulação do tempo de passagem do alimento, estímulo da saciedade, redução da densidade energética do alimento, produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e melhora na qualidade fecal, entre outros (Carciofi et al., 2005; Barry et al., 2010; Fahey, 2015).

Alguns coprodutos da indústria alimentícia humana utilizados atualmente como fontes de fibras para cães e gatos são a polpa de beterraba (Fahey et al., 1990b; Sunvold et al., 1995; Sabchuk, 2014), o farelo de trigo (Sá et al., 2013), a fibra de cana-de-açúcar (Fisher et al., 2012), o farelo de glúten de milho (Kawauchi et al., 2011) e o farelo de arroz (Fortes et al., 2010). Estes ingredientes possuem em comum o fato de todos terem sido resíduos industriais alimentícios humanos antes de serem empregados pela indústria de nutrição animal.

O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), matéria-prima para a obtenção da polpa de açaí. Apesar da importância econômica da polpa do açaí, esta representa apenas 10% da massa total do fruto, sendo o restante (90%) composto principalmente pela semente, descartado pela indústria no processo de produção de polpa. No entanto, devido ao seu elevado teor de fibras, é possível que possa ser empregado na nutrição animal (Rodrigues et al., 2006). Além das fibras, o açaí é um fruto rico compostos antioxidantes, especialmente as antocianinas (cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo) e outros fitoquímicos como os flavonoides (Schauss et al., 2006b).

Outros compostos fenólicos presentes no açaí são os taninos. Estes compostos, se por um lado possuem efeitos antinutricionais ao se complexarem com proteínas prejudicando sua digestão e também por possuírem adstringência, o que prejudica a palatabilidade (Butolo, 2010), por outro, se hidrolisados no trato digestório por microrganismos intestinais, podem liberar compostos fenólicos como o ácido gálico e

elágico, os quais conferem propriedades antioxidantes ao organismo (Barbehenn & Constabel, 2011). Desta forma, é possível que a semente de açaí, hoje considerada um resíduo industrial, tenha algumas propriedades nutricionais que viabilizem seu uso na nutrição animal.

Considerando o exposto, neste trabalho foram avaliadas as propriedades nutricionais e funcionais da semente de açaí como fonte de fibras e antioxidantes para cães. Adicionalmente, avaliou-se o efeito do processo de extrusão sobre as concentrações de taninos nas dietas, visando relacionar tais efeitos com as propriedades nutricionais e funcionais do ingrediente.

2. Material e Métodos

2.1 Preparo do Ingrediente

A semente integral de açaí obtida para o estudo foi proveniente de Belém-PA (Palamaz–Produtos alimentícios da Amazônia Ltda., Belém-PA, Brasil), em maio de 2014. Para obtenção da fibra de açaí, as sementes íntegras foram secas em secador horizontal de ar forçado à 100-115°C até umidade próxima a 12%. Posteriormente, as sementes foram pré-moídas em moinho martelo com peneira de 6 mm (Modelo 4, D'Andrea, Limeira, Brasil) e remoídas no mesmo moinho com peneira de 3 mm, no Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá (LANA/UEM).

2.2 Análises laboratoriais do ingrediente

A semente de açaí foi analisada quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina, segundo Silva & Queiroz (2002). A metodologia descrita por Prosky et al. (1992) foi utilizada para determinar a fibra dietética total (FDT). O extrativo não nitrogenado (ENN) foram estimados por diferença, conforme equação abaixo:

$$\text{ENN} = 100 - (\text{umidade}\% + \text{PB}\% + \text{EE}\% + \text{FB}\% + \text{MM}\%).$$

A determinação dos taninos totais na semente do açaí foi determinada de acordo com metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (2002) e os polifenóis totais foram determinados de acordo com Singleton & Rossi (1965).

Uma alíquota de 0,750 g de fibra de açaí foi diluída em 150 mL de água destilada. Posteriormente, a solução foi submetida a aquecimento (60°C) em banho-quente por 30 minutos. Após, a solução foi resfriada em água corrente e transferida para um balão volumétrico de 250 mL, completando-se o volume com água destilada. Após decantar, o líquido sobrenadante foi filtrado em papel de filtro, sendo desprezados os primeiros 50 mL do filtrado, obtendo-se o extrato principal para determinação dos compostos fenólicos.

Uma alíquota de 5 mL do extrato foi diluída em água para 25 mL, sendo 2 mL transferidos para um balão volumétrico de 25 mL com 1 mL de reagente fenol de Folin-Ciocalteu e 10 mL de água, e o volume completado com solução de carbonato de sódio a 29,0% (p/V). Após 30 min foi medida a absorbância a 760 nm (A1). A água foi utilizada como branco. A porcentagem de polifenóis totais foi determinada, em triplicata, como segue:

$$PT = 15625 \times \text{Abs} / 1000 \times m$$

onde: PT= polifenóis totais (%); Abs = absorbância; m= massa (g)

Para a determinação dos taninos totais (TT), 10 mL do extrato obtido foi adicionado a 0,100 g de pó-de-pele como agente complexante o qual foi agitado mecanicamente em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos, sendo filtrado posteriormente. Uma alíquota de 5 mL do filtrado foi diluída em água para 25 mL e uma alíquota de 2 mL foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL com 1 mL de reagente fenol de Folin-Ciocalteu e 10 mL de água, e o volume completado com solução de carbonato de sódio a 29,0% (p/V). Após 30 minutos foi medida a absorbância em 760 nm (A2), utilizando água destilada como líquido de compensação. Esta técnica baseia-se no princípio de que os taninos se complexam com o colágeno do pó de pele (Sigma), formando um complexo que se precipita, e o líquido no sobrenadante corresponde aos compostos fenólicos que não são taninos. Desta forma a concentração de taninos é obtida pela diferença, dada em equivalentes de pirogallol.

Uma alíquota de 5,0 mg de pirogallol (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil) foi dissolvido imediatamente antes do uso, em água deionizada para 10 mL. Uma alíquota de 5 mL foi diluída em água para 100mL. Uma alíquota de 2 mL foi transferida para um balão volumétrico de 25mL com 1 mL de reagente Folin-Ciocalteu e 10 mL de água, e o volume completado com solução de carbonato de sódio a 29% (p/V). A absorbância foi determinada em 760 nm (A3) após 30 minutos, utilizando água destilada como líquido de compensação.

A quantificação das antocianinas totais foi realizada pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), de Campinas- SP, seguindo a metodologia descrita por Teixeira et al. (2008).

A determinação da atividade antioxidante *in vitro* da semente do açaí foi realizada pela avaliação da capacidade sequestrante do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil, Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil) pelos antioxidantes da amostra

utilizando-se o método descrito por Brand-Williams et al. (1995). Este método utiliza o radical livre disponível comercialmente DPPH, o qual é solúvel em metanol. O grau de descoloração do radical DPPH a 517nm pela ação dos antioxidantes é medido espectrofotometricamente em uma solução metanólica até a absorvância permanecer constante, indicando a eficiência do antioxidante em remover o radical.

Para esta análise, foram obtidos extratos etéreo, etanólico e aquoso do ingrediente, os quais foram submetidos ao teste de capacidade sequestrante do DPPH pelos antioxidantes presentes na amostra. A partir da amostra foram obtidos os extratos etéreo, etanólico e aquoso, por meio de extração sequencial para frutos de acordo com Sotero (2002). Foram pesados 2,5 gramas da amostra, à qual foram adicionados 50 mL de éter etílico, agitando-se em homogeneizador magnético, por uma hora, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Posteriormente, a solução foi filtrada em papel de filtro e o volume completado até 50 mL com éter etílico. O resíduo resultante foi recuperado por meio da secagem em temperatura ambiente por duas horas, em seguida foram pesados para cálculo do volume de solvente necessário para obter a proporção de 1:20. O mesmo procedimento foi adotado para obtenção dos demais extratos, etanólico e aquoso, os quais foram armazenados em frasco âmbar e armazenados em freezer a -15°C. As extrações foram realizadas em duplicata para cada amostra.

Os extratos foram então submetidos ao teste (DPPH). Para isto, as amostras foram diluídas em metanol na concentração de 0,2 mg/mL, utilizando-se como padrão o butil hidroxitolueno (BHT, Labsynth, São Paulo, Brasil). Uma alíquota de 1,5 mL da solução metanólica do radical DPPH (Sigma-Aldrich®) a 20 mg/mL em metanol foi adicionada a 750 µL dos extratos etéreo, etanólico e aquoso das amostras em diferentes concentrações (0,1 e 0,2 mg/mL) ou 750 µL do padrão BHT dissolvido em metanol (0,05 e 0,1mg/mL). O metanol foi utilizado como branco. O decréscimo da absorvância a 517nm foi medida em espectrofotômetro em diferentes intervalos de tempo (0, 1, 2, 3, 4, e 5 minutos e a cada 5 minutos até completar 20 minutos de reação). Os respectivos brancos das amostras do padrão foram preparados, utilizando uma alíquota do extrato ou da solução de BHT, diluídos nas mesmas concentrações utilizadas no teste, e 1,5 mL de metanol. A atividade de sequestro do radical DPPH foi calculada pela equação:

$$\% \text{ descoloração do DPPH} = \left[\frac{1 - (\text{Absorvância da amostra} - \text{Absorvância do branco da amostra})}{\text{Absorvância do branco do ensaio do DPPH}} \right] \times 100$$

2.3 Dietas experimentais

A partir da semente seca de açaí moída, foram formuladas e extrusadas as dietas experimentais, para avaliação nutricional do ingrediente. As dietas foram produzidas na unidade de extrusão da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, *campus* Jaboticabal. Foram formuladas cinco dietas isonutritivas, em que a semente de açaí foi incluída nos níveis de 0,0%, 2,0%, 4,0%, 6,0% e 8,0% em detrimento da fibra de cana, as quais apresentam composições semelhantes e por mínimas modificações na inclusão de milho e farinha de vísceras de frango, de modo a manter semelhantes os teores proteicos das dietas. As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações nutricionais para cães adultos preconizadas pelo FEDIAF (2013).

Os ingredientes foram pesados, misturados em misturador horizontal de pás e posteriormente moídos a 0,8 mm em moinho de martelos (Sistema Tigre de Mistura e Moagem, Tigre, São Paulo) e extrusados em extrusora de rosca simples (MEX 250, Manzoni, Campinas, Brasil), com capacidade de processamento de 250 kg/hora. Após extrusão, as dietas foram secas em secador horizontal de dupla esteira pelo período de 30 minutos a 115°C e posteriormente recobertos com óleo de frango e palatabilizante, após resfriamento. Os ingredientes utilizados e a composição química analisada das dietas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição de ingredientes e composição química analisada das dietas (g/kg)

Ingredientes	Níveis de inclusão da semente de açaí				
	0,0%	2,0%	4,0%	6,0%	8,0%
Milho grão	511,3	509,8	508,9	507,7	505,8
Farinha de vísceras de frango	272,9	273,4	273,9	273,5	269,3
Glúten de milho 60	18,1	14,8	11,9	12,1	09,6
Gordura de aves	78,2	77,0	75,9	74,9	74,5
Fibra de cana	61,1	46,5	31,1	15,7	0
Semente de açaí	0	20,0	40,0	60,0	80,0
DL-metionina	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Cloreto de colina	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3
Cloreto de potássio	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Premix mineral e vitamínico ¹	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Cloreto de sódio	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Antioxidante	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Antifúngico	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Palatabilizante líquido	40	40	40	40	40
Total	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Composição química analisada (g/Kg)					
Matéria seca	938,7	941,3	941,0	941,3	946,0
Proteína bruta	239,0	246,3	242,6	240,2	247,4
Extrato etéreo hidrólise ácida	129,4	128,1	131,1	129,0	130,0
Fibra bruta	4,19	3,50	2,87	2,63	2,46
Fibra dietética total (FDT)	113,0	120,6	122,4	126,4	131,9
Amido	403,3	404,9	403,0	405,3	384,4
Matéria mineral	67,9	69,8	72,1	70,6	70,2
Extrato não nitrogenado ²	452,0	448,8	478,6	478,6	475,7
Energia bruta (MJ/kg)	19,6	19,5	19,7	19,5	19,4
Energia metabolizável (MJ/kg) ³	15,4	15,3	16,1	16,1	16,0

¹Enriquecimento por Kg de alimento¹: Vit. A-18000 UI, Vit. D-1200 UI, Vit. E-200 UI, Vit. B6-6 mg, Vit. B2-10 mg, Vit. B3-60 mg, Vit. B12-0,1 mg, Ferro-100 mg, Cobre-10 mg, Manganês-10 mg, Zinco-150 mg, Iodo-2 mg, Selênio-0,3 mg, Ácido pantotênico-40 mg, Ácido fólico-0,30 mg. ²Estimado por: ENN (%) = 100 - (MM% + PB% + EEHA% + FB%), na matéria seca. ³Estimado segundo o NRC (2006). FDT= Valores calculados considerando o FDT do ingrediente e da fibra de cana.

As variáveis de processamento começaram a ser mensurados quando o sistema atingiu a estabilidade na produção e, a partir deste momento, as variáveis foram registrados a cada 20 minutos, juntamente com a coleta de amostras. A adição de água e vapor, a velocidade da rosca e a alimentação da extrusora foram ajustadas de acordo com a formulação da dieta, visando manter a densidade dos extrusados semelhantes entre os tratamentos.

Os parâmetros avaliados durante a extrusão foram densidade dos extrusados (g/L); produtividade da extrusora (kg/h); temperatura no pré-condicionador, no canhão da extrusora e no secador (Tabela 2). Durante o processamento foram realizadas coletas de amostras de cada tratamento em diferentes pontos do processo de extrusão: 1) saída do pré-condicionador; 2) saída do canhão extrusor e 3) saída do secador, com intervalos de 20 minutos entre as coletas, pelo período de 1 hora, totalizando quatro amostras por tratamento em cada ponto, e a dieta farelada. Após extrusão, as dietas foram secas em secador estacionário de ar forçado a 105°C, durante 30 minutos aproximadamente e recobertas com óleo de frango e palatilizante. As amostras coletadas nos diferentes pontos durante o processo de extrusão foram analisadas quanto à concentração de taninos. Para isto, as amostras foram moídas a 1 mm em moinho de facas (Mod 340, Art Lab, São Paulo) e posteriormente liofilizadas a -50°C durante 24h em liofilizador de bancada (Christ Alfa, 1-4 LD, UK). As concentrações de taninos totais determinadas nas amostras foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Makkar et al., (1993) no Laboratório de Nutrição Animal (CENA) da Universidade de São Paulo, campus Piracicaba, SP.

2.4 Estudos *in vivo*

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (Protocolo nº 022569/14) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, *campus* Jaboticabal. A condução do experimento foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, pertencente ao Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, localizado na cidade de Jaboticabal-SP.

Para o ensaio de digestibilidade foram utilizados 30 cães adultos (7,1 a 8,3 anos) da raça Beagle, machos ou fêmeas, com peso médio de 13,48 ±0,89 kg. Todos os cães passaram por exame clínico prévio e foram vacinados e desverminados. Durante o ensaio de digestibilidade os animais foram alojados em gaiolas metabólicas, em inox,

medindo 0,9 m de comprimento x 0,9 m altura x 0,9 m de largura, com aparato para coleta separada de fezes e urina.

2.4.1 Ensaio de digestibilidade e energia metabolizável

O ensaio de digestibilidade seguiu as recomendações da AAFCO (2010), com cinco dias de adaptação às dietas e instalações e cinco dias de colheita total de fezes e urina, por período. Os cães foram alimentados duas vezes ao dia (9:00 e 15:00 horas) em quantidade suficiente para suprir suas necessidades de energia metabolizável (NEM), preconizado pelo NRC (2006): $NEM \text{ (kcal/dia)} = 130 \times \text{peso corporal}^{0,75}$. A água foi fornecida *ad libitum*. Todas as fezes foram colhidas, duas vezes ao dia, pesadas e congeladas, individualmente (-15°C), constituindo um composto de fezes de cada animal por período de coleta. A urina de cada cão foi coletada em recipientes plásticos acoplados sob funil coletor da gaiola, contendo 1 mL de ácido sulfúrico 1N como conservante. Após a mensuração do volume, as urinas foram armazenadas em garrafas plásticas identificadas e mantidas em freezer (-15°C) até realização das análises laboratoriais.

As fezes foram avaliadas quanto ao escore, de acordo com Carciofi (2008), atribuindo-se notas de 0 a 5, sendo: 0 = fezes líquidas; 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes, que não marcam o piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas, considerando-se normal valores entre 3 e 4.

Ao final do período de coleta, fezes e urina de cada animal foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra por animal. Posteriormente, as fezes foram secas em estufa de ventilação forçada (320-SE, FANEM, São Paulo, Brasil) a 55°C, por 72h. A urina, após filtração, foi pipetada (5 mL) em cápsulas de polietileno previamente pesadas em balança analítica e mantidas em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 24 horas, para redução do volume. Este procedimento foi repetido por mais duas vezes, totalizando 15 mL de urina. As amostras de fezes e rações foram moídas a 1mm em moinho de facas (MOD 340, ART LAB, São Paulo). As amostras foram analisadas para determinação da MS a 105°C, PB e MM segundo Silva & Queiroz (2002) e EEHA. O método de Prosky et al. (1992) foi usado para a determinação da FDT nas rações. A quantidade de amido das rações foi determinada de acordo com Miller (1959) e Hendrix

(1993). O conteúdo de energia bruta das rações, fezes e urina foi determinado por calorimetria em bomba calorimétrica (1281, PARR Instruments, EUA). Todas as análises foram conduzidas em duplicata, sob um coeficiente de variação menor que 5%.

Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da MS, PB, EEHA, MO e ENN das dietas contendo níveis crescentes de semente de açaí, segundo a equação:

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

O pH das fezes dos cães foi determinado nos dias 11º, 12º e 13º. Para isso, 4,0 gramas de fezes frescas foram colhidas imediatamente após a defecação e diluídos em (1:1,5 p/v) em água miliQ e o pH aferido em Ph-metro de precisão 0,01 pH (modelo DM20, Digicrom Analítica Ltda, São Paulo). Para determinação dos ácidos graxos de cadeia curta e ramificada, as mesmas amostras colhidas para pH foram utilizadas. Estas foram homogeneizadas e misturadas à 30 mL de ácido fórmico 4,2 N (1:3 w/w). Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 5000 G durante 15 minutos a 15°C por três vezes, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. Após a extração, as amostras foram identificadas e armazenadas em freezer (-15°C). A concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR) foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, *campus* de Jaboticabal, em cromatógrafo gasoso (Marca Shimadzu, modelo GC-2014) de acordo com Erwin et al. (1961). Para a determinação da concentração de ácido láctico foram empregados 3 gramas de fezes colhidas como descrito anteriormente. Estas foram rapidamente homogeneizadas e misturadas a 9 mL de água destilada. Esta mistura foi mantida sob refrigeração por um dia, sendo, então, centrifugada por três vezes a 5000 G à 15°C, por 15 minutos, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. A análise foi realizada de acordo com Pryce (1969) pelo método espectrofotométrico com leitura a 565 nm. Um branco reagente foi utilizado (lactato de lítio 1%) para calibrar o espectrofotômetro (QUICK - Lab marca DRAKE) e as amostras quantificadas comparando-as com padrão de ácido láctico a 0,08%.

2.4.2 Mensuração do *status* oxidativo sérico

O estudo para a determinação do *status* oxidativo dos animais, mediante ao consumo de dietas contendo níveis crescentes de semente de açaí, teve duração de 60 dias. Os animais foram, aleatoriamente, distribuídos entre os cinco tratamentos (n=6 por dieta) mantidos com a mesma dieta durante 60 dias. Amostras de 20 mL de sangue foram colhidas sob condições de assepsia nos dias 0 (início do estudo), 30 e 60 (término do estudo). Em cada coleta, foram obtidos 20 mL de sangue, o qual foi imediatamente transferido para tubos de ensaio de vidro sem anticoagulante e centrifugados a 3.000 G por cinco minutos para separação do soro. Em seguida à centrifugação, o soro foi pipetado e transferido para tubos eppendorf, identificados e armazenados à -80° C até o momento das análises.

2.4.3 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Este método foi realizado conforme descrito por Paya et al. (1992). A extensão da degradação dos lipídeos pelo ataque de radicais livres pode ser, indiretamente, medida por este método, que consiste na reatividade dos produtos finais da lipoperoxidação, especialmente o malondialdeído e outros aldeídos, com o ácido tiobarbitúrico, produzindo cromógenos que podem ser medidos espectrofotometricamente entre 520-540nm. Para este teste, 200 uL de soro sanguíneo foi adicionado a 2 mL de uma solução contendo ácido tiobarbitúrico (15% de ácido tricloroacético, 0,275% de ácido tiobarbitúrico e 0,25M de ácido clorídrico). Em seguida, os tubos foram fervidos por 15 minutos em banho-maria à 90- 100°C e, então, resfriados imediatamente em gelo triturado e centrifugados por 15 minutos a 1200G, formando um precipitado. O sobrenadante foi transferido para cubeta e teve sua absorbância determinada em espectrofotômetro UV-visível. O cromógeno desenvolvido foi identificado por meio de leituras de absorbância em um comprimento de onda fixo de 532nm, determinando a intensidade de lipoperoxidação na amostra. Os resultados foram expressos em valores de malondialdeído (MDA), considerando que a curva-padrão para a conversão das leituras de absorbância das amostras foi realizada utilizando-se MDA (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil), um produto final da oxidação lipídica e principal componente das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

2.4.4 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) - Método induzido

As amostras de soro foram incubadas em banho-maria por 2h à 37°C com tampão fosfato (controle) ou com cloreto de cobre (CuCl₂) na concentração de 100µM. Após o período de incubação, foi quantificada a concentração de TBARS no controle e com a oxidação induzida por cloreto de cobre, sendo considerado o valor da diferença entre as absorvâncias para a análise estatística.

2.4.5 Capacidade antioxidante total (TAC)

Foi utilizado kit específico (Antioxidant Assay Kit, CS0790, Sigma, São Paulo, Brasil), cujo princípio é a indução *in vitro* da formação dos radicais ferril mioglobina, metmioglobina e peróxido de hidrogênio que oxidam o ABTS (2,2- azino-bis, 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) levando a produção de um radical cátion ABTS⁺, um cromógeno solúvel de coloração esverdeada que pode ser determinado pelo espectrofotômetro num comprimento de onda de 405nm. Desta forma, a presença de antioxidantes na amostra inibe, parcialmente, a oxidação do ABTS. Para o teste, as soluções estoques foram preparadas de acordo com o procedimento que acompanha o Kit, a partir de amostra de soro. O procedimento foi realizado em placas de 96 poços sendo adicionados sobre o sobrenadante 10µL da solução trabalho de Trolox, 20µL da solução trabalho de mioglobina, 150µL de solução trabalho de ABTS. Passados dois minutos, período de incubação em temperatura ambiente e abrigo da luz, foi adicionado 100µL de solução stop, visando estabilizar a reação. Este tempo foi pré-determinado em outros estudos especificamente para amostras de soro de cães. Em seguida, foi efetuada a leitura em absorvância de 405nm. Para o conhecimento das concentrações de antioxidante foi construída uma curva padrão com a expressão dos resultados em equivalentes de TROLOX (análogo hidrossolúvel da vitamina E).

2.4.6 Tióis totais

Para a determinação dos tióis totais, empregou-se a metodologia descrita por Ellman (1959) com adaptações de acordo com Costa et al. (2006). Uma alíquota de 25µL de soro foi adicionada em um tubo de ensaio contendo 1mL de Tris-EDTA (0.25

mol/L Tris base, 0,20 mol/L EDTA, pH 8.2). Fez-se a primeira leitura (A1) e então adicionou-se 25 μ L de DTNB (10 mmol/L em metanol absoluto). Agitou-se e após 15 minutos à temperatura ambiente, fez-se a segunda leitura (A2). A concentração dos grupos sulfidril foi calculada utilizando uma curva padrão de glutathiona reduzida.

2.4.7 Análise cromatográfica dos compostos antioxidantes no soro dos animais

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico: metanol, ácido fórmico anidro e acetonitrila (Tedia, Brasil) e a água foi ultrapurificada pelo sistema Milli-Q (Millipore Corp Burlington, MA). O sistema CLAE-EM/EM foi composto por um cromatógrafo Waters Alliance e2965 acoplado ao espectrômetro de massas QuattroPremier XE (Waters Technology, EUA) com fonte de ionização por eletrospray (IES). As aquisições e processamentos de dados foram realizadas pelo software MassLynx (Waters Technology, EUA).

As análises cromatográficas foram realizadas em coluna ACE3 C18-300 (50 mm x 2,1 mm, 3 μ m, Aberdeen, Escócia), sob eluição isocrática com taxa de fluxo de 0,4 mL.min⁻¹. A fase móvel consistiu de metanol e de uma solução aquosa a 0,1% de ácido fórmico (70:30, v/v). A temperatura do injetor automático foi de 4°C e a da coluna 36°C. O volume de injeção foi 10 μ L. Os analitos foram monitorados em modo negativo de ionização (ESI-) e quantificados no modo MRM (*multiple reaction monitoring*), sendo acompanhados os íons de transição m/z 169.05 > 125 para o ácido gálico e m/z 300.95 > 229.15 para o ácido elágico. Os parâmetros para o MRM foram otimizados utilizando a infusão direta dos padrões. O nitrogênio foi utilizado como gás de dessolvatação (700 L.h⁻¹ a 350°C) e gás do cone (25 L.h⁻¹). A voltagem do capilar foi 3 kV e a temperatura da fonte de 120°C. As energias de colisão para o ác. gálico e elágico foram de 13 e 23 kV, respectivamente, e a voltagem do cone foi de 32 kV para o gálico e de 50 kV para o ácido elágico. O argônio foi utilizado na dissociação induzida por colisão com pressão de 3,12 x 10⁻³ na cela de colisão.

As soluções estoque de ácido gálico e elágico foram preparadas em metanol, na concentração de 1 mg.mL⁻¹ e estocada a 4°C, posteriormente foram feitas diluições em metanol para obtenção de soluções a 500 e 50 μ g.mL⁻¹. Os padrões de calibração em soro de cães foram preparados adicionando o volume necessário de padrão em soro branco (soro de cães que não se alimentaram com a ração teste), totalizando num volume de 100 μ L de amostra por concentração da curva analítica as quais foram 1; 5;

10; 25; 50; 75 e 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Depois de homogeneizadas, as amostras foram extraídas por meio de extração líquido-líquido, pela adição de 400 μL de metanol e agitação em vórtex por 30 s, na sequência, centrifugadas a 10000 rpm, a 4°C por 15 min. Então 250 μL foi transferido para um insert e 20 μL foi injetado no cromatógrafo.

A validação da metodologia analítica para determinação de ácido gálico e elágico em soro de cães seria feita de acordo com o Guia para indústrias de Validação de Métodos Bioanalíticos da *Food and Drug Administration* (FDA). Para os ensaios de validação, as curvas de calibração seriam construídas em sete níveis (1; 5; 10; 25; 50; 75 e 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). O preparo de amostras e as condições cromatográficas utilizadas estão descritas nas seções anteriores.

2.5 Análise estatística

O estudo seguiu delineamento em blocos casualizados, com medidas repetidas no tempo, com cinco tratamentos e três períodos, totalizando seis repetições por tratamento.

Os dados foram avaliados quanto à pressuposição de normalidade dos erros, pelo teste de Shapiro-Wilk e, posteriormente, foram submetidos à análise de variância, pelo procedimento GLM do SAS 8.0 (versão 8.0, SAS INSTITUTE INC., Cary, USA). Para dados que não apresentaram distribuição normal, foi utilizada a metodologia de modelos lineares generalizados em função dos resíduos, utilizando-se o PROC GENMOD do SAS, considerando distribuição gamma com função de ligação inversa. Contrastes polinomiais foram determinados para se verificar possíveis efeitos lineares ou quadráticos da inclusão da semente de açaí, considerando os teores de inclusão como variável independente. Para a análise dos taninos totais durante o processamento das dietas, considerou-se a etapa do processo (saída do condicionador, saída da extrusora ou saída do secador) independente do teor de inclusão da semente de açaí. Para isto procedeu-se a análise de Covariância e o teor de taninos no alimento farelado foi considerado como covariável para as demais etapas. As comparações das médias dos níveis de inclusão foram realizadas dentro de cada etapa do processo e entre as etapas do processo, pelo teste Tukey, considerando 5% de probabilidade.

3. Resultados

Análises do ingrediente

A semente de açaí é uma típica fonte de fibras, a qual apresentou teor de FDT de 88,98%, com baixos teores de proteína, gordura e minerais. Na Tabela 2 podem ser verificados os teores de compostos antioxidantes, os quais representaram aproximadamente 6,0% da matéria seca da semente. Destes polifenóis, aproximadamente 60% são taninos e o restante, antocianinas.

Tabela 2. Composição química analisada (dados na matéria seca) e parâmetros qualitativos da semente de açaí (*E. oleracea* Mart.)

Item	g/Kg
Matéria seca	870,1
Proteína	42,3
Extrato etéreo	31,8
Matéria mineral	67,9
Fibra bruta	283,0
Fibra em detergente neutro	644,0
Fibra em detergente ácido	412,0
Lignina	34,1
Fibra dietética total ¹	889,8
Extrato não-nitrogenado	445,9
Compostos antioxidantes	
Polifenóis totais (%) ²	5,95
Taninos totais (%) ²	3,43
Antocianinas totais (%) ³	2,94

¹Análise realizadas no Laboratório de Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos da Universidade Estadual Paulista (Jaboticabal, Brasil). ²Análises realizadas no Laboratório de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá. ³Análise realizada pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos, de Campinas –SP, Brasil. ENN= estimados por: 100 – (umidade% + PB% + EE% + FB% + MM%).

A semente de açaí apresentou elevada capacidade antioxidante, observada pelo percentual de descoloração do radical DPPH pelos antioxidantes, os quais foram de 2,12%; 93,4% e 66,8% para os extratos etéreo, etanólico e aquoso, respectivamente, indicando alto teor de compostos antioxidantes solúveis em álcool e água. Nesta análise,

os resultados de descoloração foram superiores ao BHT, na concentração de 0,2 mg/mL (19,35%), conforme resultados expressos na Figura 1.

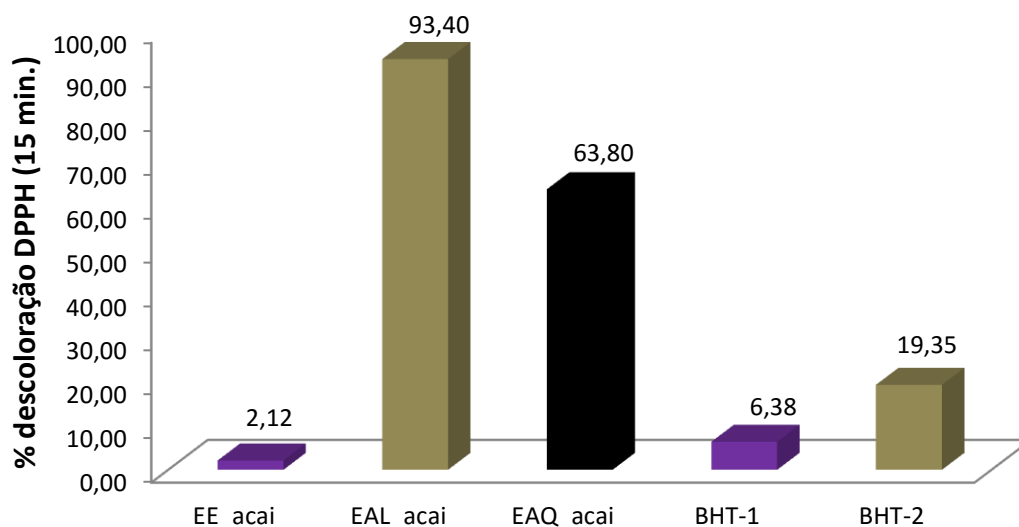


Figura 1. Percentual (%) de descoloração dos extratos etéreo (EE), etanólico (EAL) e aquoso (EAQ) da semente de açaí e do padrão BHT nas concentrações de 0,1 mg/mL (BHT-1) e 0,2 mg/mL (BHT-2) após 15 minutos do teste, o que representa o sequestro do radical DPPH

O elevado percentual de descoloração dos extratos etanólico e aquoso da semente de açaí indica a presença de compostos antioxidantes solúveis nestes solventes (água e etanol). Conforme os resultados da análise dos compostos antioxidantes (Tabela 2), os compostos presentes nestes extratos provavelmente são os taninos e antocianinas, com possíveis ações antioxidantes no organismo dos animais.

Digestibilidade e parâmetros fermentativos intestinais

Os alimentos foram adequadamente consumidos pelos cães e, durante os 60 dias de experimento, não foram observados episódios de rejeição ao alimento, vômitos ou diarreia. O consumo de MS não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$) (Tabela 3). Na mesma tabela pode ainda ser visto que não houve efeito da inclusão da semente de açaí sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes ($P > 0,05$).

Tabela 3. Consumo de matéria seca ($\text{g/Kg}^{0,75}/\text{dia}$), coeficientes de digestibilidade aparente e energia metabolizável (EM, MJ/kg) de dietas contendo semente de açaí

Variáveis	Níveis de inclusão de semente de açaí						CV%	P
	0,0%	2,0%	4,0%	6,0%	8,0			
PM (Kg)	6,78	7,03	6,60	6,98	6,88	0,068	0,541	
	Consumo de MS ($\text{g/Kg}^{0,75}$)							
	30,1	32,8	33,7	30,6	29,6	0,100	0,109	
	Coeficiente de digestibilidade aparente							
MS	0,733	0,759	0,755	0,754	0,743	0,03	0,426	
PB	0,832	0,846	0,830	0,832	0,827	0,02	0,507	
MO	0,781	0,808	0,799	0,796	0,787	0,02	0,308	
EEHA	0,923	0,917	0,918	0,924	0,919	0,009	0,699	
ENN	0,835	0,841	0,837	0,829	0,820	0,02	0,273	
EB	0,816	0,842	0,841	0,826	0,822	0,03	0,386	
EM	15,9	16,4	16,5	16,2	16,1	0,04	0,642	
	Nutrientes Digestíveis							
MSD	0,695	0,701	0,715	0,709	0,711	0,06	0,903	
PD	0,213	0,222	0,213	0,212	0,217	0,02	0,437	
EEAD	0,119	0,127	0,128	0,126	0,126	0,01	0,608	

CV: coeficiente de variação; P: probabilidade; PM (peso metabólico= peso corporal^{0,75}); MS (matéria seca); MO (matéria orgânica); PB (proteína bruta); EEHA (extrato etéreo em hidrólise ácida); EB (energia bruta, kcal/kg); EM (energia metabolizável, MJ/kg). MSD= matéria seca digestível; PD= proteína digestível; EEAD= extrato etéreo em hidrólise ácida digestível.

Na tabela 4 estão apresentadas as características das fezes e os produtos de fermentação intestinal dos cães. O pH fecal, escore, matéria seca fecal e as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e ramificada e ácido lático das fezes dos cães não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$).

Tabela 4. Características das fezes, e indicadores de fermentação intestinal de cães alimentados com níveis crescentes de semente de açaí na dieta

Variável	Níveis de inclusão de semente de açaí						CV(%)	P
	0,0%	2,0%	4,0%	6,0%	8,0			
pH fecal	6.81	6.84	6.89	6.77	6.71	0.037	0.785	
Escore	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	0,000	-	
Matéria seca (g/kg)	415	461	425	476	464	0.103	0.138	
Ácidos graxos $\mu\text{Mol/kg}$ MS fecal								
Acetato	31,03	27,72	27,42	25,18	27,14	0,147	0,203	
Propionato	9,38	12,32	9,95	10,65	8,78	0,260	0,212	
Butirato	6,71	5,75	6,67	5,31	6,20	0,193	0,221	
Isobutirato	1,14	1,01	1,06	0,95	1,05	0,167	0,425	
Valerato	0,04	0,07	0,04	0,05	0,03	0,53	0,190	
Isovalerato	1,79	1,54	1,61	1,50	1,63	0,17	0,400	
AGCC totais	48,27	46,81	45,11	42,10	43,18	0,127	0,351	
AGCR totais	2,98	2,63	2,72	2,50	2,71	0,157	0,412	
AG Totais	56,06	53,66	52,19	43,66	43,78	0,12	0,340	
Lactato	10,48	11,70	10,57	13,19	9,21	0,22	0,100	

CV % (coeficiente de variação) n=30; P: probabilidade; AGCC totais (ácidos graxos de cadeia curta totais, somatório de acético, propiônico e butírico); AGCR totais (ácidos graxos de cadeia ramificada, somatório de isobutírico, isovalérico e valérico); AG totais (somatório de AGCC e AGCR).

A semente de açaí não demonstrou efeito sobre as variáveis oxidativas dos animais aos 30 e 60 dias em relação ao momento inicial e níveis de inclusão de semente de açaí na dieta ($P>0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Concentração sérica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e TBARS-induzido), capacidade antioxidante total (TAC, expresso em Eq de Trolox nmol/L), e tióis totais séricas dos cães nos momentos inicial, 30 e 60 dias

Item	Níveis de inclusão da semente de açaí					Média	EPM ¹
	0,0%	2,0%	4,0%	6,0%	8,0%		
TBARS ($\mu\text{mol/mL}$ de MDA)							
Dia 0	0,032	0,032	0,032	0,032	0,032	0,032	0,0009
Dia 30	0,030	0,029	0,027	0,027	0,025	0,028	0,0009
Dia 60	0,027	0,027	0,025	0,027	0,028	0,027	0,0005
Média	0,030	0,029	0,028	0,029	0,028		
EPM	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002		
TBARS-oxid ($\mu\text{mol/mL}$ de MDA)							
Dia 0	0,057	0,058	0,060	0,054	0,064	0,059	0,003
Dia 30	0,055	0,057	0,056	0,057	0,056	0,056	0,003
Dia 60	0,057	0,056	0,059	0,063	0,063	0,061	0,003
Média	0,056	0,057	0,058	0,058	0,061		
EPM	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003		
TBARS Diferença (TBARS-amostra – TBARS-oxid)							
Dia 0	0,025	0,026	0,028	0,022	0,032	0,026	0,001
Dia 30	0,025	0,028	0,029	0,027	0,031	0,028	0,0009
Dia 60	0,030	0,027	0,034	0,039	0,035	0,033	0,001
Média	0,026	0,027	0,030	0,029	0,036		
EPM	0,001	0,0009	0,001	0,002	0,002		
Tióis Totais (Absorbância)							
Dia 0	0,141	0,144	0,141	0,142	0,152	0,145	0,002
Dia 30	0,139	0,151	0,155	0,153	0,150	0,152	0,002
Dia 60	0,146	0,145	0,142	0,145	0,152	0,146	0,001
Média	0,142	0,147	0,146	0,147	0,151		
EPM	0,002	0,002	0,005	0,003	0,001		
Capacidade Antioxidante Total (Eq de Trolox nmol/L)							
Dia 0	90,97	98,56	135,43	115,76	112,81	110,7	7,7
Dia 30	111,6	109,3	106,3	84,2	91,5	100,7	5,39
Dia 60	118,4	87,4	121,7	91,7	84,2	100,6	8,01
Média	106,9	98,4	121,1	97,2	96,1		
EPM	8,27	6,32	8,40	9,5	8,47		

¹EPM: erro padrão da média.

Neste estudo não verificou-se o efeito de tratamento e período nos testes utilizados para a avaliação da lipoperoxidação (TBARS) na amostra e TBARS induzido, capacidade antioxidante (TAC) e tióis totais sérico dos animais (Figuras 2 e 3).

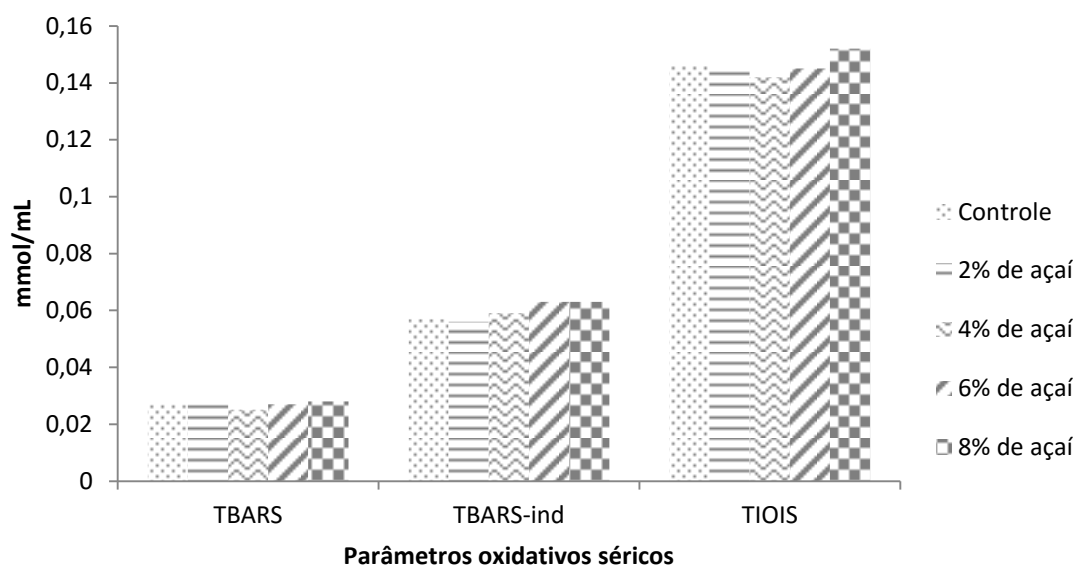


Figura 2. Parâmetros oxidativos das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), TBARS-induzido e tióis das amostras de soro de cães.

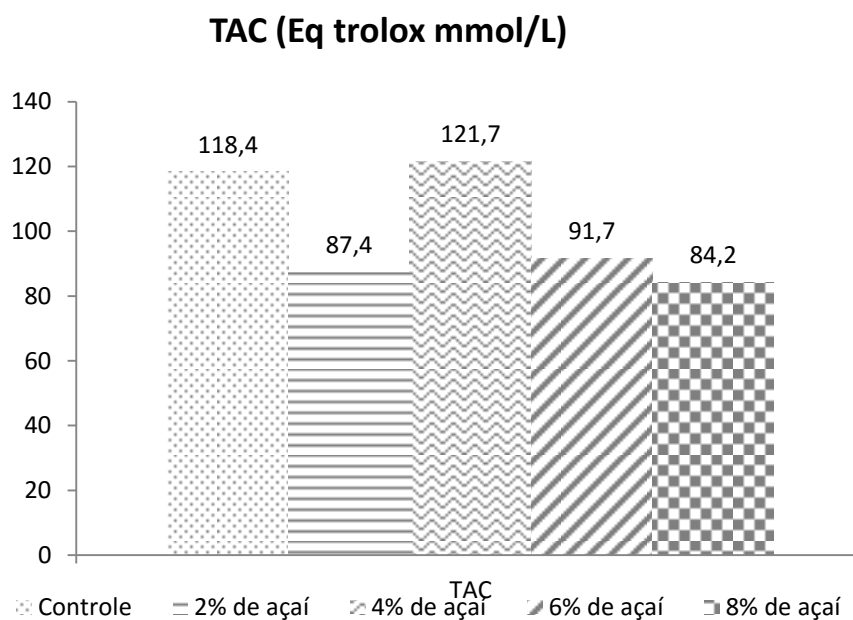


Figura 3. Capacidade antioxidante total das amostras de soro de cães.

Os resultados das variáveis de processamento das dietas avaliados durante a extrusão estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Variáveis do processo de extrusão e características dos extrusados

Variáveis	Níveis de inclusão de semente de açaí				
	0,0%	2,0%	4,0%	6,0%	8,0%
T °C condicionador	71,7	68,3	72,7	71,5	71,5
T °C extrusora	111,3	111,3	117,7	118,0	116,5
Densidade (g/L)	390	390	400	420	450
T °C secador	140,0	140,0	140,3	140,7	140,0
EME (kW-h/ton)	17,8	17,4	17,7	17,4	18,5
Produtividade (kg/h)	201,3	201,2	202,4	210,1	213,1

T°C: temperatura em graus Celsius; EME: energia mecânica específica.

As concentrações de tanino nas dietas durante o processo de extrusão estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Concentração de taninos (expresso em equivalente grama de ácido tânico/kg de matéria seca) em dietas contendo diferentes níveis de semente de açaí, nas diferentes etapas do processo de extrusão.

Item	Níveis de inclusão de semente de açaí					média	EPM ^a	R ²
	0,0%	2,0%	4,0%	6,0%	8,0%			
Taninos (Eq. ác. Tânico/kgMS)								
Farelada	2,32	2,87	3,88	7,15	7,19	4,68 ^a	1,05	0,90 ¹
Condicionador	2,18	2,28	2,02	2,65	2,98	2,42 ^b	0,17	0,65 ²
Extrusora	1,65	1,74	1,84	1,63	1,94	1,76 ^b	0,06	0,32 ³
Secador	1,82	1,73	1,84	1,83	1,95	1,83 ^b	0,08	0,52 ⁴

¹ $\hat{Y} = +1,878 + 0,701X$; ² $\hat{Y} = +2,028 + 0,098X$; ³ $\hat{Y} = +1,666 + 0,023X$; ⁴ $\hat{Y} = +1,762 + 0,018X$.

^aEPM = erro padrão da média; R² = coeficiente de determinação.

^{a,b}Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

4. Discussão

A semente de açaí é uma típica fonte de fibras, a qual apresentou teor de FDT de 88,97%, com baixos teores de proteína, gordura e minerais. Dos compostos antioxidantes avaliados no estudo, aproximadamente 50% são taninos e o restante, antocianinas. O elevado percentual de descoloração dos extratos etanólico e aquoso da semente de açaí determinado pelo teste do DPPH indica a presença de compostos antioxidantes solúveis nestes solventes (água e etanol). Conforme os resultados da análise dos compostos antioxidantes os compostos presentes nestes extratos provavelmente são os taninos e antocianinas, com possíveis ações antioxidantes no organismo dos animais.

Em um estudo das atividades antioxidantes de extratos de plantas medicinais tropicais e orientais, Choi et al. (1998) utilizaram extratos de sementes de *Euterpe oleracea* os quais demonstraram alta atividade antioxidante contra a oxidação do ácido linoleico *in vitro*, bem como potente capacidade de eliminação contra radicais DPPH e ânion superóxido, corroborando os resultados obtidos no presente estudo. Desse modo, os extratos de semente de açaí podem possuir benefícios semelhantes aos de, por exemplo, sementes de uva ou extratos de casca de pinheiro, os quais são especialmente ricos em procianidinas oligoméricas. Os extratos de plantas ricos em compostos fenólicos demonstraram não só a capacidade de eliminação de radicais *in vitro*, semelhantes ou superiores ao BHT (Ahn et al., 2002; Zhang et al. 2001), mas também, por exemplo, evitando a catarata (Yamakoshi et al., 2002) e como propriedades antibacterianas (Jayaprakasha et al., 2003).

A digestibilidade dos nutrientes pode ser afetada de modo diferente em função das características físico-químicas e da quantidade de fibra adicionada à dieta (NRC, 2006). No presente estudo a inclusão da fibra de açaí foi realizada em detrimento da fibra de cana, as quais apresentam composições semelhantes. De acordo com Pinto (2007) a fibra de cana possui em sua composição 53,5% de celulose, 31,3% de hemicelulose, 6,4% de lignina, 2,6% de proteína bruta, 2,6% de matéria mineral e conteúdo inexpressivo de gordura. Com cerca de 90% de fibra dietética total, a fibra de cana possui, praticamente, 100% de fibra insolúvel.

Alguns estudos avaliaram a fibra de cana na nutrição de cães e por este motivo esta fonte de fibra foi empregada na dieta controle, por ter seu comportamento no trato digestório já estudada. Pela sua característica físico-química, para cães a fibra de cana

de açúcar apresenta baixa fermentabilidade *in vitro* (Calabrò et al., 2008), reduz o tempo de retenção do alimento no trato digestório, aumenta o volume fecal e reduz linearmente os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica e da energia bruta (Lopes, 2013) para cães. Pinto (2007) observou redução da digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e energia bruta, quando foi incluída uma mistura de 2% de celulose e 12% da fibra de cana à dieta de cães adultos.

As fibras insolúveis possuem esta característica de influenciar a digestibilidade da MS, EB e MO, pois, uma vez que não são atacadas por enzimas endógenas ou microbianas do animal, geralmente são eliminadas de forma integral nas fezes. Por outro lado, estas fibras possuem importantes propriedades em pet food, tais como estimular o trânsito intestinal, estimular a saciedade, reduzir a densidade calórica do alimento e favorecendo a viscosidade da digesta (Fahey et al., 1990a; Lewis et al., 1994; Hill et al., 2000) formação e consistência das fezes (Burkhalter et al., 2001). Fibra de baixa fermentação leva à diminuição da digestibilidade da matéria seca, mas ocasiona baixa interferência na digestibilidade dos demais nutrientes, no teor de água e na qualidade das fezes produzidas (Carciofi, 2005).

Nas concentrações avaliadas neste estudo, a semente de açaí não influenciou a digestibilidade dos nutrientes. Embora não seja possível concluir, uma provável explicação para isto é que este ingrediente apresenta características funcionais no trato digestório muito semelhante à fibra de cana, usada na dieta Controle deste estudo. Desta forma, embora não tenha sido verificada redução na digestibilidade e energia metabolizável das dietas com a inclusão de semente de açaí, deve ser considerado que a digestibilidade da MS e MO encontradas na dieta Controle foram baixas, muito provavelmente pelo efeito desta fibra no aproveitamento da dieta. Assim, pode-se inferir que a semente de açaí apresenta propriedades muito semelhantes sobre o aproveitamento dos nutrientes, uma vez que sua inclusão em substituição à fibra de cana não afetou o aproveitamento da dieta.

Características como solubilidade e fermentabilidade definem a funcionalidade da fibra para cães (Carciofi, 2000; NRC, 2006). A fermentação diz respeito à velocidade e à extensão de degradação bacteriana da fibra e à correspondente produção de AGCC. Estes últimos são benéficos ao trato gastrointestinal, mas em elevadas concentrações promovem aumento do peristaltismo, do teor de água das fezes e diminuição da digestibilidade da proteína e gordura (Sunvold et al., 1995; Carciofi, 2000).

Fibra solúvel pode ter elevada capacidade de retenção de água, formando géis que aumentam a viscosidade luminal interferindo na cinética de digestão e absorção. Esta, geralmente, é mais rapidamente degradada pela microbiota intestinal, resultando em concentrações significativas de ácidos graxos de cadeia curta (Swanson et al., 2002). No entanto, nem sempre isto ocorre, pois algumas fibras de elevada solubilidade como goma arábica e de psyllium são muito pouco fermentáveis pela microbiota intestinal de cães (Sunvold, 1995b). Em contraste, a fibra insolúvel tem menor capacidade de retenção de água e é, geralmente, pouco fermentável pela microbiota do intestino. Isto, no entanto, também é bastante variável entre as fontes de fibra insolúvel e algumas apresentam considerável capacidade de fermentação, de modo que este aspecto deve sempre ser estudado e considerado nas formulações (Bosh et al., 2008; Calabrò et al., 2013).

As fibras são consideradas solúveis quando formam gel em solução (retenção de água), atrasam o esvaziamento gástrico e reduzem o trânsito intestinal, inibem a absorção de colesterol e outros nutrientes, são altamente fermentadas no cólon (aumentam o número de bactérias e incrementam a produção de AGCC, especialmente a de butirato, uma importante fonte de energia para os colonócitos), acidificam o lúmen intestinal e estimulam a proliferação celular no cólon. Exemplos de fibra solúvel incluem os frutoligosacarídeos (FOS), pectinas, psyllium, aveia, cevada, goma guar, frutas e alguns legumes (Zoran, 2003). Ao contrário das fibras solúveis, as insolúveis não formam gel, não têm efeito sobre o esvaziamento gástrico, aumentam ou normalizam o trânsito intestinal e não alteram a absorção dos nutrientes (diluem o conteúdo colônico e isolam agentes nocivos no cólon), são menos fermentáveis, produzindo uma quantidade reduzida de AGCC e aumentam a produção fecal.

A adição de fibra à ração de animais de companhia é importante para que haja adequado suprimento de matéria orgânica para o intestino grosso (NRC, 2006). Assim, a concentração de carboidratos fermentáveis na dieta influencia a utilização da mesma, sendo que a fermentação microbiana destes compostos leva à produção de AGCC (Carciofi, 2005). Os AGCC, como acetato, propionato e butirato são prontamente absorvidos pela mucosa do cólon e representam a principal fonte de energia para os colonócitos (NRC, 2006). Avaliando os efeitos da inclusão de celulose, FOS e pectina em alimentos para gatos sobre as variáveis de fermentação intestinal, Barry et al. (2010) relataram maior concentração de AGCC para alimentos contendo pectina, seguido de

FOS e celulose. Em recente estudo, Neto et al. (2015) também não observaram diferenças na concentração de AGCC no intestino grosso de gatos adultos alimentados com dietas contendo níveis crescentes de feijão partido na dieta, atribuindo, desta forma, a este ingrediente uma fonte de fibras de baixa fermentabilidade em decorrência da maior concentração de fibras insolúveis.

No presente estudo, a ausência de efeito ($P>0,05$) das dietas sobre os produtos de fermentação intestinal dos cães como os AGCC e lactato indica que a inclusão da fibra de açaí nas dietas não alterou a taxa de fermentação no intestino grosso desses animais. Em função da presença de importante quantidade de celulose e hemicelulose, o ingrediente objeto do presente estudo, assim como as fibras de cana e celulose, são fontes de fibra insolúveis não fermentáveis (NRC, 2006).

Ao contrário dos AGCC, os AGCR são exclusivos da fermentação de aminoácidos de cadeia ramificada. Isobutirato, isovalerato e 2-metilbutirato são produzidos a partir da fermentação de valina, leucina e isoleucina, respectivamente (Smith & Macfarlane, 1997). A degradação bacteriana de aminoácidos aromáticos no cólon resulta na produção de compostos fenólicos e indóis. Ainda, as espécies de bactérias proteolíticas, que incluem os gêneros *Clostridium*, *Enterobacteriaceae* e algumas espécies de *Eubacterium* também produzem aminas biogênicas, amônia, fenóis, entre outros (Middelbos, 2007). Os AGCR, isobutírico, valérico e isovalérico são os principais produtos da fermentação microbiana de proteínas e a avaliação da sua concentração nas fezes pode ser um indicativo da qualidade proteica do alimento (Barry et al., 2010). De acordo com os resultados obtidos no presente estudo é possível observar que a inclusão de fibra de açaí até o nível de 8,0% não influenciou ($P>0,05$) a concentração dos AGCR. O aumento da concentração de ácidos graxos e lactato no intestino pode diminuir o pH intestinal (Cummings et al., 1991).

A acidificação do lúmen intestinal pode inibir o crescimento e proliferação de bactérias patogênicas como as do gênero *Escherichia*, *Clostridium*, *Staphylococcus* e *Salmonelas* relacionadas com injúria à mucosa do intestino. Middelbos et al. (2007), estudando diferentes fontes de fibra para cães (celulose, polpa de beterraba, FOS e MOS), encontraram maior concentração de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. nas fezes de cães alimentados com fibras fermentáveis em relação aos cães que receberam uma dieta com celulose. Entretanto, não foi observada diferença ($P>0,05$) para o pH das fezes até o nível de 8,0% de inclusão de fibra de açaí em alimentos

extrusados para cães. Este ingrediente foi considerado de baixa fermentabilidade, uma vez que a dieta teste apresentou os mesmos valores fecais de AGCC e AGCR que a fibra de cana, considerada uma fonte de fibra de baixa fermentação.

A lipoperoxidação é um fenômeno bioquímico que ocorre em diferentes processos fisiológicos (fagocitose, respiração mitocondrial, ativação plaquetária, etc.) e fisiopatológicos (isquemia, hipóxia, processos degenerativos, etc). O malondialdeído (MDA) é um produto do catabolismo (hidrólise) dos lipoperóxidos resultantes dos processos acima citados e que reage com o ácido tiobarbitúrico para a formação de composto avermelhado, quantificado espectrofotometricamente pelo método do TBARS (Richard et al., 1992).

A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico é extensivamente empregada para investigar a peroxidação lipídica e também muito utilizada em outros estudos em cães. Neste estudo, além da avaliação sérica das concentrações de TBARS (TBARS-amostra), empregou-se a quantificação de TBARS após a indução da oxidação (TBARS-oxid) das amostras *in vitro*, na qual a amostra foi incubada com sulfato de cobre para catalisar as reações de oxidação. Outra medida utilizada foi a diferença entre as concentrações de TBARS-oxid e TBARS-amostra (TBARS-diff), a qual mede a resistência das amostras à oxidação, fornecendo informações indiretas sobre a capacidade antioxidante das amostras. As antocianinas são consideradas relativamente instáveis e, por essa razão, fatores ambientais, processamento e condições de armazenamento são todos relevantes para a preservação do potencial bioativo de um produto rico em antocianina. Atenção às questões de processamento térmico é especialmente crítica para manter a estabilidade das antocianinas. A temperatura e duração do aquecimento influenciam a extensão da degradação desses compostos. Hager et al. (2008) relataram perdas de antocianina (até 65%), bem como a diminuição das capacidades antioxidantes em amora preta submetidas ao processamento térmico com temperatura máxima de 30°C. Não foram encontrados trabalhos que avaliassem a fibra de açaí na resposta antioxidante de cães. Considerando que todos os cães estavam saudáveis e que a dieta controle foi considerada de elevado valor nutricional, os benefícios observados na resposta antioxidante dos animais frente à ingestão de semente de açaí merecem atenção especial em futuros estudos *in vivo* e *in vitro* com este ingrediente.

Aliado aos resultados da extrusão das dietas, em que os taninos sofreram drástica redução durante o processamento e aos dados de literatura referentes à instabilidade térmica das antocianinas citados acima, esta ausência de efeito antioxidante da semente de açaí era esperada. Por este motivo o uso de antioxidantes e outros compostos naturais em alimentos extrusados deve ter atenção especial, uma vez que a maior parte é inativada ou destruída durante as etapas do processo. A indústria alimentícia tem empregado extensivamente estes compostos nos alimentos e os dados apresentados nesta pesquisa reforçam a necessidade de estudos de estabilidade de compostos bioativos em alimentos extrusados.

Os resultados dos testes para determinação dos ácidos gálico e elágico no soro de cães seriam avaliados conforme os critérios de aceitação descritos pelo FDA (Food and Drug Administration). Foi analisada uma curva completa para obtenção de um coeficiente de correlação (r^2), e antes de prosseguirmos com a validação completa do método, as amostras provenientes dos cães tratados com a ração em estudo foram analisadas, para verificarmos se seria possível a quantificação dos analitos de interesse. Nas amostras provenientes dos cães que consumiram a ração pelo maior período de tratamento, os sinais referentes aos ácidos gálico e elágico estavam abaixo do limite inferior de quantificação da metodologia desenvolvida, inviabilizando, portanto, a quantificação.

Os compostos fenólicos sofrem uma grande metabolização no organismo e também são facilmente degradados se não forem tomados certos cuidados com as amostras. De acordo com Song et al. (2010), um obstáculo para a análise do ácido gálico (AG) surge em virtude da sua instabilidade no plasma e que esta instabilidade pode ser devido à natureza alcalina moderada de plasma, o que sugere que a estabilidade pode ser obtida por meio da adição de ácido sulfúrico por exemplo. Em relação ao ácido elágico (AE), conforme relatam Seeram et al. (2004), a absorção, biodisponibilidade e farmacocinética do (AE) administrados por via oral não foram adequadamente investigadas no corpo humano. Também não há relatos de estudos definitivos sobre a absorção e metabolismo de ETs em humanos. O conhecimento atual sobre a biodisponibilidade da AE e AG se limita a estudos com ratos e camundongos. Quando ratos receberam elagitaninos (ETs) (a partir de framboesas ou romãs a 600 mg/kg de peso, por sonda gástrica), o AE foi detectado na urina (0,05% da dose) como um resultado da absorção e metabolismo de ETs. No entanto, nenhuma concentração de

AE foi recuperada a partir do sangue ou de tecidos de ratos alimentados durante uma semana com uma dieta contendo 1% de AE. Após a administração oral de AE em ratos, 10% da dose excretada foi detectada como metabólitos na urina e fezes. As baixas concentrações de AE livre no plasma têm sido atribuídas à sua baixa solubilidade em água, e também pode ser devido à sua extensa transformação metabólica e degradação antes da absorção. Além disso, a EA apresenta a característica de se ligar irreversivelmente o DNA e as proteínas celulares, que também podem ser responsáveis por sua absorção transcelular limitada. Já os ETs são mais solúveis, a sua absorção ou seus produtos de transformação é facilitada. Também porque ETs são facilmente hidrolisados, a ação *in vivo* do pH fisiológico e/ou ação enzimática pela microflora intestinal poderia levá-los a quebra e liberar unidades de AE. No entanto, esta questão, bem como os perfis farmacocinéticos de ETs ou AE em humanos ainda é inexplorado (Seeram et al., 2004).

No presente trabalho, para o estudo de quantificação desses compostos em fluido biológico de cães, seria mais apropriada a utilização de plasma acidificado, logo após a coleta das amostras, pois assim, poderíamos verificar menores perdas dos analitos no processamento, o que talvez pudesse viabilizar a quantificação. Desse modo, esses fatos precisam ser melhor investigados, para maior explanação a respeito de uma possível ação antioxidante no organismo, proveniente dos metabólitos dos compostos fenólicos encontrados na semente de açaí.

Em relação ao comportamento dos taninos durante o processo de extrusão, houve aumento nas concentrações de taninos nas dietas fareladas, com a inclusão de semente de açaí. À medida que as dietas foram submetidas ao processamento térmico, a partir do pré-condicionador, os teores de taninos sofreram marcada redução, especialmente nas dietas contendo semente de açaí. A maior parte dos taninos foi eliminada no pré-condicionador. A temperatura desta etapa do processo é de aproximadamente 90 °C. Nwabueze et al. (2007) verificaram redução no teor de taninos de 92%, após o processo de extrusão, em três diferentes ingredientes. Este autor ainda verificou que houve correlação inversa entre a energia mecânica utilizada no processamento do alimento com a redução nos teores de taninos. A redução no teor de taninos verificada neste experimento de, aproximadamente, 73% na dieta com 8% de inclusão de semente de açaí, é importante por dois motivos: o primeiro, pelo fato de que os taninos são compostos que dão adstringência aos alimentos e poderiam causar recusa por parte dos

animais; segundo, pois os taninos prejudicam a ação de proteases endógenas, dificultando a digestão das proteínas.

Nenhum destes efeitos adversos dos taninos foi observado neste estudo, possivelmente pela sua inativação durante o processamento. Sharma et al. (2012) relataram diminuição no conteúdo fenólico total e teor total de flavonoides em extrusados de cevada em que a umidade e temperatura da extrusão afetaram significativamente as propriedades antioxidantes da cevada. Do mesmo modo, Alonso et al. (2001) também relatam redução no conteúdo de tanino em sementes de ervilha e feijão, provavelmente devido à hidrólise dessas moléculas. O cozimento por extrusão melhora a absorção aparente de muitos minerais presentes na ervilha e feijão. Este aumento na absorção pode ser explicado pelo efeito positivo da extrusão na redução dos fatores antinutricionais (fitatos, taninos condensados e lectinas). Dlamini et al. (2007) estudando o efeito de extrusão termoplástica nos teor de fenóis totais, teor de tanino e atividade antioxidante de grãos de sorgo inteiro e quebrado, observaram que o cozimento por extrusão reduz significativamente os fenóis e taninos totais, dos sorgos avaliados. Anton et al. (2009) observaram redução de, aproximadamente, 70% no teor de fenóis totais de feijão e milho extrusados.

Se por um lado a redução nos teores de taninos totais nas dietas neste estudo foram importantes para a palatabilidade e digestibilidade, por outro, a perda de compostos fenólicos durante a extrusão reduz ou exclui as possibilidades da semente de açaí apresentar efeitos antioxidantes no organismo dos animais. Outro fator importante verificado é que, após a extrusão e secagem, os teores de taninos foram próximos entre as dietas, independentemente da inclusão de semente de açaí. É possível que o método empregado neste estudo, por ser baseado em gravimetria e espectrofotometria, possa quantificar outros compostos fenólicos presentes nas dietas, sendo estes, termorresistentes, tais como antioxidantes sintéticos (BHT, BHA, etoxiquim, TBHQ, galato de propila) e outros compostos fenólicos.

5. Conclusões

A fibra de açaí é tipicamente insolúvel e não-fermentável, e nas condições em que foi utilizada, não possui atividade antioxidante para cães. A elevada atividade antioxidante *in vitro* apresentada se deve à elevada presença de taninos e demais compostos fenólicos da semente de açaí, que reduzem acentuadamente durante o processo de extrusão. As reduções nos compostos fenólicos presentes nos alimentos durante o processo de extrusão limitam a utilização dos mesmos como antioxidantes em *pet food*.

6. Referências

- Ahn, J., Grun, I.U., Fernando, L.N., 2002. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *J. Food Sci.* 67, 1364-1369.
- Alonso, R., Rubio, L. A., Munzquiz, M., Marzo, F., 2001. The effects of extrusion cooking on mineral bioavailability in pea and kidney bean seed meals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 94, 1-13.
- Anton, A.A., Fulcher, R.G., Arntfield, S.D., 2009. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris* l.) flour: effects of bean addition and extrusion cooking. *Food Chem.* 113 (4), 989-996.
- Association of American Feed Control Officials, 2010. Dog and cat nutrient profiles. Official Publication. Association of American Feed Control Officials Inc., AAFCO, West Lafayette, IN.
- Barbehenn, R.V., Constabel, P.C., 2011. Review-Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochem.* 72, 1551–1565.
- Barry, K. A., Wojcicki, B. J., Middelbos, I. S., Vester, B. M., Swanson K. S., Fahey, G. C., 2010. Dietary cellulose, fructooligosaccharides, and pectin modify fecal protein catabolites and microbial populations in adult cats. *J. Anim. Sci.* 88, 2978-2987.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E, Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol.* 28, 25-30.
- Brennan, C., Brennan, M., Derbyshire, E., Tiwari, K. B., 2011. Effects of extrusion on the polyphenols vitamins and antioxidants activity of foods. *Food Sci. Technol.* 22, 570-575.
- Bosch, G., Verbrugghe, A., Hesta, M., 2008. The effects of dietary fibre type on satiety-related hormones and voluntary food intake in dogs. *Brit. J. Nutr.* 102, 318-325.
- Butolo, J.E., 2010. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. Campinas: Colégio Brasileiro de Alimentação Animal, 2ª ed, 430 p.
- Burkhalter, T.M., Merchen, N.R., Bauer, L.L., Murray S. M., Patil. J.L., Brent, Fahey, G.C., 2001. The Ratio of Insoluble to Soluble Fiber Components in Soybean Hulls Affects Ileal and Total-Tract Nutrient Digestibilities and Fecal Characteristics of Dogs. *J. Nutr.* 131, 1978–1985.
- Calabrò, S., Cutrignelli, M.I., Bovera, F., Carciofi, A.C., Tudisco R., Guglielmelli A., Piccolo, G., 2008. In vitro evaluation of different fiber sources and potential prebiotics for dogs. In: Congress of the european society of veterinary and comparative nutrition, 12. Vienna, Austria. *Anais...* Vienna: University of Veterinary Medicine Vienna. p. 63.
- Carciofi, A.C., 2000. O uso de carboidratos em alimentos para cães. In: Simpósio Sobre Animais de Estimação, *Anais...*Campinas – SP, CBNA, p.17-46.
- Carciofi, A.C., 2005. Emprego de fibras em alimentos para cães e gatos. In: Simpósio Sobre Nutrição de Animais de Estimação, Campinas. *Anais:* Campinas: CBNA, p. 95-108.
- Costa, M.C., Santos, R.C.C., Lima, E.L., 2006. A simple automated procedure for thiol measurement in human serum samples. *J. Bras. Patol. Med Lab.* 42 (5), 345-350.

- Choi, W.S.; Lee, S.E.; Lee, H.S.; Lee, Y.H.; Park, B.S., 1998. Antioxidative activities of methanol extracts of tropical and oriental medicinal plants. *Agric. Chem. Biotechnol.* 41, 556-559.
- Cummings, J.H.; Macfarlane, G.T., 1991. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Applied Bact.* 70, 443-459.
- De-Oliveira, L.D., 2014. Coprodutos com potencial econômico no Brasil. VI Congresso Internacional e XIII Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação CBNA. Anais... Valinhos, SP.
- Dlamini, N.R., Taylor, J.R.N., Rooney, L.W., 2007. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant activity of African sorghum-based foods. *Food Chem.* 105 (4), 1412-1419.
- Erwin, E.S., Marco, G.J., Emery, E.M., 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44, 1768-1771.
- Fedaf, 2013. The European Pet Food Industry Federation Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs.
- Fahey, G.C., Merchen, N.R., Corbin, J.E., 1990b. Dietary fiber for dogs: II. Iso-total dietary fiber (TDF) additions of divergent fiber sources to dog diets and their effects on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *J. Anim. Sci.* 68 (12), 4229-4235.
- Fahey, G.C., 2015. The Future of Pet Food and Pet Animal Nutrition: The Role of Dietary Fiber. In: XIV Congresso CBNA PET, Anais... Ribeirão Preto, SP.
- Farmacopeia Brasileira., 2002. vol. 1. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 524 p.
- Fischer, M.M.; Kessler, A.M.; Sá, L.R.M.; VasconcelloS, R.S.; et al., 2012. Fiber fermentability effects on energy and macronutrient digestibility, fecal parameters, postprandial metabolite responses, and colon histology of overweight cats. *J. Anim. Sci.* 90 (7), 2233-45.
- Fortes, C.M.L.S., Carciofi, A.C., Sakomura, N.K., Kawauchi, I.M., Vasconcellos, R.S., 2010. Digestibility and metabolizable energy of some carbohydrate sources for dogs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 156 (3-4), 121-125.
- Hager, A., Howard, L.R., Prior, R.L., Brownmiller, C., 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed black raspberry products. *J. Food Sci.* 73 (6), 34-40.
- Hendrix.L., 1993. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Sci.* 33, 1306-1311.
- Hill R.C., Burrows C.F., Ellison G.W., 2000. The effect of texturized vegetable protein from soy on nutrient digestibility compared to beef in cannulated dogs. *J. Anim. Sci.* 79, 2162-2171.
- Jayaprakasha, G.K., Selvi, T., Sakariah, K.K., 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis Vinifera*) seed extracts. *Food Res. Int.* 36, 117-122.
- Kawauchi, I.M., Sakomura, N.K., Vasconcellos, R.S., 2011. Digestibility and metabolizable energy of maize gluten feed for dogs as measured by two different techniques. *Anim. Feed Sci. Technol.* 169, 96-103.
- Korus, J., Gumul, D., Czechowska, K., 2007. Effect of Extrusion on the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Dry Beans of *Phaseolus vulgaris* L. *Food Technol. Bio.* 45 (2), 139-146.

- Lewis, L.D., Magerkurth, J.H., Roudebush, P., Mitchell, J.R., Emmett, E., 1994. Stool characteristics, gastrointestinal transit time and nutrient digestibility in dogs fed different fiber sources. *J. Nutr.* 2716-2718.
- Lopes, F., 2013. Emprego da fibra de cana-de-açúcar na alimentação de cães e gatos. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil, 88 p.
- Makkar, H.P.S., Blummel M., Borowy, N.K., Becker, K., 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlation with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.* 61, 161-165.
- Middelbos, I.S., Godoy, M.R., Fastinger, N.D., 2007. A dose-response evaluation of spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: Effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial population. *J. Nutr.* 85, 3022-3032.
- National Research Council, 2006. Nutrient Requirements of Dogs, revised ed. NRC, National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Nwabueze, T.U., 2007. Effect of process variables on trypsin inhibitor activity (TIA), phytic acid and tannin content of extruded African breadfruit-corn-soy mixtures: A response surface analysis. *Food Sci. Technol.* 40, 20-29.
- Neto, B.P., 2015. Avaliação do Feijão (*Phaseolus Vulgaris L.*) partido como ingrediente em alimentos extrusados para gatos. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil, 76 p.
- Paya, M., Halliwell, B., Hout, J.R., 1992. Interactions of a series of coumarins with reactive oxygen species. Scavenging of superoxide, hypochlorous acid and hydroxyl radicals. *Bio. Pharm.* 44, 205-214.
- Pinto, M.V.P., 2007. Utilização digestiva de dietas com diferentes fontes de fibras e determinação de curvas glicêmicas em cães adultos. 2007. Dissertação (Mestre em Zootecnia) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil, 52 p.
- Prosky, L., 1992. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *J. AOAC Intern.* 75, 360-367.
- Richard, M.J., Portal, B., Meo, J., Coudray, C., Hadjlan, A. Favier, A., 1992. Malondialdehyde kit evaluated for determining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid. *C. Chem.* 3815, 704-709.
- Rodrigues, R.B., Lichtenthaler, R., Zimmerman, B. F., Paggiannopoulos, M., Fabricius, H., Marx, F., 2006. Total oxidant scavenging capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) seeds and identification of their polyphenolic compounds. *Journal of A. Food Chem.*, 54, 4162-4167.
- Sa, F.C.; Vasconcellos, R.S. Brunetto, M.A.; Filho, F.O.R.; Gomes, M.O.S.; Carciofi, A.C., 2013. Enzyme use in kibble diets formulated with wheat bran for dogs: effects on processing and digestibility. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97, 51-59.
- Sá-Fortes, C.M.L., 2001. Digestibilidade in vivo e in vitro de fontes de fibra para cães. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 48 p.
- Sabchuk, T.T., 2014. Fontes de fibras na alimentação de cães, Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, 74 p.
- Schauss, A.G., Wu, X., Prior, R.L., Ou, B., Patel, D., Huang, D., Kababick, J.P., 2006b. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (açaí). *J. Agric. Food Chem.*, v. 54, p. 8598-8603.

- Statistical Analysis System, 2001. User's Guide: Statistics, version 8.2. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Seeram, N.P., Lee, R., Heber, D., 2004. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum L.*) juice. *Cl. Chim. Acta*, 348, 63–68.
- Silva, D.J., Queiroz, A.C., 2002. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*, 3rd ed. UFV, Viçosa - MG, 235 pp.
- Sharma, P. A., Singh, H.G., Singh, B., 2012. Antioxidant activity of barley as affected by extrusion cooking. *Food Chem.* 131, 1406–1413.
- Singleton, V.L.; Rossi, J.A., Jr., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vit.* 16 (3), 144-158.
- Song, R., Xu, L., Zhang, Z., Tian Y., Xu, F., Dong, H., 2010. Determination of Gallic Acid in Rat Plasma by LC-MS-MS. *Chromat.* 71, 1107–1111.
- Sotero, D.E.G., 2002. Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante de frutos da Amazônia: chope (*Gustavia augusta L.*) sacha mangua (*Grias neuberthii Macbr.*) e macambo (*Theobroma bicolor*). São Paulo, Tese - (Doutorado em Ciência dos Alimentos), Universidade de São Paulo.
- Smith, E.A., Macfarlane, G.T., 1997. Formation of phenolic and indolic compounds by anaerobic bacteria in the human large intestine. *Microb. Ecol.* 33, 180–188.
- Sunvold, G.D., 1995b. In vitro fermentation of selected fibrous substrates by and cat fecal inoculum: influence of diet composition on substrate organic matter disappearance and in vitro fermentation of selected fibrous substrates by dog and cat fecal inoculum : Influence. *J. Anim. Sci.* 1110–1122.
- Swanson, K., 2002. Fructooligosaccharides and lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy Adult dogs. *J. Nutrit.* 132, 3721–3731.
- Yamakoshi, J., Saito, M., Kataoka, S., Tokutake, S., 2002. Procyanidinrich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4983-4988.
- Zhang, J., Ji, W., Qi, X., 2001. Study on the extraction of polyphenol from grape seed and its inhibition effect on oil oxidation. *Shipin Kexue.* 22, 43-45.
- Zoran, D., 2003. Nutritional management of gastrointestinal disease. *Clinic. Techniq. Small Anim. Pract.* 18 (4), 211-217.

7. Considerações finais

Atualmente a relação entre os cães e os seres humanos tem se modificado em nossa sociedade, tornando a espécie um dos principais animais de estimação da humanidade. Desse modo, esses fatores contribuem com maior relevância aos cuidados com a saúde e longevidade destes animais surgindo à necessidade do desenvolvimento de alimentos que além de nutricionalmente balanceados, possam promover a saúde e a longevidade dos cães. Nesse sentido, pesquisas com alimentos e subprodutos os quais possam promover estes benefícios à saúde tornam-se cada vez mais importante.

Considerando os estudos realizados no presente trabalho, observou-se que a semente de açaí apresentou elevada capacidade antioxidante, nos estudos *in vitro* indicando alto teor de compostos antioxidantes como os polifenóis totais, taninos e antocianinas. No entanto, não foi verificada atividade antioxidante deste ingrediente em cães, após 60 dias de consumo das dietas pelos testes do *status* oxidativo empregados (TBARS, susceptibilidade sérica à oxidação, capacidade antioxidante total e tióis totais), assim como não foi detectado ácido elágico e gálico no soro dos animais, metabólitos da degradação dos taninos no trato digestório.

Conclui-se, portanto que nas condições em que foi empregada no estudo, a ausência deste efeito *in vivo* pode ser devido à acentuada redução nas concentrações de taninos nas dietas as quais ocorrem durante o processo de extrusão que pode ter ocorrido também com os demais compostos fenólicos do ingrediente, como as antocianinas. Assim, os estudos de avaliação nutricional e propriedades funcionais de alimentos e subprodutos com potencial antioxidante, devem continuar sendo investigadas, uma vez que há escassez de informações sobre o assunto.