

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE CORANTES ARTIFICIAIS NAS RAÇÕES PARA
CÃES E POTENCIAIS EFEITOS NO COMPORTAMENTO**

**Suellen Scheibel
ZOOTECNISTA**

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE CORANTES ARTIFICIAIS NAS RAÇÕES PARA
CÃES E POTENCIAIS EFEITOS NO COMPORTAMENTO**

Discente: Suellen Scheibel

Orientador: Prof. Dr. Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Camila Ceballos Betancourt

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Thaila Cristina Putarov

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

S318u Scheibel, Suellen
Uso de corantes artificiais nas rações para cães e potenciais
efeitos no comportamento / Suellen Scheibel. -- Jaboticabal,
2021
95 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa
Coorientadora: Maria Camila Ceballos Betancourt

1. Comportamento. 2. Cães. 3. Corantes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: USO DE CORANTES ARTIFICIAIS NAS RAÇÕES PARA CÃES E POTENCIAIS
EFEITOS NO COMPORTAMENTO

AUTORA: SUELLEN SCHEIBEL

ORIENTADOR: MATEUS JOSÉ RODRIGUES PARANHOS DA COSTA

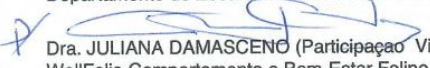
COORIENTADORA: MARIA CAMILA CEBALLOS BETANCOURT

COORIENTADORA: THAILA CRISTINA PUTAROV

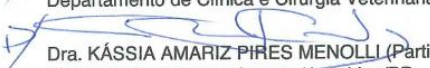
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA, pela
Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MATEUS JOSÉ RODRIGUES PARANHOS DA COSTA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. CARLA FORTE MAIOLINO MOLENTI (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia-Setor de Ciência Agrárias/UFPR / Curitiba/PR


Dra. JULIANA DAMASCENO (Participação Virtual)
WellFelis-Comportamento e Bem-Estar Felino / São Paulo/SP


Profa. Dra. MIRELA TINUCCI COSTA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV - UNESP - Jaboticabal


Dra. KÁSSIA AMARIZ PIRES MENOLLI (Participação Virtual)
Médica Veterinária Autônoma / Londrina/PR

Jaboticabal, 03 de dezembro de 2020

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

SUELLEN SCHEIBEL – Nascida em 23 de novembro de 1991 na cidade de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. Iniciou a graduação de Zootecnia na Universidade Estadual de Ponta Grossa em fevereiro de 2009, formando-se em agosto de 2013. No ano seguinte, em março de 2014, deu início ao mestrado em Zootecnia (Produção Animal com especialidade em Animais de Companhia), na Universidade Estadual de Maringá, passando a ser integrante do Grupo de Ensino e Estudos em Nutrição de Felinos (Grupo CEENUFEL). Em agosto de 2016 obteve o título de Mestre, defendendo a dissertação intitulada “Propriedades Funcionais do Ácido Docosaheptaenoico (DHA) para Gatos”, sob a orientação do Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos. Em março de 2017, ingressou no doutorado em Zootecnia (Bem-estar e Etologia de Animais Domésticos), pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Jaboticabal, fazendo parte do Grupo de Estudos e Pesquisas em Etologia e Ecologia Animal (Grupo ETCO), sob a orientação do prof. Dr. Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa.

Seja persistente. Só dá errado quando você desiste de fazer dar certo.

Autor desconhecido

Dedico aos meus pais, Jorge e Maria, por todo amor, cuidados e incentivos.
Sempre serão os meus melhores exemplos de honestidade,
dignidade e resiliência. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao criador do universo, que em sua bondade e justiça me permitiu mais uma vez vir a este plano para evoluir espiritualmente. Hoje sei que sou mais paciente e compreensiva graças a todos os desafios e dificuldades que colocastes no meu caminho, me oferecendo oportunidades para ser uma pessoa um pouco melhor a cada dia. Deus, muito obrigada.

Aos meus pais, por sempre me apoiarem meus sonhos, pelos bons exemplos e por tudo que fizeram e fazem por mim!

Aos meus familiares, principalmente meus avós: Osvaldo, Irineu, Ruth (todos *in memoriam*) e Rosa. Levarei eternamente a doçura, o incentivo e o amor de vocês a mim dedicado.

A todos os meus animais de estimação, seres de luz que me alegram e são exemplos de gratidão. Vocês foram o motivo pelo qual escolhi esta profissão que tanto amo, a Zootecnia. Pelo resto dos meus dias, eu farei o meu melhor para que esse planeta tenha mais respeito com vocês. Agradeço em especial a minha cadela Sofya e a minha gata Fofa (*in memoriam*); foram elas que de certa forma me conduziram na ideia inicial desta pesquisa.

Ao meu orientador, Mateus Paranhos, por me dar a oportunidade de fazer o doutorado em uma das melhores universidades do país e poder ser integrante do grupo ETCO, um sonho que era distante, mas se tornou realidade. Obrigada por ter aceitado o desafio de me orientar em um projeto com uma espécie até então incomum na sua jornada, além de todo conhecimento repassado. Agradeço também pela compreensão durante os momentos difíceis que passei nesse período. Muito obrigada professor, admiro muito o profissional que és!

Agradeço a todos os integrantes do grupo ETCO, em especial aos que eu convivi por mais de três anos. O que eu aprendi com vocês vai muito além da área profissional ou científica, mas são aprendizados para a vida. Muito obrigada: Valentina Montoya, João Vitor, Mayara Andrioli, Paula Valente, Jaira Oliveira, Mariana Parra, Lara Caveanha, Natália Montelli, Franciely Costa, Lucas Ruiz, Monique Carvalhal, Filipe Dalla Costa e a todos os estagiários do grupo. Em especial a Luane Fernandes

pela confiança e por disponibilizar sua casa para ser meu lar nos últimos meses que passei em Jaboticabal.

Aos colegas e amigos que me ajudaram nas coletas do experimento: Morgana Bragagnollo, Priscila Nardo, Giovana Nardo, Victor Brusin, Murilo Garavelo, Adrieli Biliu, Lucas Pifer, Jeferson Montoya, Karen Airoso e a Paula Carneiro, por ter doado material para as minhas coletas. A colaboração de vocês foi imprescindível. Muito obrigada!

Agradeço aos amigos que o ETCO me deu: Júlia Cocco, Thaís Sgarbiero, André Albuquerque, Paula Taborda, Victor Lima, Douglas Henrique e Pedro Esteves. Muito obrigada pela ajuda com o experimento e estatística, pelos bons momentos, pelas confraternizações e churrascos, pelas prozas e pelo apoio emocional! Em especial a Suelen Caroline e Karen Camille, minhas irmãs de alma, pessoinhas tão diferentes de mim que se tornaram as melhores companheiras de trabalho, parceiras de lanches e sorvetes. Sempre dispostas a ajudar o próximo, me ensinaram a ser uma pessoa melhor. Sou muito grata a Deus por ter amigos tão queridos!

A melhor coorientadora do mundo, Maria Camila, muito obrigada por todos os ensinamentos, pela paciência e pela amizade!

Ao todos os colegas, pessoal da pós, estagiários e funcionários (Elaine, Diego, Kelly e Roberta) do Laboratório de Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Professor Doutor Flávio Prada”. Muito obrigada por terem me acolhido tão bem, pela ajuda com as coletas, pelas dicas e pelos improvisos para que o meu experimento desse certo. Agradeço pela ajuda essencial das empresas Adimax Pet e Manfrim, responsáveis pela manutenção financeira do laboratório. Em especial a minha coorientadora Thaila Putarov, pela paciência e colaboração com os detalhes do experimento.

Ao pessoal da UniFil, Kássia Amariz, Brenda Brene e demais estagiários, por me receberem tão bem e pela ajuda com o teste de preferência.

Aos cães que me ajudaram nessa fase e tornaram os meus dias mais felizes: Chokito, Babalú, Brisa, Café, Churros, Barbie, Bruna, Brenda, Mike, Manolo, Bia, Major, Licor, Amarula, Tequila, Mel, Aurora, Risadinha, Rajado, Didi, Biscoito, Dama, Baronesa, Yogurte, Rum, Yakult, Aurora, Coca, Laika, Whisky, Malbec, Marguerita e Cappuccino.

As minhas colegas de apartamento: Adriane Bido e Jordana Flôres. Vivi bons momentos com vocês, obrigada pela companhia e pelos cafés! Ao meu professor de inglês, Gabriel Monteiro, pela paciência e amizade, e também a Lilian e Roberto Uehara, por serem tão gentis e atenciosos com seus locatários.

Ao pessoal do Centro Espírita Universal, muito obrigada pelo apoio, palavras de incentivo e conselhos. Vocês são seres de luz que me ajudaram a compreender melhor as dificuldades da vida.

Agradeço ao Alexandre Rossi e a Cássia Rabelo pela colaboração na divulgação do questionário referente ao meu projeto.

A todos os tutores de cães e empresas de alimentos para animais de companhia que responderam aos meus questionários. Muito obrigada por disponibilizarem uns minutinhos do dia para colaborem com a minha pesquisa.

As empresas Adimax Pet e MCassab, pela doação de ingredientes para a produção do alimento extrusado utilizado para alimentar os cães durante o experimento.

Ao CNPq e a CAPES pelas bolsas de estudo e reserva técnica utilizada para custear parte desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço a todos os colegas e professores da UNESP/FCAV, funcionários da fábrica de rações, do hospital veterinário, do restaurante universitário e da pós-graduação.

Aos integrantes da banca de qualificação professores Aulus Carciofi, Ananda Portela, Leonir Bueno e Aline Sant'Anna e da banca de defesa professoras Carla Molento, Juliana Damasceno, Kássia Pires e Mirela Tinucci, obrigada pela contribuição científica, foi uma honra tê-los como membros.

Ninguém cruza nosso caminho por acaso e nós não entramos na vida de ninguém sem nenhuma razão... (Francisco Cândido Xavier).

Meu muito obrigada a todos de coração!

SUMÁRIO

	Página
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP) – QUESTIONÁRIOS.....	III
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) – CÃES UNESP/FCAV.....	V
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) – CÃES UNIFIL.....	VI
RESUMO.....	VI
ABSTRACT.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE FIGURAS.....	XIII
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Domesticação, crescimento da população dos animais de companhia e humanização de cães.....	2
2.2. Histórico do mercado de alimentos extrusados para animais.....	4
2.3. Reflexo da alimentação humana.....	5
2.4. Natureza e preferências do cão.....	6
2.5. História, aplicações e normativas dos corantes.....	8
2.6. Corante Vermelho Ponceau 4R.....	13
2.7. Bioquímica dos corantes.....	15
2.8. Efeitos e problemas de saúde relacionados aos corantes artificiais	17
2.9. Problemas comportamentais e abandono.....	21
3. REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO 2 – Percepção dos tutores e das empresas de alimentos para cães sobre o uso dos corantes artificiais.....	32
RESUMO.....	32
1. INTRODUÇÃO.....	33
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1. Informações gerais.....	34
2.2. Coleta de dados dos tutores de cães.....	34
2.3. Coleta de dados das empresas de alimentos para animais de companhia.....	36
2.4. Análise estatística.....	37
3. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	38
3.1. Respostas dos tutores.....	38
3.1.1. Perfil dos tutores, cães e manejo alimentar.....	38
3.1.2. Percepção geral dos corantes e efeitos na saúde.....	43
3.1.3. Ranking das marcas mais consumidas no Brasil.....	48
3.2. Respostas das empresas.....	51

3.2.1. Perfil das empresas.....	51
3.2.2. Informações técnicas de produção.....	51
3.2.3. Posicionamento da indústria sobre o uso de corantes artificiais.....	54
4. CONCLUSÕES.....	56
5. REFERÊNCIAS.....	57
CAPÍTULO 3 – Azo corante vermelho ponceau 4R: efeitos sobre o comportamento e preferência de cães.....	61
RESUMO.....	61
1. INTRODUÇÃO.....	62
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	64
2.1. Estudo comportamental.....	64
2.1.1. Aprovação do projeto.....	64
2.1.2. Local e animais.....	64
2.1.3. Delineamento experimental e tratamentos.....	64
2.1.4. Manejo dos animais.....	68
2.1.5. Avaliações comportamentais nas baias.....	69
2.1.6. Teste da cruz elevada.....	71
2.1.7. Análise estatística.....	73
2.2. Estudo sobre a preferência.....	74
2.2.1. Aprovação do projeto.....	74
2.2.2. Local e animais.....	74
2.2.3. Delineamento e tratamentos.....	74
2.2.4. Manejo dos animais.....	75
2.2.5. Testes de preferência.....	76
2.2.6. Análise estatística.....	77
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
3.1. Estudo comportamental.....	77
3.1.1. Avaliações comportamentais nas baias.....	77
3.1.2. Teste da cruz elevada.....	81
3.2. Estudo sobre a de preferência.....	82
4. CONCLUSÕES.....	85
5. REFERÊNCIAS.....	85
CAPÍTULO 4 – Considerações finais.....	90
APÊNDICES.....	91
A) Questionário destinado aos tutores brasileiros.....	92
B) Questionário destinado as empresas no Brasil.....	94

Comissão de ética na pesquisa (CEP) - Questionários

UNESP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS HUMANAS E
SOCIAIS/CAMP. DE FRANCA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Uso de Corantes Artificiais nas Rações para Cães: Perfil do Consumidor e da Indústria Pet Food

Pesquisador: Suelen Scheibel

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 99311618.2.0000.5408

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.943.348

Apresentação do Projeto:

O presente Projeto de Pesquisa está de acordo com as Normas vigentes do Sistema CEP/CONEP, que regulamenta a construção da Pesquisa que envolvem seres humanos.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos são exequíveis e apresentam uma mentalidade crítica, ética e autoral de pesquisa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e os benefícios são apresentados seguindo uma lógica axiológica e epistemológica sobre o objeto em estudo, o que demonstra a ética que subjaz ao pesquisador e sua pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A referida Pesquisa tem um caráter de relevância social, que perpassa tanto a dimensão humana, quanto a dimensão animal.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os Termos de apresentação obrigatório foram demonstrados com clareza, objetividade e honestidade intelectual por parte da pesquisadora em voga.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Endereço: Av. Euzébio Monteiro Petraglia, 500

Bairro: Jd. Antonio Petraglia

CEP: 14.409-180

UF: SP

Município: FRANCA

Telefone: (16)3708-8723

Fax: (16)3708-8724

E-mail: comiteetica@franca.unesp.br

**UNESP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS HUMANAS E
SOCIAIS/CAMP. DE FRANCA**



Continuação do Parecer: 3.940.340

Considerações Finais a critério do CEP:

A coordenadora aprova "ad referendum" do colegiado o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	FB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1118704.pdf	20/09/2018 13:20:50		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	20/09/2018 13:19:19	Suelien Schelbel	Aceito
Outros	Questionários.docx	17/09/2018 16:20:13	Suelien Schelbel	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	17/09/2018 16:19:03	Suelien Schelbel	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_questionario.docx	17/09/2018 16:18:45	Suelien Schelbel	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	10/08/2018 11:27:24	Suelien Schelbel	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FRANCA, 05 de Outubro de 2018

Assinado por:
Helen Barbosa Raiz Engler
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Euzébio Monteiro Petraglia, 900
Bairro: Jd. Antonio Petraglia CEP: 14.405-180
UF: SP Município: FRANCA
Telefone: (16)3706-8723 Fax: (16)3706-8724 E-mail: comtestes@franca.unesp.br

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) – CÃES UNESP/FCAV



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Uso de Corantes Artificiais nas Rações para Cães e Potenciais Efeitos no Comportamento"**, protocolo nº 007955/18, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Mateus José Rodrigues Paranhos da Costa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 05 de julho de 2018.

Vigência do Projeto	05/09/2018 a 05/09/2020
Espécie / Linhagem	Cães da raça Beagle
Nº de animais	12
Peso / Idade	10 Kg / 3 anos
Sexo	Ambos os sexos
Origem	Canil da FCAV

Jaboticabal, 05 de julho de 2018.

Fabiana Pilarski
Profa Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via do Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal SP - Brasil
tel 16 3209-7100 - www.fca.unesp.br

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) – CÃES UNIFIL

Parecer CEUA. Nº 004/2019

Londrina, 04 de junho de 2019.

Prezado(a) Pesquisador(a),

A CEUA reunida em 6 de novembro de 2018 avaliou o projeto intitulado **"Corante artificial vermelho Ponceau 4R (E124) em Pet Food para cães: testes de preferência"** registrado no CEUA sob o nº 039/2018, desenvolvido sob sua responsabilidade para o curso de Doutorado em Medicina Veterinária, julgando-o **APROVADO**, para execução por entender que os princípios éticos postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal estão respeitados.

Cumpre orientar que ao longo do projeto, caso se pretenda qualquer alteração no protocolo experimental aprovado, o novo protocolo deverá ser submetido a apreciação da CEUA/Unifil anteriormente a execução das modificações.

Sem mais para o momento,

Cordialmente.



Profa. Ms. Joice Elaine Teixeira Campanha

Coordenadora da CEUA/Unifil

USO DE CORANTES ARTIFICIAIS NAS RAÇÕES PARA CÃES E POTENCIAIS EFEITOS NO COMPORTAMENTO

RESUMO – Corantes artificiais tornam os alimentos mais atrativos para os humanos, mas parecem ter pouca influência nas escolhas dos cães. Há décadas esse tipo de aditivo é suspeito de causar problemas a saúde. Logo, o objetivo desse trabalho foi levantar informações sobre a percepção dos tutores e das empresas de alimentos para animais de companhia em relação ao uso de corantes; foi avaliado o efeito do azo corante vermelho ponceau 4R sobre o comportamento de cães, assim como a preferência alimentar desta espécie em relação ao aditivo. Informações foram coletadas através de questionários *on-line*, um destinado aos tutores brasileiros (n= 4111) e outro a empresas produtoras de alimento para animais de companhia (n= 34). As respostas foram analisadas por meio de estatística descritiva, qui-quadrado e análise de correspondência múltipla. Para o estudo comportamental, utilizou-se doze cães da raça Beagle. Foram compostas três dietas, (controle com 0% de corante, T1 com 0,05% e o T2 com 0,20% de corante), todas com a mesma formulação, diferindo apenas na dosagem do aditivo. Por 17 dias os cães consumiram apenas a dieta controle, e após, por 21 dias receberam os tratamentos (n=4), sendo filmados durante sete horas por dia nesse período. Para o estudo da preferência, foram utilizados 20 cães de diversas raças. Os tratamentos foram organizados em três desafios, nos quais anotou-se qual dieta o cão se aproximou com o focinho primeiro e qual foi ingerida primeiro, além da mais consumida. Empregou-se o teste de modelos lineares mistos generalizados para os dados comportamentais, e para o teste de preferência utilizou-se teste de Wilcoxon-Mann-Whitney e teste t de Student, todos a 5% de probabilidade. Os resultados dos questionários mostram que 92,56% dos tutores forneciam ração aos cães e o alimento ofertado era de boa qualidade (38,56% *premium* e 29,75% *super premium*). Em relação a embalagem, 87,67% compram o alimento de sacos lacrados, mas 68,24% não seguem as recomendações da embalagem ao arrastar os cães. Apenas uma pequena porcentagem de pessoas prefere rações com corantes (0,97%) e correlacionam-se ($P<0,05$) aos tutores que não souberam informar a qualidade da ração. Quase a totalidade dos tutores (96,52%) acreditam que corantes artificiais prejudicam a saúde, por isso a maioria (93,99%) optaria por ração sem corante, se esta possuir preço similar a colorida e 37,90% disseram já ter adquirido rações mais coloridas que o padrão. Alguns tutores (34,86%) presumiram que seus cães apresentaram alterações na saúde, após o consumo de alimentos com corantes. Em relação as empresas, 47,06% produzem alimentos com corantes artificiais, porém 81,25% são favoráveis a redução de corantes no alimento para animais e 85,29% acreditam que esses aditivos não têm vantagens de uso, além de causarem efeitos colaterais no organismo. Os resultados do estudo comportamental mostram que o tratamento com 0,20% do corante apresentou maior frequência ($P<0,05$) do comportamento coçar, e o tratamento 0,05% mostrou aumento das vocalizações e comportamentos indicativos de ansiedade. O teste da cruz elevada mostrou resultados significativos ($P<0,05$) para o tratamento com 0,20% do aditivo, com menor número de entrada e menor tempo em braço aberto, comportamento relacionado a ansiedade. O teste de preferência apresentou maiores frequências de escolha pelos cães para ração controle (sem corante), seguida do tratamento com 0,05% de corante para primeira ingestão e consumo ($P<0,05$). Conclui-se que os

tutores estão evitando alimentos com corantes artificiais, por acreditarem que não fazem bem a saúde de seus cães, e as empresas se mostraram dispostas a diminuir o uso de corantes artificiais em rações e petiscos. O corante vermelho ponceau 4R causou alterações no comportamento de cães, comprometendo o bem-estar dos animais, além de ser menos apreciado por eles, em comparação ao alimento sem o corante.

Palavras-chave: ansiedade, *pet food*, preferência, saúde, tutores, vermelho ponceau

USE OF ARTIFICIAL DYES IN PET FOOD FOR DOGS AND POTENTIAL EFFECTS ON BEHAVIOR

Abstract – Artificial dyes make food more attractive to humans, but appear to have little influence on dog choices. This type of additive has been suspected of causing health problems for decades. Therefore, the objective of this study was to gather information about the perception of tutors and the pet food industry in relation to the use of dyes; it was evaluated the effect of the use of azo ponceau red 4R dye on the behavior of dogs, as well as the food preference of this specie in relation to the additive. Information was collected through on-line questionnaires, one for Brazilian tutors (n= 4111) and the other for pet food companies (n= 34). Responses were analyzed using descriptive statistics, chi-square and multiple correspondence analysis. For the behavioral study, twelve Beagle dogs were used. Three diets were composed (control with 0% dye, T1 with 0.05% and T2 with 0.20% dye), all with the same formulation, differing only in the dosage of the additive. For 17 days, the dogs consumed only the control diet, and then, for 21 days, they received the treatments (n=4), being recorded for seven hours a day during this period. For the preference study, 20 dogs of different breeds were used. Treatments were organized into three challenges, in which it was identified which diet the dog approached with the muzzle first and which was ingested first, in addition to the most consumed. Generalized mixed linear model test was used for the behavioral data, and Wilcoxon-Mann-Whitney test and Student t test were used for the preference test, all at 5% probability. The results of the questionnaires showed that 92.56% of the tutors provided dog food, and the food offered was of good quality (38.56% premium and 29.75% super premium). Regarding packaging, 87.67% buy pet food from sealed bags, but 68.24% do not follow the packaging recommendations when feeding dogs. Only a small percentage of people preferred diets with dyes (0.97%) and correlated ($P<0.05$) with tutors who did not know the quality of the food. Almost all tutors (96.52%) believed that artificial dyes harm health, so the majority (93.99%) would opt for food without dye, if it has a similar price to color, and 37.90% said they already had acquired more colorful food than the standard. Some tutors (34.86%) presumed that their dogs showed changes in health after consuming food with dyes. Regarding companies, 47.06% produce foods with artificial colors, however, 81.25% are favorable to the reduction of dyes in pet food, and 85.29% believe that these additives do not have advantages in use, besides causing side effects in the organism. The results of the behavioral study showed that animals consuming food with 0.20% of the dye showed a higher frequency ($P<0.05$) of scratching behavior, and animals on 0.05% treatment showed an increase in vocalizations and behaviors indicative of anxiety. The elevated plus-maze test showed significant results ($P<0.05$) for treatment, with those animals consuming 0.20% of the additive, with less number of entries and less time in the open arm, behavior related to anxiety. The preference test showed higher frequencies of choice for dogs consuming control diets, followed by treatment with 0.05% dye for the first intake and consumption ($P<0.05$). It is concluded that tutors are avoiding foods with artificial colors because they believe they are not good for the health of their dogs and companies were willing to decrease the use of artificial colors in pet food. The red dye ponceau 4R caused changes in the behavior of dogs, compromising the welfare of the animals, in addition to being less appreciated by them, compared to diets without dye.

Keywords: anxiety, health, pet food, ponceau red, preference, tutors

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP – análise de correspondência múltipla

BH4 – enzima 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina

CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CEP – Comissão de Ética em Pesquisa

CEUA – Comissão de Ética no Uso dos Animais

DDA – dose diária aceitável

EFSA – European Food Safety Authority (Autoridade Europeia de Segurança Alimentar)

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)

FDA – Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Drogas)

GFFAS – graphite furnace atomic absorption spectrometry (espectrometria de absorção atômica em forno de grafite)

GLMM – Generalized Linear Mixed Models (Modelos Lineares Mistos Generalizados)

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IDA – ingestão diária aceitável

IDH – índice de desenvolvimento humano

IgE – imunoglobulina E

INS – Sistema Numérico Internacional

JECFA – Joint Expert Committee on Food Additives (Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares)

MDA – malondialdeído

NRC – National Research Council (Conselho Nacional de Pesquisa)

OMS – Organização Mundial da Saúde

ROS – reactive oxygen species (espécies reativas ao oxigênio)

TDAH – transtorno do déficit de atenção com hiperatividade

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

Tabela 1 – Corantes artificiais autorizados para uso em alimentos no Brasil de acordo com o Sistema Numérico Internacional (INS).....	11
Tabela 2 – Limite máximo de tolerância de contaminantes inorgânicos em aditivos alimentares.....	12

CAPÍTULO 2 – Percepção dos tutores e das empresas de alimentos para cães sobre o uso dos corantes artificiais

Tabela 1 – Frequências relativas (%) e relação das regiões brasileiras com o perfil reprodutivo e a qualidade do alimento extrusado oferecido aos cães.....	39
Tabela 2 – Frequências relativas (%) e relação das variáveis referentes a qualidade do alimento extrusado com o manejo nutricional aplicado pelos tutores dos cães.....	41
Tabela 3 – Marcas de alimento completo para cães mais consumidas no Brasil.....	49
Tabela 4 – Marcas de petiscos industrializados para cães mais consumidas no Brasil.....	50
Tabela 5 – Corantes artificiais mais utilizados em <i>pet foods</i> brasileiros.....	50
Tabela 6 – Corantes mais utilizados pelas empresas de alimentos para cães no Brasil.....	52

CAPÍTULO 3 – Azo corante vermelho ponceau 4R: efeitos sobre o comportamento e preferência de cães

Tabela 1 – Composição química e básica das rações experimentais.....	66
Tabela 2 – Certificado de análise do corante vermelho ponceau 4R fornecido pela empresa.....	67
Tabela 3 – Etograma das categorias comportamentais e variáveis avaliadas.....	70
Tabela 4 – Alterações comportamentais em decorrência dos níveis de ingestão do corante vermelho ponceau 4R pelos cães.....	78
Tabela 5 – Indicadores de ansiedade referente ao teste da cruz elevada.....	81
Tabela 6 – Teste de preferência baseado na primeira aproximação do comedouro com o focinho e primeira ingestão de ração pelos cães.....	83
Tabela 7 – Consumo das rações testes com base na relação de ingestão dos tratamentos em cada desafio.....	83

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais 1

Figura 1 – Crescimento do uso de corantes alimentares entre os anos de 1950 e 2010, certificado pela FDA.....	9
Figura 2 – Fórmula estrutural do azocorante vermelho ponceau 4R.....	13

CAPÍTULO 2 – Percepção dos tutores e das empresas de alimentos para cães sobre o uso dos corantes artificiais

Figura 1 – Distribuição percentual do porte (A) e idade (B) dos cães que participaram da pesquisa.....	38
Figura 2 – Mapa perceptual da relação entre a classificação do alimento extrusado com a preferência de cores dos <i>kibbles</i> e a escolha de produtos com ou sem corantes.....	45
Figura 3 – Relação entre a opinião dos tutores sobre o impacto das cores para o cão e alterações na coloração do alimento.....	46
Figura 4 – Associações sobre a posição dos tutores em relação aos efeitos na saúde e alterações nos cães devido aos corantes.....	48

CAPÍTULO 3 – Azo corante vermelho ponceau 4R: efeitos sobre o comportamento e preferência de cães

Figura 1 – Dietas testes produzidas para o experimento.....	67
Figura 2 – Baías cobertas do canil experimental (A) e solários com parte do piquete de recreação (B).....	69
Figura 3 – Modelo da cruz elevada adaptada para cães utilizada no experimento.....	72
Figura 4 – Cão na cruz elevada no momento do teste.....	73
Figura 5 – Cão no momento da escolha das rações durante o teste de preferência....	76

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

Há milênios os cães acompanham os humanos e desde o final da Idade Média a realeza já possuía cães de estimação, mas principalmente após a Segunda Guerra Mundial, os cães que antes eram comumente utilizados para caça e guarda, passaram a ser o animal de companhia ou *pet* mais popular (Bradshaw, 2012). Essa situação é bem caracterizada no Brasil, que ocupa a segunda posição no *ranking* mundial da população canina (ABINPET, 2019a). Com o desenvolvimento de um forte vínculo humano-animal, mudou-se hábitos e antropomorfizou-se os cães, atribuindo a eles necessidades, preferências e ideais humanos (Bradshaw, 2012; Dodd et al., 2019).

Um dos pontos mais impactantes dessa antropomorfização, também chamada de humanização, é a alimentação dos cães. Os humanos em geral escolhem os alimentos pelo aspecto visual e, por meio deste sentido, criam expectativas psicológicas sobre os produtos (Spence, 2015). Já os cães fazem suas escolhas primeiramente pelo olfato, seu sentido mais desenvolvido (Craven et al., 2010; Horowitz et al., 2013). Como são os humanos que detém o poder de compra dos alimentos, tanto as embalagens quanto o produto em si como o alimento industrializado ou *pet food*, são confeccionados para atrair os tutores com cores, formas e tamanhos diferenciados (Di Donfrancesco et al., 2014). Existem muitas controvérsias sobre como os cães enxergam as cores (Byosiére et al., 2018), mas a cor do alimento parece ter mínima influência na escolha do mesmo (Bourgeois, 2004).

Para garantir a padronização e melhorar a aparência do alimento industrializado, são utilizados corantes a fim de modificar apenas uma característica visual sem nenhum propósito nutricional (Yamjala et al., 2016). Os corantes artificiais, dentre eles os azocorantes e em particular o vermelho ponceau, são amplamente aplicados em alimentos industrializados, devido à resistência e estabilidade durante o processamento (Ahlström et al., 2005).

Entretanto, vários estudos têm mostrado que corantes artificiais, principalmente os azocorantes, podem causar desequilíbrios no organismo de ratos e humanos, alterando a microbiota intestinal (Chung et al., 1978) e a bioquímica de alguns órgãos

como por exemplo o cérebro (El-Sisi et al., 2015), fígado e rins (Elbanna et al., 2017), afetam as proteínas sanguíneas (Masone e Chanforan, 2015), promovem respostas pró-inflamatórias (Leo et al., 2018), causam hipersensibilidade no sistema imune (Feketea e Tsabouri, 2017) e podem induzir a problemas comportamentais como ansiedade (Doguc et al., 2015), agressividade e hiperatividade (Schab e Trinh, 2004; Radu-Rasu e Pop, 2017), além de reduzirem a atividade motora (Dalal e Poddar, 2009), aprendizagem (Tanaka 2006a) e o comportamento exploratório (Tanaka 2006b). Porém não há relatos de pesquisas sobre possíveis efeitos dos azocorantes na saúde de cães.

Portanto nesta tese é investigada a percepção dos tutores e da indústria sobre o uso de corantes artificiais presentes em alimentos para animais de companhia; os efeitos do corante vermelho ponceau 4R sobre o comportamento de cães e a preferência dos animais em relação ao corante citado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Domesticação, crescimento da população dos animais de companhia e humanização de cães

A domesticação dos cães iniciou-se com um ancestral em comum com o lobo cinzento durante o período paleolítico, entre 15 a 25 mil anos atrás, porém, foram encontrados vestígios fósseis em mais regiões, sugerindo que esse processo ocorreu diversas vezes em diferentes lugares do planeta (Bradshaw, 2012). A aproximação dos lobos em busca de restos alimentícios deixados pelos humanos, a proteção que esta espécie oferecia afastando outros predadores e retenção de caracteres infantis em alguns animais adultos, garantiram a tolerância à espécie lupina selvagem e facilitaram o processo de domesticação (Larson et al., 2012; Rojas et al., 2016).

O cão atual (*Canis lupus familiaris*) evoluiu junto aos humanos, aprendendo a interpretar nossos gestos e sinais, assim como os humanos também desenvolveram a habilidade de interpretar sons específicos como latidos, expressões corporais e faciais que os cães adquiriram durante este processo (Reid, 2009; Kaminski e Nitzschner, 2013).

Desde então o cão foi o animal doméstico mais utilizado para suprir as necessidades da sociedade humana como caça e segurança (Beaver, 2009), e se tornou um dos animais de estimação mais comuns, graças ao forte vínculo que desenvolveu com os humanos. Cães que antes tinham ocupações específicas, nas últimas décadas passaram a ser exclusivamente de companhia, devido a novos hábitos da sociedade moderna, sentindo os efeitos do antropomorfismo ou humanização (Bradshaw, 2012).

Acredita-se que o pensamento antropomórfico, ou seja, a capacidade de atribuir características humanas a outros constituintes da natureza, surgiu com a habilidade do diálogo entre homens pré-históricos, para expressar ideias sociais e naturais. Pensamentos, sentimentos, motivações e crenças humanas foram atribuídos para outras espécies como os cães, permitindo incorporá-los no meio social como animais de estimação e dependentes domésticos (Serpell, 2019). Além disso, algumas características comuns em filhotes como abóbada craniana arredondada, olhos grandes, ouvidos e nariz discerníveis, pelos macios, uso expressivo de membros e da face, ativam mecanismos inatos que incentivam os humanos a querer cuidar e nutrir filhotes, estimulando o apego com animais não humanos (Horowitz e Bekoff, 2007). A certo ponto os animais de estimação chegaram a ser considerados parasitas sociais, pois inconscientemente conseguem explorar nossos instintos parentais inatos (Serpell, 2019). O antropomorfismo por omissão até hoje está presente na sociedade e impõe aos animais características por meio da visão global humana, sem reconhecer que as demais espécies têm prioridades diferentes que as dos humanos (Rivas e Burghardt, 2002).

Mais próximo da humanização dos animais de companhia na sociedade atual, o antropomorfismo crítico é baseado na empatia, na tentativa de se colocar no lugar dos outros para encontrar semelhanças causais dos estados humanos e psicológicos, principalmente com espécies familiares, sendo possível discernir o antropomorfismo confiável do ingênuo por meio de critérios (Karlsson, 2012). Os animais de estimação, por não falarem como os humanos, julgarem, criticarem ou mentirem, ganharam a confiança de seus tutores que esboçam neles a imagem da perfeição ou pureza, acreditando receber suporte emocional, integração social e sensação de proteção (Serpell, 2003), que de fato traz benefícios à saúde, como diminuição do estresse,

depressão, doenças cardiovasculares, melhora da saúde mental e física entre outros comprovados pela ciência (McClaskey, 2019).

Com a humanização, os humanos impuseram aos animais de companhia muitas das suas necessidades e preferências, principalmente para os cães, tratando-os como crianças, colocando roupas e adereços, produtos de beleza, fornecendo diversos tipos de brinquedos, levando-os a *spas*, creches, desenvolvendo canais *on-line* ou de televisão para entreter os animais, realizando festas de aniversários e exigiu-se também modificações na alimentação e nutrição, de acordo com as escolhas e filosofias de cada tutor. Para atender a este quesito as empresas têm hoje dietas vegetarianas, veganas, dietas caseiras, livres de grãos, dietas cruas e naturais, sem aditivos sintéticos, entre outras variações (Di Donfrancesco et al., 2012; Euromonitor Internacional, 2014; Dodd et al., 2019).

2.2. Histórico do mercado de alimentos extrusados para animais

No passado, ainda na década de 70, os cães comiam rações caseiras ou sobras das refeições humanas sem nenhum balanceamento nutricional. A partir dos anos 80 até 2000 iniciou-se um avanço no consumo de produtos industrializados para animais de companhia, já que as indústrias nacionais do ramo cresciam graças a tecnologia de extrusão e volumosa produção de alimentos da classe econômica (Magalhães, 2019).

Esse crescimento continua expressivo no Brasil, encontrando sustentação na população de cães do país, a segunda maior do mundo, atualmente com 55,1 milhões de animais (ABINPET, 2019a). Conforme informações da Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação, o valor arrecadado no mercado *pet* geral foi de R\$ 22,3 bilhões em 2019, sendo que o setor *pet food* que inclui alimentos como rações, *snacks* e bifeinhos representam a maior parte desse faturamento, com 73,3%. O setor veterinário relacionado a medicamentos, contribui com 18,4%; já o setor *pet care* referente aos serviços de clínicas veterinárias, adestramentos, *dog walker*, *pet sitter*, tosador, banhista, utensílios e mimos para os animais, corresponde a 8,3% do faturamento (ABINPET, 2019a).

Segundo um relatório de inteligência nacional, hoje no país 49% dos cães domiciliados consomem ração (SEBRAE, 2018). O *pet food* das categorias *standard*, opção economicamente mais acessível, e *premium*, categoria de boa qualidade e preço razoável, apresentam a maior porcentagem de vendas, pois o consumidor brasileiro privilegia as alternativas que caibam em seu orçamento, mas também está se informando cada vez mais sobre a qualidade dos produtos que oferece aos animais (Mota, 2014; Guimarães, 2016). Ainda, 60% do faturamento dessas vendas, vêm do consumo das classes sociais econômicas C e D (ABINPET, 2020).

Considerando que as classes econômicas C, D e E, recebem no máximo 10, 4 e 2 salários mínimos respectivamente, podemos observar que os custos de produtos *standard* para cães comprometem entre 7% a 24% da renda mensal (ABINPET, 2019b). Soma-se a isso o fato de que a carga tributária tem um alto impacto no preço final do *pet food*, atualmente com 51,20% de impostos. Isso dificulta a oferta de um alimento de qualidade para o animal, e induz a compra de rações mais baratas, que geralmente possuem aditivos artificiais em sua composição, como corantes artificiais, para melhorar a aparência do produto final (ABINPET, 2019b).

2.3. Reflexo da alimentação humana

De acordo com uma pesquisa realizada em 2010 nos Estados Unidos, os tutores de cães que são comprometidos com uma alimentação saudável para si, buscam o mesmo para seus animais (Tesfom e Birch, 2010). As embalagens dos alimentos são confeccionadas para chamar a atenção dos tutores e transmitir informações sobre ingredientes, muitas vezes de forma sensacionalista, reforçando a humanização dos animais de companhia. Entretanto sem a merchandising contida em informações nas embalagens, gôndolas ou folhetos, os produtos são escolhidos primeiramente pela aparência, baseada nas cores e padronização do alimento e também pelo aroma (Di Donfrancesco et al., 2014).

Análises sensoriais como os testes de preferências ajudam a entender tanto o comportamento do animal quanto do tutor, podendo ser descritivas e discriminativas ou de consumo, utilizando instrumentos, humanos e os animais de interesse. Testes de aceitação ou análise de atitudes por meio de questionário são aplicados em

pesquisas com humanos, já as pesquisas com animais envolvem testes de escolha, consumo e características comportamentais alimentares. Obviamente os humanos têm limitações devido ao olfato menos desenvolvido, além do paladar apurado e diferente percepção de sabores comparados a cães ou gatos, mas infelizmente as análises focam mais nos tutores do que no cliente final, o cão (Koppel, 2014).

Atualmente, algumas pesquisas mostram a relação entre alimentos secos para animais de estimação e perfis de odores preferidos pelos tutores, já que o olfato favorece o desenvolvimento de uma conexão emocional do produto ou marca com o momento da alimentação do cão, que muitas vezes é acompanhada pelos tutores (Delime et al., 2020). Porém, sem as indicações das embalagens, a grande maioria dos consumidores são influenciados pela intensidade da cor do produto, por acreditarem que cores e formas diferentes de extrusados ou *kibbles* estão relacionados a produtos mais caros e por isso tem maior prestígio. Além disso, a uniformidade, o aspecto oleoso (brilhante) da ração e a intensidade das cores também são relevantes na escolha, sendo que produtos mais escuros, incluindo marrons escuros, apresentam uma relação negativa com a preferência dos tutores (Di Donfrancesco et al., 2014).

O comportamento alimentar dos humanos se baseia primeiramente no aspecto visual do que pretende ingerir ou comprar, pois a cor permite criar uma expectativa psicológica, ajudando a identificar quais são as fontes dos ingredientes e fazer previsões sobre seu provável odor e sabor. Isso se deve a correlações naturais que assimilamos de forma evolutiva, por exemplo, as cores de um fruto (amarelo ou vermelho) e a relação com amadurecimento e doçura (Spence, 2015). Uma das diferenças biológicas mais notáveis entre cães e humanos, é que estes veem o mundo, enquanto os cães o cheiram (Horowitz et al., 2013).

2.4. Natureza e preferências do cão

O habitat em que a espécie evolui é o principal motivador da preferência alimentar, dependente da distribuição dos recursos, necessidades energéticas e proteicas de cada espécie. A fome é um fator motivacional que pode estimular os

animais a provarem novos alimentos e até modificar sua forma de forrageamento, afetando a preferência alimentar (Rao et al., 2018).

O bulbo e o córtex olfativo no cérebro do cão são extremamente desenvolvidos e por isso o cão pode detectar uma concentração de odores de 1 a 2 partes por trilhão, ou seja, 10.000 a 100.000 vezes a capacidade olfativa quando comparada a dos humanos (Horowitz, 2009). Ainda, os cães têm um padrão único de fluxo de ar durante o farejamento e a cavidade nasal possui estruturas anatômicas em espiral, que permitem o transporte eficiente das partículas de odores, otimizado a distribuição e prolongando o contato das moléculas de odor com o epitélio sensorial (Craven et al., 2010; Horowitz et al., 2013).

Indispensável para o comportamento social e sexual, o olfato do cão também tem uma importante função para localizar alimentos, discriminando-os ou pormenorizando-os para determinar suas preferências, mas esse sentido é negligenciado pelos humanos. De forma geral, os cães tomam a decisão inicial de comer com base no aroma, mas só continuarão a comer se o sabor for condizente com o aroma do alimento (Haupt et al., 1978). Contudo, a ciência ainda não concluiu se os odores preferidos dos cães por si só são agradáveis e prazerosos a eles, ou se apenas permitem uma diferenciação vinculada aos alimentos preferidos pelo cão (Hall et al., 2017), mas a espécie é capaz de perceber várias características relacionadas ao alimento, como contaminantes, gordura oxidada, entre outros (Félix et al., 2010). Além do mais, o consumo dos alimentos pelos cães pode ser regulado de duas formas, pois a curto prazo, se a dieta possui baixa densidade energética, a ingestão será regulada pela distensão gástrica, mas se a dieta é de alta energia, a ingestão de alimento será regulada pelo nível de nutrientes circulantes no sangue, como glicose, aminoácidos, ácidos graxos e íons (Zanatta et al., 2016).

Os cães são animais dicromáticos, pois apresentam dois tipos de células fotorreceptoras, uma sensível ao comprimento de onda médio com 555 nm (verde amarelado), e outra sensível à luz de comprimento de onda curto com pico espectral de 429 nm (azul) (Neitz et al. 1989). Muitas pesquisas utilizam testes de cognição partindo da visão dos cães, porém algumas características referentes a este sentido relativamente são pouco estudadas, gerando controvérsias em relação a como os cães enxergam as cores, brilho, profundidade, sensibilidade e acuidade em

comparação aos humanos (Byosiére et al., 2018). Ainda, a diversidade morfológica desta espécie raramente foi considerada nos estudos, mas tem grande probabilidade de influenciar a capacidade visual, devido as diferenças anatômico faciais entre as raças (Byosiére et al., 2018). Em geral, acredita-se que as cores têm pouca influência na escolha dos alimentos pelos cães (Bourgeois, 2004), porque os cães parecem não diferenciar o vermelho do verde, ao invés disso, enxergam tonalidades de cinza (Beaver, 2009). Porém, na literatura não foram encontradas pesquisas sobre preferência de cores de alimentos pelos cães, e muitos trabalhos exploram apenas as preferências olfativas da espécie (Zanatta et al., 2016; Basque et al., 2019).

A literatura sobre preferência alimentar de cães muitas vezes é baseada na opinião dos tutores ou em testes simplistas, como o teste dos dois comedouros, o método mais comum para avaliar esta espécie (Zanatta et al., 2016). Tais testes podem ser afetados pela raça, sexo do cão, temperatura do alimento e ambiente entre outros fatores, raramente levando em consideração o histórico do animal, nem os demais sentidos ou características comportamentais (Maia e Volpato, 2016). Assim, é de interesse saber se o animal consome um alimento somente em situações de fome ou quando há poucas opções, ou se existe uma clara preferência pelo mesmo, seja pelo odor, por diferenças visuais, de textura ou formato do produto (Stasiak, 2002).

2.5. História, aplicações e normativas dos corantes

Os primeiros relatos sobre a adição de corantes em alimentos datam do ano de 1500 A.C. em algumas cidades do Egito, onde fabricantes adicionaram extratos naturais e vinho para melhorar a aparência dos produtos. Em meados do século XIX, ingredientes como o açafrão, páprica e outras especiarias eram adicionados para criar um efeito visual em alguns alimentos. Após 1840, final da Revolução Industrial, com o desenvolvimento da indústria de alimentos processados, o uso de corantes a base de minerais e metais se acentuou. Os corantes eram utilizados para disfarçar alimentos adulterados e de baixa qualidade, porém muitas substâncias eram tóxicas, como o chumbo vermelho e arseniato de cobre, causando lesões e até mortes de pessoas (Downham e Collins, 2000). Em 1856, o cientista Sir William Henry Perkin sintetizou, pela primeira vez, um corante sintético roxo denominado malva, uma anilina

derivada do alcatrão (Prado e Godoy, 2003). Dois anos mais tarde, em 1858, Peter Griess esclareceu o processo da diazotização, que consiste na reação de íons com o grupo diazônio ($-N_2^+$) acoplados ao anel aromático para formar uma dupla ligação entre os nitrogênios. Em 1864, Carl Alexander Martius conseguiu sintetizar corantes azo a partir da anilina e outras aminas aromáticas do alcatrão (Travis, 2009). Desde a década de 50 e principalmente nas décadas seguintes, a industrialização dos alimentos resultou no uso crescente de corantes pela população, como pode ser observado na Figura 1 (Stevens et al., 2013; König, 2015; Zanoni e Yamanaka, 2016).

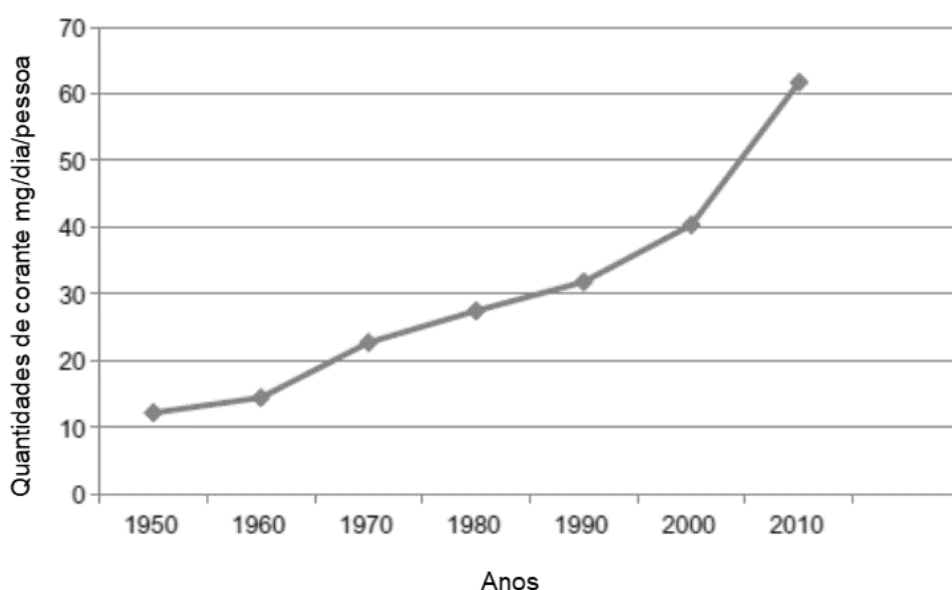


Figura 1 – Crescimento do uso de corantes alimentares entre os anos de 1950 e 2010 certificado pela FDA (Adaptado de Stevens et al., 2013).

A hulha é um tipo de carvão mineral e o alcatrão é a parte líquida da hulha, composta por águas amoniacais. Até os dias atuais é pelo mesmo procedimento que os corantes azo são produzidos (Travis, 2009), por meio da diazotização do ácido amino benzenossulfônico, que ocorre ao adicionar ácido clorídrico e nitrito de sódio, que primeiramente leva a produção de um composto di-azo da reação de uma amina aromática via formação de nitrosamina e di-azo-hidróxido, após ocorre o acoplamento do di-azocomposto com vários sistemas aromáticos reativos, com elétrons que absorvem a luz dos comprimentos de onda visíveis específicos para cada composto, levando à cor de cada corante. A destruição do grupo azo leva à divisão em duas aminas aromáticas, fazendo o composto perder a cor (König, 2015).

Segundo a Instrução Normativa número 13 de 2004 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, os aditivos destinados à alimentação animal podem ser substâncias, microrganismos ou produtos formulados, adicionados intencionalmente aos produtos, que não são utilizados normalmente como ingredientes, podendo ter ou não valor nutritivo. Os aditivos têm a finalidade de melhorar as características dos produtos, o desempenho dos animais sadios ou atender às necessidades nutricionais dos mesmos (MAPA, 2004). De forma complementar, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária pela Portaria número 540 de 27 de outubro de 1997 regulamenta que os aditivos alimentares são substâncias aplicadas de forma intencional aos alimentos, para modificar características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais. Podem ser adicionados em qualquer etapa da produção, seja na manipulação, preparação, tratamento, processamento, fabricação, no embalar, armazenar ou transportar um alimento (ANVISA, 1997).

Corantes alimentares são um tipo de aditivo sensorial com a função de conferir, intensificar ou restaurar a cor dos alimentos, a fim de deixá-los atrativos visualmente para os consumidores e restabelecer a aparência original, perdida durante o processo de produção, para parecerem mais frescos e naturais, porém sem o propósito de nutrir o humano ou outros animais (Yamjala et al., 2016; ANVISA, 2018).

No Brasil, os corantes são classificados como: corante inorgânico obtido a partir de substâncias minerais por meio de processos de purificação; caramelo natural obtido pelo aquecimento e derretimento de açúcares; caramelo orgânico sintético idêntico ao natural, obtido por processos com amônia; corante orgânico natural, de origem vegetal ou animal, no qual o princípio do colorante foi isolado por meio de processos tecnológicos específicos; e orgânico sintético, obtido por síntese orgânica através de processos tecnológicos adequados. Estes podem se enquadrar em corante artificial, que é o corante orgânico sintético não encontrado em produtos naturais ou corante orgânico sintético idêntico ao natural, que possui estruturas químicas semelhante ao princípio ativo isolado de um corante orgânico natural (ANVISA, 1978).

Os azocorantes, principais representantes dos corantes artificiais, são amplamente utilizados em diversas aplicações industriais, pois suas cores são resistentes e atualmente apresentam baixo custo quando comparados a outras substâncias colorantes. Os azocorantes constituem aproximadamente 65% do

mercado comercial de corantes alimentares, pois os sintéticos são mais estáveis comparados aos naturais, que são instáveis e degradam durante o processamento de alimentos, perdendo sua função (Ahlström et al., 2005; Yamjala et al., 2016).

Qualquer corante, antes de ser incluído na dieta humana, é testado no mínimo em seis espécies e três devem obrigatoriamente ser em mamíferos como ratos, cobaias, coelhos, porcos e outras, já que muitos têm proximidade com a fisiologia humana (Magnuson et al., 2013; Kumar e Madan, 2014; Amchova et al., 2015).

Com base em diversas pesquisas, a Organização Mundial das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceram para cada corante alimentar uma ingestão diária aceitável (IDA), que representa a quantidade máxima diária que uma pessoa pode ingerir de cada corante na dieta sem riscos consideráveis à saúde (Stevens et al., 2013).

O Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde, por meio da Resolução nº 4 de 24 de novembro de 1988 e a portaria número 540 de 27 de outubro de 1997, traz o regulamento técnico para aditivos alimentares com as definições, funções, classificação, limites recomendados e condições de uso atualizadas. Os corantes artificiais empregados em alimentos no Brasil estão na Tabela 1.

Tabela 1 – Corantes artificiais autorizados para uso em alimentos no Brasil de acordo com o Sistema Numérico Internacional (INS).

Corante	INS	Limite de uso g/100g	Condições de uso	IDA mg/kg de peso corporal
Tartrazina	102	0,01	*	7,5
Amarelo crepúsculo	110	0,01	-	4,0
Amaranto, Bordeaux	123	0,01	-	0,5
Ponceau 4R	124	0,01	-	4,0
Eritrosina	127	0,01	-	0,1
Vermelho 40	129	0,01	-	7,0
Azul patente V	131	0,01	-	15,0
Indigotina	132	0,01	-	5,0
Azorrubina, Carmosina	122	0,01	*	4,0
Azul brilhante	133	0,01	-	12,5
Verde rápido	143	0,01	*	10,0

*As lacas de alumínio estão autorizadas somente para o revestimento de comprimidos e drágeas. Adaptado de CNS (1988); Martins (2015) e Zanoni e Yamanaka (2016).

Ainda, os corantes podem conter até 10% de impurezas e também metais pesados que se acumulam no fígado, assim para o corante vermelho ponceau por exemplo, os limites permitidos são 2 ppm para o chumbo, 3 ppm para o arsênico e 1 ppm para mercúrio e cádmio (EFSA, 2009 e 2018). O FDA nos Estados Unidos limita o chumbo, arsênico e mercúrio a quantidade de 10 ppm, 3 ppm e 1 ppm respectivamente, nos corantes (Stevens et al., 2013). No Brasil o Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965 dispõe dos limites máximos de tolerância dos contaminantes inorgânicos em aditivos alimentares que estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Limite máximo de tolerância de contaminantes inorgânicos em aditivos alimentares.

Contaminante	Limite máximo (ppm)
Antimônio	2,00
Arsênico	1,00
Cádmio	1,00
Cobre	30,00
Cromo	0,10
Estanho	250,00
Mercúrio	0,01
Níquel	5,00
Selênio	0,05
Zinco	50,00
Chumbo	0,08

Adaptado Anvisa, 1965.

Os corantes artificiais também podem estar presentes nas rações comercializadas (econômica, *standard* e *premium*), *snacks*, petiscos, bifeinhos, entre outros. Este tipo de aditivo é utilizado somente para agradar aos olhos do consumidor humano, não sendo necessário na aceitação do alimento pelo cão (NRC, 2006). Os corantes não devem conferir odor nem sabor ao alimento, mas como são químicos originados do alcatrão da hulha, podem ser farejados pelos cães, porém a literatura a respeito deste aditivo em alimentos para animais é escassa.

Para assegurar a padronização na aplicação de corantes, as indústrias de *pet food* tomam como base a legislação de alimentos humanos. Porém, os tutores têm o hábito de fornecer ração em quantidades maiores que o recomendado pelo fabricante,

ou deixam a ração *ad libitum* para o animal (Zanatta et al., 2016), além de fornecer petiscos coloridos, o que pode favorecer a extrapolação do consumo de corantes (Stevens et al., 2015). No Brasil, por exemplo, não há a obrigatoriedade de declarar nos rótulos a quantidade de corantes presentes nos produtos (ANVISA, 2008). Além disso, cada lote deve ser certificado (NRC, 2006; EFSA, 2009), mas no nosso país o controle de qualidade dos corantes parece ser infrequente, apesar da necessidade de análises rigorosas para garantir a segurança do consumidor (Prado e Godoy, 2007; Martins, 2015).

2.6. Corante Vermelho Ponceau 4R

Com o nome comum de ponceau 4R, mas também conhecido como *cochineal red A*, *new coccine* ou vermelho cochonilha é quimicamente conhecido como 2-hidroxi-1-(4-sulfonato-1-naftilazo)-naftaleno-6,8-dissulfonato de trissódio. Sua fórmula estrutural está apresentada na Figura 2. É produzido misturando o ácido naftiônico diazotizado ao ácido G (2-naftol-ácido 6,8-dissulfônico) (König, 2015; Leulescu et al., 2019). Considerado instável à presença de ácido ascórbico, dióxido de enxofre, açúcares, resiste bem à acidez e calor (Downham e Collins, 2000). Temperaturas próximas a 80°C diminuem em até 30% a intensidade da cor vermelha, e se adicionado ácido ascórbico no processo, a perda da coloração chega a 100% (Netto, 2009; EFSA, 2018).

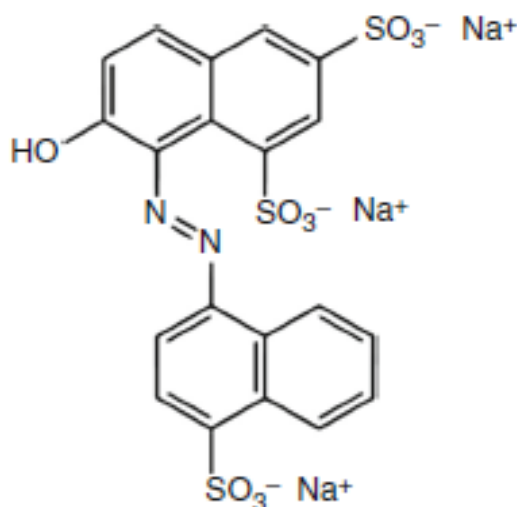


Figura 2 – Fórmula estrutural do azocorante vermelho ponceau 4R (Leulescu et al., 2019).

Atualmente o comitê da FAO/OMS (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA) estabeleceu a dose diária aceitável (DDA) de 4 mg/kg de peso corporal para humanos, mas o corante vermelho ponceau tem uso proibido pelo Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos, Canadá, Japão, Suécia, Finlândia, Noruega (FDA, 2018). Nos demais países da União Europeia é recomendado a ingestão máxima 0,7 mg/kg de peso corporal por dia (EFSA, 2015). A European Food Safety Authority (EFSA) afirma que os dados encontrados nas pesquisas não causam preocupação em relação à genotoxicidade a longo prazo do azo corante vermelho ponceau, porém não há um consenso na ciência sobre os efeitos na saúde desse e de outros corantes (König, 2015). Para a Europa não há um teor máximo de aplicação do corante vermelho ponceau em alimentos para animais, mas isso é dependente das propriedades químico físicas dos demais ingredientes. O uso do corante vermelho ponceau, ao se considerar alimentos secos com até 12% de umidade, chega até 400 mg/kg de alimentos para gatos, 600 mg/kg para cães e 3.500 mg/kg para peixes ornamentais (EFSA, 2018).

No Brasil seguimos as recomendações da FAO/OMS, mas existem contradições na própria legislação. O uso do vermelho ponceau só é permitido para aperitivos à base de cereais com a indicação de inclusão de até 0,05 mg/kg de produto para humanos (ANVISA, 2008), mas não há nada específico para alimentos destinados aos animais. O vermelho ponceau é utilizado em refrigerantes, refrescos, vinhos, laticínios, produtos de padaria, misturas para bolo, coberturas, frutas em caldas, sorvetes, xaropes de bebidas, balas, mostarda, *pet food*, cosméticos e medicamentos (König, 2015).

O corante artificial vermelho ponceau 4R, ao ser ingerido, é excretado principalmente pelas fezes, mas parte é degradada pela microbiota intestinal, que produz metabólitos, e por sua vez são absorvidos pela corrente sanguínea e excretados pela urina (König, 2015). A excreção completa do corante depende do tempo de trânsito intestinal de cada espécie e um estudo realizado com camundongos, ratos e porquinhos da Índia, mostrou que os principais compostos excretados são ácido naftiônico, pela urina e fezes, e 7-hidroxi-8-ácido aminonaftaleno-1,3-dissulfônico excretado somente pelas fezes (Phillips et al., 1982).

2.7. Bioquímica dos corantes

Segundo estudos, é possível que pequenas quantidades de azocorantes sejam absorvidos embaixo da língua e pelas mucosas da boca através da difusão passiva, pois são compostos de baixo peso molecular (Goldenring et al., 1981).

Em 1911 foi realizado o primeiro estudo sobre o metabolismo de compostos azo com mamíferos, no qual cães que receberam o corante orange I apresentaram ácido sulfanílico na urina, o que levou a conclusão que os compostos azos podiam ser metabolizados pelo organismo (Walker, 1970). Um segundo trabalho com prontossil demonstrou que enzimas azo redutases no fígado de ratos em condições anaeróbicas reduziam e clivaram os compostos azo a aminas aromáticas, levando à formação de sulfanilamida, excretada por via urinária e mais tarde isso foi observado no ser humano (Chung et al., 1978).

No intestino, mais especificamente no colón, os corantes azo são degradados e metabolizados pelas azo redutases e peroxidases de bactérias anaeróbias da microflora intestinal, produzindo aminas aromáticas 4-aminobifenil, 4-aminoazobenzeno, benzidina, ácido sulfanílico e metabólitos como N-dimetil-p-fenilenodiamina, ácido 1-amino-2-naftol, ácido m-xilidina-6-sulfônico, ácido cresidina-sulfônico, naftionato de sódio e sal R-amino (Walker, 1970; Demirkol et al., 2012; Sayed et al., 2012). Alguns microorganismos mais comuns que atuam nesse processo são *Fusobacterium sp.* 2, *Bacteroides thetaiotaomicron* e *Citrobacter sp.* (Chung et al., 1978).

Em um estudo realizado com cães canulados que receberam 200mg de corantes azuis, verdes e violeta testados separadamente, foi observado que a velocidade da motilidade intestinal lenta fazia com que mais corante fosse absorvido e secretado pela bile (Hess e Fitzhugh, 1955). Ainda, existe uma hipótese sobre a permeabilidade intestinal anormal, na qual as células da mucosa intestinal permitem a entrada de algumas moléculas prejudiciais, que em organismos normais não seriam absorvidos, e essa anomalia pode contribuir para o aumento da absorção de corantes (Stevens, et al., 2013).

As aminas aromáticas livres induzem a produção irregular de espécies reativas ao oxigênio (ROS) aumentando o estresse oxidativo no sangue (Demirkol et al., 2012;

Sayed et al., 2012; Stevens et al., 2013), como radicais hidróxi (OH), ânion superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), comprometendo o metabolismo normal (Seesuriyachan et al., 2007; Sayed et al., 2012). Sobre as aminas aromáticas, não se sabe ainda se afetam o comportamento de forma direta e quais são os níveis tóxicos (Stevens et al., 2013).

Em um experimento com filhotes de ratos, os cientistas injetaram de forma intraperitoneal diariamente por trinta dias, 1 mg/kg do metabólito dos azocorantes, o ácido sulfanílico, e foi observado hiperatividade e desempenho de escape prejudicados, levando a hipótese de que o ácido sulfanílico atravessa a barreira hematoencefálica, sendo responsável pelas alterações comportamentais (Goldenring et al., 1981).

As ROS podem chegar ao cérebro pela corrente sanguínea e diminuir a concentração de antioxidantes, eleva os níveis de malondialdeído (MDA) e ataca lipídios e proteínas da membrana do neurônio, prejudicando as sinapses nervosas (Chaudhary et al., 2014; Mohamed et al., 2015). O peróxido de hidrogênio pode degenerar neurônios dopaminérgicos e interferir no receptor e na liberação de dopamina. O aumento da produção de ROS em um período prolongado pode destruir a enzima 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina (BH4), uma limitante associada à biossíntese de serotonina, dopamina, adrenalina e noradrenalina. A atividade reduzida da BH4 está relacionada as perturbações comportamentais em crianças com Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (Lopresti, 2015).

Esses aditivos também podem causar hipersensibilidade alimentar, pois os corantes atuam como haptenos, substâncias de baixo peso molecular que somente induzem a resposta imune quando acopladas a outras moléculas. Os corantes se ligam de forma covalente a proteínas transportadoras do trato gastrointestinal e ativam o sistema imunológico por meio das células T, além de promoverem a liberação de grânulos e citocinas pelos mastócitos; estes por sua vez elevam os níveis de IgE, o que induz a liberação de histamina e leucotrienos (Stevens et al., 2013; Feketea e Tsabouri, 2017).

Tais desequilíbrios fisiológicos têm efeitos tanto sobre a saúde de humanos, quanto de animais, pois alteram a bioquímica de alguns órgãos (como o fígado e rins), a função reprodutiva, causa hipersensibilidade e pode induzir a problemas

comportamentais como ansiedade, agressividade, hiperatividade, hipercinésia, irritabilidade, falta de atenção e afetar a memória (Tanaka, 2006b; Doguc et al., 2015; Masone e Chanforan 2015).

2.8. Efeitos e problemas de saúde relacionados aos corantes artificiais

Na década de 60 e 70, com o aumento da industrialização de alimentos e maior uso de corantes, muitos estudos foram realizados para avaliações de níveis de segurança e possíveis efeitos tóxicos desses aditivos (König, 2015; Zanoni e Yamanaka, 2016). Especificamente em relação a ingestão do corante vermelho ponceau, existem indícios sobre hipersensibilidade, reações urticárias e vasculares em humanos (König, 2015), além de alterações fisiológicas e comportamentais, em animais (Gaunt et al., 1967; Tanaka, 2006a).

Entre as pesquisas realizadas com animais, um experimento com ratos mostrou que a contagem de glóbulos vermelhos das fêmeas foi reduzida, assim como a concentração de hemoglobina e valor do hematócrito, quando foram alimentadas com 2% (equivalente a 2050 mg/kg/dia) do corante vermelho ponceau 4R na dieta por 90 dias (Gaunt et al., 1967). Os mesmos pesquisadores trabalharam com suínos e observaram a redução no número de eritrócitos nos machos ao fornecer 900 mg/kg/dia de ponceau aos animais por 90 dias (Gaunt et al., 1969).

Tanaka (2006a) observou que ratos machos que ingeriram doses de até 0,48% de corante vermelho ponceau (ou 776,4 mg/kg de peso corporal por dia) desde a pré-gestação até 9 semanas de vida, demoraram mais no teste do labirinto de Morris em comparação ao grupo controle, demonstrando que a capacidade de localização espacial e movimentos coordenados dos animais foram afetados, principalmente em machos, porém as dosagens utilizadas foram altas, o que foge dos padrões de consumo de corantes.

Ainda sobre as alterações na capacidade de movimentação dos animais, um estudo com o corante vermelho eritrosina forneceu uma dose única de até 200 mg/kg de peso corporal para ratos machos e foi observado que a atividade motora dos animais reduziu em duas horas e a atividade serotoninérgica foi minimizada no

cérebro, lembrando que a serotonina é um hormônio que regula o humor, apetite, sono, memória e aprendizado (Dalal e Poddar, 2009).

De forma similar, Radu-Rasu e Pop (2017) estudando os corantes azul brilhante e azorrubina (50 mg/L de água), fornecidos em tratamentos separados durante 35 dias para ratos, observaram diferenças significativas sendo que os animais apresentaram menor índice de massa corporal, diminuição da duração do sono e dos descansos, além do aumento de comportamento ativos, como correr e agredir os demais.

Também foram observados efeitos causados pela ingestão de combinações de corantes azo. Kantor et al. (1984) forneceu uma mistura (0; 0,5; 1; 2 e 4%) dos corantes azul brilhante, indigotina, verde rápido, eritrosina, vermelho allura, tartrazina e amarelo pôr-do-sol na dieta para ratos durante quatro semanas e verificaram que o grupo que consumiu a maior dose apresentou-se significativamente menos ativo nas primeiras três semanas de tratamento. Após esse período não foram mais observadas mudanças comportamentais, porém os autores comentam que os animais podem se adaptar a problemas crônicos, já que o sistema nervoso apresenta plasticidade, o que não exclui evidências mínimas de toxicidade dos corantes. Infelizmente não há informações sobre a quantidade do mix ingerido por kg de peso corporal em cada tratamento.

Doguc et al. (2015) trabalharam com uma única mistura de corantes (ponceau, eritrosina, amaranth, allura, tartrazina, pôr-do-sol, azorrubina, azul brilhante e indigotina), com dosagens de 10 até 750 mg/kg/dia dos aditivos que foram diluídos em água. O mix foi fornecido de acordo com o peso dos animais, (em torno de 1 mL/100 g de peso corporal), e administrados por gavagem oral uma semana antes das ratas acasalarem até o dia do parto. Quando os filhotes completaram 30 dias de vida, foram testados no labirinto de água de Morris, teste do campo aberto e teste da natação forçada. No grupo tratado, foi observado a diminuição da motivação de ratas e aumento da atividade locomotora em machos e a ansiedade em ambos os sexos nos testes de labirinto de Morris e campo aberto, porém essa causa sexo-dependente ainda não foi elucidada, mas acredita-se que os corantes afetam de forma diferente hormônios sexuais.

Em relação a alterações oxidativas no organismo, Amin et al., (2010) concluíram que os corantes afetam negativamente o status oxidativo, ao trabalharem

com ratos machos que ingeriram doses baixas (15 e 8 mg/kg de peso corporal) e altas (500 e 100 mg/kg de peso corporal) dos corantes tartrazina e carmoisina respectivamente, durante 30 dias. Foi observado aumento significativo na proteína total, albumina, malondialdeído, creatinina, ureia e enzimas do fígado como alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina e baixos níveis de glutathione peroxidase e superóxido dismutase em ambas as doses.

El-Sisi et al. (2015) avaliaram em filhotes de ratos desmamados, os efeitos da tartrazina (dosagens de 1% e 3% da dieta, sem especificações da quantidade ingerida) em combinação com a cúrcuma (200 mg/kg de peso corporal). Os autores observaram que a tartrazina aumentou significativamente a resposta comportamental ativa, pois os ratos mostraram hiperatividade no teste do campo aberto e diminuição da aprendizagem e da memória, com maiores latências, avaliados no teste de labirinto de água de Morris. O combinado com a cúrcuma minimizou as alterações comportamentais provavelmente devido ao efeito anti-inflamatório e antioxidante do ingrediente.

Ainda, Mohamed et al. (2015) ao trabalharem com ratos machos que receberam tratamentos com 500 mg/kg de peso corporal de tartrazina, ou com geleia real ou ainda tartrazina com óleo de fígado de bacalhau por 30 dias, perceberam que os ratos que ingeriram apenas tartrazina apresentaram uma diminuição significativa na concentração dos neurotransmissores cerebrais, baixos níveis de biomarcadores antioxidantes como superóxido dismutase, catalase e glutathione reduzida, além da elevação dos níveis de malondialdeído e maior número de células apoptóticas; já os demais grupos se mantiveram dentro dos parâmetros bioquímicos normais.

Alguns estudos com crianças também foram realizados. Ibero et al., (1982) trabalhando com 25 crianças sensíveis a antígenos alimentares com diferentes idades, desafiou-as por meio de ingestão de diferentes corantes após 48 horas de exclusão das suas dietas de rotina. Quatro indivíduos apresentaram urticária ou angioedema, broncoconstrição, ou piora da dermatite atópica mostrando reação ao vermelho ponceau nas doses de 1 e 10 mg/kg.

A pesquisa de McCann et al. (2007) teve grande repercussão científica, ao avaliar os efeitos de misturas de corantes alimentares em 297 crianças. Foram estabelecidos dois tratamentos diluídos em suco de frutas, dos quais a mistura A

continha amarelo pôr-do-sol, carmoisina, tartrazina e ponceau 4R, totalizando 20 mg/dia de corantes artificiais e a mistura B era composta por amarelo pôr-do-sol, carmoisina, amarelo-quinolina e vermelho-alura, somando 30 mg/dia de corantes. Os tratamentos e o placebo foram fornecidos de forma randomizada durante seis semanas, para um grupo de crianças de 3 anos e outro de 8 anos e para este grupo as doses foram multiplicadas por 1,25. Os autores relataram modificações comportamentais como aumento da hiperatividade, desatenção e impulsividade das mesmas. Já Stevenson et al. (2010) utilizaram a mesma amostra e tratamentos citados no experimento anterior a curto prazo, e identificaram dois genes de histamina e um gene de dopamina como marcadores genéticos suscetíveis aos corantes.

Pesquisas *in vitro* alegam que o corante amarantho tem a capacidade de se ligar a albumina humana através do hidrogênio e interações hidrofóbicas, aumentando a hidrofobicidade da proteína, comprometendo sua conformação e função. A albumina é a proteína plasmática responsável pelo transporte de ácidos graxos, minerais como o cálcio e hormônios, serve de reserva proteica, além de atuar como ânion controlando o pH sanguíneo e reparação de tecidos (Zhang e Ma, 2013).

Kus e Eroglu (2015), trabalhando com culturas de linfócitos humanos incubados por 72 horas a 37°C com extrato aquoso dos corantes em dosagens de 10, 20, 30 e 40 mg/mL, notaram que o amarelo pôr-do-sol e o azul brilhante alteraram significativamente as taxas de índices mitóticos, induziram a frequência de micronúcleos e replicação celular, assim sendo considerados corantes com potenciais citotóxicos, clastogênicos e genotóxicos.

Também em condições *in vitro*, Basu e Kumar (2015) estudaram a interação do corante azorrubina com a hemoglobina, por meio de métodos calorimétricos e espectroscópicos e relataram alteração na estrutura da hemoglobina, podendo influenciar a liberação de trifosfato de adenosina e alterar a capacidade de transporte de oxigênio pelos eritrócitos.

Em um estudo em culturas de neutrófilos de humanos com os azocorantes tartrazina, amarelo pôr-do-sol, carmoisina, vermelho-alura e ponceau 4R nas concentrações de 0; 1,15; 2,30; 5,75 e 11,51 mg/L, os pesquisadores observaram maior síntese *in vitro* de leucotrieno B₄ e isoprostanos F₂, indicando aumento da atividade pró inflamatória (Leo et al., 2018).

Na alimentação humana é relatado que a ingestão de corantes artificiais principalmente por crianças, acaba excedendo o limite máximo diário recomendado, pois muitos alimentos ingeridos diariamente contêm corantes e ainda são consumidos em grandes quantidades, como biscoitos, doces, cereais, entre outros (Doguc et al., 2012; Stevens et al., 2013 e 2015). Uma situação dessas é passível de ocorrer com cães também, devido ao tipo de ração fornecida e frequência de petiscos.

Infelizmente muitos trabalhos tem mais de 50 anos, e poucos avaliaram os efeitos dos corantes em dosagens consideradas normais, também pode-se observar que as dosagens utilizadas nos estudos variaram entre quatro a dez vezes a ingestão diária aceitável (IDA) e muitas deixam a desejar em relação ao controle dos tratamentos fornecidos. Ainda assim, esses resultados são relevantes ao se considerar que em uma população há indivíduos mais imuno reativos ou sensíveis as diversas substâncias contidas em alimentos (König, 2015). Além do mais, não foram encontrados trabalhos científicos que avaliassem qualquer efeito de corantes em dietas para cães ou a preferência destes por corantes, apenas antigos estudos toxicológicos que objetivavam entender o metabolismo dos corantes e de forma simplificada, devido a época em que foram conduzidos.

2.9. Problemas comportamentais e abandono

Trazer o cão para conviver em sociedade com humanos não influenciou somente sua natureza, preferências ou nutrição, mas também trouxe vários problemas comportamentais, que se tornaram comuns nos últimos anos, comprometendo o bem-estar do animal e a relação com seus tutores, levando a sérios problemas sociais, como o abandono e eutanásia (Beaver, 2001; Kurachi et al., 2017). Estima-se que nos Estados Unidos cerca de 3,3 milhões cães são deixados em abrigos todos os anos e cerca de 22,33% deles são sacrificados (ASPCA, 2020). Infelizmente no Brasil existe apenas estudos regionais sobre as causas que levam ao abandono e eutanásia de cães (Soares et al., 2010; WAP, 2020).

Uma pesquisa por meio de questionários públicos avaliou 4114 cães de diversos países e 85% dos cães da amostra apresentavam algum tipo de problema comportamental. Os mais comuns foram problemas de medo e ansiedade com 44%

dos casos, 30% apresentaram problemas de agressão, 18% latidos excessivos e 12% hiperatividade, entre outros problemas, mas deve-se evidenciar que são causas diversas que levam a esses comportamentos (Dinwoodie et al., 2019).

A agressão ainda é o problema comportamental mais preocupante em cães, tendo em sua base motivacional diversos fatores como a falta de socialização e interações, traumas, neuroticismo do tutor e o próprio temperamento do indivíduo (Gobbo e Zupan, 2020). Além disso, alguns estudos mostram que nutrição desbalanceada também pode afetar a agressividade em cães, devido as baixas concentrações de ômega-3 no plasma e alta relação ômega 6 - ômega 3, que foram correlacionadas com a agressividade (Re et al., 2008). Este comportamento também pode estar relacionado a dietas hiperproteicas com baixo nível do aminoácido triptofano, que é o precursor de serotonina, porém os estudos ainda são inconclusivos (Andrea et al., 2015).

Já a ansiedade pode levar a outros problemas comportamentais, como agressão ou estereotipias. A ansiedade está relacionada a algumas fobias, como as que ocorrem com fogos de artifício e tempestades; medo e transtornos generalizados como latidos excessivos, eliminação inadequada, autolesão, estereotipias, etc. Todas essas situações indicam que o bem-estar do animal está prejudicado, podendo apresentar elevados níveis de cortisol, o hormônio do estresse, além de encurtar a vida dos animais de companhia (Siniscalchi et al., 2013; Kurachi et al., 2017). Um estudo no Japão com 262 cães revelou que metade dos cães apresentavam comportamentos ansiosos, e destes, 40% dos tutores estavam incomodados com esse tipo de comportamento, o que evidencia o impacto do problema na relação humano animal (Kurachi et al., 2017).

As alterações comportamentais podem ter diversas causas como situações estressantes em que a fêmea em gestação é submetida (Lupien et al., 2009); separação precoce dos filhotes da mãe; manejo ou condicionamento que não condiz com a natureza do animal (Beaver, 2001; Horowitz, 2009; Bradshaw, 2012); equívocos na interação humano-animal (Mariti et al., 2012); ambiente empobrecido levando a estereotipias; estresse; depressão; cruzamentos mal conduzidos (Horowitz, 2009; Bradshaw, 2012); idade avançada e sexo do cão (Martínez et al., 2011); problemas neurológicos, psicopatológicos e nutricionais (Re et al., 2008; Andrea et al., 2015;

Sechi et al., 2017). Em relação a problemas comportamentais e nutricionais, há a possibilidade de uso de aditivos sintéticos, como os corantes artificiais, comprometerem a integridade psicológica devido a alterações bioquímicas no organismo (Doguc et al., 2012 e 2015; Masone e Chanforan, 2015; Mohamed et al., 2015).

Atualmente na alimentação humana há muito debate sobre o uso de corantes e efeitos na fisiologia e comportamento, como pseudoalergias e hiperatividade (Ibero et al., 1982; McCann et al., 2007; Stevenson et al., 2010). Por outro lado, na alimentação de cães e gatos, existe uma escassez de pesquisas a respeito do uso de corantes contidos em rações e petiscos. Tais aditivos poderiam predispor a distúrbios comportamentais e de saúde e, por consequência, comportamentos inadequados, aumentando a chance de abandono do cão. Os estudos em humanos devem servir de reflexão para a área de comportamento e nutrição de animais de companhia e há necessidade de se realizar pesquisas sobre a ingestão dos corantes pelos animais, a fim de elucidar questões em aberto.

3. REFERÊNCIAS

ABINPET - Associação Brasileira de Indústria de Produtos para Animais de Estimação. 2019a **Mercado PET Brasil**. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/mercado/>>. Data de acesso: 14 jun 2020.

ABINPET - Associação Brasileira de Indústria de Produtos para Animais de Estimação. 2019b **No Brasil gastos com animais de estimação variam de 24% a menos de 1% da renda familiar**. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/no-brasil-gastos-com-animais-de-estimacao-variaram-de-24-a-menos-de-1-da-renda-familiar/>>. Data de acesso: 14 jun 2020.

ABINPET - Associação Brasileira de Indústria de Produtos para Animais de Estimação. 2020 **Informações gerais do setor Pet**. Disponível em: <http://abinpet.org.br/infos_gerais/>. Data de acesso: 11 ago 2020.

Ahlström LH, Eskilsson CS, Björklund E (2005) Determination of banned azo dyes in consumer goods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry** 24:49-56.

Amchova P, Kotolova H, Ruda-Kucerova J (2015) Health safety issues of synthetic food colorants. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** 73:914-922.

Amin KA, Hameid II HA; Abd Elsttar AH (2010) Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative

stress biomarkers in young male rats. **Food and Chemical Toxicology** 48:2994-2999, 2010.

Andrea KT, Astrid-Simone G, Simona Z, Cristina P, Ileana B, Liliana C, Ioan T (2015) The impact of dog feeding on their aggressiveness. **Advances in Animal and Veterinary Sciences** 3:503-506.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965**. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1965. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/DECRETO%2BN%25C2%25BA%2B55.871%252C%2BDE%2B26%2BDE%2BMAR%25C3%2587O%2BDE%2B1965.pdf/59b8704c-52f4-481d-8baa-ac6edadf6490>> Data de acesso: 04 jul 2020.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria no 540/97, de 27 de outubro de 1997**. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1997. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/PORTARIA_540_1997.pdf/3c55fd22-d503-4570-a98b-30e63d85bdad>. Data de acesso: 08 mai 2018.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - CNNPA nº 44, de 1977**. In: Diário Oficial da República Federativa do Brasil B, DF, ed. 1978. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolucao+RDC+n+64+de+16+de+setembro+de+2008.pdf/2f891ac8-aaf3-48a7-8c0361b511cb9324>>. Data de acesso: 04 jul 2020.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 239, DE 26 DE JULHO DE 2018**. Disponível em: <http://www.in.gov.br/materia/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34380515/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-239-de-26-de-julho-de-2018-34380387>. Data de acesso: 24 jun 2020.

ASPCA - American Society for the Prevention of Cruelty to Animals. **Shelter Intake and Surrender**. 2020. Disponível em: <<https://www.asPCA.org/animal-homelessness/shelter-intake-and-surrender>>. Data de acesso: 03 jul 2020.

Basque C, Cambou S, Peron F, Le Paih L, Marzin C, Hanaoka K, Callejon L, Prost C, Lethuaut L (2019) Food preference and olfactory discrimination tests: A complementary approach to understand the drivers of hedonic responses in dogs. **Journal of Sensor y Studies** 34:1-14.

Basu A, Kumar GS (2015) Binding of carmoisine, a food colorant, with hemoglobin: Spectroscopic and calorimetric studies. **Food Research International** 72:54-61.

Beaver BV (2001) **Comportamento Canino – Um Guia para Veterinários**. São Paulo:Roca, 431 p.

Beaver BV (2009) **Canine Behavior: Insights and Answers**. St. Louis: Saunders Elsevier, 315 p.

Bourgeois H (2004) **O livro de Palatabilidade em Cães e Gatos**. França: Centro de Pesquisa e Desenvolvimento da Royal Canin, n. p.

Bradshaw J (2012) **Cão Senso**. Rio de Janeiro: Record, 406 p.

- Byosiére SE, Chouinard PA, Howell TJ, Bennett PC (2018) What do dogs (*Canis familiaris*) see? A review of vision in dogs and implications for cognition research. **Psychonomic Bulletin & Review** 25:1798-1813.
- Chaudhary M, Joshi DK, Tripathi S, Kulshrestha S, Mahdi AA (2014) Docosahexaenoic acid ameliorates aluminum induced biochemical and morphological alteration in rat cerebellum. **Annals of Neurosciences** 21:5-9.
- Chung K, Fulk GE, Egan M (1978) Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. **Applied and Environmental Microbiology** 35:558-562.
- CNS - Conselho Nacional da Saúde, **Resolução n.º 04, de 24 de novembro de 1988**. Ministério da Saúde, 1968. Disponível em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/1988/res0004_24_11_1988.html#:~:text=2%20%E2%80%93%20Revoga%20as%20Portarias%2C%20Resolu%C3%A7%C3%B5es,coadjuvantes%20da%20tecnologia%20de%20fabrica%C3%A7%C3%A3o. Data de acesso: 5 set 2020.
- Craven BA, Paterson EG, Settles GS. (2010) The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. **Journal of the Royal Society Interface** 7:933-943.
- Dalal A, Poddar MK (2009) Short-term erythrosine B-induced inhibition of the brain regional serotonergic activity suppresses motor activity (exploratory behavior) of young adult mammals. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 92:574-582.
- Delime P, Koppel K, Pachot P, De Ratuld A (2020) How the odor of pet food influences pet owners' emotions: A cross cultural study. **Food Quality and Preference** 79:1-10.
- Demirkol O, Zhang X, Ercal N (2012) Oxidative effects of Tartrazine (CAS No. 1934-21-0) and New Coccin (CAS No. 2611-82-7) azo dyes on CHO cells. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit** 7:229-236.
- Di Donfrancesco B, Koppel K, Chambers IV E (2012) An initial lexicon for sensory properties of dry dog food. **Journal of Sensory Studies** 27:498-510.
- Di Donfrancesco B, Koppel K, Swaney-Stueve M, Chambers E (2014) Consumer acceptance of dry dog food variations. **Animals** 4:313-330.
- Dinwoodie IR, Dwyer B, Zottola V, Gleason D, Dodman NH (2019) Demographics and comorbidity of behavior problems in dogs. **Journal of Veterinary Behavior** 32:62-71.
- Dodd SA, Cave NJ, Adolphe JL, Shoveller AK, Verbrugghe A (2019) Plant-based (vegan) diets for pets: A survey of pet owner attitudes and feeding practices. **PloS One** 14:1-19.
- Doguc DK, Aylak F, İlhan I, Kulac E, Gultekin F (2015) Are there any remarkable effects of prenatal exposure to food colourings on neurobehaviour and learning process in rat offspring? **Nutritional Neuroscience** 18:12-21.
- Doguc DK, Ceyhan BM, Ozturk M, Gultekin F (2012) Effects of maternally exposed colouring food additives on cognitive performance in rats. **Toxicology and Industrial Health** 29:616-623.
- Downham A, Collins P (2000) Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science & Technology** 35:5-22.

EFSA - European Food Safety Authority (2009) Scientific opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food additive. **EFSA Journal** 7:1-39.

EFSA - European Food Safety Authority (2015) Refined exposure assessment for Ponceau 4R (E 124). **EFSA Journal** 13:1-34.

EFSA - European Food Safety Authority (2018) Safety and efficacy of ponceau 4R for cats, dogs and ornamental fish. **EFSA Journal** 16:1-13.

Elbanna K, Sarhan, OM, Khider M, Elmogy M, Abulreesh HH e Shaaban MR. (2017). Microbiological, histological, and biochemical evidence for the adverse effects of food azo dyes on rats. **Journal of Food and Drug Analysis**. 25:667-680.

El-Sisi SF, Radwan OK, El-Nabarawy SK, Abdel-razek AM (2015) Comparative Study of Some Natural and Artificial Food Coloring Agents on Hyperactivity, Learning and Memory Performance in Weanling Rats. **International Journal of Sciences: Basic and Applied Research** 21:309-324.

Euromonitor International (2014) **Pet Humanisation: The Trend and Its Strategic Impact on Global Pet Care Markets**. Disponível em: <https://www.euromonitor.com/pet-humanisation-the-trend-and-its-strategic-impact-on-global-pet-care-markets/report>. Data de acesso: 17 jun 2020.

FDA - Food and Drug Administration. (2018) **Summary of Color Additives for Use in the United States in Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorAdditiveInventories/ucm115641.htm#table1B>>. Data de acesso: 20 mai 2018.

Feketea G, Tsabouri S. (2017) Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? **Food Chemistry** 230:578-588.

Félix AP, Oliveira SG, Maiorka A (2010) Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos. In: Vieira, S.L. (Ed.) Consumo e Preferência Alimentar de Animais Domésticos. **Phytobiotics** 162-199.

Gaunt IF, Farmer M, Grasso P, Gangolli SD 1967 Acute (mouse and rat) and short-term (rat) toxicity studies on Ponceau 4R. **Food and Cosmetics Toxicology** 5:187-194.

Gaunt IF, Grasso P, Creasey M, Gangolli SD 1969 Short-term toxicity study on Ponceau 4R in the pig. **Food and Cosmetics Toxicology** 7:443-449.

Gobbo E, Zupan M, (2020) Dogs' Sociability, Owners' Neuroticism and Attachment Style to Pets as Predictors of Dog Aggression. **Animals** 10:1-15.

Goldenring JR, Batter DK, Shaywitz BA (1981) Sulfanilic acid: behavioral change related to azo food dyes in developing rats. **Neurobehavioral Toxicology and Teratology** 4:43-49.

Guimarães C. **Pet food lidera faturamento do mercado pet e corresponde a mais de 60% em 2015**. Portal Vet, Royal Canin. 2016. Disponível em: <<http://www.caesegatos.com.br/pet-food-lidera-faturamento-do-mercado-pet-e-corresponde-a-mais-de-60-em-2015>>. Data de acesso: 21 out 2016.

Hall NJ, Péron F, Cambou S, Callejon L, Wynne CD (2017) Food and food-odor preferences in dogs: A pilot study. **Chemical Senses** 42:361-370.

- Hess SM, Fitzhugh OG (1955) Absorption and excretion of certain triphenylmethane colors in rats and dogs. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 114:38-42.
- Horowitz AC, Bekoff M (2007) Naturalizing anthropomorphism: Behavioral prompts to our humanizing of animals. **Anthrozoös** 20:23-35.
- Horowitz A (2009) **A cabeça do cachorro**. 5ª ed.. Rio de Janeiro: BestSeller, 417 p.
- Horowitz A, Hecht J, Dedrick A (2013) Smelling more or less: Investigating the olfactory experience of the domestic dog. **Learning and motivation** 44:207-217.
- Haupt KA, Hintz HF, Shepherd P (1978) The role of olfaction in canine food preferences. **Chemical Senses** 3:281-290.
- Ibero M, Eseverri JL, Barroso C, Botey J (1982) Dyes, preservatives and salicylates in the induction of food intolerance and/or hypersensitivity in children. **Allergologia et Immunopathologia** 10:263.
- Kaminski J, Nitzschner M (2013) Do dogs get the point? A review of dog–human communication ability. **Learning and Motivation** 44:294-302.
- Kantor M, Trout JR, Lachance PA (1984) Food dyes produce minimal effects on locomotor activity and vitamin B-6 Levels in postweanling rats. **Journal of Nutrition** 114:1402-1412.
- KARLSSON F (2012). Critical anthropomorphism and animal ethics. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics** 25:707-720.
- König J (2015) Food colour additives of synthetic origin. **Colour Additives for Foods and Beverages**. Amsterdam: Woodhead Publishing, p. 35-60.
- Koppel K (2014) Sensory analysis of pet foods. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 94:2148-2153.
- Kumar A, Madan AK (2014) Color additives: legislative perspective in the United States, Europe, Australia, and India. **International Journal of Pharmaceutical Compounding** 18:293-300.
- Kurachi T, Irimajiri M, Mizuta Y, Satoh T (2017) Dogs predisposed to anxiety disorders and related factors in Japan. **Applied Animal Behaviour Science** 196:69-75.
- Kus E, Eroglu HE (2015) Genotoxic and cytotoxic effects of sunset yellow and brilliant blue, colorant food additives, on human blood lymphocytes. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences** 28:227-230.
- Larson G, Karlsson EK, Perri A, Webster MT, Ho SY, Peters J, Stahl PW, Piper PJ, Lingaas F, Fredholm M, Comstock KE, Modiano JF, Schelling C, Agoulnik AI, Leegwater PA, Dobney K, Vigne J, Vilà C, Andersson L, Lindblad-Toh K (2012) Rethinking dog domestication by integrating genetics, archeology, and biogeography. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 109:8878-8883.
- Leo L, Loong C, Ho XL, Raman MFB, Suan MYT, Loke WM (2018) Occurrence of azo food dyes and their effects on cellular inflammatory responses. **Nutrition** 46:36-40.
- Leulescu M, Iacobescu G, Bojan M, Rotaru P (2019) Ponceau 4R azoic red dye. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** 138:2091-2101.

Lopresti A (2015) Oxidative and nitrosative stress in ADHD: possible causes and the potential of antioxidant-targeted therapies. **ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders** 7:237-247.

Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C (2009) Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. **Nature Reviews Neuroscience** 10:434-445.

Magalhães G (2019) **Classificação de alimentos pet no mercado nacional**. Disponível em: <<https://www.editorastilo.com.br/colunistas/classificacao-de-alimentos-pet-no-mercado-nacional/>>. Data de acesso: 14 jun 2020.

Magnuson B, Munro I, Abbot P, Baldwin N, Lopez-Garcia R, Ly K, McGirr L, Roberts A, Socolovsky S (2013) Review of the regulation and safety assessment of food substances in various countries and jurisdictions. **Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment** 30:1147-1220.

Maia CM, Volpato GL (2016) A history-based method to estimate animal preference. **Scientific Reports** 6:28328.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 13 de 30 DE NOVEMBRO DE 2004**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-13-de-30-de-novembro-de-2004.pdf/view>>. Data de acesso: 11 out 2020.

Mariti C, Gazzano A, Moore JL, Baragli P, Chelli L, Sighieri C (2012) Perception of dogs' stress by their owners. **Journal of Veterinary Behavior** 7:213-219.

Martínez ÁG, Pernas GS, Casalta FJD, Rey MLS, De la Cruz Palomino LF (2011) Risk factors associated with behavioral problems in dogs. **Journal of Veterinary Behavior** 6:225-231.

Martins MS (2015) Uso de corantes artificiais em alimentos: legislação brasileira. **Aditivos & Ingredientes** 54-59.

Masone D, Chanforan C (2015) Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: a computational point of view. **Computational Biology and Chemistry** 56:152-158.

McCann D, Barrett A, Cooper A, Crumpler D, Dalen L, Grimshaw K, Kitchin E, Lok K, Porteous L, Prince E, Sonuga-Barke E, Warner JO, Stevenson J (2007) Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. **The Lancet** 370:1560-1567.

McClaskey B (2019) Companion Animals and their Impact on Human Lives. **The Midwest Quarterly** 60:335-350.

Mohamed AAR, Galal AAA, Elewa YHA (2015) Comparative protective effects of royal jelly and cod liver oil against neurotoxic impact of tartrazine on male rat pups brain. **Acta Histochemica** 117:649-658.

Mota H (2018) **Indústria pet oferece produtos para todas as classes sociais**. Disponível em: <<https://hermanomota.com.br/dados-do-mercado-pet-brasilei>>

ro-revelam-que-industria-oferece-produtos-para-todas-as-classes-sociais/>. Data de acesso: 21 out 2016.

Neitz J, Geist T, Jacobs GH (1989) Color vision in the dog. **Visual Neuroscience** 3:119-125.

Netto RCM (2009) **Dossiê corantes**. Disponível em: <https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060213572_001465326315.pdf>. Data de acesso: 5 set 2020.

NRC – National Research Council (2006) **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. Washington, DC: Natl. Acad. Press. 398 p.

Phillips JC, Bex CS, Gaunt IF (1982) The metabolic disposition of ¹⁴C-labelled Ponceau 4R in the rat, mouse and guinea-pig. **Food and Chemical Toxicology** 20:499-505.

Prado MA, Godoy HT (2003) Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição** 14: 237-250.

Prado MA, Godoy HT (2007) Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova** 30:268-273.

Radu-Rusu CG, Pop MI (2017) Body mass index dynamics and behavioral changes in Swiss mice receiving brilliant blue FCF (E 133) and azorubine (E 122) in drinking water. **Lucrări Științifice-Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Seria Zootehnie** 67:21-26.

Rao A, Range F, Kadletz K, Kotrschal K, Marshall-Pescini S (2018) Food preferences of similarly raised and kept captive dogs and wolves. **PloS One** 13:1-22.

Reid PJ (2009) Adapting to the human world: dogs' responsiveness to our social cues. **Behavioural Processes** 80:325-333.

Re S, Zanoletti M, Emanuele E (2008) Aggressive dogs are characterized by low omega-3 polyunsaturated fatty acid status. **Veterinary Research Communications** 32: 225-230.

Rivas J, Burghardt G M (2002) Crotalomorphism: A metaphor for understanding anthropomorphism by omission. **The cognitive animal: Empirical and Theoretical Perspectives on Animal Cognition**, Massachusetts: Bradford Book p. 9-17.

Rojas DM, Calvo AV, Huertas SM, Cajiao MN (2016) **Bienestar animal una vision global en Iberoamérica**. Technical Report. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/304953572_BIENESTAR_ANIMAL_EN_IBEROAMERICA_Entorno_Gaadero_76_2016_38-50>. Data de acesso 5 set 2020.

Sayed HM, Fouad D, Ataya FS, Hassan NH, Fahmy MA (2012) The modifying effect of selenium and vitamins A, C, and E on the genotoxicity induced by sunset yellow in male mice. **Mutation Research** 744:145-153.

Schab DW, Trinh NT (2004). Do artificial food colors promote hyperactivity in children with hyperactive syndromes? A meta-analysis of double-blind placebo-controlled trials. **Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics** 25:423-434.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (2018). **Relatório de Inteligência: Inovação no Setor Pet**. Disponível em:

<<https://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/UFs/RJ/Anexos/Inovacao.pdf>
>. Data de acesso 8 set 2020.

Sechi S, Di Cerbo A, Canello S, Guidetti G, Chiavolelli F, Fiore F, Cocco R (2017) Effects in dogs with behavioural disorders of a commercial nutraceutical diet on stress and neuroendocrine parameters. **The Veterinary Record** 180.

Seesuriyachan P, Takenaka S, Kuntiya A, Klayraung S, Murakami S, Aoki K (2007) Metabolism of azo dyes by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 and effects of various factors on decolorization. **Water Research** 41:985-992.

Serpell JA (2003) Anthropomorphism and Anthropomorphic Selection - Beyond the "Cute Response". **Society & Animals** 11:83-100.

Serpell JA (2019) How happy is your PET? The problem of subjectivity in the assessment of companion animal welfare. **Animal Welfare** 28:57-66.

Siniscalchi M, McFarlane JR, Kauter KG, Quaranta A, Rogers LJ (2013) Cortisol levels in hair reflect behavioural reactivity of dogs to acoustic stimuli. **Research in Veterinary Science** 94:49-54.

Soares GM, Souza-Dantas LMD, D Almeida JM, Paixão RL (2010) Epidemiologia de problemas comportamentais em cães no Brasil: inquérito entre médicos veterinários de pequenos animais. **Ciência Rural** 40:873-879.

Spence C (2015) On the psychological impact of food colour. **Flavour** 4:1-16.

Stasiak M (2002) The development of food preferences in cats: the new direction. **Nutritional Neuroscience** 5:221-228.

Stevens LJ, Burgess JR, Stochelski MA, Kuczek T (2015) Amounts of artificial food dyes and added sugars in foods and sweets commonly consumed by children. **Clinical Pediatrics** 54:309-321.

Stevens LJ, Kuczek T, Burgess JR, Stochelski MA, Arnold LE, Galland L (2013) Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children. **Nutrition reviews** 71:268-281.

Stevenson J, Sonuga-Barke E, McCann D, Grimshaw K, Parker KM, Rose-Zerilli MJ, Holloway JS, Warner JO (2010) The role of histamine degradation gene polymorphisms in moderating the effects of food additives on children's ADHD symptoms. **American Journal of Psychiatry** 167:1108-1115.

Tanaka T (2006a) Reproductive and neurobehavioural toxicity study of ponceau 4R administered to mice in the diet. **Food and Chemical Toxicology** 44:1651-1658.

Tanaka T (2006b) Reproductive and neurobehavioural toxicity study of tartrazine administered to mice in the diet. **Food and Chemical Toxicology** 44:179-187.

Tesfom G, Birch N (2010) Do they buy for their dogs the way they buy for themselves? **Psychology & Marketing** 27:898-912.

Travis AS (2009) **Anilines: Historical background**. In: Rappoport, Z. (Ed.) Chemistry of Anilines. Chichester: John Wiley & Sons, Inc., p.1-73.

Yamjala K, Nainar MS, Ramiseti NR (2016) Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry—a review. **Food Chemistry** 192:813-824.

Walker R (1970) The metabolism of azo compounds: a review of the literature. **Food and Cosmetics Toxicology** 8:659-676.

WAP - Word Animal Protection. **Vidas melhores para cães**. Disponível em: <<https://www.worldanimalprotection.org.br/vidas-melhores-para-caes>>. Data de acesso: 27 ago 2020.

Zanatta CP, Félix AP, Oliveira SG, Maiorka A (2016) Fatores que regulam o consumo e preferência alimentar em cães. **Scientia Agraria Paranaensis** 15:109-114.

Zanoni MVB, Yamanaka H (2016) **Corantes: Caracterização Química, Toxicológica, Métodos de Detecção e Tratamento**. São Paulo: Editora UNESP, 344 p.

Zhang G, Ma Y (2013) Mechanistic and conformational studies on the interaction of food dye amaranth with human serum albumin by multispectroscopic methods. **Food Chemistry** 136: 442-449.

CAPÍTULO 2 – Percepção dos tutores e das empresas de alimentos para cães sobre o uso dos corantes artificiais

RESUMO – O uso de corantes artificiais em alimentos para cães é uma prática comum, e tem a função de tornar o alimento mais atrativo. Porém, nos últimos anos, é questionado o uso desses aditivos que podem apresentar riscos à saúde dos cães. O objetivo foi estudar o perfil dos tutores brasileiros em relação ao manejo alimentar de seus cães e compreender o posicionamento dos tutores e da indústria de alimentos para animais sobre o uso e ingestão dos corantes artificiais. Coletamos informações por meio de questionários *on-line* aplicados a tutores (n=4111) e a responsáveis empresariais do setor de alimentos para animais de companhia (n=34). As respostas foram analisadas por meio de estatística descritiva, teste do qui-quadrado e análise de correspondência múltipla. A maioria dos tutores foi das regiões Sudeste e Sul do Brasil, com 62,39% e 23,45% das respostas, respectivamente. Em geral, 92,56% dos tutores forneciam ração aos cães e boa parte do alimento ofertado era *premium* (38,55%) ou *super premium* (29,75%). A classificação da qualidade da ração apresentou relação ($P<0,001$) com o tipo de embalagem e 87,67% dos tutores adquiriam embalagens lacradas. Quase dois terços dos respondentes (68,24%) arraçoam o cão de forma *ad libitum*. Sobre as cores de ração, somente 0,97% preferem as vermelhas ou verdes, que foram relacionadas ($P<0,05$) aos tutores que não souberam informar a qualidade do alimento. Apenas 14,86% dos tutores acreditam que a cor do alimento é importante para o cão, apresentando correspondência ($P<0,05$) com os que preferem rações coloridas e não souberam informar a qualidade do alimento para animais. A grande maioria dos respondentes (93,99%) optariam por ração sem corante, se esta possuir preço similar a colorida e 37,90% disseram já ter comprado rações com coloração diferente do habitual. Um número considerável (96,52%) acredita que corantes artificiais fazem mal a saúde. Ainda, alguns tutores (34,86%) disseram ter notado alterações na saúde dos cães e as correlacionaram com o consumo de corantes. Entre as dez principais marcas de rações e petiscos adquiridas pelos tutores brasileiros, quatro apresentam corantes artificiais nas formulações e entre os petiscos, sete. Quase a metade das empresas (47,06%) participantes no estudo produzem alimentos com corantes artificiais e em média a quantidade do aditivo está acima (0,07%) das recomendações de uso pela nossa legislação. Grande parte das empresas (81,25%) são favoráveis à redução de corantes nos alimentos para cães e 85,29% acreditam que esse aditivo apresenta desvantagens por não serem funcionais e causarem efeitos colaterais no organismo. Conclui-se que os tutores estão exigentes e bem informados no quesito nutrição, por isso evitam alimentos com corantes artificiais, e as empresas por sua vez, estão mais cautelosas em relação ao uso deste aditivo e se mostraram dispostas a reduzir a quantidade de corantes artificiais nos alimentos para cães.

1. INTRODUÇÃO

No *ranking* mundial, o Brasil tem a segunda maior população de cães, com 55,1 milhões de animais (ABINPET, 2019). O mercado *pet* tem grande representatividade na economia do país e chegou a arrecadar R\$ 22,3 bilhões em 2019. O segmento referente a produção de *pet food*, o qual inclui alimentos como rações e petiscos é o mais representativo do setor, com 73,3% do faturamento (ABINPET, 2019).

Desde meados dos anos 80, a produção de alimentos industrializados para cães se desenvolveu no país graças à tecnologia de extrusão (Mazon e Moura, 2017; Magalhães, 2019). No mesmo período, o uso de corantes a nível mundial e nacional, também estava em ascensão (Stevens et al., 2013).

Na última década, com o acesso facilitado à informação e mudanças de hábitos da população, os consumidores se tornaram mais exigentes e passaram a se relacionar com os animais de companhia de forma humanizada, buscando para seus cães o mesmo que buscam para si, no que diz respeito à alimentação (Tesfom e Birch, 2010; Di Donfrancesco et al., 2012; Delime et al., 2020). Os humanos tomam inúmeras decisões por meio da visão e comumente criam expectativas psicológicas em relação ao que comprem ou comem (Horowitz et al., 2013; Spence, 2015). Ao se tratar dos alimentos para animais de companhia, além das embalagens, o principal chamariz do produto é a padronização dos *kibbles*, incluindo cores e formatos. Parte dos consumidores são leigos no quesito nutrição animal e tentam fazer previsões sobre os ingredientes utilizados e a palatabilidade da ração, criando diferentes expectativas com base nas cores e formas do alimento, e esse sentimento humano é atribuído aos cães de modo antropomórfico (Di Donfrancesco et al., 2014; Serpell, 2019).

Atualmente, com a busca por alimentos saudáveis, alguns aditivos como os corantes artificiais vem desenvolvendo uma imagem negativa perante a sociedade. A utilização de aditivos sintéticos nos produtos leva muitas pessoas a serem inseguras e cautelosas, já que os impactos na saúde não são imediatos e a não há comunicação clara da ciência e das indústrias sobre a segurança alimentar de algumas substâncias (Andrade et al., 2013; Martins et al., 2016). Porém na área industrial, as empresas de alimentos para animais de companhia ainda fazem o uso do aditivo, especialmente em alimentos de menor qualidade nutricional (Baquero et al., 2018).

Muitos estudos mencionam problemas de saúde em humanos e ratos decorrentes da ingestão de corantes artificiais (Schab e Trinh, 2004; Demirkol et al., 2012; Sayed et al., 2012; Stevens et al., 2013; Doguc et al., 2015; Masone e Chanforan, 2015 e Feketea e Tsabouri, 2017), mas ainda existem questões em aberto no meio científico. Isso acaba refletindo na sociedade em geral, levando a dúvidas e contradições sobre a ingestão de corantes artificiais.

Assim, o objetivo deste capítulo foi estudar o perfil dos tutores brasileiros em relação ao manejo nutricional de seus cães e investigar o posicionamento dos tutores e da indústria de alimentos para animais de companhia sobre o uso e ingestão dos corantes artificiais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Informações gerais

O projeto foi aprovado pela Plataforma Brasil conforme parecer emitido pela Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) com o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) número 99311618.2.0000.5408 e parecer número 2.943.348. Antes de responder aos questionários *on-line*, os participantes tiveram acesso ao termo de consentimento livre e esclarecido e tinham total liberdade para prosseguir ou recusar tal participação.

2.2. Coleta de dados dos tutores de cães

Foi realizada a amostragem por conveniência para recrutar os tutores, ou seja, buscou-se na população pessoas que atendessem os pré-requisitos da pesquisa e que concordassem em participar. O público alvo que respondeu ao questionário eram os tutores de cães residentes em qualquer estado do Brasil. Tutores com cães de quaisquer raças foram aceitos para o questionário, assim como cães de diferentes idades, pesos, sexos, condições fisiológicas ou tipos de acomodações como quintais, canis, ou que ficam dentro da residência com humanos.

A divulgação dos questionários foi realizada por meio de redes sociais como o Facebook, Instagram e WhatsApp para alcançar maior diversidade e número de respondentes. O material ficou disponível para a coleta de dados de abril de 2018 a outubro de 2019. Foram preenchidos 4111 questionários.

O questionário continha dezoito questões, sendo quinze de múltipla escolha e três abertas. As questões abertas estavam relacionadas ao peso do cão e marcas de rações e petiscos fornecidos, sendo necessárias para realizar a triagem das mais consumidas. As de múltipla escolha incluíam questões como estado brasileiro em que o tutor reside, que foram organizadas em regiões para facilitar a análise; idade do cão; sexo; se é inteiro ou castrado; tipo de alimentação consumida (ração; alimentação natural ou sobras, sendo que estas duas foram reorganizadas como alimentação caseira); conhecimento do tutor sobre a classificação da ração fornecida de acordo com a descrição nas embalagens (*standard*; *premium* ou *super premium*); aquisição (a granel ou embalagem fechada); oferta de alimento (conforme a recomendação da embalagem; hábito alimentar ou *ad libitum* sendo estes dois últimos organizados num único grupo); preferência da cor do alimento (nenhuma; marrom; vermelha ou verde, com as duas últimas opções reorganizadas como coloridas); frequência de petiscos industrializados (nunca; a cada quinze dias; uma vez por semana; três vezes, esses dois admitidos como frequência semanal; cinco ou todos os dias, reorganizados como frequência diária); preferência de compra em relação a diferentes rações (com ou sem corante); se a cor do alimento é importante para o cão (sim ou não); aquisição de ração com coloração fora do padrão (sim ou não); alterações na saúde (vômitos e diarreia; alergias; mudanças comportamentais ou nada) e por fim se corantes artificiais podem comprometer a saúde do cão (sim ou não). As perguntas foram organizadas em quatro seções: a primeira relacionada as informações básicas sobre o tutor e o cão; a segunda sobre detalhes da alimentação fornecida ao cão; a terceira sobre oferta de petiscos e a quarta sobre percepção geral dos tutores em relação ao consumo de corantes artificiais. O questionário completo está no Apêndice A ao final desse trabalho.

2.3. Coleta de dados das empresas de alimentos para animais companhia

Para o segundo questionário destinado as empresas e indústrias produtoras de alimentos para cães no Brasil, também foi empregada a amostragem por conveniência. Para contatar as empresas foi seguida a Lista de Estabelecimentos Fabricantes de Produtos para Alimentação Animal registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento atualizado em maio de 2019.

O questionário foi enviado por e-mail para o representante da empresa ou foi feito contato através do Serviço de Atendimento ao Consumidor pedindo o encaminhamento. A coleta de dados ocorreu de janeiro de 2019 a maio de 2020. Entre 450 empresas ativas, foram enviadas 126 solicitações de resposta, mas apenas 34 questionários foram preenchidos, mesmo com a garantia de participação anônima.

O questionário continha quatorze perguntas, com sete de múltipla escolha e sete questões abertas. As questões abertas compreendiam informações como cargo do respondente; número de produtos formulados na empresa com corantes artificiais na composição; preço do quilo dos corantes utilizados; quantidade utilizada de corante em gramas por tonelada de ração; se a empresa tem intenção de reduzir os corantes artificiais em seus produtos; vantagens e desvantagens do uso de corantes. Já as questões fechadas se referiam a qualidade das rações produzidas pela empresa (*standard*, *premium* e *super premium*); quais corantes artificiais eram utilizados; se a empresa utiliza alguma análise para quantificar o corante no produto final (sim ou não); se é um ingrediente caro e que impacta no preço final do produto (sim ou não); objetivo da indústria ao fazer uso do corante (melhorar a aparência do produto; reforçar a ideia da composição da ração/petisco; diferenciar formulações ou ter maior aceitabilidade) e por fim se o corante artificial pode ter algum efeito na saúde do cão (não; somente em cães debilitados; somente em altas dosagens ou se também afeta cães saudáveis). O questionário completo está no Apêndice B ao final desse trabalho.

Para facilitar o estudo, o questionário foi dividido em três seções: a primeira que consistia em informações sobre a localização e formulações da empresa; número de formulações com corantes artificiais e informações técnicas de produção e por fim o posicionamento da indústria ao fazer uso do aditivo.

2.4. Análise estatística

Primeiramente foi realizada a análise descritiva para todos os dados dos questionários por meio das frequências das variáveis categóricas em porcentagem. As variáveis relacionadas ao perfil dos tutores e manejo nutricional dos cães foram analisadas pelo teste Qui-quadrado à 5% de probabilidade com o programa *Statistical Analysis System* versão 9.4 (SAS, 2015), a fim de identificar possíveis associações ou dependências entre as respostas. Para as variáveis referentes ao posicionamento dos tutores sobre os corantes artificiais, foi aplicada a análise de correspondência múltipla (ACM), considerando significativas as correspondências com $P < 0,05$.

A ACM é uma técnica exploratória de multifatores para variáveis estritamente categóricas, como as do questionário utilizado neste trabalho, por exemplo. Cada nível dentro da variável categórica pode ser associado aos demais, sendo exploradas simultaneamente. A ACM utiliza o qui-quadrado para identificar as associações, também chamadas de correspondências, em uma tabela de contingência. A variância, ou seja, a dispersão dos dados, é expressa como inércia e são criadas várias dimensões, sendo a primeira dimensão a de maior proporção da inércia total no conjunto de dados, seguida pela segunda dimensão e assim sucessivamente. Cada categoria de cada variável em ambas as dimensões é expressa por um ponto no gráfico de dispersão bidimensional, sendo que a proximidade dos pontos revela as associações (Greenacre, 2010; Sourial et al., 2010). Dessa forma a ACM foi utilizada para identificar padrões implícitos de correspondências entre o perfil e preferências dos tutores com implicações relacionadas ao uso dos corantes artificiais. O programa *Statistica* versão 7.0 (2004) foi utilizado para a análise de dados.

Não foi possível aplicar uma análise estatística robusta aos dados referentes as empresas, pois a amostra foi pequena e as principais perguntas, por serem abertas e variadas, não permitiram agrupamentos ou *clusters*.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

3.1. Respostas dos tutores

3.1.1. Perfil dos tutores, cães e manejo alimentar

Com base nos dados coletados dos 4111 tutores de todo o Brasil, o perfil do porte e da idade dos cães dos respondentes se mostrou misto e está detalhado na Figura 1.

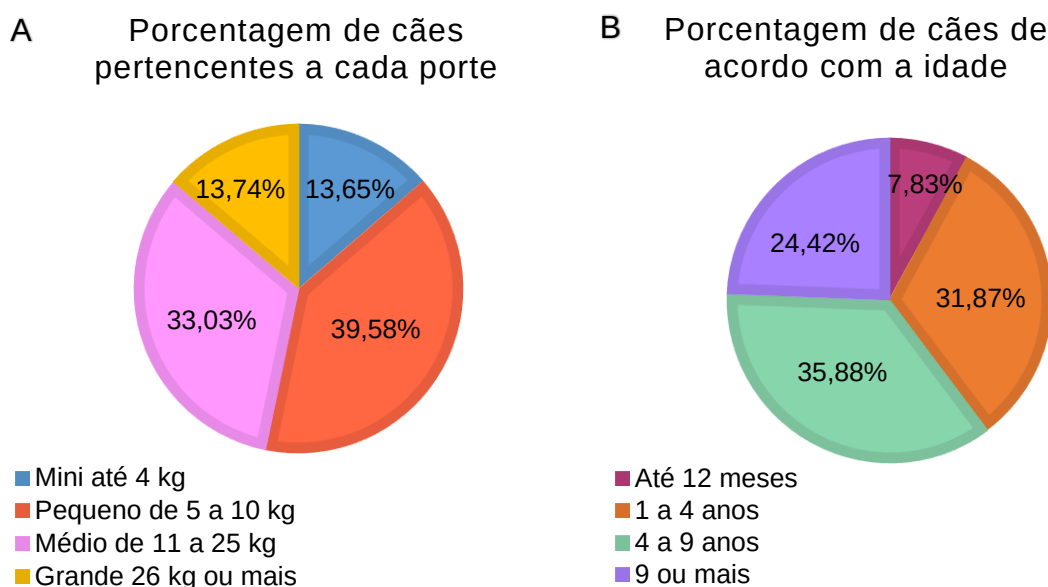


Figura 1 – Distribuição percentual do porte (A) e idade (B) dos cães que participaram da pesquisa.

A região que teve maior número de participantes foi a Sudeste, contabilizando 62,39% do total de respostas, seguida pela região Sul com 23,45%; região Nordeste com 7,13%; região Centro-oeste com 4,86% e Norte com 2,16% das respostas. Primeiramente a diferença entre as regiões pode ter ocorrido pela facilidade de divulgação do material onde se encontrava a sede do estudo, favorecendo a região Sudeste. Além disso, a região Sudeste contabiliza quase a metade da população de animais de estimação (47,40%) do país, além da maior densidade populacional humana comparada a outras regiões. O Nordeste apresenta 21,40% da população desses animais; o Sul 17,60%; Centro-Oeste com 7,20% e Norte com 6,30% (Instituto

Pet Brasil, 2019). O desenvolvimento do Sudeste, ligado a questões histórico-políticas, também culminou no grande desenvolvimento do setor *pet*, além de possuir melhor índice de desenvolvimento humano (IDH) e acesso à internet comparado a outras regiões (TIC Domicílios, 2019; IBGE, 2020), o que justifica a predominância de tutores dessa região, já que obtivemos as respostas através do meio *on-line*.

A região a que pertencem os tutores esteve relacionada ($P < 0,05$) com a condição reprodutiva dos cães e o tipo de alimentação fornecida, mas não foi encontrada uma relação ($P > 0,05$) com a classificação da ração oferecida aos cães (Tabela 1).

Tabela 1 – Frequências relativas (%) e relação das regiões brasileiras com o perfil reprodutivo e a qualidade do alimento extrusado oferecido aos cães.

Características	Regiões					x ²	P valor
	Norte	Nordeste	Centro-oeste	Sudeste	Sul		
Castrado*						118,51	<,0001
Não	1,31	4,09	2,68	20,80	8,10		
Sim	0,85	3,04	2,19	41,60	15,35		
Tipo do alimento*						54,44	<,0001
Ração	1,26	4,55	3,09	43,08	15,45		
Caseiro	0,27	0,44	0,22	5,52	1,00		
Misto	0,63	2,14	1,56	13,79	7,01		
Classificação⁺						7,28	0,8386
Standard	0,32	0,89	0,60	7,12	3,44		
Não sabem	0,34	1,34	0,84	11,96	4,84		
Premium	0,84	2,86	1,94	23,89	9,01		
Super premium	0,55	2,13	1,63	18,48	6,96		

*4111 tutores. +3805 tutores. P valor significativo ($P < 0,05$) pelo teste do qui-quadrado.

Do total, 58,87% dos cães eram fêmeas e destas 40,67% eram castradas. Já os machos representaram 41,13%, sendo 22,35% castrados. Mais de 56% do total de castrados se encontram no Sudeste e Sul. Não encontramos nenhum estudo com o objetivo de estimar o número de cães castrados no Brasil, apenas um antigo relatório de pesquisa desenvolvido pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), que trabalhou com uma amostra regional (IBGE, 2007). Nossos resultados podem ter sofrido um viés de resposta, pois a forma de coleta de dados pode ter selecionado pessoas que possuem acesso a internet e consequentemente, mais informações. Também pode haver maior conscientização dos tutores em relação ao controle populacional dos animais nos dias atuais. As fêmeas têm maior representatividade na

castração, uma cirurgia eletiva, por apresentarem estros com corrimento serossanguinolento e modificações comportamentais, problemas de saúde reprodutiva mais complexos que os machos e o destino dos filhotes, que se tornam uma responsabilidade para o tutor (Houlihan, 2017).

Sobre o tipo de alimentação fornecida aos cães, grande parte dos tutores (67,43%) disseram fornecer apenas o alimento completo extrusado aos animais, ou seja a ração; 7,44% dos tutores eram adeptos a alimentação caseira e 25,13% alimentam os cães de forma mista. Em todas as regiões estudadas, a ração sem misturas é o tipo de alimentação predominante. Considerando os 3805 respondentes que ofereciam somente ração ou alimentação mista, 19,32% declararam não saber a classificação da ração que está diretamente ligada a qualidade do produto (se era *standard*, *premium* ou *super premium*); 12,38% mencionaram que a ração era *standard*; 38,55% ofereciam ração *premium* e 29,75% dos tutores afirmaram que a ração era *super premium*.

Com esses dados, podemos observar que os donos de cães buscam se informar sobre o alimento oferecido aos seus animais. O consumo de alimentos para cães e gatos cresceu acentuadamente nos últimos anos, tanto pela facilidade de oferta ao animal, quanto pela preocupação das pessoas, que optam por oferecer um alimento nutricionalmente completo, balanceado e diferenciado, a fim de garantir que seus animais tenham uma vida longa e de qualidade, além dos tutores serem cada vez mais exigentes e influenciados pela humanização, espelhando suas preferências nos animais (Baquero et al., 2018).

A classificação da ração esteve relacionada ($P < 0,05$) com o tipo de embalagem, o manejo alimentar e a frequência de uso de petiscos (Tabela 2).

Tabela 2 – Frequências relativas (%) e relação das variáveis referentes a qualidade do alimento extrusado com o manejo nutricional aplicado pelos tutores dos cães.

Categorias	Classificação				x ²	P valor
	Não sabem	Standard	Premium	Super premium		
Aquisição do alimento extrusado ⁺					208,64	<,0001
Granel	4,91	2,00	4,42	1,00		
Embalagem lacrada	14,40	10,38	34,14	28,75		
Arraçoamento ⁺					168,34	<,0001
Recomendação	4,15	2,94	10,88	13,77		
À vontade	15,16	9,43	27,67	15,98		
Frequência de petiscos industrializados ⁺					55,54	<,0001
Nunca	6,25	4,49	10,41	7,20		
Quinzenal	4,26	2,84	9,07	5,62		
Semanal	3,94	2,34	9,80	8,07		
Diário	4,86	2,71	9,28	8,86		

⁺3805 tutores. P valor significativo (P<0,05) pelo teste do qui-quadrado.

Ainda em relação aos 3805 tutores que ofertam ração, a maioria (87,67%) compra o alimento extrusado sempre com a embalagem lacrada e 12,33% declararam que comprem ração a granel. Observa-se que a proporção de tutores que comprem a granel diminui quando o produto é de melhor qualidade. A compra fracionada muitas vezes é a alternativa para tutores com dificuldades financeiras e a falta de instrução ou de conhecimento sobre nutrição afeta os consumidores, que não sabem que ao adquirir alimentos a granel, além da perda de qualidade devido a oxidações, há maior risco de contaminações por bactérias e fungos, perda de informações importantes como lote e validade do produto, além da possibilidade do alimento extrusado ser falsificado (Cappelli et al., 2016). Ter em mãos a embalagem do produto permite conferir detalhes importantes como a composição, valor nutricional, instruções para transição alimentar e forma de arraçoamento, além de meios que permitem a rastreabilidade da ração e segurança alimentar (Cappelli et al., 2016).

Quase dois terços dos tutores (68,25%) revelaram que fornecem a ração à vontade, seja observando se o cão é glutão ou de pouco apetite ou quando veem o comedouro vazio; 31,75% disseram que seguem as recomendações da embalagem. O arraçoamento *ad libitum* se traduz na falta de controle da quantidade de alimento que o animal ingere por dia, elevando as chances de tornar o cão obeso, como citado no estudo de Heuberger et al. (2016) que avaliaram 214 cães de tutores do meio-oeste rural estadunidense e observaram que a dieta *ad libitum* estava

significativamente associada ao sobrepeso ou obesidade nos cães. Estudos indicam que o fornecimento de alimento acima do necessário está relacionado com o nível socioeconômico do tutor, sendo que pessoas com rendas mais baixas ou menor grau educacional são comumente tutores acima do peso com cães também acima do peso (Courcier et al., 2010). Estas informações servem de alerta para o Brasil, pois há 60% da população com mais de 18 anos com sobrepeso (Governo do Brasil, 2020). Segundo Suarez et al. (2012) os tutores que estão acima do peso se atentam mais a preços, promoções, ao contrário dos tutores com peso normal, que se baseiam pela qualidade dos alimentos. Ainda, pessoas que tem cães castrados necessitam controlar cuidadosamente a nutrição dos seus animais, já que a castração predispõe a obesidade, devido a alterações hormonais e metabólicas, fazendo com que os animais diminuam o comportamento exploratório e aumentem o apetite (Houlihan, 2017). Não só o consumo de nutrientes é extrapolado, predispondo a obesidade, como também o consumo de aditivos, como os corantes artificiais, que podem comprometer a saúde (Stevens et al., 2015). Além disso, a qualidade da ração no comedouro é afetada ao ser exposta ao ambiente por muito tempo devido a altas temperaturas, umidade, incidência solar, insetos, fungos, etc. (Cappelli et al., 2016).

Ainda referente a alimentos industrializados para animais de companhia, 28,36% dos tutores nunca fornecem petiscos para o cão; outros 21,79% oferecem esporadicamente, a cada quinze dias. A opção de fornecer petisco uma a três vezes na semana (semanal) apareceu entre 24,15% e 25,70% dão petiscos de cinco a sete dias na semana (diário), ou seja, metade dos respondentes fornecem petiscos com alta frequência aos seus cães. Muitos proprietários superestimam a quantidade de alimento seco que os cães devem ingerir, assim os animais tendem a apresentar sobrepeso ou obesidade, situação verificada no estudo de Yam et al. (2017), na qual 38% de 174 cães da Grã-Bretanha estavam com o peso acima do recomendado, e a provável razão é o fornecimento diário de petiscos, guloseimas e restos de alimentos humanos. Atrelado a isso, existe a possibilidade da ingestão dos produtos coloridos artificialmente (ração mais petiscos), extrapolarem o limite de ingestão recomendada de cada corante, similar ao que acontece com crianças que ingerem altas dosagens de corantes artificiais ao consumir cereais, doces e produtos lácteos diariamente (Stevens et al., 2015).

3.1.2. Percepção geral dos corantes e efeitos na saúde

Para analisar associações entre as questões que envolviam corantes artificiais, foi realizada a ACM, que gerou duas dimensões principais e juntas explicam 27,95% da variância total dos dados. A primeira dimensão foi responsável por 15,83% da inércia (autovalor: 0,29) e a segunda por 12,11% (autovalor: 0,22).

Entre os 4111 tutores que fornecem ração para alimentar os cães, quase a metade (49,72%) disseram preferir as marrons e 41,86% mencionaram que ao comprar o alimento são indiferentes a cor. A preferência pelas cores vermelha e verde somadas (coloridas) foi de apenas 0,97% dos respondentes. Foi observado grupos de correspondências ($P < 0,05$) entre os tutores que são indiferentes (D1) a coloração do alimento extrusado com os que optam pela ração *standard* (Q1) ou não souberam informar a classificação da qualidade da ração (Q2), representados pelos pontos em azul céu na Figura 2. Os tutores que preferem alimento colorido (D3) também estão relacionados aos que não souberam informar a classificação da ração (Q2), em azul escuro. Já os que preferem a coloração marrom (D2), apresentam associações significativas ($P < 0,05$) com os que fornecem ração de qualidade *premium* (Q3) ou *super premium* (Q4), sinalizados em azul claro.

De forma geral, a preferência dos consumidores muda de acordo com cada país e hábitos culturais, por exemplo, tailandeses apresentam interesse por rações amarelas e com formato de ossos, já tutores estadunidenses gostam de rações com cores e formatos diferenciados (Di Donfrancesco et al., 2014; Koppel et al., 2018). Baquero et al. (2018) em seu estudo com consumidores poloneses afirmou que a cor, a forma e o tamanho dos *kibbles* foram as principais características de aceitação do produto pelo consumidor, sendo que este tem preferência por rações de cores marrom dourado a marrom médio, mas desprezam as marrons de tonalidade muito escura ou claras. Além disso, a cor vermelha pode ser percebida como um alimento falso, e ao mesmo tempo que é atrativa aos olhos, também passa a mensagem de cautela ou alerta. Os resultados deste trabalho mostram que cores mais chamativas parecem ser a base para escolha do alimento completo para cães, quando a pessoa não tem conhecimento sobre a qualidade do produto.

Ao serem questionados sobre a compra de uma ração com ou sem corantes artificiais, porém de mesmo preço, a grande maioria dos respondentes (93,99% dos 4111 respondentes) optaram pela ração sem corantes. Do total, 5,35% disseram não ter preferência e apenas 0,66% escolheriam rações coloridas artificialmente. Houve grupos de correspondências ($P < 0,05$) para as pessoas que comprariam rações coloridas artificialmente por opção (V1) com tutores que não souberam identificar a qualidade do alimento extrusado (Q2) e se relacionam com os que já escolhem rotineiramente rações coloridas (D3), apresentados em pontos de cor rosa na Figura 2. Já os tutores que optariam pela ração sem corante (V2), como esperado, apresentam associações com os que já escolhem alimentos de cor marrom (D2) em lilás ($P < 0,05$). Os que se abstiveram da escolha (V3) apresentam associação com os tutores que fornecem ração *standard* (Q1) ou não souberam informar a qualidade do produto (Q2) com os que são rotineiramente indiferentes a cor no momento da compra da ração (D1), marcados em roxo.

A aparência influencia a intenção de compra pelos tutores quando o produto é novo no mercado, mas o nível de conhecimento e os ideais dos diferentes grupos de consumidores também influencia no momento da escolha. Quando a marca ou embalagem do produto é retirada, as características visuais atraentes são associadas a preços mais altos e, conseqüentemente, dão a ideia de melhor qualidade da ração, mesmo que esta não apresente a melhor qualidade e a cor é o primeiro parâmetro considerado pelos consumidores menos informados na seleção e compra de produtos (Di Donfrancesco et al., 2014, Martins et al., 2016).

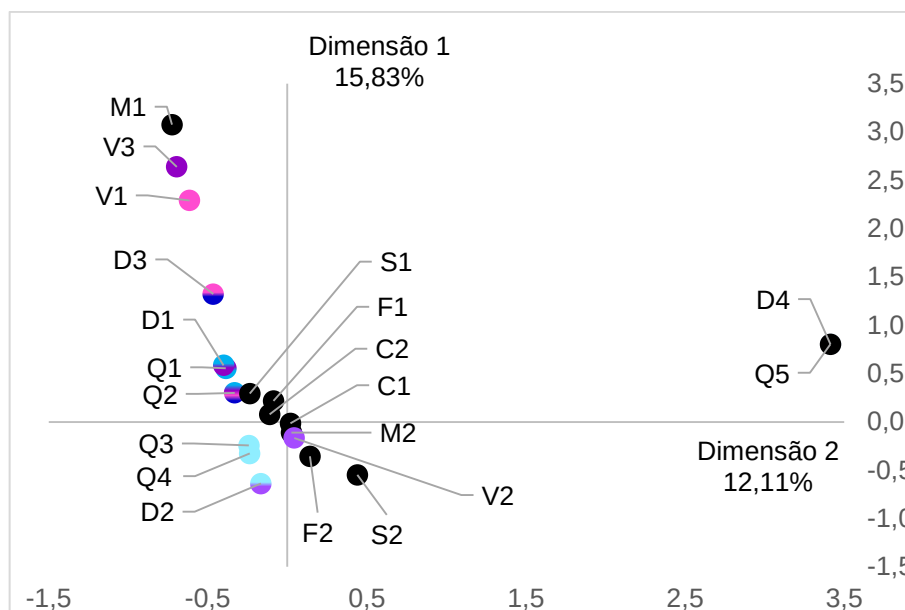


Figura 2 – Mapa perceptual da relação entre a classificação do alimento extrusado com a preferência de cores dos *kibbles* e a escolha de produtos com ou sem corantes. Cores iguais indicam correspondência. Classes: Q1 *standard*, Q2 não sabe, Q3 *premium*, Q4 *super premium*; cor dos *kibbles*: D1 sem preferência, D2 marrom, D3 colorida; escolha de alimento extrusado completo de mesmo preço: V1 com corante, V2 sem corante, V3 tanto faz.

Boa parte dos tutores (85,14%) acreditam que os seus cães não se importam com a cor do alimento e somente 14,86% dos tutores acham que os animais se importam. Entre os que acham que a cor é importante para o cão (C2), foi observado grupos de correspondências ($P < 0,05$) com aqueles que não souberam informar a qualidade do alimento (Q2), preferem rações coloridas (D3), optariam por ração com corantes (V1) ou seriam indiferentes a cor (V3) ao serem indagados pela preferência de compra de rações com o mesmo preço, apresentados em verde na Figura 3.

De acordo com Di Donfrancesco et al. (2014), quando os tutores se sentem atraídos pela aparência e cor do produto, eles também acham que seu cão irá gostar. Isso está atrelado à humanização dos cães e *marketing* das empresas que atribuem qualidades humanas aos cães e transferem as preferências do humano para o cão (Tesfom e Birch, 2010; Dodd, 2019). A cor contribui para criar expectativas afetivas e há uma tendência mundial em achar que cores específicas ou intensas estão relacionadas a determinados sabores por questões psicofísicas, como a analogia de ração vermelha e carne, por exemplo. Produtos com cores diversas estimulam o maior compra ou consumo do alimento, enquanto produtos com uma única cor padrão promovem a sensação de saciedade ou tédio sensorial em humanos (Spence, 2015).

Sobre mudanças nos padrões de coloração do alimento extrusado, 62,10% dos tutores nunca adquiriram um alimento com cores diferentes do que costumam comprar, porém 37,90% disseram já ter comprado rações com coloração alterada. Os tutores que nunca observaram alterações na coloração do produto (F1) apresentaram correspondências ($P < 0,05$) com os tutores sem preferência de cor da ração (D1), representados na cor salmão na Figura 3. Já os que adquiriram ração com alterações na coloração (F2), tem respostas associadas com os tutores que preferem alimentos de cor marrom (D2) e com os que afirmam que os cães se importam com a cor do alimento (C2), demarcados em laranja.

Na nossa pesquisa, não encontramos trabalhos sobre erros de aplicação de corantes em rações e petiscos, ou alterações na coloração que podem ocorrer devido a troca de ingredientes de base. Em um estudo de Prado e Godoy (2007), que avaliaram diversos alimentos para consumo humano no Brasil, como balas e cereais, observaram que dentre as três marcas de cereais matinais, todas estavam inadequadas e tinham os limites de corante extrapolados até duas vezes mais que o recomendado pela legislação.

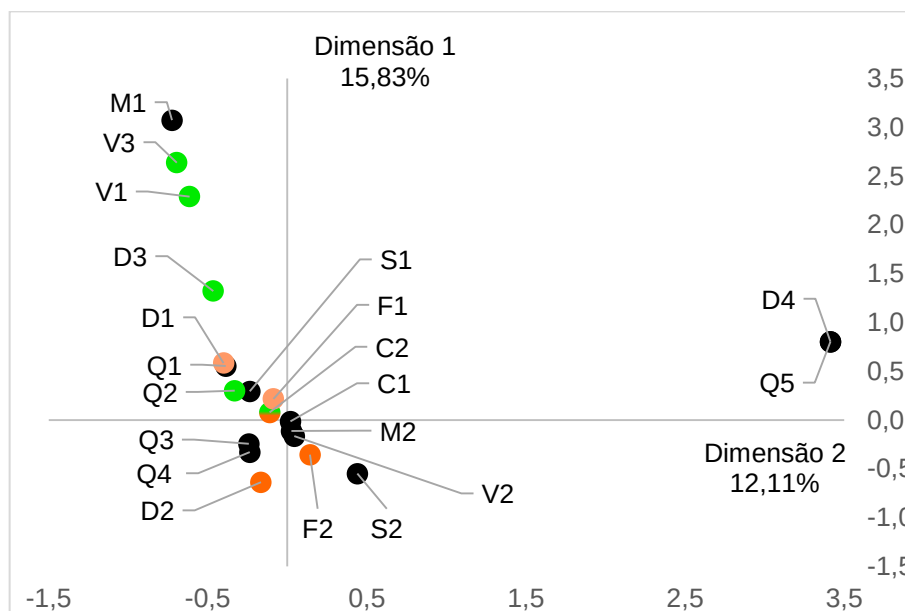


Figura 3 – Relação entre a opinião dos tutores sobre o impacto das cores para o cão e alterações na coloração do alimento.
Cores iguais indicam correspondência. Classificação: Q2 não sabem; cor dos *kibbles*: D1 sem preferência, D2 marrom, D3 colorida; escolha de alimento de mesmo preço: V1 com corante; V3 tanto faz; alteração na coloração: F1 não observou, F2 observou; cor importa para o cão: C2 sim.

Quase a totalidade dos tutores (96,52%) acreditam que corantes artificiais fazem mal a saúde e apenas uma pequena parcela (3,48%) acha que o aditivo não causa problemas. Houve correspondências significativas ($P < 0,05$) entre os que acham que o corante não causa problemas (M1) com os que não tem preferência de cor do extrusado (D1) ou optam pelos coloridos (D3), se abstiveram da resposta (V3) ou comprariam rações coloridas (V1) ao serem questionados sobre preferência de compra entre o alimento com ou sem corante de mesmo preço; e também com o grupo que nunca observou alterações na saúde dos cães, após o consumo de corantes artificiais (S1), representados na Figura 4 pelos pontos na cor ouro.

É notável o questionamento da sociedade quando se aborda o uso de substâncias sintéticas e seus efeitos sobre o organismo. De forma geral, muitos consumidores atuais não se interessam apenas pela aparência, cheiro ou atratividade do alimento, mas se preocupam se estes impactam a saúde, qualidade de vida e longevidade do animal, além de procurar informações sobre a nutrição dos cães em sites específicos e redes sociais (Martins et al., 2016).

Foi perguntado aos tutores de cães se alguma vez notaram alterações na saúde de seus animais após o consumo de alimentos com corantes e 65,14% disseram nunca ter observado nada anormal, porém 34,86% dos tutores notaram alterações. Dentre elas estão vômitos e diarreias (18,20%), alergias (8,05%), mudanças comportamentais (0,90%) ou todas essas alterações juntas (7,71%). É válido esclarecer que nesta pesquisa não foi realizado nenhum diagnóstico clínico que comprovasse a relação de causa e efeito, sendo as respostas baseadas apenas na suposição e opinião dos respondentes. Na ACM, foi possível observar grupos de correspondências ($P < 0,05$) entre os tutores que disseram nunca ter observado nada anormal após o consumo de corantes pelos cães (S1) com tutores que alimentam os cães com rações *standard* (Q1), são indiferentes a cor do alimento (D1), se mostraram omissos no momento da compra em relação a ração com ou sem corantes (V3) e com o grupo que nunca observou alterações na coloração da ração (F1), mostrados em vermelho na Figura 4. Outra associação foi encontrada ($P < 0,05$) entre o grupo que diz ter notado alterações na saúde (S2) com aqueles que oferecem alimentação caseira (Q5), escolhem rações de coloração marrom (D2), acreditam que os cães se importam

com a cor do alimento (C2) e com os que relataram ter adquirido produtos com coloração alterada (F2), representados pelos pontos amarelos.

Segundo Baquero et al. (2018), algumas características visuais do alimento extrusado como *kibbles* de única cor, tonalidades marrons, formatos tradicionais e tamanho médio estão relacionadas as crenças positivas, como possuir ingredientes naturais, ter todos os nutrientes necessários, apresentar abundância de ingredientes e fazer bem a saúde do cão. O mesmo acontece com as crenças negativas, na qual alimentos de muito contraste de cores estão associadas a comida falsa, alimentos artificiais e que pode provocar problemas como asfixia e dermatites, ou seja, reações alérgicas.

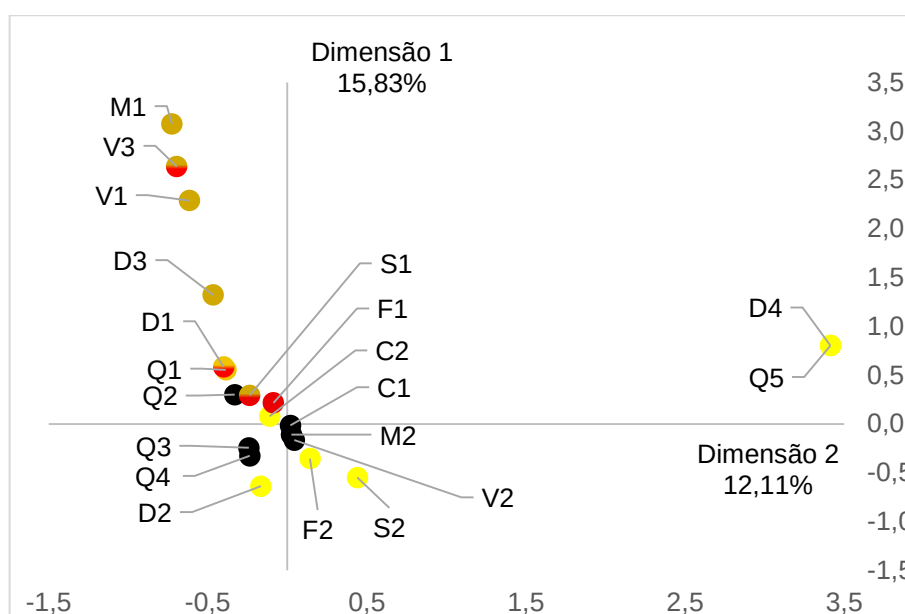


Figura 4 – Associações sobre a posição dos tutores em relação aos efeitos na saúde e alterações nos cães devido aos corantes.

Cores iguais indicam correspondência. Classificação: Q1 *standard*, Q5 alimentação caseira; cor dos *kibbles*: D1 sem preferência, D2 marrom, D3 colorida; escolha de alimento de mesmo preço: V1 com corante, V3 tanto faz; alteração na coloração: F1 não observou, F2 observou; cor importa para o cão: C2 sim; Corante faz mal à saúde: M1 não; Alterações após o consumo de corantes: S1 não, S2 sim.

3.1.3. Ranking das marcas mais consumidas no Brasil

Do total de tutores participantes, 3441 aceitaram responder sobre a empresa e as linhas de rações oferecidas aos cães. Por meio do próprio questionário foi possível fazer um levantamento dos alimentos mais consumidos no mercado brasileiro com

corantes artificiais em sua composição e detalhar quais os corantes mais comumente utilizados nas formulações. Os alimentos foram classificados de acordo com especificações de qualidade descritas nas embalagens. A partir dos dados foi possível fazer uma listagem das dez marcas mais comercializadas de alimento completo, seco e balanceado, que estão descritas na Tabela 3. Entre as marcas se encontram produtos de qualidade *premium*, *premium* especial ou *high premium* e *super premium*.

Tabela 3 – Marcas de alimento completo extrusado para cães mais consumidas no Brasil.

Posição / Consumidores	Empresa / Marca
1º / 639	PremierPet/ Golden
2º / 396	Royal Canin / *
3º / 345	PremierPet / *
4º / 199	Mars / Pedigree
5º / 198	Special Dog / *
6º / 128	PremierPet / PremieR
7º / 115	Nestlé Purina / Dog Chow
8º / 112	Adimax / Magnus
9º / 104	Hills / *
10º / 75	Affinity / Gran Plus

* Não especificada.

Foram citadas 167 marcas de rações no questionário e não foram encontradas a composição de 16 rações que não constavam no catálogo ou site das empresas. No total, 47 marcas apresentaram corantes artificiais nas formulações, sendo que em cinco marcas (VB Alimentos-Fino Trato, Kowalsky-Pop Dog, Hercosul-Apolo, VB Alimentos-Dog Fit e Fort Brain-linha não especificada), não foi possível encontrar os corantes especificados nos ingredientes. Dentre as rações coloridas artificialmente, quatro estão no *ranking* (Pedigree, Special Dog, Dog Chow e Magnus). No geral, as 47 marcas de rações coloridas foram classificadas com base nas informações dos próprios produtos como *premium* especial com 4 linhas, 29 *premium* e 18 como *standard*, considerando que algumas empresas produzem a mesma marca com diversas linhas de qualidade, assim foram contabilizadas mais de uma vez.

Dos 2738 tutores que fornecem petiscos, 1527 informaram a marca. Os dez petiscos mais consumidos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Marcas de petiscos industrializados para cães mais consumidas no Brasil.

Posição / Consumidores	Empresa / Marca / Linha
1º / 484	Mars / Pedigree / *
2º / 147	Mars / Pedigree / Biscrok
3º / 131	Keldog / Kelco
4º / 82	Nestlé Purina / Doguitos
4º / 82	PremierPet / *
5º / 64	Nestlé Purina / Dog Chow
6º / 49	Nestlé Purina / *
7º / 48	PremierPet / Golden
8º / 31	Adimax / Magnus
9º / 30	Mars / Pedigree / Dentastix
10º / 29	PremierPet / Cookies

* Não especificada.

No total foram citadas 90 marcas de petiscos, entre as quais 11 não foram encontradas a composição e 33 continham corantes artificiais nas formulações, porém 16 marcas não declararam quais os corantes utilizados. Entre os petiscos que utilizam corantes, 7 marcas estão no ranking (Biscrok, o Keldog, Doguitos, Dog Chow e Magnus e alguns produtos da Pedigree e da Nestlé Purina).

Com base nos produtos citados pelos consumidores, foi elaborada uma listagem com os corantes mais utilizados nas rações e petiscos para cães (Tabela 5).

Tabela 5 – Corantes artificiais mais utilizados em *pet foods* brasileiros.

Rações*		Petiscos*	
<i>Produtos</i>	<i>Corante</i>	<i>Produtos</i>	<i>Corante</i>
32	Amarelo tartrazina	10	Vermelho allura
28	Amarelo crepúsculo	8	Amarelo tartrazina
15	Vermelho Bordeaux	7	Amarelo crepúsculo
14	Vermelho allura	4	Azul indigotina
14	Azul indigotina	3	Vermelho Bordeaux
12	Vermelho ponceau	2	Vermelho ponceau, azul brilhante
7	Azul brilhante	2	Laranja e verde musgo

*Em menor representatividade encontramos ainda verde, verde folha, verde musgo, verde 3, marrom ht e laranja.

3.2. Respostas das empresas

3.2.1. Perfil das empresas

Das empresas contatadas, apenas 34 responderam ao questionário. Os funcionários responsáveis pelas empresas que concordaram em responder ao questionário desempenham diferentes cargos entre eles analistas, consultores técnicos, diretores, coordenadores, formuladores, gerentes, nutricionistas, gestores de qualidade, proprietários, responsáveis técnicos, sócios administradores, supervisores e zootecnistas.

As empresas da região Sudeste foram as mais participativas, com 50% de respostas, seguida pela região Sul com 44,12%, já as regiões Centro-oeste e Nordeste tiveram participação de apenas 2,94% cada. Mesmo com a garantia do anonimato e perguntas pouco invasivas, foi observada a resistência do setor em colaborar com a pesquisa, 5 empresas se recusaram a participar, justificando que seus dados são estratégicos e privados, assim não tendo permissão para divulgá-los e as demais não deram retorno.

A consolidação dos segmentos básicos e estratégicos, como metalúrgico, químico e alimentício na região Sudeste foi motivada e favorecida por questões histórico-políticas e grandes investimentos econômicos, que se iniciaram ainda na metade da década de 70. Devido ao desenvolvimento gerado pelas indústrias, oferta de emprego e tecnologia, encontramos alta densidade populacional e obviamente de cães e gatos nessa região, que por sua vez dá suporte e permite a expansão do setor alimentício para os animais de companhia (De Araújo, 1999; IBGE, 2020).

3.2.2. Informações técnicas de produção

Considerando as 34 empresas participantes, 16 mencionaram que produzem alimentos com corantes artificiais, sendo que 6 destas empresas fabricam mais da metade de seus produtos com este aditivo. Sobre a qualidade das linhas produzidas com corantes, grande parte é *standard* (81,25%); 75% fabricam alimentos *premium* e

56,25% das empresas trabalham com produtos de linhas econômicas, considerando que as empresas podem trabalhar com mais de uma linha de qualidade.

Com base nas respostas das empresas, os corantes mais utilizados nas formulações estão na Tabela 6.

Tabela 6 – Corantes mais utilizados pelas empresas de alimentos para cães no Brasil.

% de uso	Corante
93,75	Amarelo crepúsculo
87,50	Amarelo tartrazina
62,50	Vermelho allura
56,25	Vermelho ponceau
50,00	Marrom HT
31,25	Vermelho Bordeaux
25,00	Azul indigotina
18,75	Azul brilhante
18,75	Verde sólido
6,25	Amarelo quinoleína

Nesta pesquisa, o preço dos corantes apresentou grande variação, com valor mínimo de R\$12,00/kg até R\$176,00/kg, porém os preços mais mencionados ficaram entre R\$45,00 e R\$58,22/kg. Por isso os próprios representantes tiveram respostas pouco conclusivas sobre o impacto que o preço do aditivo tem no valor final do alimento, já que 38,24% dos respondentes acreditam que o corante é um ingrediente caro; 23,53% acham que os corantes não são caros e 38,24% não souberam informar.

Tais valores contrastantes estão ligados a qualidade do corante que será escolhido de acordo com a qualidade da ração e ao país de exportação. O Brasil, apesar de produzir corantes, não é autossuficiente e por isso importa corantes sintéticos e lacas (Zanoni e Yamanaka, 2016), principalmente da Índia, maior exportador desse tipo de material e também dos Estados Unidos. O valor de importação é em torno de US\$7,40 ou R\$39,73 o quilograma (COMEX, 2020).

No questionário, uma das perguntas estava relacionada a quantidade, em gramas de corante por tonelada de ração, que é habitualmente usada nas formulações de cada empresa. Os valores citados vão desde 100g/ton até 4.000g/ton, com quantidades muito variadas, sendo em média 700g/ton.

Não há limites definidos ou restrições para inclusão de corantes artificiais na alimentação animal (MAPA, 2015). A legislação vigente e manuais de formulação apresentam apenas recomendações de uso do aditivo em alimentos processados a base de cereais em torno de 0,01g para cada 100g de produto acabado, o que também é recomendado para produção de *pet food* (Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2013; CNS, 1988). Porém, os corantes permitidos e a quantidade limite desses aditivos são contraditórios, pois a Resolução da Diretoria Colegiada nº 60, de 05 de setembro de 2007 (ANVISA, 2007) regulamenta o uso de aditivos e limites máximos para cereais e produtos à base de cereais, sendo permitido apenas o uso do vermelho 40, azul brilhante e amarelo crepúsculo em dose de 0,02g/100g de produto acabado para humanos (ANVISA, 2007). De certa forma, os alimentos para animais de companhia poderiam se enquadrar nessa legislação também. Mas, de fato, nossa pesquisa mostra que em média as quantidades de corante aplicados nos alimentos para cães estão acima das recomendações de uso da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2007), pois ao invés 0,01%, estão com 0,07% de aplicação.

Por isso, perguntou-se as 16 empresas que utilizam corantes artificiais, se elas realizam algum teste ou análise para conferir a quantidade do aditivo no produto final e a maioria (87,50%) responderam não, afirmando que o cálculo do corante já está vinculado a fórmula do *pet food*; somente 12,50% responderam sim.

Na legislação brasileira existem apenas recomendações de uso de corantes artificiais (CNS, 1988) e como não há valores limites, não é comum a realização de testes para verificar as dosagens. As empresas não foram questionadas sobre quais métodos utilizam para quantificar os corantes, mas geralmente é utilizada a eletroforese capilar, mais simples e versátil; a cromatografia iônica menos demorada e aplicável a misturas complexas ou cromatografia líquida de alta eficiência, capaz de detectar com seletividade as baixas concentrações de corantes na amostra (Prado e Godoy, 2003 e 2007; Martins et al., 2016).

3.2.3. Posicionamento da indústria sobre o uso de corantes artificiais

Sobre a redução de corantes nos produtos, 18,75% das empresas disseram que não há intenção em deixar de utilizar o aditivo, pois os produtos já têm um padrão visual e modificá-los pode gerar a rejeição pelos clientes, além de alguns consumidores ainda fazerem analogias da cor da ração com a composição, principalmente para alimentos com vegetais. A maioria dos respondentes (81,25%) são favoráveis a redução de corantes no alimento extrusado, justificando seu posicionamento de diversas formas: alguns citam que há forte apelo de *marketing* e pressão dos consumidores por alimentos mais saudáveis; outros mencionam o risco de contaminação por metais pesados quando são empregados corantes na formulação; pelo simples motivo de que os corantes não trazem benefícios para o animal, além de elevar custos na empresa por ser um ingrediente muitas vezes caro e outros citam que o tempo operacional pode ser menor e a produção facilitada ao evitar o uso de corantes no processo de fabricação.

O *marketing* por meio do apelo visual das cores, umas das estratégias mais utilizadas pela indústria, se justifica por ser um fator de impacto na compra de um produto (Spence, 2015). Porém muitos consumidores diminuíram a compra de alimentos com corantes artificiais devido à preocupação associada aos riscos, contaminação e efeitos colaterais, preferindo por exemplo, os corantes naturais por trazerem alguns benefícios a saúde. A sociedade, hoje mais crítica e bem informada, não se deslumbra apenas com o visual ou requisitos organolépticos e exige das indústrias produtos “limpos”, naturais e saudáveis (Andrade et al., 2013; Carochio et al., 2014; Martins et al., 2016). Para garantir a demanda de mercado, as empresas se moldam ao novo cenário, renovam formulações, produtos e estratégias de vendas, por isso vê-se uma grande parte das empresas entrevistadas com a intenção de mudanças.

As empresas mencionaram algumas vantagens e desvantagens sobre o uso de corantes artificiais, porém do total, 11,76% das empresas não souberam opinar sobre os prós e contras do aditivo. Mais da metade das empresas (58,82%) acredita que há vantagens, principalmente de *marketing*, já que os consumidores muitas vezes compram pela aparência do produto para agradar a si mesmos. Segundo os

respondentes, rações com farináceos e carne mecanicamente separada deixam o produto com uma coloração parda, que não condiz com a cor da matéria prima, assim recebem corantes para melhorar o acabamento do *kibble*, padronizar aspectos físicos ou para se assemelharem ao ingrediente *in natura*, principalmente vegetais. Porém 29,41% das empresas afirmam que não há nenhuma vantagem, pois isso é um hábito cultural do passado, e em geral os consumidores atuais são mais conscientes e exigentes.

Especificamente sobre as desvantagens, 85,29% das empresas acreditam que os corantes não devem ser usados, por não apresentarem nenhuma funcionalidade para os cães e existem contradições no meio científico relacionados a possibilidade de causar ou não efeitos colaterais no organismo. Também há rejeição de consumidores mais conscientes que buscam algo mais natural, além de muitos julgarem que rações coloridas tem baixa qualidade. Os respondentes citam que a urina e fezes de cães que consomem rações vermelhas muitas vezes são confundidas com sangue, causando pânico nos tutores o que pode comprometer a imagem da empresa perante o mercado. Outras desvantagens mencionadas são o alto custo do aditivo, estrutura ou espaço extra para armazenamento, dificuldade produtiva, já que qualquer erro na dosagem traz grandes alterações na aparência física e, ligado a isso, existe o risco de sabotagem interna. Apenas 2,94% das empresas creem que não existe desvantagens, e argumentaram dizendo que os consumidores que compram rações com corantes geralmente não sabem o motivo do uso e nem sobre os possíveis malefícios, por isso, estados com IDH menor e as classes C e D ainda preferem rações coloridas.

Mesmo que existam vantagens de se aplicar corantes nos alimentos, como a melhoria do acabamento do extrusado para aumentar a comercialização, principal ponto que ainda cativa as indústrias (Yamjala et al. 2016), isso não é suficiente para manter o uso desse aditivo. Em pleno século 21, graças a facilidade e rapidez para se obter informações, ocorreram mudanças no comportamento de compra dos consumidores, principalmente das gerações Y e Z, que são mais cautelosas e exigentes em relação aos esclarecimentos por parte da indústria sobre os aditivos alimentares (Budac, 2015). Como há preocupação com a alimentação e discordância sobre o efeito dos aditivos na saúde, as pessoas preferem evitá-los, o que faz a

indústria considerar as desvantagens do uso de corantes artificiais (Carocho et al., 2014; Coultate e Blackburn, 2018).

O ponto mais impactante em relação a dualidade do consumo de corantes artificiais é o comprometimento da saúde. Quase a metade dos respondentes (47,06%) acredita que os corantes podem afetar mesmo os animais saudáveis; 26,47% acham que os corantes só comprometem a saúde se o cão já estiver debilitado por outros problemas; 14,71% disseram que corantes podem afetar a saúde somente em altas dosagens; 8,82% não souberam informar e apenas 2,94% acreditam que corantes não fazem mal ao organismo.

O setor industrial tem acesso às pesquisas científicas sobre aditivos, ingredientes, prós e contras para a saúde citados em diversos artigos (Demirkol et al., 2012; Doguc et al., 2015 e Feketea e Tsabouri, 2017). Além disso, a ideia de produto artificial, sintético e as crenças negativas que os corantes artificiais passaram a ter na sociedade, também são percebidos pela indústria (Baquero et al., 2018). De forma geral, diversos fatores estão contribuindo para a diminuição gradativa dos corantes artificiais em alimentos para animais de companhia, seja por premissas científicas, pressão dos consumidores ou questões técnicas mencionadas pela própria indústria.

4. CONCLUSÕES

No geral, boa parte dos tutores e empresas estão evitando alimentos com corantes artificiais. Os tutores não se deixam ater apenas pelo impacto visual das cores da ração, já que acreditam que esses aditivos trazem prejuízos a saúde e por isso preferem alimentos de coloração marrom. Por pressão dos consumidores, melhor qualidade do extrusado e *marketing*, as empresas se mostraram dispostas a modificar seus produtos para que tenham apelo mais natural e saudável. Por outro lado, existem consumidores que ainda optam por produtos coloridos e acreditam que os corantes não afetam a saúde. Para atender esse mercado, parte das empresas continuam a produção de alimentos extrusados com corantes artificiais.

5. REFERÊNCIAS

ABINPET - Associação Brasileira de Indústria de Produtos para Animais de Estimação. (2019a) **Mercado PET Brasil**. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/mercado/>>. Data de acesso: 14 jun 2020.

Andrade JCD, Deliza R, Yamada EA, Galvão MTEL, Frewer L J, Beraquet NJ (2013) Percepção do consumidor frente aos riscos associados aos alimentos, sua segurança e rastreabilidade. **Brazilian Journal of Food Technology** 16:184-191.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 60, de 05 de setembro de 2007**. Aprova o regulamento técnico sobre atribuição de aditivos e seus limites máximos para a categorias de alimentos 6: cereais e produtos de ou a base cereais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2007. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolu%25C3%25A7%25C3%25A3o%2BRDC%2Bn%25C2%25BA%2B60%252C%2Bde%2B05%2Bde%2Bsetembro%2Bde%2B2007%2Bcereais.pdf/fbd3ee54-c1c4-40cd-85a14e0937747fbf>>. Data de acesso: 04 jul 2020.

Baquero DG, Koppel K, Chambers D, Holda K, Głogowski R, Chambers E (2018) Acceptability of dry dog good visual characteristics by consumer segments based on overall liking: A case study in Poland. **Animals** 8:1-21.

Budac AC (2015) Next generations of consumers—challenges and opportunities for brands. **Bulletin of Tara Shevchenki National University of Kyiv Economics** 6:6-10.

Cappelli S, Lunedo P, Freitas CP, Raber HR, Manica E, Hashimoto JH, Oliveira V (2016) Avaliação química e microbiológica das rações secas para cães e gatos adultos comercializadas a granel. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** 10:90-102.

Carocho M, Barreiro MF, Morales P, Ferreira IC (2014) Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 13:377-399.

CETIC - Centro Regional de Estudos para o Desenvolvimento da Sociedade da Informação (2020). **A4 – Domicílios com Acesso à Internet**. Disponível em <<https://www.cetic.br/pt/tics/domicilios/2019/domicilios/A4/>>. Data de acesso: 28 set 2020.

CNS - Conselho Nacional da Saúde, **Resolução n.º 04, de 24 de novembro de 1988**. Ministério da Saúde, 1988. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/1988/res0004_24_11_1988.html#:~:text=2%20%E2%80%93%20Revoga%20as%20Portarias%2C%20Resolu%C3%A7%C3%B5es,coadjuvantes%20da%20tecnologia%20de%20fabrica%C3%A7%C3%A3o>. Data de acesso: 5 set 2020.

COMEX Stat. **ComexVis** (2020) Disponível em:<<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis>>. Data de acesso: 13 ago 2020.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL (2013). **Aditivos**. São Paulo: SINDIRAÇÕES, p.17.

Coultate T, Blackburn RS (2018) Food colorants: Their past, present and future. **Coloration Technology** 134:165-186.

Courcier EA, Thomson RM, Mellor DJ, Yam PS (2010) An epidemiological study of environmental factors associated with canine obesity. **Journal of Small Animal Practice** 51:362-367.

De Araújo TB (1999) Por uma política nacional de desenvolvimento regional. **Revista Econômica do Nordeste** 30:1-30, 1999.

Delime P, Koppel K, Pachot P, De Ratuld A (2020) How the odor of pet food influences pet owners' emotions: A cross cultural study. **Food Quality and Preference** 79:1-10.

Demirkol O, Zhang X, Ercal N (2012) Oxidative effects of Tartrazine (CAS No. 1934-21-0) and New Coccin (CAS No. 2611-82-7) azo dyes on CHO cells. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit** 7:229-236.

Di Donfrancesco B, Koppel K, Chambers IV E (2012) An initial lexicon for sensory properties of dry dog food. **Journal of Sensory Studies** 27:498-510.

Di Donfrancesco B, Koppel K, Swaney-Stueve M, Chambers E (2014) Consumer acceptance of dry dog food variations. **Animals** 4:313-330.

Dodd SA, Cave NJ, Adolphe JL, Shoveller AK, Verbrugghe A (2019) Plant-based (vegan) diets for pets: A survey of pet owner attitudes and feeding practices. **PloS One** 14:1-19.

Doguc DK, Aylak F, Ilhan I, Kulac E, Gultekin F (2015) Are there any remarkable effects of prenatal exposure to food colourings on neurobehaviour and learning process in rat offspring? **Nutritional Neuroscience** 18:12-21.

Feketea G, Tsabouri S. (2017) Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? **Food Chemistry** 230:578-588.

Greenacre MJ (2010) Correspondence analysis. **WIREs Computational Statistics** 2:613-619.

Governo do Brasil (2020). **Pesquisa do IBGE mostra aumento da obesidade entre adultos**. Disponível em:< <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2020/10/pesquisa-do-ibge-mostra-aumento-da-obesidade-entre-adultos>>. Data de acesso: 31 out 2020.

Heuberger RA, Garner JA, Corby A, DeWitt K, Vander Sluis R (2016) Overweight and obese pet owners: Respondent and pet characteristics in the rural Midwestern United States. **Anthrozoös** 29:219-230.

Horowitz A, Hecht J, Dedrick A (2013) Smelling more or less: Investigating the olfactory experience of the domestic dog. **Learning and motivation** 44:207-217.

Houlihan K E (2017) A literature review on the welfare implications of gonadectomy of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 250:1155-1166.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2007) **Pesquisa Domiciliar sobre Cães e Gatos – Humanização e Padrões de Consumo**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv39560.pdf>> Data de acesso: 18 jul 2020.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2020) **Rendimento impacta acesso da população a bens tecnológicos e internet**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/27522-rendimento-impacta-meio-de-acesso-da-populacao-a-bens-tecnologicos-e-internet>>. Data de acesso: 18 jul 2020.

Instituto Pet Brasil. (2019) **Censo Pet: 139,3 milhões de animais de estimação no Brasil. 2019**. Disponível em: <<http://institutopetbrasil.com/imprensa/censo-pet-1393-milhoes-de-animais-de-estimacao-no-brasil/>>. Data de acesso: 14 jun 2020.

Koppel K, Suwonsichon S, Chambers D, Chambers IV E (2018) Determination of intrinsic appearance properties that drive dry dog food acceptance by pet owners in Thailand. **Journal of Food Products Marketing** 24:830-845

Magalhães G (2019) **Classificação de alimentos pet no mercado nacional**. Disponível em: <<https://www.editorastilo.com.br/colunistas/classificacao-de-alimentos-pet-no-mercado-nacional/>>. Data de acesso: 14 jun 2020.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 38, de 27 de outubro de 2015**. Disponível em <https://www.in.gov.br/materia/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/33293143/do1-2015-10-28-instrucao-normativa-n-38-de-27-de-outubro-de-2015-33293143>. Data de acesso: 5 set 2020.

Martins N, Roriz CL, Morales P, Barros L, Ferreira IC (2016) Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. **Trends in Food Science & Technology** 52:1-15.

Masone D, Chanforan C (2015) Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: a computational point of view. **Computational Biology and Chemistry** 56:152-158.

Mazon, M S, Moura, W G. (2017) Cachorros e humanos: mercado de rações pet em perspectiva sociológica. **Civitas-Revista de Ciências Sociais** 17:138-158.

Prado MA, Godoy HT (2003) Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição** 14: 237-250.

Prado MA, Godoy HT (2007) Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova** 30:268-273.

SAS 9.4. SAS Institute (2015). **SAS Proprietary Software**. Inc., Cary:NC.

Sayed HM, Fouad D, Ataya FS, Hassan NH, Fahmy MA (2012) The modifying effect of selenium and vitamins A, C, and E on the genotoxicity induced by sunset yellow in male mice. **Mutation Research** 744:145-153.

Schab DW, Trinh NT (2004). Do artificial food colors promote hyperactivity in children with hyperactive syndromes? A meta-analysis of double-blind placebo-controlled trials. **Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics** 25:423-434.

Serpell JA (2019) How happy is your pet? The problem of subjectivity in the assessment of companion animal welfare. **Animal Welfare** 28:57-66.

Sourial N, Wolfson C, Zhu B, Quail J, Fletcher J, Karunanathan S, Bandeen-Roche K, Béland F, Bergman H (2010) Correspondence analysis is a useful tool to uncover the relationships among categorical variables. **Journal of Clinical Epidemiology** 63:638-646.

Spence C (2015) On the psychological impact of food colour. **Flavour** 4:1-16.

Statistica 7.0. Statsoft (2004). **Statistica Data Analysis System**. Inc.,Tulsa:OK.

Stevens LJ, Kuczek T, Burgess JR, Stochelski MA, Arnold LE, Galland L (2013) Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children. **Nutrition reviews** 71:268-281.

Stevens LJ, Burgess JR, Stochelski MA, Kuczek T (2015) Amounts of artificial food dyes and added sugars in foods and sweets commonly consumed by children. **Clinical Pediatrics** 54:309-321.

Suarez L, Peña C, Carretón E, Juste MC, Bautista-Castaño I, Montoya-Alonso JA (2012) Preferences of owners of overweight dogs when buying commercial pet food. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 96:655-659.

Tesfom G, Birch N (2010) Do they buy for their dogs the way they buy for themselves? **Psychology & Marketing** 27:898-912.

Yam PS, Naughton G, Butowski CF, Root AL (2017) Inaccurate assessment of canine body condition score, bodyweight, and pet food labels: a potential cause of inaccurate feeding. **Veterinary Sciences** 4:1-8.

Yamjala K, Nainar MS, Ramiseti NR (2016) Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry—a review. **Food Chemistry** 192:813-824.

Zanoni MVB, Yamanaka H (2016) **Corantes: Caracterização Química, Toxicológica, Métodos de Detecção e Tratamento**. São Paulo: Editora UNESP, 344 p.

CAPÍTULO 3 – Azo corante vermelho ponceau 4R: efeitos sobre o comportamento e preferência alimentar de cães

RESUMO – Corantes são utilizados para conferir ou restaurar a cor dos alimentos, a fim de dar ao produto final um melhor acabamento visual. Há décadas os corantes artificiais são suspeitos de causar alterações comportamentais em ratos e humanos, mas há poucos relatos sobre efeitos no comportamento e sobre a preferência alimentar de cães. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do azo corante vermelho ponceau 4R sobre o comportamento de cães, assim como a preferência alimentar desta espécie em relação ao aditivo. Para o experimento comportamental, participaram da pesquisa 12 cães adultos da raça Beagle (machos = 6, fêmeas = 6, com 3 anos de idade e 12,20 kg de peso vivo em média). Os cães foram alocados em trios nas baias, de forma que em cada baia tivesse os três tratamentos. Estabeleceram-se três dietas com a mesma formulação, diferindo apenas na dosagem do aditivo, sendo o tratamento controle com 0% de corante, o T1 com 0,05% e o T2 com 0,20% de corante. O período de adaptação durou 17 dias, no qual os animais receberam apenas a ração controle. Durante 21 dias os cães foram alimentados com as dietas testes (n=4) e filmados sete horas por dia para as avaliações comportamentais. Foram consideradas as categorias comportamentais excitação, descansos (frequência e duração); interagir (frequência e duração); sacudir, coçar, vocalizar, urinar, comportamentos indicativos de ansiedade, comportamentos agonísticos e primeiro cão a iniciar o comportamento agonístico. Após um mês, repetiu-se o experimento por questões de controle ambiental, mantendo-se os cães nos mesmos tratamentos. Empregou-se o teste da cruz elevada no início e fim da primeira bateria. Para o teste de preferência, participaram 20 cães de raças múltiplas, de ambos os sexos, com um a dois anos de idade e peso entre 3,5 kg até 40 kg. Os tratamentos foram organizados em três desafios, cada qual com duas dietas. Foi anotada qual dieta o cão aproximou o focinho pela primeira vez, qual foi ingerida primeiro, além do registro do consumo. Os resultados mostraram que o tratamento com 0,20% do corante apresentou maior frequência ($P<0,05$) para o comportamento coçar e o tratamento 0,05% mostrou aumento dos comportamentos ansiosos e vocalizações. O teste da cruz elevada mostrou resultados significativos ($P<0,05$) para o tratamento com 0,20% do aditivo, com menor número de entrada e menor tempo de permanência em braço aberto, comportamento indicativo de ansiedade. O teste de preferência apresentou maiores frequências de escolha pelos cães para ração sem corante, seguida do tratamento com 0,05% de corante para primeira ingestão e consumo ($P<0,05$). Conclui-se que o corante vermelho ponceau 4R altera o comportamento de cães, podendo comprometer de forma negativa o bem-estar dos animais, além de ser menos apreciado pelos cães, ao ser adicionado ao alimento extrusado.

1. INTRODUÇÃO

Os corantes alimentares são aditivos sensoriais com a função de atribuir coloração específica aos alimentos para melhorar a aparência do produto final, transmitir ideias sobre a composição e sabor. Esse tipo de aditivo não tem o propósito de nutrir o organismo (NRC, 2006; Yamjala et al., 2016; ANVISA, 2018). De maneira simplificada, os corantes são classificados como natural, orgânico e artificial. Nessa última categoria estão os azocorantes, amplamente utilizados nos mais diversos setores da indústria, inclusive para alimentação animal, pois apresentam uma gama de cores intensas, resistentes ao calor e estáveis ao processamento, além do menor custo, quando comparado aos naturais (Ahlström et al, 2005; Yamjala et al., 2016).

Os corantes utilizados em alimentos completo e petiscos tem a finalidade de atrair a atenção dos tutores e estimular sensações e sentimentos, mas não em cães, já que as cores têm pouca influência na escolha dos alimentos para esta espécie e acredita-se que os cães têm a visão parecida com a de humanos daltônicos, que não diferenciam o vermelho do verde (Bourgeois, 2004; Beaver, 2009). Diferente dos humanos, no qual a visão é um sentido dominante, o principal sentido dos cães é o olfato, que permite a percepção de várias características relacionadas ao alimento, como contaminantes, gordura oxidada e proteínas, sendo usado para a tomada da decisão sobre o que comer ou não comer (Haupt et al., 1978; Zanatta et al., 2016).

Apesar das vantagens industriais, os azocorantes são responsáveis por causar alterações bioquímicas no organismo, comprometendo a saúde (Stevens et al., 2013; Mohamed et al., 2015; Feketea e Tsabouri, 2017). Por exemplo, o vermelho ponceau 4R ou E 124, quimicamente conhecido como 2-hidroxi-1-(4-sulfonato-1-naftilazo)-naftaleno-6,8-dissulfonato de trissódio, foi responsabilizado pela redução de hemoglobina e hemácias em estudos em longo prazo, com altas dosagens em ratos e suínos (Gaunt et al., 1967; Gaunt, et al., 1969); aumento da atividade pró-inflamatória em culturas de células humanas em diferentes dosagens (Leo et al, 2018), desenvolvimento de urticária, bronco-constricção e agravamento de dermatites atópicas em crianças em um curto experimento com baixas dosagens (Ibero et al., 1982); susceptibilidade a histamina em crianças que receberam dosagens consideradas normais em curto prazo (Stevenson et al., 2010); além de problemas

comportamentais relacionados a perda da capacidade de localização espacial e movimentos coordenados, diminuição da motivação e ansiedade em estudos com ratos que receberam altas dosagens de corante em longo prazo (Tanaka, 2006a; Doguc et al., 2015).

As organizações especializadas em saúde e alimentos buscam embasamento científico para assegurar dosagens seguras, mas a extrapolação da ingestão de corantes foi observada em crianças, por consumirem num mesmo dia, muitos alimentos coloridos artificialmente, levando a sintomas de hiperatividade, desatenção, impulsividade entre outros (McCann et al., 2007; Stevens et al., 2015).

O E 124 tem seu uso proibido nos Estados Unidos, Canadá, Japão, Suécia, Finlândia e Noruega, mas é amplamente utilizado pela indústria de vários países da União Europeia, assim como no Brasil, que recomenda a dose diária aceitável (DDA) de 4 mg/kg de peso corporal para humanos, de acordo com as limitações impostas pela FAO e OMS (ANVISA, 1965; König, 2015; EFSA, 2018; FDA, 2018). No Brasil, as recomendações de uso de corante para o *pet food* são em torno de 0,01g para cada 100g de produto acabado (Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2013; CNS, 1988), mas é comum a utilização de dosagens mais altas. Ao considerar a dose de 0,05% de corante no produto, um cão de 12 kg poderá ingerir pelo menos 10 mg de corante/kg de peso corporal, mais que o dobro da recomendação para humanos.

Muitos tutores fornecem mais alimentos do que o necessário para a manutenção de seus animais, além de excederem a quantidade de petiscos (Zanatta et al. 2016). Se os alimentos fornecidos aos cães apresentarem corantes artificiais, existe a possibilidade de extrapolação do consumo do aditivo. Outro ponto que deve ser avaliado é o fato do alimento extrusado ser um alimento completo, logo o cão comerá esse alimento todos os dias e os tutores podem manter o mesmo produto por anos, contribuindo para a alta ingestão de corantes de forma recorrente. Porém, não há estudos com cães sobre ingestão ou preferências de corantes e possíveis alterações na saúde dessa espécie, após o consumo regular deste aditivo.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do corante vermelho ponceau 4R (E 124) sobre o comportamento de cães adultos, incluindo a avaliação das preferências desta espécie em relação ao alimento completo extrusado com o corante em questão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Estudo comportamental

2.1.1. *Aprovação do projeto*

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP/FCAV) sob o protocolo número 007955/18.

2.1.2. *Local e animais*

O estudo foi conduzido no Laboratório de Pesquisas em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos Professor Doutor Flávio Prada, na UNESP/FCAV em Jaboticabal/SP.

Todos os cães utilizados no experimento nasceram no laboratório e eram mantidos no local até os cinco anos de vida para estudos nutricionais e comportamentais. Após foram disponibilizados para adoção responsável.

Participaram da pesquisa doze cães adultos sadios da raça Beagle, com aproximadamente 3 anos de idade e peso de $12,20 \pm 1,35$ kg. Os cães eram de ambos os sexos, sendo seis fêmeas castradas, todas irmãs e seis machos inteiros, sendo dois grupos composto por três irmãos cada grupo. Os animais passavam regularmente por *checkup* veterinário e estavam em boas condições de saúde, sendo todos vacinados e desverminados.

2.1.3. *Delineamento experimental e tratamentos*

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) e os animais foram alocados em quatro baias, onde cada baia comportava três cães, que foram agrupados levando-se em consideração a afinidade entre os animais. Assim, havia uma baia somente com fêmeas, outra somente com machos, a terceira com duas fêmeas e um macho e por fim, a última, com dois machos e uma fêmea. Os cães

foram divididos ao acaso entre os tratamentos e em cada baia havia um cão de cada tratamento, mantido até o final do experimento. Em cada tratamento haviam quatro cães que foram considerados as unidades experimentais (n=4).

O experimento ocorreu em duas baterias, ou seja, com repetição. Em cada bateria os cães tiveram adaptação de 17 dias, em que todos consumiram a dieta controle (sem corantes), a fim de estabilizar os parâmetros bioquímicos, se habituarem aos cães companheiros de baia e a nova rotina de manejo. Já o período experimental teve duração de 21 dias, no qual os animais receberam as dietas testes. Ao término da primeira bateria, os cães se mantiveram nos mesmos trios e foram alimentados com uma dieta comercial sem corantes artificiais durante um mês. Após, iniciou-se a segunda bateria do experimento da mesma forma que a primeira bateria, mantendo os cães com seus respectivos tratamentos e mesmos trios de afinidade, que foram trocados de baias. A realização do estudo em duas etapas foi necessária para minimizar efeitos ambientais de difícil controle, como chuvas, calor, frio, etc., que podem afetar o repertório comportamental dos animais.

Para o estudo foi utilizada uma ração de formulação basal classificada como *premium*. As rações foram produzidas na Fábrica de Ração da UNESP/FCAV. Foi realizada a análise bromatológica da ração pelo Laboratório de Alimentos e Alimentação Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia da UNESP de Jaboticabal/SP. A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica IKA modelo C 2000. Exceto a análise de energia bruta, todas as análises laboratoriais (matéria seca, proteína bruta, fibra bruta e cinzas) foram conduzidas em duplicata e o extrato etéreo em hidrólise ácida em triplicata, a fim de se obter coeficiente de variação menor que 5%, conforme as recomendações da AOAC (1995). A composição química da ração e a listagem dos ingredientes utilizados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição química e básica das rações experimentais.

Itens	Controle*	0,05%*	0,20%*
Matéria seca 105°C (%)	92,08	93,42	93,29
Umidade (%)	8,11	7,55	6,93
Proteína bruta (%)	22,52	20,92	20,17
Extrato etéreo (%)	15,56	15,40	15,26
Fibra bruta (%)	3,84	3,41	3,82
Cinzas (%)	9,53	9,82	9,18
Energia bruta kcal/kg	4501	4252	4401

*Ingredientes do alimento basal: milho integral moído (50,16%), farinha de vísceras de aves (20%), farelo de soja 45% (13,12%), gordura de aves (9,12%), fibra de cana-de-açúcar (3%); palatilizante líquido de fígado de aves (2%); premix mineral e vitamínico (0,5%); sal comum (0,5%); cloreto de potássio (0,5%); fosfato bicálcico (0,39); cloreto de colina (0,28%), DL metionina (0,15%); calcário (0,15%); antifúngico Moldisap (0,10%); antioxidante Banox (0,04%).

Utilizou-se a mesma formulação basal para todos os tratamentos, apenas diferindo nos níveis do corante, considerando que a ração controle, também usada para adaptação dos animais, não continha nenhum tipo de corante (natural ou artificial) em sua composição, para evitar que os dados fossem mascarados.

Assim, foram estabelecidos três tratamentos da seguinte forma:

- controle → alimento extrusado, completo e balanceado produzido sem corantes;
- T1 → alimento com 0,05% de corante vermelho ponceau 4R, quantidade utilizada em média pelas indústrias. O tratamento continha 145mg de corante/1000kcal de energia metabolizável. Em média, a dose de consumo do corante por quilo de peso corporal para as fêmeas foi de 7,09 mg/kg/dia e para os machos foi 10,54 mg/kg/dia;
- T2 → considerando que 0,10% de corante ainda é comumente utilizado pelas indústrias, estipulamos o dobro da dose (0,20%) para representar erros passíveis de ocorrer na coloração do *pet food* ou excessos, para acomodar a ampla diferença na necessidade energética e consumo alimentar de cães em função da raça, ambiente e realização de exercício. Foi estimada a quantidade de 562mg de corante/1000kcal de energia metabolizável. Em média, a dose de consumo do corante por quilo de peso corporal para as fêmeas foi de 27,94 mg/kg/dia e para os machos foi 42,25 mg/kg/dia. Os tratamentos estão apresentados na Figura 1.



Figura 1 – Dietas testes produzidas para o experimento.

O corante vermelho ponceau 4R (E124) utilizado no experimento foi produzido na Índia. Na Tabela 2 está o laudo do corante fornecido pela empresa.

Tabela 2 – Certificado de análise do corante vermelho ponceau 4R fornecido pela empresa*.

Características	Especificação	Resultado
Aparência física	Pó	Cumpre
Conteúdo total de corante corrigido para amostra seca a 105°C por 2 horas	82	86,600
Perda ou secagem a 135°C	10	11,50
Cloreto e sulfato (calculado como sal de sódio)	8	7,20
Matéria insolúvel em água	0,200	0,064
Extratos de éter combinados	0,200	0,12
Corantes subsidiários	1,000	0,01
Intermediários de tintura	0,500	0,19
Chumbo (Pb)	2,000	0,1
Arsênico (As)	3,000	0,05
Mercúrio (Hg)	1,000	0,005
Cadmium (Cd)	1,000	0,005
Metais pesados	40,000	0,10

*Kolorjet Chemicals PVT. LTD.

Para confirmar a análise de metais pesados no corante utilizado, o aditivo foi encaminhado para análise de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) no Laboratório de Bioanalítica e Metaloproteômica (LBM) do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas da UNESP de Botucatu-SP.

Inicialmente, a análise de metais pesados do corante comercial vermelho ponceau puro, ou seja, conforme é comercializado ainda sem diluição, mostrou que o produto continha apenas o elemento químico cádmio na quantidade de 0,0368 ppm, não sendo detectado nenhum dos outros metais analisados como o chumbo, arsênio, alumínio e cromo. Segundo o Decreto brasileiro nº 55871, de 26 de março de 1965 (ANVISA, 1965), que discorre sobre os limites máximos permitidos dos contaminantes inorgânicos em corantes, a tolerância máxima para o cádmio é de 1 ppm. Sendo assim, o corante amostrado se encontra dentro dos valores permitidos por lei em relação aos metais pesados, mesmo na forma pura e em teoria não oferece riscos à saúde, já que ainda será diluído na massa quando for aplicado em alimentos para cães. Em geral, esse metal pesado apresenta pouco risco, já que sua biodisponibilidade é baixa (Kim et al., 2018), mas o excesso de alimentos coloridos artificialmente ou o consumo prolongado como ocorre com cães, podem trazer problemas à saúde em longo prazo, relacionados ao acúmulo de metais pesados no organismo (Lindino et al., 2008).

2.1.4. Manejo dos animais

Tanto durante a adaptação, quanto no período experimental, a ração foi fornecida aos cães de forma controlada, a fim de manter o peso corporal. Foram seguidas as recomendações do National Research Council (NRC, 2006) para estimar as necessidades energéticas dos animais, considerando os cálculos para cães adultos em manutenção (necessidade energética = $100 \text{ kcal/dia} \times \text{peso corporal}^{0,75}$ para fêmeas castradas e $145 \text{ kcal/dia} \times \text{peso corporal}^{0,75}$ para machos inteiros).

Os trios de cães foram mantidos em baias com solários. Cada baia tinha 2,25 m², e 3,75 m² para cada solário. A ração foi fornecida em comedouros individuais uma vez por dia, para padronizar o manejo e evitar que os cães, inclusive os que não estavam no experimento, ficassem ansiosos ou estressados por ver os demais comendo. A refeição tinha duração de 20 minutos, sempre servida às 10:30 horas da manhã. Os animais se alimentaram nas próprias baias sob supervisão, e após a alimentação os comedouros eram retirados do local. Cada baia continha três tigelas para água, fornecida *ad libitum* e repostas duas vezes ao dia.

Todos os dias, no início da manhã, as baias eram higienizadas. Entre as 8:00 e 10:00 horas, os cães, divididos em dois grupos fixos, por vez eram liberados para o recreio por uma hora aproximadamente para um piquete com gramado sombreado e enriquecimento ambiental social e físico, sempre sob monitoria.

2.1.5. Avaliações comportamentais nas baias

Através de câmeras de vídeo (Intelbras IP minidome Full HD VIP 1220 D) foi realizada a observação da dinâmica dos cães na área em que ficaram instalados (canil coletivo), conforme mostra a Figura 2. A filmagem ocorreu das 11 até as 18 horas, totalizando 7 horas de gravação por dia, durante todos os dias da fase experimental. Esse horário foi escolhido porque de manhã era realizada a limpeza das baias e o recreio, que poderiam comprometer as gravações. Além disso, o cronograma de filmagem foi baseado em observações preliminares e no ciclo circadiano dos cães, que ao final do expediente até a manhã do dia seguinte realizam poucos comportamentos como dormir, ingerir água e urinar, por isso devido a esses fatores, o melhor período para gravações era o da tarde. Para o estudo foram utilizadas as filmagens a partir do segundo até o quinto dia e do décimo sétimo até o vigésimo primeiro dia de cada bateria, totalizando 1008 horas de observação, considerando cada uma das quatro baias, além da área interna e externa (solário) do canil. As imagens foram gravadas em HD externo.



Figura 2 – Baias cobertas do canil experimental (A) e solários com parte do piquete de recreação (B).

Etogramas descritos por Altmann (1974), Palma (2005) e Parthasarathy & Crowell-Davis (2006) foram utilizados como base para observar os comportamentos, com rota de coleta animal-focal e rota de amostragem contínua para todas as ocorrências dos comportamentos específicos. O programa *Behavioral Observation Research Interactive Software 7.7* (Boris, 2016) foi utilizado como auxílio para o registro dos comportamentos dos cães. Foram computadas a frequência e a duração das categorias comportamentais descritas na Tabela 3.

Tabela 3 – Etograma das categorias comportamentais e variáveis avaliadas.

Categoria Comportamental	Descrição do comportamento	Variável
Comportamentos indicativos de ansiedade	Anda em círculos ou em vai e vem, ou bate as patas dianteiras na parede/grade por mais de duas vezes seguidas ou tripudia.	Frequência
Sacudir	Balança o corpo todo de um lado para outro de forma rápida (sem ter se molhado ou se coçado antes, sem estar deitado ou rolando no chão).	Frequência
Comportamentos agonísticos	Agressão: ataca outro cão, com tentativas de mordidas ou mordendo. Ameaça: rabo em forma de gancho balançando a ponta com patas estiradas, corpo rígido e altivo, ou pelo eriçado, ou encara outro cão, ou late mostrando os dentes. Briga: cães mostram dentes com os lábios tensionados e se mordem de forma recíproca, podendo ser um de frente para o outro, ou ainda se abraçam em pé ou ficam um por cima do outro no chão.	Frequência
Comportamentos indicativos de medo	Cauda entre as patas, ou cão com movimentos lentos/vagarosos, sutis e cabeça baixa, tentando se isolar dos outros, ou desvia cabeça/olhar com as orelhas levemente tensionadas para trás.	Frequência
Descanso/ócio	Sentado ou deitado (esticado ou enrolado, ou de barriga para cima) podendo dormir ou não em qualquer postura por mais de 2 minutos.	Frequência e duração
Interagir	Brinca com outro cão, dando mordiscadas leves ou tocando o outro com a pata ou focinho, ou ainda pulando no outro, podendo lamber o cão, mesmo que não seja recíproco.	Frequência e duração
Coçar	Esfrega partes do corpo no chão ou grade, rola ou usa qualquer pata para arranhar o corpo de forma rápida (incluindo os olhos e orelhas) duas vezes ou mais. Lamber não foi considerado coçar.	Frequência

Excitação	Pula, dá um giro no próprio eixo com o rabo altivo, monta em outro cão, ou balança cauda e quadril juntos rapidamente.	Frequência
Vocalizar	Emite sons por meio de latidos em sequência ou latido único, choraminga, ou uiva. Foi considerada a contagem do evento, considerando que entre cada evento deve haver mais de 30 segundos sem o cão latir.	Frequência
Urinar	Expele líquido (urina) pelos órgãos genitais para se aliviar ou demarcar o território.	Frequência
Defecar	Expele bolo alimentar digerido (fezes) pelo ânus, com o corpo na posição de cócoras.	Frequência
Ingestão de fezes (coprofagia)	Abocanhar as fezes, podendo ou não mastigá-las e engoli-las.	Frequência

Adaptado de Altmann (1974), Palma (2005) e Parthasarathy & Crowell-Davis (2006).

2.1.6. Teste da cruz elevada

Ao início e final da primeira bateria, foi realizado o teste da cruz elevada (Lister, 1987), para verificar se ocorreram mudanças em relação ao nível de ansiedade dos animais. O teste da cruz elevada, também conhecido como labirinto em cruz, é um método já validado utilizado para estudar os efeitos de agentes ansiolíticos e ansiogênicos nos animais, principalmente em ratos e camundongos. O aparato em formato de cruz é elevado ao chão, geralmente confeccionado de madeira, pintado de cor neutra, com quatro braços ou passarelas de tamanhos iguais, sendo dois fechados por paredes laterais e dois abertos. O teste não requer nenhuma privação ou treinamento prévio dos animais. A lógica do teste é que pequenos roedores tenham tendência de se manterem próximos a superfícies, colocando-se em contato e evitem locais altos, respectivamente tigmotaxia e acrofobia, mas ao mesmo tempo apresentam motivações para explorar novos ambientes; o mesmo pode ocorrer em outras espécies. O labirinto simula uma situação de conflito para o animal, que apresenta comportamentos de verificação de risco, motivação e ansiedade, medidos pelo número de entradas e permanência nos braços da cruz. A permanência ou maior número de entrada nos braços fechados está relacionada a maior ansiedade (File, 2001).

A cruz elevada utilizada foi construída de madeira com tamanho proporcional aos cães de raças pequenas e médias, como a raça Beagle. O desenho do aparato com as medidas se encontra na Figura 3. O tempo máximo de permanência de cada cão na cruz elevada foi três minutos por animal. O teste ocorreu sempre após as 17 horas e tinha duração total de 01:30 hora, contabilizando todos os cães. Os resultados destes testes também foram gravados em vídeos. A ordem dos cães foi sorteada para cada teste, intercalando-se as baias em que os cães estavam e os tratamentos. A Figura 4 mostra o momento do teste com um dos cães do experimento. Entre cada animal testado, o aparato era limpo com uma solução de água destilada e álcool etílico puro à 5%. Para cada cão, e em cada teste, foi calculado o número de entradas nos braços abertos (BA) e fechados (BF) da cruz, assim como o tempo de permanência nos braços. Para calcular a porcentagem de entrada e permanência nos braços abertos (BA) utilizaram-se as seguintes fórmulas:

- % entrada em BA = $\text{nº de entrada nos BA} \times 100 / \text{totais de entradas nos BA + BF}$
- % permanência em BA = $\text{tempo nos BA} \times 100 / \text{totais de tempo nos BA + BF}$

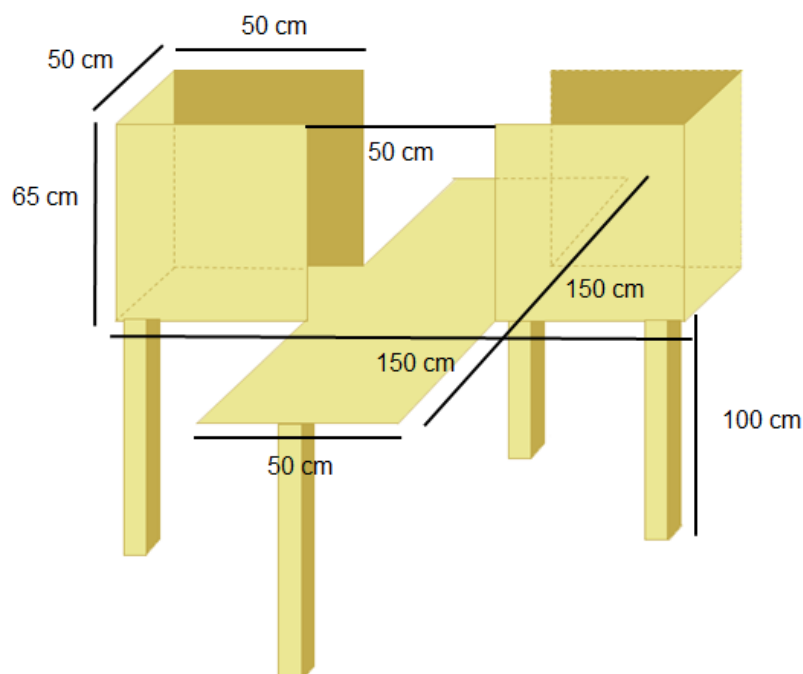


Figura 3 – Modelo da cruz elevada adaptada para cães utilizada no experimento.



Figura 4 – Cão na cruz elevada no momento do teste.

2.1.7. Análise estatística

Foram plotados os resíduos brutos e padronizados para determinar as distribuições de todas as variáveis comportamentais dependentes, apresentando distribuição logarítmica normal. Para cada uma das variáveis foram ajustados modelos mistos generalizados (GLMM) por meio do procedimento PROC GLIMMIX no software estatístico *Statistical Analysis System* versão 9.4 (SAS, 2015). Em todos os modelos foi incluído tratamento como efeito fixo e o efeito aleatório do cão foi considerado como medida repetida dentro de cada dia de avaliação. A análise buscou diferenças entre os tratamentos a nível de significância de 5%. Não foi considerado efeito de sexo, devido ao baixo número de cães no estudo. As variáveis defecar, ingerir fezes (coprofagia) e comportamentos indicativos de medo apresentaram baixas ocorrências no decorrer dos dias do estudo com os cães, por este motivo o modelo estatístico não convergiu.

No teste da cruz elevada as variáveis apresentaram distribuição normal. Foram ajustados modelos mistos generalizados (GLMM) por meio do procedimento PROC GLIMMIX no software estatístico *Statistical Analysis System* versão 9.4 (SAS, 2015), para comparar os diferentes tratamentos a 5% de probabilidade. Para essa análise foi considerado como efeito fixo o tratamento, o efeito aleatório do cão foi considerado como medida repetida dentro de cada dia de teste (dia pré-inicial e dia final do experimento).

2.2. Estudo sobre a preferência

2.2.1. Aprovação do projeto

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário Filadélfia (UniFil) sob o protocolo número 039/2018 e parecer número 004/2019.

2.2.2. Local e animais

O estudo foi conduzido no Laboratório de Nutrição, Alimentos e Alimentação Animal do Hospital Veterinário na Fazenda Experimental da UniFil em Londrina/PR.

Os cães utilizados no experimento foram comprados e alguns adquiridos por doações, sendo todos de responsabilidade do laboratório. Para serem habilitados para os testes, os animais passaram por uma pré-avaliação, que consistia em observar se não apresentavam nenhum vício de consumo como voracidade excessiva por alimento, dificuldade para distinguir diferentes alimentos, vício em algum sabor ou textura específicos da ração, conforme as recomendações de Aldrich and Koppel (2015). Os cães também eram treinados especialmente para testes de preferência de alimentos. Os animais ficavam no local por até três anos para estudos de preferência alimentar e após eram disponibilizados para adoção responsável.

Foram utilizados 20 cães adultos saudáveis, de ambos os sexos, com um a dois anos de idade e de diversas raças, sendo cinco Spitz Alemães, oito cães Rottweiler, dois Pastores Alemães e cinco cães Sem Raça Definida, com pesos variando entre 3,5 à 40 kg. Todos apresentavam boas condições de saúde, eram vacinados, desverminados e recebiam atendimento veterinário regularmente.

2.2.3. Delineamento e tratamentos

Os cães foram considerados as unidades experimentais (n=20). As duplas de foram alojadas em baias de acordo com a afinidade e se mantiveram assim até o final do experimento.

O período de adaptação de 5 dias foi necessário para acostumar os animais a rotina experimental. Nesse período os cães foram alimentados com uma ração comercial sem corantes na formulação.

O experimento durou 6 dias e a cada dois dias dois tratamentos foram confrontados por meio dos desafios.

Os seguintes tratamentos foram testados:

- controle → alimento extrusado, completo e balanceado produzido sem corantes;
- T1 → alimento com 0,05% de corante;
- T2 → alimento com 0,20% de corante.

Assim, definiu-se os seguintes desafios:

- controle x T1;
- controle x T2 e
- T1 x T2.

2.2.4. Manejo dos animais

Durante todo o período a ração foi fornecida aos cães de forma controlada. Seguiu-se as recomendações do National Research Council (NRC, 2006) para estimar as necessidades energéticas a partir dos cálculos para cães adultos em manutenção (necessidade energética = $130 \times \text{peso corporal}^{0,75}$).

As baias com área de 12m² possuíam solários e uma área coberta que servia como abrigo. Em cada abrigo era disponibilizado um estrado de madeira que servia de cama. Toda a baia era cimentada. A água foi fornecida *ad libitum* durante todo o experimento, sendo repostas duas vezes ao dia.

Cada cão tinha dois comedouros individuais, identificados com o nome do animal e obrigatoriamente apresentavam a mesma cor e formato, para que não interferissem na escolha. Os dois comedouros eram colocados simultaneamente na baia do animal no momento dos testes.

Antes de iniciar os testes, as baias eram divididas com o auxílio de um protótipo de madeira, para isolar os cães. A ração foi fornecida duas vezes por dia, pela manhã às 08 horas e a tarde às 17 horas, horário habitual que os cães recebiam a refeição, que durava 20 minutos. Os animais se alimentaram nas próprias baias sempre sob

supervisão para a coleta dos dados. Ao final de cada dia, eram contabilizadas para cada cão as sobras de cada tratamento desafiado.

Todos os dias no início da manhã as baias eram higienizadas. No final do dia, a partir das 17:30 horas, os cães eram liberados em grupos de afinidade em um piquete com gramado alto por 30 minutos aproximadamente, sob monitoria.

2.2.5. Testes de preferência

Foram realizados dois testes de preferência, o de primeira escolha e o de aceitação. Para estes testes foram seguidas as recomendações de NRC (2006) e Zanatta et al. (2016). Todos os cães participaram de todos os desafios propostos.

O teste de primeira escolha gerou 80 observações por desafio (dois dias, quatro refeições). Para cada desafio foram oferecidos dois comedouros, A e B, cada qual com uma ração teste, seguindo-se a ordem dos desafios. Realizou-se um sorteio para saber qual ração iria em qual comedouro, A ou B e em cada refeição a disposição dos comedouros foi invertida. A frequência da escolha da ração em cada refeição foi obtida a partir do registro do primeiro comedouro escolhido por cada cão, tanto pela primeira aproximação com o focinho quanto pela ingestão da ração (Figura 5).



Figura 5 – Cão no momento da escolha das rações durante o teste de preferência.

Como a primeira escolha nem sempre resulta na ingestão da dieta, foi realizado um segundo teste de preferência. Para o teste de aceitação ou de consumo, a quantidade fornecida foi o necessário para manutenção de cães adultos, acrescida de 30%, para que restassem sobras e fosse contabilizado o consumo das rações testes ao final de cada dia dos desafios propostos (NRC, 2006).

2.2.6. Análise estatística

As variáveis primeira aproximação do comedouro com o focinho e primeira ingestão de ração não apresentaram distribuição normal e foram avaliadas pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney à 5% de probabilidade.

A variável consumo apresentou distribuição normal, avaliada pelo teste de Cramér von Mises e foi analisada pelo teste t de Student pareado à 5% de probabilidade, a partir da relação de ingestão entre as rações A e B de no mínimo 0,50 ou 50%.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software estatístico Statistical Analysis System SAS 9.4.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estudo comportamental

3.1.1. Avaliações comportamentais nas baias

Foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis coçar, vocalizar e comportamentos indicativos de ansiedade, apresentadas na Tabela 4. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$) para as categorias comportamentos agonísticos, primeiro cão a iniciar o comportamento agonístico, excitação, descansar (número e duração dos descansos), interagir (número e duração das interações), urinar e sacudir.

Tabela 4 – Alterações comportamentais em decorrência dos níveis de ingestão do corante vermelho ponceau 4R pelos cães.

Comportamentos	Controle	0,05%	0,20%	P valor
Coçar*	10,72b ± 6,1	11,50b ± 5,3	15,50a ± 6,9	0,03
Indicativos de ansiedade*	1,04b ± 1,4	2,83a ± 3,0	0,33b ± 0,5	0,002
Vocalizar*	13,11ab ± 7,7	15,53a ± 7,4	11,51b ± 8,1	0,03

a-b médias seguidas por letras minúsculas nas linhas diferem entre si, apresentando P valor significativo ($P < 0,05$) pelo procedimento GLMM do SAS. Média ± desvio padrão. *Frequência.

Para o comportamento coçar, o tratamento com 0,20% de corante apresentou a média mais alta, comparada aos demais tratamentos, que não diferiram entre si (Tabela 4). Apesar de não terem sido encontrados trabalhos especificamente com cães, há décadas existem relatos de dermatites e urticárias em outras espécies, devido ao potencial pseudoalérgico de corantes, principalmente tartrazina e corantes artificiais vermelhos (Stevenson et al, 1986; Hannuksela e Haahtela, 1987; Lemoine e Tounian, 2018).

Algumas pesquisas mostram reações alérgicas ao corante vermelho ponceau, como o estudo de Ibero et al., (1982), que desafiou 25 crianças de até 12 anos sensíveis a antígenos alimentares, por meio da ingestão de diferentes corantes após 48 horas de exclusão das suas dietas de rotina. Mais da metade (57,89%) das crianças apresentaram reações positivas para os corantes por meio da análise de imunoglobulina E (IgE) e teste específico para alergias (RAST). Quatro indivíduos apresentaram urticária ou angioedema, broncoconstrição, ou piora da dermatite atópica mostrando reação ao vermelho ponceau nas doses de 1 e 10 mg. Em outro estudo realizado por Ehlers et al. (1998), os pesquisadores avaliaram 16 pacientes humanos com antecedentes de urticária crônica, que receberam por três semanas uma dieta livre de pseudoalérgenos. Após este período, foram expostos a diversos aditivos alimentares e 75% voltaram a apresentar urticária induzida, sendo que o teste de IgE mostrou que o principal causador do problema foram os corantes, dentre eles o vermelho ponceau. Sotan e Shehata (2012) observaram que ratos ficaram com a pele avermelhada e irritada, facilmente perceptível por serem de pelagem branca, após a alimentação com mix de corantes misturado ao suco de frutas por 13 semanas. Os corantes são considerados pseudoalérgenos por se acoplarem as proteínas transportadoras do trato gastrointestinal e ativar o sistema imunológico por meio

das células T; ainda provocam a liberação de grânulos e citocinas pelos mastócitos, o que faz elevar os níveis de IgE, induzindo a liberação de histamina e leucotrienos (Stevens et al., 2013; Feketea e Tsabouri, 2017). No presente estudo, não foi avaliado nenhum indicador inflamatório ou alérgico.

Os comportamentos indicativos de ansiedade apresentaram uma média de frequências mais alta para o tratamento com 0,05% do corante vermelho ponceau, em comparação ao tratamento controle e ao tratamento com 0,20% de corante, sendo que esses dois últimos tratamentos não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 4).

Ao contrário do resultado encontrado no presente estudo, Doguc et al. (2012) em sua pesquisa com 40 ratos, forneceram aos animais uma mistura em níveis aceitáveis de corantes, desde a pré-gestação até três meses de vida dos filhotes e observaram que o grupo experimental apresentou maior atividade locomotora, maior exploração e menor ansiedade no teste do campo aberto, comparado ao grupo controle. A hipótese mais aceita é de que as aminas aromáticas livres, produto das azoredutases de bactérias anaeróbicas no intestino, entram na corrente sanguínea e induzem a produção de espécies reativas ao oxigênio ou ROS (Walker, 1970; Chung et al, 1978; Demirkol et al. 2012; Stevens et al, 2013). O ROS que chega ao cérebro ataca a membrana lipoproteica do neurônio, prejudicando as sinapses nervosas e a ação dos neurotransmissores, além de elevar os níveis de malondialdeído (MDA), devido a degradação dos ácidos graxos no tecido (Chaudhary et al., 2014; Mohamed et al., 2015). A degradação ocasionada nos neurônios pode alterar a liberação de dopamina, o neurotransmissor responsável pela sensação de humor e prazer. Além do mais, o aumento do estresse oxidativo e nitrosativo, também está relacionado a transtornos de ansiedade a níveis moleculares na região do hipocampo cerebral (Hassan et al, 2014). Fora isso, o ROS em altos níveis por um período prolongado leva a destruição da enzima 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina (BH4), uma limitante associada à biossíntese de serotonina, dopamina, adrenalina e noradrenalina. A atividade reduzida da BH4 está relacionada as perturbações comportamentais como ansiedade, depressão e irritabilidade em crianças com Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (El Sisi et al., 2015; Lopresti, 2015). Ainda, alguns corantes como a tartrazina, o azocorante mais estudado, agem como agente quelante, responsável por se ligar a metais como o zinco disponível no sangue, induzindo ao

aumento da excreção desse mineral via sistema urinário e podendo levar a deficiências (Ward, 1990; Ward, 1997). A deficiência de zinco está relacionada a comportamentos ansiosos e depressivos, letargia, agressividade e isolamento social (Hagmeyer et al, 2015). Apesar de não terem sido avaliados resquícios do corante inalterado ou metabólitos na urina dos cães do presente estudo, é possível que alterações metabólicas devido à ingestão do corante vermelho ponceau 4R tenham acontecido, causando a diferença no comportamento dos cães avaliados. Futuras pesquisas devem incluir avaliações metabólicas para serem relacionadas com o comportamento dos cães.

O comportamento vocalizar apresentou maior média de frequência para o tratamento com 0,05% de corante em relação ao tratamento com 0,20%, sendo que ambos não diferiram do grupo controle. Podemos notar que para as categorias vocalização e comportamentos indicativos de ansiedade, os tratamentos apresentam respostas similares. Não foram encontrados na literatura científica trabalhos que avaliassem alterações na vocalização de animais expostos a corantes artificiais, mas sabe-se que cães estressados ou ansiosos por motivos variados, como separação do tutor, ambientes empobrecidos, causas fisiológicas e neurológicas, por exemplo, passam a apresentar maior frequência de vocalização, comportamentos repetitivos, caminhada em círculos, ingestão de fezes e ficam mais tempo em ócio (Beerda et al, 1997; Beerda et al, 1999).

Existem algumas possibilidades para explicar o aumento das vocalizações e dos comportamentos indicativos de ansiedade, observados no tratamento com 0,05% de corante. Essas categorias podem estar de fato relacionadas e o aumento observado no tratamento com a dosagem intermediária (0,05%), mas não no tratamento com alta dosagem (0,20%), pode ter envolvido cães com alguma variação individual ou animais mais sensíveis ao corante (EFSA, 2008), mesmo em baixas dosagens e não existe relatos na literatura de um efeito linear dos azocorantes. Outra possível explicação é o baixo número de animais por tratamento, que implica em um alto desvio padrão amostral e pode afetar o poder estatístico do modelo aplicado, atenuando o encontro de diferenças estatísticas e favorecendo o erro estatístico do tipo II (aceitamos a hipótese nula, sendo ela falsa). Além do mais, muitos trabalhos envolvem a tartrazina, o azocorante mais estudado (Ward, 1990; Ward, 1997; Tanaka,

2006b; Kamel e El-Iethy, 2011), ou a misturas de diversos corantes (Doguc et al., 2012; Doguc et al., 2015), mas foram encontrados poucos trabalhos especificamente com o vermelho ponceau 4R, o que dificulta as interpretações dos resultados.

3.1.2. Teste da cruz elevada

Foram encontradas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis frequência e porcentagem de entradas em braço aberto, tempo e porcentagem de permanência em braço aberto (Tabela 5). Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) para as variáveis número de entrada e tempo de permanência em braço fechado.

Tabela 5 – Indicadores de ansiedade referente ao teste da cruz elevada.

Variáveis	Controle	0,05%	0,20%	P valor
Entradas em braço aberto (freq.)	5,62a $\pm$ 3,1	4,87a $\pm$ 2,7	1,37b $\pm$ 2,6	0,03
Entradas em braço aberto (%)	81,72a $\pm$ 18,7	77,29a $\pm$ 22,0	16,32b $\pm$ 30,7	0,0007
Permanência em braço aberto (seg.)	42,94a $\pm$ 25,2	69,74a $\pm$ 40,3	12,86b $\pm$ 26,0	0,017
Permanência em braço aberto (%)	80,88a $\pm$ 23,6	87,49a $\pm$ 17,5	17,72b $\pm$ 33,7	0,0007

a-b Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo procedimento GLMM do SAS ($P < 0,05$). Média $\pm$ desvio padrão.

Tanto a frequência de entradas no braço aberto da cruz, quanto a respectiva porcentagem, que leva em consideração a fórmula de proporção de entrada em braço aberto e fechado da cruz elevada, mostram que o tratamento controle e com 0,05% de corante não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram maior frequência de entrada pelos cães em braço aberto, quando comparado ao tratamento com 0,20% do aditivo, que apresentou menores valores para essas variáveis.

De acordo com o teste, evitar entrar ou evitar permanecer nos braços abertos da cruz é um indicativo de ansiedade nos animais (Lister, 1987; File, 2001) e é possível observar isso no presente estudo com cães. No geral, diversos estudos avaliam a ansiedade por meio de testes comportamentais, como o conduzido por Kamel e El-Iethy (2011), que avaliaram o efeito da tartrazina diluída em água nas

concentrações 0,0%, 0,1% e 2,5%, oferecida para ratos por 16 semanas. Foi constatado que as maiores dosagens apresentaram efeito significativo, com aumento da entrada dos animais nos braços fechados da cruz elevada. Já o estudo conduzido por Doguc et al. (2015), apresentou o efeito contrário. Os pesquisadores alimentaram filhotes de ratos desde a gestação, com um mix de corantes, entre eles o vermelho ponceau, em níveis sem efeitos adversos observáveis na literatura. Foi relatado no teste de campo aberto, que o comportamento dos ratos de permanecerem próximos as superfícies verticais ou paredes foi significativamente maior no grupo experimental em relação ao grupo controle, um indicativo do efeito ansiolítico dos corantes.

Umas das justificativas citadas pelos pesquisadores é a alteração no metabolismo da serotonina, neurotransmissor responsável pelo equilíbrio do humor, ansiedade e depressão. Descobriu-se que o azocorante tartrazina diminui a capacidade de funcionamento bioquímico da vitamina B6, importante no metabolismo da serotonina e do triptofano, este por sua vez origina a 5- hidroxitriptofano (5-HTP), que eleva o neurotransmissor serotonina no cérebro, fechando o ciclo. Ainda a serotonina pode modular a via dos neurotransmissores dopamina e noradrenalina, assim, qualquer disfunção no sistema da serotonina, pode levar a transtornos comportamentais. Segundo Doguc et al. (2012), o mix de corantes e o sexo dos animais podem afetar a atividade locomotora e o comportamento de exploração, sendo associados aos diferentes hormônios e vias de neurotransmissores, assim como em diferentes espécies, mas não se sabe ao certo quais alterações bioquímicas ou fisiológicas estão envolvidas. Além disso, não foram encontrados estudos específicos sobre a bioquímica do corante vermelho ponceau, mas por ser um azocorante assim como a tartrazina, pode apresentar similaridades fisiológicas.

3.2. Estudo sobre a preferência

No teste preferência das rações, houve diferença significativa ($P=0,0035$) para a variável primeira aproximação do comedouro com o focinho apenas para o desafio entre os tratamentos 0,05% e 0,20%. Já para a variável primeira ingestão da ração, em todos os desafios testados, houve diferença significativa ($P<0,05$). Nos desafios com a ração controle, esta foi a preferida com maiores frequências de escolhas

comparada ao tratamento com 0,05% de corante ($P=0,0004$) e ao 0,20% do aditivo ($P<0,001$). Já o desafio que confrontou ambos os tratamentos com as rações coloridas com o vermelho ponceau, o tratamento com 0,05% de corante teve maior frequência de escolha ($P<0,001$), como apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 – Teste de preferência baseado na primeira aproximação do comedouro com o focinho e primeira ingestão de ração pelos cães.

Desafios	Controle	0,05%	0,20%	P valor	Valor Z
Primeira aproximação do comedouro com o focinho					
C x 0,05%	2,1	1,7	-	0,2605	1,1486
C x 0,20%	2,1	-	1,85	0,3657	0,9285
0,05% x 0,20%	-	2,5 ^a	1,45b	0,0035	2,8742
Ingestão					
C x 0,05%	2,55a	1,15b	-	0,0004	3,3938
C x 0,20%	3,15a	-	0,65b	<,0001	4,9112
0,05% x 0,20%	-	3,00a	0,95b	<,0001	4,4590

a-b Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Wilcoxon Mann-Whitney ($P<0,05$).

Na avaliação do consumo das rações, também houve resultados significativos para todos os desafios testados ($P<0,05$). Os resultados foram similares ao teste de primeira ingestão, com a ração controle sendo a mais consumida em comparação aos outros dois tratamentos confrontados ($P<0,05$). No desafio com ambas as rações com o corante estudado, a mais consumida foi a 0,05%, com menor dosagem do corante ($P=0,0186$), conforme está na Tabela 7.

Tabela 7 – Consumo das rações testes pelos cães com base na relação de ingestão dos tratamentos em cada desafio.

Desafios	Controle	0,05%	0,20%	P valor	DP
C x 0,05%	0,67a	0,33b	-	0,0049	0,24
C x 0,20%	0,79a	-	0,21b	<,0001	0,22
0,05% x 0,20%	-	0,67a	0,33b	0,0186	0,29

a,b Relação de ingestão seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de t de Student ($P<0,05$). DP é o desvio padrão médio de cada desafio.

Para a primeira aproximação do comedouro com o focinho, apenas o terceiro desafio (0,05% x 0,20%) corroborou com a primeira ingestão e o consumo das rações testes, mas no geral, para os demais desafios, a primeira ingestão refletiu adequadamente a ideia da ração mais consumida, se mostrando complementares.

A sugestão para explicação dos resultados da primeira aproximação do comedouro com o focinho, é de que os cães ainda não conheciam todos os tratamentos, por isso ficaram divididos ou confusos nos primeiros testes. Segundo a literatura, o teste de dois comedouros é o melhor para avaliar novos produtos ou fazer análises competitivas, inclusive relacionadas ao aroma do alimento, mas se os produtos desafiados possuem perfis semelhantes, pode haver conflito nas escolhas (Aldrich e Koppel, 2015). Porém, com base nos resultados apresentados, os cães parecem detectar de alguma forma o vermelho ponceau, já que as rações testes diferiam apenas na dosagem do corante. O teor de umidade, apesar de ser um dos fatores mais impactantes na escolha dos alimentos pelos cães (Miller e Hansen, 1975; Murakami et al., 2018), apresentavam valores muito próximos entre os tratamentos (Tabela 2), o que dificilmente afetaria a escolha.

Em teoria, os corantes têm apenas uma função sensorial, ou seja, são utilizados para melhorar o aspecto visual da ração para o consumidor humano. Esse tipo de aditivo não atribui sabor ou odor aos alimentos e não tem caráter nutricional, assim não são necessários na aceitação do alimento pelo cão (NRC, 2006; Yamjala et al., 2016). Ainda, de acordo com a literatura e apesar de opiniões contraditórias, aceita-se a ideia de que cães são dicromatas e enxergam apenas o comprimento de onda média, com 555 nm (verde amarelado) até o comprimento de onda curto, com 429 nm (azul), por isso não diferenciam o vermelho do verde, ao invés disso, enxergam tonalidades de cinza, semelhante a humanos com deuteranopia e isso induz a pensar que as cores preferidas por esta espécie são o azul e o amarelo. Neitz et al., 1989; Beaver, 2009, Siniscalchi et al., 2017). Segundo Bourgeois (2004), as cores têm pouca influência na escolha dos alimentos pelos cães. Assim, os cães não enxergariam as rações como vermelhas e não poderiam escolher pela coloração.

Vários testes foram aplicados a cães como para detectar preferências entre tipos cárneos, açúcares, carboidratos, proteínas e gorduras (Houpt e Smith 1981; Ferrel, 1984, Hall et al., 2018), mas não foi encontrado nenhum estudo sobre a detecção ou preferência de corantes artificiais por animais ou preferência de cor de alimento por cães. Os canídeos têm a cavidade nasal em formato de espiral, o que aumenta o contato das moléculas com o epitélio sensorial e permite que consigam detectar concentrações de odores de 1 a 2 partes por trilhão (Horowitz, 2009; Craven

et al, 2010; Horowitz et al., 2013). É o olfato o principal sentido que leva os cães a escolherem e consumirem determinado alimento (Houpt et al., 1978; Hall et al, 2017), e quando sofrem anosmia, perdem boa parte da capacidade de escolha (Houpt et al, 1982). Esse fato leva a acreditar que no presente estudo os corantes podem ter sido detectados pelo olfato.

4. CONCLUSÕES

Podemos concluir que o corante artificial vermelho ponceau 4R provocou alterações comportamentais que podem comprometer o bem-estar dos animais, além dos cães manifestarem clara preferência pelo alimento sem o azo corante em questão.

5. REFERÊNCIAS

- Ahlström LH, Eskilsson CS, Björklund E (2005) Determination of banned azo dyes in consumer goods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry** 24:49-56.
- Aldrich GC, Koppel K (2015) Pet food palatability evaluation: a review of standard assay techniques and interpretation of results with a primary focus on limitations. **Animals** 5:43-55.
- Altmann J (1974) Observational study of behavior: sampling methods. **Behaviour** 49:227-267.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965**. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1965. Disponível em<<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/DECRETO%2BN%25C2%25BA%2B55.871%252C%2BDE%2B26%2BDE%2BMAR%25C3%2587O%2BDE%2B1965.pdf/59b8704c-52f4-481d-8baa-ac6edadf6490>> Data de acesso: 04 jul 2020.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria no 540/97, de 27 de outubro de 1997**. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1997. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/PORTARIA_540_1997.pdf/3c55fd22-d503-4570-a98b-30e63d85bdad>. Data de acesso: 08 mai 2018.
- AOAC - Association of Official Agricultural Chemists. (1995). **Official Methods of Analysis**. AOAC International. Gaithersburg, MD.
- Beaver BV (2009) **Canine Behavior: Insights and Answers**. St. Louis: Saunders Elsevier, 315 p.

Beerda B, Schilder MB, Van Hooff JA, De Vries HW (1997) Manifestations of chronic and acute stress in dogs. **Applied Animal Behaviour Science** 52:307-319.

Beerda B, Schilder MB, Van Hooff JA, De Vries HW, Mol JA (1999) Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. I. Behavioral responses. **Physiology & Behavior** 66:233-242.

Boris 7.7. Friard O, Gamba M (2016) **Software BORIS**. *Methods Ecol. Evol.* 7, 1325:1330.

Bourgeois H (2004) **O livro de Palatabilidade em Cães e Gatos**. França: Centro de Pesquisa e Desenvolvimento da Royal Canin, n. p.

Chaudhary M, Joshi DK, Tripathi S, Kulshrestha S, Mahdi AA (2014) Docosahexaenoic acid ameliorates aluminum induced biochemical and morphological alteration in rat cerebellum. **Annals of Neurosciences** 21:5-9.

Chung K, Fulk GE, Egan M (1978) Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. **Applied and Environmental Microbiology** 35:558-562.

CNS - Conselho Nacional da Saúde, **Resolução n.º 04, de 24 de novembro de 1988**. Ministério da Saúde, 1968. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/1988/res0004_24_11_1988.html#:~:text=2%20%E2%80%93%20Revoga%20as%20Portarias%2C%20Resolu%C3%A7%C3%B5es,coadjuvantes%20da%20tecnologia%20de%20fabrica%C3%A7%C3%A3o>. Data de acesso: 5 set 2020.

Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. **Aditivos**. São Paulo: SINDIRAÇÕES, 2013, p.17.

Craven BA, Paterson EG, Settles GS. (2010) The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. **Journal of the Royal Society Interface** 7:933-943.

Demirkol O, Zhang X, Ercal N (2012) Oxidative effects of Tartrazine (CAS No. 1934-21-0) and New Coccin (CAS No. 2611-82-7) azo dyes on CHO cells. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit** 7:229-236.

Doguc DK, Ceyhan BM, Ozturk M, Gultekin F (2012) Effects of maternally exposed colouring food additives on cognitive performance in rats. **Toxicology and Industrial Health** 29:616-623.

Doguc DK, Aylak F, Ilhan I, Kulac E, Gultekin F (2015) Are there any remarkable effects of prenatal exposure to food colourings on neurobehaviour and learning process in rat offspring? **Nutritional Neuroscience** 18:12-21.

Ehlers I, Niggemann B, Binder C, Zuberbier T (1998) Role of nonallergic hypersensitivity reactions in children with chronic urticaria. **Allergy** 53:1074-1077.

EFSA - European Food Safety Authority (2008) Assessment of the results of the study by McCann et al. (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. **EFSA Journal** 660:1-54.

EFSA - European Food Safety Authority (2018) Safety and efficacy of ponceau 4R for cats, dogs and ornamental fish. **EFSA Journal** 16:1-13.

Feketea G, Tsabouri S (2017) Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? **Food Chemistry** 230:578-588.

FDA - Food and Drug Administration. (2018) **Summary of Color Additives for Use in the United States in Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorAdditiveInventories/ucm115641.htm#table1B>>. Data de acesso: 20 mai 2018.

Feketea G, Tsabouri S. (2017) Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? **Food Chemistry** 230:578-588

Ferrell F (1984) Preference for sugars and nonnutritive sweeteners in young beagles. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews** 8:199-203.

File, S. E. (2001). Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. **Behavioural Brain Research** 125:151-157.

Gaunt IF, Farmer M, Grasso P, Gangolli SD 1967 Acute (mouse and rat) and short-term (rat) toxicity studies on Ponceau 4R. **Food and Cosmetics Toxicology** 5:187-194.

Gaunt IF, Grasso P, Creasey M, Gangolli SD 1969 Short-term toxicity study on Ponceau 4R in the pig. **Food and Cosmetics Toxicology** 7:443-449.

Hagmeyer S, Haderspeck JC, Grabrucker AM (2015) Behavioral impairments in animal models for zinc deficiency. **Frontiers in Behavioral Neuroscience** 8:1-16.

Hall NJ, Péron F, Cambou S, Callejon L, Wynne CD (2017) Food and food-odor preferences in dogs: A pilot study. **Chemical Senses** 42:361-370.

Hall JA, Vondran JC, Vanchina MA, Jewell DE (2018) When fed foods with similar palatability, healthy adult dogs and cats choose different macronutrient compositions. **Journal of Experimental Biology** 221:1-11.

Hannuksela M, Haahtela T (1987) Hypersensitivity reactions to food additives. **Allergy** 8:561-575.

Hassan W, Silva CEB, Mohammadzai IU, Rocha, JBT, Landeira-Fernandez, J. (2014). Association of oxidative stress to the genesis of anxiety: implications for possible therapeutic interventions. **Current Neuropsychopharmacology** 12:120-139.

Horowitz A (2009) **A cabeça do cachorro**. 5ª ed.. Rio de Janeiro: BestSeller, 417 p.

Horowitz A, Hecht J, Dedrick A (2013) Smelling more or less: Investigating the olfactory experience of the domestic dog. **Learning and motivation** 44:207-217.

Houlihan K E (2017) A literature review on the welfare implications of gonadectomy of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 250:1155-1166.

Haupt KA, Davis PP, Hintz HF (1982) Effect of peripheral anosmia in dogs trained as flavor validators. **American Journal of Veterinary Research** 5:841-843.

Haupt KA, Hintz HF, Shepherd P (1978) The role of olfaction in canine food preferences. **Chemical Senses** 3:281-290.

Haupt KA, Smith SL (1981) Taste preferences and their relation to obesity in dogs and cats. **The Canadian Veterinary Journal** 22:77-81.

Ibero M, Eseverri JL, Barroso C, Botey J (1982) Dyes, preservatives and salicylates in the induction of food intolerance and/or hypersensitivity in children. **Allergologia et Immunopathologia** 10:263.

Kamel MM, El-Iethy HS (2011) The potential health hazard of tartrazine and levels of hyperactivity, anxiety-like symptoms, depression and anti-social behaviour in rats. **Journal of American Science** 7:1211-1218.

Kim HT, Loftus JP, Mann S, Wakshlag JJ (2018) Evaluation of arsenic, cadmium, lead and mercury contamination in over-the-counter available dry dog foods with different animal ingredients (red meat, poultry, and fish) **Frontiers in Veterinary Science** 5:264.

König J (2015) Food colour additives of synthetic origin. **Colour Additives for Foods and Beverages**. Amsterdam: Woodhead Publishing, p. 35-60.

Lemoine A, Tounian P (2018) Allergie aux colorants alimentaires: une pathologie à évoquer avec parcimonie. *Revue Française d'Allergologie* 7:506-512.

Leo L, Loong C, Ho XL, Raman MFB, Suan MYT, Loke WM (2018) Occurrence of azo food dyes and their effects on cellular inflammatory responses. **Nutrition** 46:36-40.

Lindino CA, Gonçalves Jr AC, Schreiner GGO, Schreiner JS, De Farina LO (2008) Determinação de metais em corantes alimentícios artificiais, **Acta Scientiarum Technology** 30: 93-98.

Lister RG (1987) The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology** 92:180-185.

Lopresti A (2015) Oxidative and nitrosative stress in ADHD: possible causes and the potential of antioxidant-targeted therapies. **ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders** 7:237-247.

McCann D, Barrett A, Cooper A, Crumpler D, Dalen L, Grimshaw K, Kitchin E, Lok K, Porteous L, Prince E, Sonuga-Barke E, Warner JO, Stevenson J (2007) Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. **The Lancet** 370:1560-1567.

Miller TA, Hansen CJ (1975) Pet food product and method for forming same. **United States Patent 3.908.025** 6p.

Mohamed AAR, Galal AAA, Elewa YHA (2015) Comparative protective effects of royal jelly and cod liver oil against neurotoxic impact of tartrazine on male rat pups brain. **Acta Histochemica** 117:649-658.

Murakami FY, Félix AP, de Brito CBM, Bortolo M, Maiorka A, Oliveira SG, Borges SA, Zanatta CP (2018). Addition of water in the extrusion on the physicochemical properties and digestibility of the diet on dogs. **Archives of Veterinary Science** 23:62-68.

Neitz J, Geist T, Jacobs GH (1989) Color vision in the dog. **Visual Neuroscience** 3:119-125.

NRC – National Research Council (2006) **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. Washington, DC: Natl. Acad. Press. 398 p.

Palma C, Viggiano E, Barillari E, Palme R, Dufour AB, Fantini C, Natoli E (2005) Evaluating the temperament in shelter dogs. **Behaviour** 142:1307-1328.

Parthasarathy V, Crowell-Davis SL (2006) Relationship between attachment to owners and separation anxiety in pet dogs (*Canis lupus familiaris*). **Journal of Veterinary Behavior** 1:109-120.

Phillips JC, Bex CS, GAUNT IF (1982) The metabolic disposition of ¹⁴C-labelled Ponceau 4R in the rat, mouse and guinea-pig. **Food and Chemical Toxicology** 20:499-505.

SAS 9.4. SAS Institute (2015). **SAS Proprietary Software**. Inc., Cary:NC.

Stevens LJ, Burgess JR, Stochelski MA, Kuczek T (2015) Amounts of artificial food dyes and added sugars in foods and sweets commonly consumed by children. **Clinical Pediatrics** 54:309-321.

Stevens LJ, Kuczek T, Burgess JR, Stochelski MA, Arnold LE, Galland L (2013) Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children. **Nutrition reviews** 71:268-281.

Stevenson DD, Simon RA, Lumry WR, Mathison DA (1986) Adverse reactions to tartrazine. **Journal of Allergy and Clinical Immunology** 78:182-191.

Stevenson J, Sonuga-Barke E, McCann D, Grimshaw K, Parker KM, Rose-Zerilli MJ, Holloway JS, Warner JO (2010) The role of histamine degradation gene polymorphisms in moderating the effects of food additives on children's ADHD symptoms. **American Journal of Psychiatry** 167:1108-1115.

Siniscalchi M, D'Ingeo S, Fornelli S, Quaranta A (2017) Are dogs red–green colour blind? **Royal Society Open Science** 4:1-11.

Sotan SSA, Shehata MEM (2012) The effects of using color foods of children on immunity properties and liver, kidney on rats. **Food and Nutrition Sciences** 3:897-904.

Tanaka T (2006a) Reproductive and neurobehavioural toxicity study of ponceau 4R administered to mice in the diet. **Food and Chemical Toxicology** 44:1651-1658.

Tanaka T (2006b) Reproductive and neurobehavioural toxicity study of tartrazine administered to mice in the diet. **Food and Chemical Toxicology** 44:179-187.

Ward NI (1997) Assessment of chemical factors in relation to child hyperactivity. **Journal of Nutritional & Environmental Medicine** 7:333-342.

Ward NI, Soulsbury KA, Zettel VH, Colquhoun ID, Bunday S, Barnes B (1990) The influence of the chemical additive tartrazine on the zinc status of hyperactive children — a double-blind placebo-controlled study. **Journal of Nutritional Medicine** 1:51-57.

Yamjala K, Nainar MS, Ramiseti NR (2016) Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry—a review. **Food Chemistry** 192:813-824.

Zanatta CP, Félix AP, Oliveira SG, Maiorka A (2016) Fatores que regulam o consumo e preferência alimentar em cães. **Scientia Agraria Paranaensis** 15:109-114.

CAPÍTULO 4 – Considerações finais

Atualmente os tutores se mostram mais preocupados com a saúde, nutrição e bem-estar de seus cães, fato que pode ser observado com os dados desta pesquisa, como o número considerável de cães castrados, escolha de alimentos extrusados de boa qualidade, ração proveniente de embalagem fechada e escolha de produtos sem corantes artificiais. É notável que existem perfis diferentes de tutores: um mais crítico, com preferência pela cor da ração, atento a qualidade do alimento e as alterações tanto em relação a coloração do produto quanto à saúde dos cães; e outro perfil menos criterioso, que não soube a qualidade do alimento fornecido aos cães, se mostrou indiferente as cores do extrusado, nunca observou alterações nos alimentos ou na saúde dos animais e acredita que corantes artificiais não fazem mal à saúde. As empresas, apesar de ainda utilizarem aditivos colorantes para melhorar a aparência dos alimentos extrusados e petiscos, têm intenção de evitá-los em suas formulações e citam desvantagens como o custo desnecessário, a imagem de produtos artificiais e de baixa qualidade, rejeição crescente por consumidores e efeitos colaterais na saúde.

Em relação ao experimento laboratorial, os cães que receberam a ração com o corante artificial vermelho ponceau 4R (E124) apresentaram alterações comportamentais referentes a coceiras, comportamentos indicativos de ansiedade, vocalizações e o aditivo apresentou efeito ansiogênico nos animais. Foi possível observar que os cães têm preferência pelo alimento sem corante, ou com dosagem mais baixa do aditivo, quando só existem opções com o corante e pela concisão das respostas, os cães parecem detectar o azocorante no alimento, provavelmente pelo olfato. Porém são necessários estudos mais aprofundados e com maior número de indivíduos para melhor esclarecimento dos resultados de algumas variáveis, já que a diferença encontrada pode estar vinculada a sensibilidade individual dos cães ou baixo n amostral.

O debate sobre os efeitos dos corantes na saúde se estende por décadas, mas ainda existem questões para serem estudadas e compreendidas, principalmente sobre a fisiologia e a bioquímica do aditivo no organismo. Os corantes artificiais são dispensáveis em alimentos extrusados e petiscos para cães, pois não apresentam

nenhuma vantagem para a espécie e podem comprometer o bem-estar dos animais. A sociedade habituou-se com o uso e consumo de corantes impostos pelas indústrias, mas está mudando seus hábitos e determinando uma reformulação dos produtos. A indústria *pet food*, por sua vez, para garantir a segurança alimentar e a saúde dos seus clientes finais, os cães, deve deixar de usar corantes artificiais e instruir os tutores sobre o motivo da conduta.

APÊNDICES

A) Questionário destinado aos tutores brasileiros

- 1) Em qual estado do Brasil você mora?
- 2) Qual a idade do seu cão? Se você tem mais cães, escolha apenas UM POR VEZ para participar do questionário,
 - a) Meu cão tem menos de 6 meses de idade,
 - b) Meu cão tem entre 6 meses até 1 ano de idade,
 - c) Meu cão tem entre 1 ano a 2 anos de idade,
 - d) Meu cão tem entre 2 a 4 anos de idade,
 - e) Meu cão tem entre 4 a 7 anos de idade,
 - f) Meu cão tem entre 7 a 9 anos de idade,
 - g) Meu cão tem entre 9 a 12 anos de idade,
 - h) Meu cão tem mais de 12 anos de idade,
- 3) Qual o peso aproximado do seu cão, em quilogramas?
- 4) O cão é:
 - a) Fêmea
 - b) Macho
- 5) O cão é castrado?
 - a) Não
 - b) Sim
- 6) Que tipo de alimentação você costuma oferecer ao seu cão?
 - a) Ração somente,
 - b) Sobras de comida somente,
 - c) Ração e sobras de comida,
 - d) Alimentação natural (essa alimentação é preparada por zootecnista ou veterinário, especificamente para cada cão de acordo com a condição física e saúde do animal),
- 7) Se o seu cão consome ração, você sabe dizer qual a marca? Se sim, por favor, nos informe qual a marca,
- 8) Na embalagem da ração está escrito que é um produto *premium* ou *super premium*?
 - a) Não,
 - b) Não sei dizer,
 - c) Sim, está escrito que é *premium*,
 - d) Sim, está escrito que é *super premium*,
- 9) Você costuma comprar ração vendida:
 - a) De forma avulsa: compra a quantidade que quer do produto,
 - b) Em embalagem fechada,

10) Sobre a quantidade de ração que deve ser fornecida ao cão diariamente:

a) Você segue à risca o que diz na recomendação da embalagem ou a recomendação do médico veterinário/zootecnista, de acordo com o peso e o biotipo do seu cão,

b) Você fornece uma certa quantidade de ração baseando-se na observação e no hábito alimentar do seu cão,

c) Você deixa uma boa quantidade disponível para o cão comer e sempre repõe quando o vê o potinho vazio,

11) Ao comprar uma ração, você tem preferência pela cor do alimento?

a) Não tenho preferência,

b) Prefiro as de cor marrom,

c) Prefiro as de cor vermelha,

d) Prefiro as de cor verde,

12) Qual a quantidade de ração que você fornece para o seu cão por dia? (Isso inclui todas as refeições em 24 horas), Você pode usar algum copo de vidro parecido com estes modelos, para ajudar a medir:

a) Menos de 1 copo (menos de 105 gramas),

b) 1 copo (107 a 117 gramas aproximadamente),

c) 2 copos (214 a 234 gramas aproximadamente),

d) 3 copos (321 a 351 gramas aproximadamente),

e) 4 copos (428 a 468 gramas aproximadamente),

f) 5 copos ou mais (535 a 585 gramas aproximadamente),

13) Qual a frequência que você fornece petiscos industrializados ao seu cão?

a) Nunca forneço,

b) 1 vez a cada 15 dias ou mais dias,

c) 1 vez por semana,

d) 3 vezes por semana,

e) 5 vezes por semana,

f) Todos os dias,

14) Você sabe me informar qual(is) a(s) marca(s) de petiscos você fornece? Se sim, por favor, nos informe qual(is),

15) Entre uma ração com e outra sem corante artificial com o mesmo preço, você escolheria:

a) Com corante,

b) Sem corante,

c) Tanto faz,

16) Você acha que os cães se importam com a cor da ração ou do petisco?

a) Não, para os cães é indiferente a cor,

b) Sim, eles podem ter preferência pela cor da ração,

17) Alguma vez você já comprou ração ou petisco que aparentavam estar mais coloridas, com a coloração mais forte que o normal?

- a) Não,
- b) Sim,

18) Você notou alguma alteração na saúde do seu cão após ele consumir algum alimento com corante?

- a) Não,
- b) Notei a presença de vômitos e/ou diarreia,
- c) Notei reações alérgicas,
- d) Notei mudanças comportamentais,
- e) Notei reações alérgicas, mudanças no comportamento, vômitos e diarreia,

19) Você acredita que corantes artificiais possam fazer mal a saúde do seu animal de estimação?

- a) Não,
- b) Sim,

B) Questionário destinado as empresas no Brasil

1) Em qual estado brasileiro localiza-se a sede da empresa?

2) Quais são as linhas que vocês produzem, que utilizam corantes artificiais na composição? Pode marcar mais de uma alternativa se pertinente,

- a) Econômica,
- b) *Standard*,
- c) *Premium*,
- d) *Super Premium*,

3) Quais os corantes artificiais são empregados na formulação das rações? Pode marcar mais de uma alternativa se pertinente,

- a) Amarelo crepúsculo,
- b) Amarelo de Quinoleína,
- c) Azorrubina,
- d) Azul brilhante,
- e) Azul Patente V,
- f) Bordeaux S,
- g) Eritrosina,
- h) Indigotina,
- i) Marrom HT,
- j) Negro Brilhante BN,
- k) Ponceau 4R,
- l) Tartrazina,
- m) Verde sólido,
- n) Vermelho 40,

4) O corante artificial é um item impactante (caro) no preço final do *pet food*?

- a) Não,
- b) Sim,

- 5, Qual o preço, em média, do quilo de cada corante artificial que a empresa utiliza?
- 6) Qual a quantidade (gramas/tonelada de ração) em média, que a empresa usa de cada corante artificial? Não precisa citar marcas comerciais,
- 7) Qual o objetivo da indústria ao fazer uso dos corantes artificiais no *pet food*?
- a) Melhorar a aparência do produto final (*pet food*) para promover vendas ao consumidor humano,
 - b) Marcar as rações com cores que referenciam e fortalecem a ideia da composição da ração (por exemplo: a ração verde simboliza vegetais; a vermelha carne, etc),,
 - c) Diferenciar formulações,
 - d) Ter maior aceitabilidade do produto pelo cão,
- 8) Existe alguma vantagem, por exemplo, econômica, marketing ou outra qualquer, em fazer uso dos corantes artificiais nas rações para cães?
- 9) Há alguma desvantagem, por exemplo, custo, rejeição pelo consumidor ou outra qualquer, em fazer uso dos corantes artificiais nas rações para cães?
- 10) A empresa faz alguma análise laboratorial para confirmar se a quantidade de corante presente no produto final (*pet food*) está de acordo com a recomendação de uso?
- a) Não, pois a quantidade dos corantes é calculada já na formulação da ração,
 - b) Sim, para averiguar se ocorreu tudo certo durante o processamento da ração,
- 11) O consumo de corantes artificiais pode provocar algum efeito sobre a saúde do cão?
- a) Não,
 - b) Não sei,
 - c) Somente em altas dosagens,
 - d) Somente se o cão já apresentar a saúde debilitada ou for sensível ao corante artificial,
 - e) Sim, pode afetar a saúde de cães saudáveis também.