

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE

JABOTICABAL

Departamento de Zootecnia

GLICINATOS DE ZINCO, COBRE, FERRO E MANGANÊS SOBRE

A ESTABILIDADE OXIDATIVA NA EXTRUSÃO E VIDA DE

PRATELEIRA DE ALIMENTOS PARA CÃES

Carolina Cristina de Oliveira

Médica Veterinária

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE
JABOTICABAL**

Departamento de Zootecnia

**GLICINATOS DE ZINCO, COBRE, FERRO E MANGANÊS SOBRE A
ESTABILIDADE OXIDATIVA NA EXTRUSÃO E VIDA DE PRATELEIRA DE
ALIMENTOS PARA CÃES**

Carolina Cristina de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Co-orientadora: Mayara Aline Baller

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

O48g

Oliveira, Carolina Cristina de

Glicinatos de Zinco, Cobre, Ferro e Manganês sobre a estabilidade oxidativa na extrusão e vida de prateleira de alimentos para cães / Carolina Cristina de Oliveira. -- Jaboticabal, 2024

80 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

Coorientadora: Mayara Aline Baller

1. Microelementos. 2. Minerais. 3. Glicinatos. 4. Sulfatos. 5. Biodisponibilidade. I. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: GLICINATOS DE ZINCO, COBRE, FERRO E MANGANÊS SOBRE A ESTABILIDADE OXIDATIVA NA EXTRUSÃO E VIDA DE PRATELEIRA DE ALIMENTOS PARA CÃES

AUTORA: CAROLINA CRISTINA DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

COORDINADORA: MAYARA ALINE BALLER

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente

Prof. Dr. RICARDO SOUZA VASCONCELLOS (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Estadual de Maringá (UEM) - Maringá/PR

RICARDO SOUZA VASCONCELLOS

Data: 04/07/2024 14:42:00-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pós-Doutoranda CAMILA GOLONI (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente

CAMILA GOLONI

Data: 28/06/2024 17:03:47 -0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Jaboticabal, 28 de junho de 2024

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Carolina Cristina de Oliveira – Nascida em Marília/SP em 23 de maio de 1998. Em 2016 ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade de Marília (UNIMAR), onde se graduou em 2020. Durante os anos de graduação realizou atividades de monitoria junto à disciplina de “Patologia Animal”, sob a orientação da Professora Doutora Camila Dias Porto. Coordenadora do Grupo de Estudos de Diagnóstico Veterinário (GEDVET) no segundo semestre de 2019. Realizou estágio curricular na área de nutrição de cães e gatos no Centro de Pesquisas em Nutrologia de cães e gatos USP-FZEA (CEPEN pet). Atualmente é aluna de mestrado no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais “Prof. Dr. Flávio Prada” na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus Jaboticabal na área de nutrição de cães e gatos, pelo programa de Ciência Animal, bolsista Capes, sob orientação do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi.

DEDICO

À minha família, minha mãe Divina e meu pai Deime e ao meu irmão Rafael,
pelo exemplo de vida e dedicação, pelo carinho,
amor, paciência, apoio e compreensão.
Obrigada por tudo!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus e Nossa Senhora de Fátima pelas bênçãos durante o mestrado e durante minha vida toda.

À minha família, meus pais Deime e Divina e meu irmão Rafael por sempre estarem presentes; a força que me deram foi meu combustível para vencer sempre.

Ao meu orientador Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi que me acolheu e me deu essa oportunidade incrível de fazer parte da nutrição de cães e gatos, agradeço por acreditar no meu potencial.

À minha coorientadora Dra. Mayara Aline Baller, seus conselhos e sua ajuda foram fundamentais para meu crescimento profissional e a para o nosso trabalho finalmente ganhar forma.

Agradecimento especial ao Prof. Dr. Ricardo Vasconcellos que contribuiu para o enriquecimento do trabalho.

Ao Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada” e aos funcionários Elaine, Diego e Kelly que são um pilar importantíssimo junto com os animais.

Aos cães que participaram do experimento e todos os animais que acompanhei na rotina.

Às amigas que me acompanharam durante o mestrado e sempre ajudaram, obrigada por estarem presentes e pela ajuda.

Aos pós graduandos do laboratório, todos contribuíram um pouquinho para meu aprendizado e crescimento.

A todos que estiveram ao meu lado e me apoiaram, meu agradecimento!

Ao meu companheiro Renan que me ajudou e apoiou durante o mestrado.

Aos meus animais Hachi (*in Memorium*), Gergelim (*in Memorium*) e Chia que me proporcionaram tantas felicidades e me inspiram a ser uma médica veterinária cada vez melhor.

À CAPES e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Unesp Jaboticabal pela bolsa de estudos, a MCassab e BASF pelo suporte e financiamento da presente pesquisa e as empresas BRF Ingredients, BRF Food, Adimax Pet a ADM pela contribuição com o Laboratório.

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

Sumário

Capítulo 1

ABSTRACT	vi
CAPÍTULO 1: REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	3
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Processo de extrusão termoplástica	4
2.2 Efeito da extrusão-nos lipídeos, vitaminas e <i>shelf life</i>	6
2.2. Lipídeos e reações de oxidação	6
2.2.5 Vitaminas lipossolúveis.....	15
2.2.4 Microelementos: ferro, cobre, zinco e manganês.....	18
2.3.6. Impacto ambiental	27
1. HIPÓTESE	28
2. OBJETIVO	28
3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
CAPÍTULO 2 – MICROELEMENTOS ORGÂNICOS <i>versus</i> INORGÂNICOS: IMPACTO SOBRE VIDA DE PRATELEIRA.....	36
1. INTRODUÇÃO	36
2. OBJETIVO	37
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1. Dietas experimentais	38
3.2 Processamento das dietas	40
3.3. Análises laboratoriais	41
3.3.2. Composição bromatológica.....	42
3.3.3. Determinação dos micro-minerais cobre, zinco, ferro e manganês .	42
3.3.8. Vitaminas A, D e E	45
3.4. Análise estatística	45

4. RESULTADOS.....	46
5. DISCUSSÃO.....	55
5.1. Discussão farelo vs extrusado	55
5.2. <i>Shelf life</i>	57
6. CONCLUSÃO	61
7. REFERÊNCIAS	62

GLICINATOS DE ZINCO, COBRE, FERRO E MANGANÊS SOBRE A ESTABILIDADE OXIDATIVA NA EXTRUSÃO E VIDA DE PRATELEIRA DE ALIMENTOS PARA CÃES

RESUMO

A inclusão de microelementos orgânicos na nutrição de animais domésticos pode aumentar os benefícios das dietas comerciais devido à melhor biodisponibilidade e aproveitamento pelo animal, além de melhorar a estabilidade da ração e promover menores perdas oxidativas pela ração, contribuindo para uma melhor vida de prateleira (*shelf life*), além de reduzir a contaminação ambiental pelos excrementos gerados pelos animais, diminuição de custos e contribuindo para a sustentabilidade no setor pet. Este estudo avaliou microelementos na forma de sulfato e glicinato (Fe, Cu, Zn, Mn) em três dietas, controle (DC), com glicinato (DCG) e com sulfato (DCS). Foram avaliados na ração farelada e na ração logo após extrusão os níveis de peróxido, compostos voláteis, residual de antioxidantes (BHT e BHA) e microelementos. Para a vida de prateleira foram armazenados em estufa 30° e a cada 120 dias foram feitas análises de perfil de ácidos graxos, residual de antioxidantes (BHT e BHA), vitaminas lipossolúveis (A, D e E) e compostos voláteis na ração extrusada; os índices de peróxido foram avaliados a cada 45 dias para acompanhar o comportamento das rações enriquecidas com diferentes formas de minerais. Os dados foram analisados quanto à homocedasticidade das variâncias e normalidade dos erros, seguidos por ANOVA com medidas repetidas no tempo. Em caso de diferenças no momento basal, foi utilizada ANOVA simples com o tempo 0 como covariável. Se o Teste F indicasse diferenças, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). Os resultados demonstraram que a extrusão influenciou a estabilidade oxidativa das rações, com menores perdas de minerais como Zn e menor produção de compostos voláteis como Nonenal e Decadienal ($p < 0,05$) em dietas com glicinato. Durante a vida de prateleira, os ácidos graxos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). Para os antioxidantes, os tratamentos demonstraram melhores resultados quando analisados ao longo do tempo. As vitaminas lipossolúveis tiveram maior retenção no tratamento com glicinato ($p < 0,05$), assim como os compostos voláteis apresentaram menor produção neste tratamento ($p < 0,05$). Apesar de oscilações

nos níveis de peróxido, as diferenças entre os tratamentos não foram estatisticamente significativas. Os resultados ressaltam a importância do controle de microelementos para maior estabilidade e vida de prateleira das rações. Limitações do estudo incluem variações analíticas e altos níveis de antioxidantes, que podem ter mascarado alguns resultados.

Palavras-chaves: microelementos, minerais, glicinatos, sulfatos, biodisponibilidade.

ABSTRACT

The inclusion of organic microelements in the nutrition of domestic animals can enhance the benefits of commercial diets due to better bioavailability and utilization by the animal, as well as improving feed stability and promoting reduced oxidative losses in the feed. This contributes to a longer shelf life, reduces contamination from animal excrement, decreases costs, and supports sustainability in the pet sector. This study evaluated microelements in the form of sulfate and glycinate (Fe, Cu, Zn, Mn) in three diets: control (DC), with glycinate (DCG), and with sulfate (DCS). Peroxide levels, volatile compounds, antioxidant residues (BHT and BHA), and microelements were analyzed in the meal and after extrusion. For shelf life, feeds were stored at 30°C, with analyses conducted every 120 days for fatty acid profiles, antioxidant residues (BHT and BHA), fat-soluble vitamins (A, D, and E), and volatile compounds in the extruded feed; peroxide indices were evaluated every 45 days to monitor the behavior of feeds enriched with different forms of minerals. The data were analyzed for homoscedasticity of variances and error normality, followed by ANOVA with repeated measures over time. In cases of differences at the baseline moment, simple ANOVA was used with time 0 as a covariate. If the F-test indicated differences, means were compared using Tukey's test ($P < 0.05$). The results demonstrated that extrusion influenced the oxidative stability of feeds, with lower losses of minerals such as Zn and reduced production of volatile compounds like Nonenal and Decadienal ($p < 0.05$) in diets with glycinate. During shelf life, fatty acids did not show statistically significant differences among treatments ($p > 0.05$). For antioxidants, treatments showed better results when analyzed over time. Fat-soluble vitamins had higher retention in the glycinate treatment ($p < 0.05$), and volatile compounds were less produced in this treatment ($p < 0.05$). Despite fluctuations in peroxide levels, differences among treatments were not statistically significant. The results highlight the importance of microelement control for greater stability and longer shelf life of feeds. Study limitations include analytical variations and high levels of antioxidants, which may have masked some results.

Key words: Microelements, minerals, glycinates, sulfates, bioavailability.

Lista de tabelas

Tabela 1. Formula das dietas experimentais.	39
Tabela 2. Composição bromatológica das dietas experimentais.	40
Tabela 3. Parâmetros de processamento das dietas experimentais.	41
Tabela 4. Estabilidade das dietas experimentais antes e após a extrusão.	46
Tabela 5. Estabilidade das dietas experimentais antes e após a extrusão.	47
Tabela 6. Estabilidade das dietas experimentais antes e após a extrusão.	48
Tabela 7. Perfil de ácidos graxos (mg/g de gordura) de rações processadas com diferentes fontes de minerais.....	49
Tabela 8. Residual de antioxidante (ppm/kg) de rações processadas com diferentes fontes de minerais.....	51
Tabela 9. Somatório BHT e BHA shelf life.	51
Tabela 10. Estabilidade das vitaminas de rações processadas com diferentes fontes de minerais.	52
Tabela 11. Níveis de compostos voláteis (ppm/kg) dos alimentos processados com diferentes fontes de minerais.	53
Tabela 12. Somatório compostos voláteis.....	54
Tabela 13. Índice de peróxido (mEq/kg) dos alimentos processados com diferentes fontes de minerais.....	54

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura mineral glicinato BASF.**Erro! Indicador não definido.**

Figura 2. Minerais de Cobre, Ferro, Manganês e Zinco na forma glicinato (BASF, 2024).....**Erro! Indicador não definido.**

CAPÍTULO 1: REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

1. INTRODUÇÃO

Os minerais ferro, cobre, zinco e manganês desempenham papéis essenciais na nutrição de cães, contribuindo para diversas funções metabólicas e fisiológicas fundamentais. O ferro é crucial para o transporte de oxigênio no organismo, além de participar de reações enzimáticas vitais. O cobre está envolvido em processos como a formação de colágeno, pigmentação da pelagem e função imunológica. O zinco é indispensável para a saúde da pele, cicatrização de feridas, função enzimática e integridade do sistema imunológico. Já o manganês é fundamental para a formação dos ossos, metabolismo energético e proteção contra danos oxidativos. O balanceamento adequado desses minerais nas dietas de cães é essencial, uma vez que tanto a deficiência quanto o excesso podem trazer prejuízos à saúde, reforçando a necessidade de fontes minerais de alta biodisponibilidade e estabilidade em rações comerciais.

O processamento por extrusão é fundamental para a produção da ração, promovendo efeitos importantes e essenciais no produto final como modificações estruturais nos macronutrientes, melhoria da digestibilidade dos nutrientes e redução de alguns fatores antinutricionais. Também são promovidos fatores prejudiciais junto ao processo como destruição e perda de aminoácidos, uma série de reações químicas, tais como as reações de Maillard, formação de complexos de nutrientes (Björck and Asp, 1983) e a oxidação lipídica gerada pela degradação dos ácidos graxos, que ocorre na presença de calor, oxigênio e ou presença de minerais catalisadores como ferro (Fe), cobre (Cu) e zinco (Zn) que participam ativamente das reações de transferência de elétrons (Kanner & Rosenthal, 1992; Shen et al, 2021).

A capacidade oxidativa da ração é um importante fator pois interfere no “prazo de validade” ou shelf life do produto, geralmente de doze a dezoito meses. No entanto, na prática, este período pode ser reduzido ou prolongado conforme a influência de alguns fatores como: nível de antioxidante, teor de extrato etéreo, a presença de metais catalisadores (ferro, cobre, zinco, manganês, entre outros), características da embalagem, temperatura de armazenamento, condições de

processamento e outros inúmeros fatores. Os radicais livres que resultam dessa oxidação podem reagir com proteínas, vitaminas lipossolúveis (A, D e E) ou outros constituintes e reduzindo a qualidade nutricional do alimento (Lillard, 1983; Ribeiro, 2018).

Especificamente, os microelementos demonstram um potencial variável conforme seu estado ligante, ou seja, conforme suas formas podem desempenhar o papel de catalisadores nas reações de transferência de elétrons e aumentar o potencial oxidativo da ração. Os minerais na forma inorgânica (sulfatos), um dos mais utilizados na indústria pet, apresentam uma maior instabilidade, podendo está ligada à estrutura e à natureza das suas ligações químicas, onde o enxofre está ligado a quatro átomos de oxigênio em uma estrutura tetraédrica mais fraca e menos estável comparada a outros tipos de minerais (Hawthorne et al, 2000).

Nos minerais orgânicos, os agentes quelantes ou carreadores se ligam ao átomo de metal por mais de um ponto, formando uma estrutura química estável e neutra através de ligações covalentes, por meio de agrupamentos aminos ou oxigênio (Leeson & Summers, 2001; Oliveira, 2006). Essa estrutura estável aumenta a disponibilidade do mineral.

Desta forma, a presente Dissertação de Mestrado teve como objetivo geral avaliar os efeitos da adição de zinco, cobre, ferro e manganês na forma de glicinato ou sulfato em rações sobre a vida de prateleira e retenção de vitaminas A, D e E dos produtos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Processo de extrusão termoplástica

Cerca de 95% dos alimentos secos para cães e gatos são produzidos com tecnologia de extrusão high-temperature-short-time (HTST). A primeira etapa do processamento por extrusão é o pré-condicionamento. No pré-condicionador a mistura de ingredientes será misturada de forma homogênea com a água e o vapor, permitindo que haja a penetração da água e hidratação dos grânulos de amido (Riaz, 2000). A adição de água e vapor representam adição de energia

térmica específica (ETE), e tem como objetivo aumentar a umidade e a temperatura da massa, iniciando o cozimento do amido e com isto favorecendo a hidratação interna dos grânulos, plasticização, sanitização, estabilidade e produtividade da extrusora, com ganhos também em qualidade do produto (Pacheco *et al*, 2018; Baller *et al*, 2020).

Após o pré-condicionador, a massa uniforme é conduzida para o canhão da extrusora, um sistema de tubo com rosca sem fim girando a velocidade variável. Atualmente, a produção de alimentos secos é feita utilizando-se extrusoras de rosca simples configuradas para que promovam implementação média de 10 a 35 kWh/ton de energia mecânica específica (EME) para adequado processamento (Riaz, 2007). Esta etapa irá comprimir a mistura de ingredientes promovendo a implementação de EME pela rotação da rosca da extrusora, que promove cisalhamento da massa contra seu revestimento, ou camisa, e comprime a massa contra a matriz, na extremidade do cilindro, criando pressão, fricção e temperatura (Riaz, 2000). O atrito criado pela ação da rosca sobre as partículas dissipará a EME, resultando em elevação da temperatura e pressão que em combinação com a umidade resultará na gelatinização do amido e desnaturação e reorganização das proteínas, induzindo a transição de fases da massa e sua plasticização, obtendo-se assim novas formas e texturas características. As pressões e temperaturas no final do canhão podem atingir, respectivamente, mais de 60 bars e 160°C, embora usualmente se trabalhe com pressões de 20 a 30 bars e temperaturas de 120 a 140°C. Toda esta energia e compressão em um fluxo laminar modificam profundamente os nutrientes, o que será discutido mais adiante. Na saída da extrusora existe, por fim, o sistema de corte, composto por facas em disposição perpendicular e rotação variável, que cortam a massa no tamanho desejado (Riaz, 2000). Na etapa posterior ao sistema de corte, o produto é direcionado ao secador para redução de sua umidade para valores entre 5 e 10% e atividade de água a valores normalmente abaixo de 0,6.

2.2 Efeito da extrusão-nos lipídeos, vitaminas e *shelf life*

2.2. Lipídeos e reações de oxidação

Nas rações comerciais para cães e gatos os lipídios conferem propriedades organolépticas como sabor, cor e textura, características importantes para palatabilidade, representam ingredientes de elevada digestibilidade e valor energético e, ainda, fornecem ácidos graxos poliinsaturados essenciais, nutrientes importantes para a saúde de gatos e cães (Silva *et al*, 1999; Tian *et al*, 2013). Os ácidos graxos poliinsaturados essenciais conferem propriedades metabólicas, tais como a constituição de membranas celulares, produção de mediadores inflamatórios, composição de neurônios, da retina, entre outros. Para isto, diferentes ingredientes são utilizados como fontes de gordura na alimentação, destacando-se a gordura de frango, sebo bovino, banha suína, óleos vegetais, óleos e farinha de algas marinhas e o óleo de peixe (ABINPET, 2016). Misturas destas matérias primas são empregadas com vistas ao atendimento de quantidades e proporções específicas de cinco ácidos graxos poliinsaturados de importância nutricional, os ácidos linoleico, alfa-linolênico, araquidônico (AA), eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) (NRC, 2006).

Os ácidos graxos são compostos orgânicos que possuem apenas um grupo carboxila em uma de suas extremidades (são monocarboxílicos), de cadeias abertas, longas, com quatro a 36 átomos de carbono (C). Estes podem estabelecer entre si ligações saturadas ou insaturadas (Lehninger, 2014). Sua classificação é definida pela quantidade de duplas ligações (saturados – sem duplas ligações, monoinsaturados e poli-insaturados) e quanto à posição da primeira dupla ligação (iniciando pelo radical metil, representada pelas letras Ω , ω ou n , ou contando a partir de seu grupo carboxílico, representada pela letra Δ).

Dentre os ácidos graxos poliinsaturados, existem três famílias importantes: a ômega (ω) - 3, representada pelo ácido alfa-linolênico (18: 3 ω -3); ômega (ω) - 6, que inclui o ácido linoleico (18: 2 ω -6) e seus derivados e a do ômega (ω) - 9, proveniente do ácido oleico (18:1 ω -9). O precursor da família ω -

6 é o ácido graxo cis-linoléico(AL) (18:2 ω 6), encontrado nos óleos vegetais. Entre as gorduras animais, importante elemento de palatabilidade das rações, é abundante no óleo de frango, que por isto apresenta melhor valor nutricional. É o único comprovadamente essencial para cães e suas necessidades nutricionais mínimas de AL estão estimadas, para as espécies domésticas, como 1% da dieta ou 2 % da energia (Carciofi *et al*, 2002).

A partir deste composto primário, pela ação de dessaturases e elongases, os animais sintetizam os ácidos graxos essenciais derivados (AGEd), como o ácido dihomo-gama-linolênico (ADGL) (20:3 ω 6) e o ácido araquidônico (AA) (20:4 ω 6), que desempenham importantes funções metabólicas e estruturais. Os gatos, diferentemente dos demais animais domésticos, não apresentam a enzima D-5-dessaturase (ou esta não apresenta atividade suficiente), não sendo capazes de sintetizar o AA, sendo uma particularidade nutricional da espécie que apresenta necessidade dietética desse ácido graxo (Rivers,1982). Na prática isto significa que rações para gatos devem apresentar derivados cárneos e músculo em sua composição, pois os lipídeos estruturais dos tecidos são fontes importantes de AGE derivados ω 6, ou óleos de aves ou peixes.

Uma das principais dificuldades relacionadas à deterioração dos alimentos extrusados destinados aos animais de companhia reside na presença de lipídeos poliinsaturados de cadeia longa e vitaminas lipossolúveis no produto acabado. Estes são nutrientes essenciais aos cães e gatos, que devem permanecer estáveis e apresentar quantidades adequadas após 12, 16 ou mesmo 24 meses da produção do alimento, a depender de sua vida de prateleira estabelecida pela indústria (Silva, 2021).

Os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, em especial os nutrientes essenciais EPA, DHA e AA são altamente susceptíveis às reações de oxidação uma vez que as insaturações representam partes da cadeia com menor energia de abstração necessária a sua oxidação (Cosgrove *et al*,1987; Silva 2021). Em alimentos a oxidação lipídica é um processo autocatalítico que ocorre na presença de um fator de iniciação como oxigênio, sendo aceleradas pelo calor, presença de enzimas catalíticas ou de minerais, outros fatores como tipo

de gordura, teor de gordura, teor de umidade e grau de expansão dos *kibbles* também influenciam na oxidação (Lin *et al*, 1998; Riaz, 2007).

Além disso, a barreira a luz e oxigênio da embalagem, a as características da mistura de matérias primas, em especial a presença de antioxidantes, naturais ou sintético e metais de transição, que são pro-oxidantes influenciam sobremaneira a velocidade de ocorrência destas reações (Silva *et al*, 1999, Silva, 2021). Essas reações de oxidação induzem modificações perceptíveis no odor, sabor, coloração e consistência, resultando na formação de compostos prejudiciais, tais como peróxidos, hidroperóxidos, aldeídos, cetonas, hidroxiácidos, hidrocarbonetos e polímeros. A degradação destes nutrientes essenciais resulta na perda do valor nutricional dos mesmos, com prejuízo direto à qualidade nutricional do alimento (Brennan *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2014; Sá, 2015; Silva, 2021).

Durante a extrusão existe promoção das reações de oxidação devido a presença de oxigênio, temperaturas acima de 130° elucidado por Lampi *et al* (2015), umidade do produto e área superficial, EME aplicada (Sharma *et al.*, 2014; Ribeiro, 2018). Desta forma, esse é um potencial efeito negativo do processo de extrusão, reconhecido por poder vir a comprometer, se não adequadamente controlado, tanto a qualidade nutricional do produto quanto a sua segurança alimentar e sua aceitação ou palatabilidade pelo animal (Shibao e Bastos, 2011; Silva, 2017. Assim, entender as condições que podem levar ao controle deste processo, com o emprego racional de energia durante o processo de extrusão, bem como aliar-se do emprego de antioxidantes e de medidas que podem reduzir tais reações, como o controle dos metais de transição, metais livres, sulfatos, dentre outros na formulação de matérias primas são importantes para a estabilidade e qualidade do produto final (Ribeiro, 2018).

Uma das principais causas de deterioração da qualidade durante o processamento e armazenamento de produtos alimentares é a oxidação (Fogaça *et al*, 2009). O radical livre liga-se rapidamente a uma molécula de oxigênio, formando um radical peróxido. A presença de minerais como o ferro (Fe), cobre (Cu) e zinco (Zn) pode catalisar a formação de espécies reativas, participando ativamente das reações de transferência de elétrons (Kanner &

Rosenthal, 1992; Shen *et al*, 2021), mediante a captura de elétrons dos hidroperóxidos e sua subsequente decomposição em novas espécies reativas (Frankel, 2005; S´pitalniak-Bajerska *et al*, 2018). Especificamente, o ferro e o cobre demonstram um potencial variável conforme seu estado ligante, desempenhando o papel de catalisadores nas reações de transferência de elétrons. O ferro, em particular, é encontrado em proporções significativas nos alimentos, inclusive como contaminante durante o processamento (Kolakowska, 2003).

Uma vez iniciado, o processo oxidativo, desenvolve-se em constante aceleração, podendo ocorrer por via não enzimática, como na fotoxidação e autoxidação, ou por via enzimática pela ação das lipoxigenases (Berger e Hamilton, 1995; Soares, 2002; Silva, 2017). Reações por fotoxidação envolvem a presença de moléculas oxidáveis nos tecidos animais ou vegetais, tais como riboflavina, clorofila e mioglobina, onde na presença de luz e oxigênio se inicia o processo de transferência de energia para a reação de oxidação com formação do peróxido. Neste processo, o oxigênio age na dupla ligação, primeiramente, sem que ocorra a formação de radical livre, resultando na formação imediata de hidroperóxidos (Vasconcellos, 2011).

A reação de autoxidação é uma reação espontânea ao oxigênio atmosférico, que consiste em três fases distintas: iniciação, propagação e terminação, sendo que nas duas primeiras, ocorre a presença de radicais livres (Oliveira *et al*, 2012). Na etapa de iniciação (figura 1), ocorre a perda de um radical de hidrogênio, assim como desaparecimento dos produtos de oxidação (oxigênio e ácidos graxos insaturados) e a formação o radical alquil do ácido graxo, que irá reagir com os ácidos graxos insaturados (Ribeiro, 2018; Silva, 2021).



Figura 1. Oxidação lipídica. Fonte: Jorge (2009).

A reação inicial envolve a geração de um radical livre (R.) a partir de um ácido graxo insaturado (RH). Essa fase é muito lenta e depende de um iniciador (I), representado pelo oxigênio, calor, metais traços e certas enzimas catalisadoras (Fogaça et al., 2009).

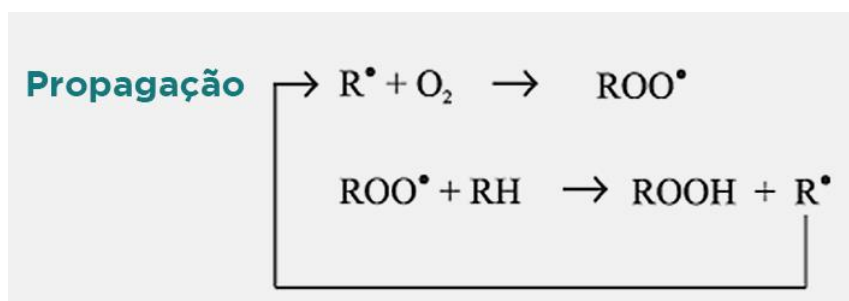


Figura 2. Oxidação lipídica. Fonte: Jorge (2009).

Já a segunda etapa deste processo (figura 2) se caracteriza pela formação dos produtos primários da oxidação, sendo estes os peróxidos (ROO.) e os hidroperóxidos (ROOH). Desta forma, com o consumo dos substratos, as reações da fase de propagação vão diminuindo, dando início a formação dos produtos finais da oxidação.

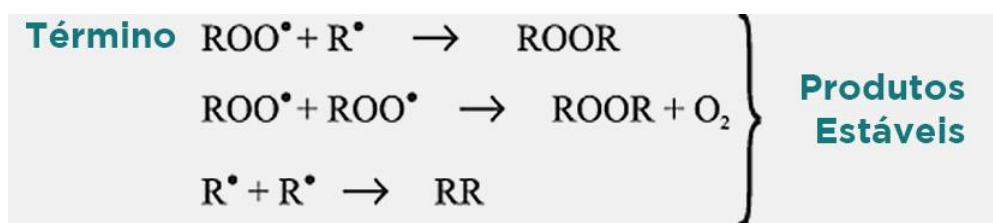


Figura 3. Oxidação lipídica. Fonte: Jorge (2009).

Por serem produtos instáveis, se tornam susceptíveis a decomposição dando origem a produtos secundários, conhecida como etapa de terminação (figura 3), as reações de terminação levam a formação de produtos finais estáveis ou não reativos. Os radicais alcoxila (ROO₂), que participam de reações de decomposição, também podem sofrer epoxidação, polimerização ou reagir com outros grupos alquila (ROOR), reações químicas da fase de terminação (Kubow, 1992). O processo de oxidação lipídica é bastante revisado por diversos autores (Ribeiro, 2018; Silva et al, 2017).

É importante destacar as principais alterações que ocorrem com os ácidos graxos essenciais durante o processamento e armazenagem dos alimentos para animais de companhia. Os principais aldeídos formados na oxidação do ácido linoleico são compostos químicos com cadeias de 6 a 9 carbonos como Hexanal ($C_6H_{12}O$), Octanal ($C_8H_{16}O$), trans-2-nonenal ($C_9H_{18}O$) e trans,cis-2,4-Decadienal ($C_{10}H_{20}O$) (Sanahuja & García, 2021).

Hexanal é um dos compostos voláteis alcanais dominantes, é de importante impacto para identificar rancificação de extrusados. É um dos principais produtos da degradação do ácido linoléico e em alimentos contendo ácidos graxos poliinsaturados (n-6) (Sjovall *et al*, 1997), além disso, ácidos como alfa-linolênico, araquidônico, bem como o 2,4-decadienal são precursores típicos do hexanal (Frankel, 1982; Ullrich e Grosch, 1988; Frankel *et al*, 1992). O 2(E)-nonenal também foi identificado como composto de aroma mais potentes no ácido linoleico autoxidado junto com Hexanal (Ullrich e Grosch, 1988; Sjovall *et al*, 1997).

Relatado por Liu *et al* (2020), o octanal, o nonanal, o decanal, o (E)-2-decenal e o 2-undecenal são produzidos por clivagens homolíticas no grupo intermediário alcoílico do ácido oleico, enquanto o hexanal, o 2,4-decadienal e o (E,E)-2,4-decadienal foram gerados a partir da oxidação térmica do ácido linoleico.

Pouco se sabe sobre os compostos secundários ou os compostos voláteis, na literatura esses aldeídos são apresentados e analisados como componentes para análise da fase de terminação da oxidação, onde esses contribuem para o aparecimento de notas desagradáveis de sabor devido à sua elevada taxa de formação e ao seu baixo limiar de sabor (Ullrich & Grosch, 1987; Ahn *et al*, 2007; Nieto *et al*, 2011).

Uma vez oxidados, os ácidos graxos se tornam moléculas nocivas ao organismo e seu consumo deve ser evitado. O processo de oxidação ocorre mais facilmente nas duplas ligações dos ácidos graxos e, neste sentido, as fontes de gordura mais insaturadas. Os radicais livres que resultam dessa oxidação podem

reagir com proteínas, vitaminas ou outros constituintes e reduzindo a qualidade nutricional do alimento (Lillard, 1983; Ribeiro, 2018).

O “prazo de validade” ou *shelf-life* é o tempo de vida útil. Esta especificação é encontrada no rótulo de todas as embalagens de alimentos, representa o tempo que o alimento é mantido em condições adequadas para consumo de exposição ao ar e luminosidade, o produto se mantém próprio para o consumo, apresentando alterações que são consideradas aceitáveis pelo fabricante, consumidor e a legislação alimentar vigente (Vitali & Quast, 2004; Calligaris *et al*, 2015). A avaliação do prazo de validade pode ser feita em 3 etapas, sendo que a primeira implica na determinação na composição bromatológica nutricional e identificação dos possíveis eventos biológicos que podem alterar o valor nutricional do alimento. A segunda etapa de avaliação é caracterizada pela mensuração da qualidade do alimento em razão do tempo de armazenamento, através de testes de vida de prateleira em tempo real ou acelerado em ambientes controlados. Na terceira e última etapa, caracteriza-se pela modelagem dos dados e estimativa da vida útil dos alimentos (Ribeiro, 2018).

Para controle da taxa de oxidação em alimentos com um *shelf life* prolongado (12 – 24 meses), uma prática comum é a incorporação de antioxidantes, sejam estes de origem sintética ou natural. No entanto, a prevenção da oxidação deve ser feita por uma abordagem combinada, minimizando os fatores que predispõem a este fenômeno, como microelementos que podem atuar como pró-oxidantes em alimentos (Frankel, 2005; S´pitalniak-Bajerska *et al*, 2018).

A não utilização de antioxidantes na dieta, ou o consumo completo do mesmo leva o radical peróxido a remover o hidrogênio presente no ácido graxo insaturado, formando um hidroperóxido e conseqüentemente mais um radical livre (FAO, 2003). Em estudo realizado por Ribeiro (2018), avaliando as reações oxidativas ocorridas em alimentos extrusados para gatos contendo gordura de aves como fonte de lipídeos, utilizando diferentes aplicações de EME(9, 21 e 35 kWh/t) e dietas com diferentes antioxidantes (500 mg/kg BHT+BHA; 750 mg/kg TBHQ; 1200 mg/kg antioxidante natural), mostrou que o processo de extrusão é

agressivo para o ácido linoléico, de forma que as doses de antioxidantes empregadas utilizadas em função da quantidade de gordura empregada não foram suficientes para proteger os alimentos, especialmente nas dietas que foram processadas utilizando-se maior EME.

Um dos grandes desafios da indústria pet continua sendo manter as características originais do alimento e manter o processo de oxidação sem vetores iniciais, postergando assim as perdas. A escolha de matérias-primas refinadas, com teores baixos de umidade, com níveis controlados de potências pró-oxidantes, o armazenamento em baixas temperaturas, o uso de compostos antioxidantes, embalagens estanques e opacas à radiação ultravioleta entre outros, são adotadas de maneira a limitar o processo oxidativo durante o processamento e armazenagem (Silva *et al*, 1999).

Os antioxidantes atuam inibindo a oxidação lipídica e prevenindo a deterioração dos alimentos, estabilizando assim os ácidos graxos por meio da reação com radicais livres, quelando íons metálicos e interrompendo a fase de propagação (Masuchi *et al*, 2008, Silva, 2021). Portanto, caso o antioxidante tenha um consumo alto pelo alimento, o radical peróxido irá remover o hidrogênio presente no ácido graxo insaturado, formando um hidroperóxido e mais um radical livre, até que toda a gordura tenha sido oxidada (Baller *et al.*, 2018).

Para controle da oxidação lipídica em alimentos, os antioxidantes têm a função de inativar os radicais livres, por meio dos doadores de hidrogênio e elétrons, podendo atuar de forma secundária na complexação de íons metálicos, inativação de espécies reativas de oxigênio, transformação de hidroperóxidos em espécies não radicalares (Araújo, 2011; Silva, 2021). O BHA é mais estável sendo mais efetivo em elevadas temperaturas quando em comparação ao BHT, que apresenta efeito protetor menor nessas condições. Por isso, é comum seu uso associado. O BHA irá agir sequestrando radicais peróxidos ao passo que o BHT agirá como regenerador de radicais BHA (Araújo, 2011; Silva, 2021).

Os compostos antioxidantes desempenham um papel crucial na preservação da qualidade e na extensão da vida útil dos alimentos. Entre os mais amplamente utilizados estão os antioxidantes sintéticos, como o hidroxianisol-

butilado (BHA), o hidroxitolueno butilado (BHT) e a butilhidroquinona terciária (TBHQ), além de compostos naturais como tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos vegetais (Ramalho & Jorge, 2006). Desde sua aprovação para uso em alimentos de consumo humano e animal em 1948, os antioxidantes sintéticos têm desempenhado um papel fundamental na manutenção da qualidade e na extensão da vida útil de diversos produtos alimentícios (Vasconcellos, 2011).

Os antioxidantes desempenham um papel crucial na preservação da qualidade e na extensão da vida útil de alimentos destinados a animais de companhia, como a pet food. No entanto, é imprescindível que sejam empregados em doses mínimas efetivas, ajustadas de acordo com as características específicas de cada alimento, visando exclusivamente à prevenção da oxidação (Ribeiro, 2018; Silva, 2017). É importante ressaltar que o uso excessivo de antioxidantes não deve ser empregado para encobrir problemas de qualidade, uma vez que essas substâncias estão sujeitas a limites máximos estabelecidos por legislação. Além disso, concentrações elevadas de antioxidantes podem acarretar problemas para a saúde dos animais.

No contexto brasileiro, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) reconhece os antioxidantes como aditivos alimentares, estabelecendo limites máximos para seu uso na alimentação animal. De acordo com as regulamentações, os compostos BHA e BHT, tanto individualmente quanto em combinação, não devem exceder a quantidade de 150 mg/kg na dieta total. Quanto ao TBHQ, a Associação de Oficiais de Controle de Alimentos dos Estados Unidos (AAFCCO, 2003) recomenda um limite máximo de 200 mg/kg de gordura na ração (AAFCCO, 2003; MAPA, 2016).

O processo da oxidação lipídica abrange uma série de consequências adversas. Entre elas estão a degradação parcial dos ácidos graxos linoleico e linolênico, bem como de outros lipídios insaturados, como a Vitamina A, os carotenoides e os tocoferóis. Além disso, ocorre a deterioração parcial da vitamina C e a formação de produtos secundários, como o Malonaldeído e os compostos de Maillard. Estes últimos, ao reagirem com outras moléculas, podem reduzir a absorção de nutrientes e irritar a mucosa intestinal devido à presença de peróxidos, ocasionando sintomas como diarreia e interferindo na absorção

adequada dos nutrientes. Notavelmente, os lipídios oxidados podem atuar como antagonistas de diversos nutrientes essenciais, incluindo tiamina, pantotenato de cálcio, riboflavina, ácido ascórbico, vitamina B12, tocoferóis, vitamina A, proteínas, lisina e aminoácidos sulfurados (Kirk, 1984; Kanner, 1994).

No contexto brasileiro, a Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Animais de Estimação (ABINPET) não estabelece limites específicos para alimentos extrusados. Entretanto, sugere-se que, no caso de ingredientes de origem animal, seja observado um índice de peróxido de 5 a 10 mEq/kg, conforme as diretrizes para farinhas de origem animal (ABINPET, 2022).

2.2.5 Vitaminas lipossolúveis

Dentre os potenciais efeitos prejudiciais do processo de extrusão podemos incluir o comprometimento da taxa de retenção final de vitaminas. Todas as vitaminas são, usualmente, adicionadas a ração na forma de premix (formulação específica de minerais e/ou vitaminas). As vitaminas são importantes nutrientes que atuam principalmente como catalizadores de reações químicas do metabolismo, essenciais aos cães e gatos. Esse grupo de nutrientes podem ser classificados em lipossolúveis, os quais podem ser armazenados no organismo, ou hidrossolúveis, que não podem ser armazenados, exigindo consumo diário. Na primeira categoria enquadram-se as vitaminas A, D, E e K; na segunda, enquadram-se as vitaminas do complexo B e a vitamina C. As vitaminas A, D e E são medidas em unidades internacionais (UI), outras vitaminas podem ser medidas em miligramas (mg) ou microgramas (ug). Essas vitaminas lipossolúveis junto com a vitamina B₁ e o ácido fólico possuem uma maior sensibilidade ao processo de extrusão, podendo perder de 20 a 65% da sua atividade dependendo também do período de residência no canhão e devida às altas temperaturas (Riaz, 2009).

A capacidade de uma vitamina manter a sua atividade durante o armazenamento e sob estresse químico e físico é designada por estabilidade. Muitos são os fatores conhecidos e que comprometem a estabilidade de uma vitamina: a umidade, os níveis de oxigênio, a incidência de luz, pH do meio,

agentes oxidantes, presença de íons metálicos como ferro, cobre etc, presença de outras vitaminas ou qualquer combinação destes fatores (Ottaway, 2010).

Na literatura poucos trabalhos foram encontrados que avaliaram a estabilidade das vitaminas durante o armazenamento na forma de pré-misturas (premix), produção de ração utilizando a tecnologia de processamento por extrusão e durante o *shelf-life* do produto acabado (Riaz *et al*, 2009). De acordo com Harper (1988), as vitaminas sujeitas a perda oxidativa, como o ácido ascórbico, são perdidas durante a extrusão, porém de forma limitada, mas perdem rapidamente a sua atividade durante a estocagem, devido à grande exposição ao oxigênio devido à sua área de superfície expandida (kibble expandido) e as interações com peróxidos ou radicais livres provenientes da oxidação de lipídios. Assim, qualquer forma de prevenção da oxidação de lipídios aumenta a retenção de vitaminas lipossolúveis.

Vitamina A é um nutriente essencial ligado a visão. A vitamina A se refere a um grupo grande de componentes (retinol, retinal e ácido retinoico), todo tem como precursores os carotenoides. Assim como a maioria dos animais, os cães são capazes de converter carotenoides em retinol, por uma conversão enzimática que acontece na mucosa intestinal, é absorvido e estocado no fígado (Coelho, 2003). Deficiência de vitamina A são pouco comuns, mas alguns sinais clínicos podem ser observados, como anorexia, retardo no crescimento, problemas reprodutores, lesões de pele, cegueira e baixa imunidade. Por ser estocada no fígado, problemas relacionados ao consumo excessivo causam toxicidade com risco de óbito.

A vitamina A é extremamente sensível ao processo de extrusão em sua forma pura – óleo de retinilacetato (Coelho, 2003). Baller (2020) demonstrou que a vitamina A é sensível a todas as etapas de processamento que possuem um sistema de injeção de ar forçada, como a moagem e secador, essas etapas expõe a molécula ao contato direto com o ar, sofrendo processo de oxidação. Por isso, empresas produtoras de vitamina A processam o óleo de retinilacetato puro por emulsificação em gelatina ou açúcar e um antioxidante, para evitar a reação com oxigênio (Coelho, 2003). Gadiant (1986) e Riaz (2009) identificaram que as vitaminas A, D e E são mais prováveis de sofrer oxidação; a vitamina A é

muito sensível à perda oxidativa pois durante a armazenagem está mais exposta ao oxigênio do que durante a extrusão (Harper, 1988).

A vitamina D é essencial para o metabolismo do cálcio e do fósforo. Humanos possuem a capacidade de quando expostos ao sol, converter pró-vitamina D (D₂ ergosterol e D₃ 7-deidrocolesterol) em formas ativas de vitamina D (D₂ ergocalciferol e D₃ colecalciferol), no entanto cães e gatos não possuem tal habilidade, tornando o fornecimento desta vitamina pela dieta de extrema importância. Poucos estudos foram encontrados sobre avaliações da estabilidade da vitamina D para dietas para cães e gatos. Autores sólidos da área apresentam esta vitamina como sendo relativamente estável, comparado as outras vitaminas lipossolúveis, e sensível a temperatura (Riaz, 2000; Coelho 2003). A vitamina D é estável à oxidação, ao meio ácido e alcalino, e instável ao calor, à umidade e aos minerais traço e incidência de luz UV (Charlton e Ewing, 2007).

A vitamina E representa um grupo de componentes chamados tocoferóis, onde o α -tocoferol é a molécula biologicamente ativa. Grandes quantidades de vitamina E podem ser armazenadas no fígado, e sua principal função é proteger as membranas das células do corpo de processos oxidativos, e possui uma função sinérgica com o selênio. Recente muitos fabricantes de ração estão utilizando a vitamina E como um antioxidante natural, através de uso de formas biologicamente menos ativas como γ e δ tocoferol. Deficiência de vitamina E são incomuns, mas estão associados a alimentos contendo altos níveis de ácidos graxos polinsaturados (Coelho, 2003). A estabilidade da vitamina E é muito variável nos estudos encontrados, Riaz *et al* (2009) descreve como sendo uma das vitaminas mais sensíveis a extrusão e sendo uma das mais estáveis em relação ao meio ácido, ao calor e à umidade, mas é instável à oxidação (acelerada pela temperatura), luz UV, alcalois, umidade, micotrotoxinas, pelo gordura rançosa e por minerais como o cobre, o zinco, o manganês e ferro (Bjork e Asp, 1983; Charlton e Ewing 2007).

2.2.4 Microelementos: ferro, cobre, zinco e manganês

Cobre

O cobre (Cu) é considerado micronutriente fundamental no metabolismo animal. Sua absorção é antagonizada por outros elementos de transição como o cádmio, zinco, e ânions que formam sais de cobre insolúveis em pH alcalino, exemplo sulfuretos. Ele é absorvido como molécula de baixo peso e forma complexos solúveis com os produtos da digestão e da secreção gastrointestinal; no intestino é absorvido na porção duodenal pelas células epiteliais a partir da difusão passiva e uma pequena quantidade por processos dependentes de energia (Rolfe & Twedt, 1995; Hyun & Filippich, 2004). Cerca de 80% do cobre absorvido tem sua homeostase regulada principalmente pela excreção na bile. A distribuição do cobre após a absorção acontece em duas fases: a primeira envolve o transporte do cobre da mucosa intestinal para o fígado e o rim; a segunda fase envolve o transporte do cobre do fígado para os tecidos periféricos realizado pela ceruloplasmina que atua como transportadora para tecidos específicos, armazenadora e tem como função manter a homeostase desse mineral (Goode *et al*, 1989; Rolfe & Twedt, 1995; González & Silva, 2003).

Nos animais da raça Bedlington terriers, o acúmulo hepático de cobre foi identificado como um distúrbio hereditário do metabolismo normal do cobre no fígado devido a uma ligação anormal à metalotioneína, que sequestra o cobre nos hepatócitos. Esse acúmulo também é relatado como uma característica hereditária nos West Highland White terriers, Doberman pinschers, Skye terriers e potencialmente em outras raças (Sternlieb, 1992; Rolfe e Twedt, 1995).

Sua deficiência é associada à possíveis patologias como anemia, diminuição da atividade de algumas enzimas, espessura da cartilagem e fragilidade óssea (Nunes, 2018). A disponibilidade do cobre nos alimentos é baixa, cerca de 4% e está intimamente ligada à forma química (Ortolani, 2002).

A ceruloplasmina atua como principal biomarcador da atividade do cobre; esta é sintetizada no fígado e secretada na corrente sanguínea de acordo com

o status nutricional do organismo, dos fatores dietéticos, doença, do consumo e da fonte de concentração do elemento. Retendo para cada molécula seis átomos de cobre, cerca de 90% do cobre total está ligado a esta globulina (Underwood; Suttle, 1999 *apud* Nunes *et al*, 2018).

A disponibilidade do cobre nos alimentos é baixa, cerca de 4% e está intimamente ligada à forma química (Ortolani, 2002). O seu transporte do fígado para os órgãos periférico é realizado pela ceruloplasmina que atua como transportadora para tecidos específicos, armazenadora e tem como função manter a homeostase desse mineral (González; Silva, 2003).

Linder *et al* (1979) detectaram aumento na síntese de ceruloplasmina em resposta a grandes doses de cobre na dieta em experimentos com ratos; Koury *et al* (2007) também destacaram o aumento da ceruloplasmina frente à elevados valores de cobre plasmático em humanos. Altos níveis de metais em dietas como prata, cádmio e zinco exerceram um efeito contrário, reduzindo os níveis de ceruloplasmina (Whanger & Weswig, 1970).

Ferro

Ferro (Fe) é encontrado na forma ferroso (Fe^{2+}) e férrico (Fe^{3+}) em estados oxidativos, podendo participar das reações de oxidação-redução essenciais para o organismo ou podem reagir na forma livre diretamente com ácidos graxos insaturados, induzindo à oxidação lipídica (McCown, 2011). O ferro (Fe) é um elemento fundamental à manutenção da vida, com participação obrigatória e indispensável no processo hematológico. Assim, faz-se necessário o conhecimento da dinâmica do metabolismo e absorção desse elemento, junto com compreensão da circulação e armazenamento do mesmo (Pires, 2011).

O Ferro é obtido exclusivamente pela dieta na região apical do duodeno. A forma não heme (Fe^{3+}) adentra nos enterócitos pela proteína de membrana chamada proteína carreadora heme, sendo assim degradado pela oxinase intracelular e liberando a forma Fe^{2+} . O ferro não heme é insolúvel em pH maior que 3 e a forma heme se mantém solúvel em pH 7, sendo eficientemente absorvida pelos enterócitos duodenais. O ferro é transportado para as células

pelo transportador de metal divalente 1 (DMT1), mecanismo utilizado também pelo manganês, cobre, cobalto, zinco, cádmio e chumbo (Andrews, 1999; Andrews, 2008; McCown, 2011).

O Fe^{2+} pode ser armazenado como ferritina ou transportado para fora da célula para chegar ao plasma (Andrews, 2008; Edison *et al*, 2008). Em circunstâncias normais a transferrina TFR1 ligante é o mecanismo predominante para absorção pelas células. (McCown, 2011). A ferritina sérica reflete os estoques corpóreos totais de ferro, sendo a principal proteína de reserva deste metal no organismo.

A constatação da deficiência de ferro nem sempre é tão explícita, em que o indivíduo pode indicar níveis de ferro sanguíneo normais, porém os de ferritina diminuído. Esta, por sua vez, pode oscilar conforme os níveis de reserva de ferro no organismo, mas também em casos de um processo inflamatório agudo, em que se apresenta em níveis elevados (Andrews & Smith, 2000).

Manifestações clínicas como anemia por deficiência de ferro podem estar associadas à ingestão de quantidades inadequadas do microelemento, absorção prejudicada como no caso da síndrome de má absorção ou doença inflamatória intestinal; além de perdas crônicas de sangue por parasitas, neoplasias, medicamentos ulcerogênicos e etc. Os sintomas se desenvolvem lentamente ao longo de semanas a meses e geralmente incluem palidez, fraqueza, letargia, baixa tolerância ao exercício, taquipneia e taquicardia (McCown, 2011).

A determinação dos parâmetros ligados ao metabolismo do ferro é importante, sendo imprescindível nos casos de deficiência desse mineral (Liste *et al*, 1994). A ferritina sérica reflete os estoques corpóreos totais de ferro, é a principal proteína de reserva deste metal no organismo. Técnicas para a determinação da ferritina sérica são reações dirigidas por anticorpos, como radioimunoensaio, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), imunoturbidimetria e quimioluminescência, de alta sensibilidade (Pires, 2011).

Manganês

O manganês (Mn) é significativo ao desenvolvimento da matriz proteica dos ossos, funcionamento normal dos músculos, tecido nervoso, metabolização de sódio e potássio, à fosforilação oxidativa na mitocôndria, síntese de ácidos graxos e está associado no metabolismo dos aminoácidos e em muitas reações enzimáticas, principalmente as que estão ligadas ao metabolismo de energia (Case *et al*, 2011).

É absorvido no trato gastrointestinal onde suas maiores concentrações são demonstradas no fígado, rins e pâncreas e menores quantidades nos eritrócitos, como em alguns estudos com humanos (Mahoney, 1968). Em animais os autores Anke *et al* (1978) descreveram que a determinação do status do microelemento está ligada às concentrações no fígado, rins, cabelo e cérebro (Paßlack *et al*, 2015).

Sua absorção é dependente do transportador de metal divalente (DMT1) que também corresponde pelo transporte do ferro; deficiências de ferro causam aumento do transportador gerando conseqüentemente um aumento das concentrações de manganês (Ferreira *et al*, 2017). O excesso de manganês é excretado principalmente através da bile e, em menor medida, pela urina. Por outro lado, a deficiência de manganês pode levar a problemas de saúde, como distúrbios ósseos e alterações neurológicas em cães (Klaassen, 1976). Em cães e gatos, não há relatos de sinais clínicos relacionados a deficiência de manganês (Facetti *et al*, 2023).

Como citado por Milne *et al* (1990) & Hoet *et al* (2012) o corpo humano inteiro representa um sistema com multi-compartimentos [células vermelhas do sangue (RBC), células brancas do sangue (WBC), plaquetas e plasma], cada compartimento com uma distribuição diferente de Manganês. Em pessoas saudáveis cerca de 66% de Mn no sangue é encontrado nas RBC, 30% nas WBC e plaquetas e 4% no plasma, sendo um bom indicativo para correlação dos níveis em plasma e na papa de hemácias desse microelemento.

Zinco

O zinco (Zn) é um microelemento importante com ações sobre metabolismo de carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. É essencial para a manutenção da integridade da pele, acuidade gustativa e olfatória e homeostase imunológica. Este possui cinco isótopos, sendo o Zn^{66} e Zn^{64} mais comuns e com 27e 50% de abundancia respectivamente (Barak *et al*, 1993; Pereira, 2020).

No tegumento, o zinco é necessário para o metabolismo da vitamina A, biossíntese de ácidos graxos, modulação imunológica, reação inflamatória, queratinogênese e cicatrização de feridas (Pond, 1995). É encontrado em sua maioria intracelular e sua homeostase é desenvolvida pelo trato gastrointestinal exercendo a troca entre o Zn endógeno e exógeno. Toda fonte dietética é absorvida no intestino delgado e secretada via mecanismo pancreático e intestinal, pela bile (Wang *et al*, 2010; Pereira, 2020).

As deficiências de origem alimentar são resultantes da deficiência de zinco na dieta ou de antagonismos nutricionais quando mesmo administrado na quantidade correta sua absorção é diminuída pela presença de cálcio ou fitato comumente encontrado em farelos vegetais como farelo de trigo e de soja (Case *et al*, 2000), desenvolvendo principalmente dermatoses responsivas ao Zinco, predominantemente em raças oriundas de países nórdicos (White *et al*, 2001; Pereira, 2020). Os fitatos são fosfato de inositol que, devido à sua carga negativa podem ligar-se a cátions como o Zn^{2+} e o Ca^{2+} no trato gastrointestinal, formando assim complexos insolúveis excretados nas fezes. Os fitatos precipitam-se preferencialmente com o zinco, criando um complexo insolúvel com um rácio molar Zn:fitato de 4:1 (Walk *et al*, 2013; Pereira, 2020).

Além disso Cálcio, Cobre e Ferro são propensos a ter interação no compartimento gastrointestinal com o Zinco (Pereira, 2020). A ingestão excessiva de cálcio leva à competição pelos canais de absorção, durante a absorção intestinal, ocasionando deficiência mesmo com a presença de níveis aceitáveis do microelemento na dieta (Case *et al*, 2000). Ferro excessivo também pode competir pelos seus sítios de ligação menores, diminuindo assim a sua absorção (Goff, 2018).

Dados sugerem que a deficiência de zinco interfere na síntese de proteína transportadora de retinol (RBP) pelo fígado e provavelmente também na síntese de algumas outras proteínas plasmáticas. Os baixos níveis plasmáticos de vitamina A observados na deficiência de zinco, podem ser atribuídos a uma capacidade prejudicada de mobilizar vitamina A do fígado na forma do complexo retinol-RBP. Assim a deficiência de zinco pode deprimir a síntese da proteína ligadora de retinol (RBP) no fígado e levar a concentrações mais baixas de RBP no plasma (Christian & West Jr, 1998).

Fontes de minerais

Os minerais na forma inorgânica (sulfatos), um dos mais utilizados na indústria pet, apresentam uma maior instabilidade, podendo está ligada à estrutura e à natureza das suas ligações químicas. Sulfatos contêm o ânion sulfato (SO_4^{2-}), onde o enxofre está ligado a quatro átomos de oxigênio em uma estrutura tetraédrica. A ligação entre o enxofre e os átomos de oxigênio é relativamente forte, mas a ligação entre o ânion sulfato e cátions metálicos é mais fraca e menos estável comparada a outros tipos de minerais (Hawthorne *et al*, 2000).

Sulfatos são geralmente mais solúveis em água do que suas contrapartes em formas de óxidos ou carbonatos. Esta alta solubilidade é devida à forte interação do ânion sulfato com moléculas de água através de hidratação. Quando um mineral sulfato entra em contato com a água, ele tende a se dissociar mais facilmente, comprometendo sua estabilidade e sua disponibilidade na dieta. Em ambientes onde o pH é significativamente alterado, podem se converter em outras espécies químicas, aumentando sua reatividade e diminuindo a estabilidade (Housecroft & Sharpe, 2012).

Os minerais de forma inorgânica amplamente utilizados pelo setor pet ao alcançarem o trato gastrointestinal devem ser inicialmente solubilizados para liberarem íons e serem absorvidos (Araujo *et al*, 2008). Porém, quando na forma iônica possuem facilidade da formação de complexos com outras substâncias no trato digestivo, como outros minerais, proteínas, carboidratos presentes no lúmen, complexos insolúveis que são excretados via fecal justificando o

interesse crescente em explorar fatores que aumentam a absorção ou metabolização dos elementos. Neste sentido, os microelementos administrados na forma de complexo orgânico ou de quelatos, proteinados ou polissacarídeos possuem grandes benefícios devido a sua maior biodisponibilidade (Kiefer, 2005).

Para serem considerados minerais orgânicos ou quelatados devem estar fundamentados e atender os seguintes pontos tecnológicos: o tamanho do quelato deve ser pequeno suficiente para que os minerais, com suas moléculas carregadoras, possam ser absorvidos sem sofrerem digestão. A estabilidade do elemento, em que esses são menos vulneráveis às interações minerais adversas que ocorrem no aparelho digestivo. E por último, neutralidade, onde o composto final não possui carga elétrica, com isto, o quelato pode ser absorvido no trato digestivo do animal na forma original, além de não sofrer possíveis interferências dos demais componentes da dieta, que o tornaria insolúvel (Lopes, 2010).

Na dieta de cães e gatos os minerais ofertados estão na forma inorgânica e para serem absorvidos devem fazer ligação iônica com aminoácidos que estão presentes no estômago, podendo impedir alguns minerais da absorção completa por conta da necessidade de disposição de aminoácidos livres. Desta forma, o uso dos minerais quelatados é importante na dieta para *pets* pela certeza de que serão bem aproveitados no organismo animal (Ogoshi *et al*, 2015).

Segundo Watzke (1998) a extrusão tem um impacto positivo gerando a separação ou partição dos minerais (enriquecimento), ou a destruição de inibidores ou da formação de complexos benéficos entre componentes alimentares e íons metálicos, aumentando assim a sua disponibilidade. No entanto, o impacto também pode ser negativo, devido à desativação de enzimas que degradam os inibidores ou à geração de compostos metálicos insolúveis (por exemplo, oxidação, precipitação).

Karmas & Harris (1988) identificaram uma perda de 3% dos minerais durante o processo de cocção, sendo possível que os minerais não tenham sido perdidos e sim que tenham se combinado com nutrientes ou componentes não alimentares, podem tornar-se indisponíveis para a digestão. Além disso, também

pode ocorrer o efeito oposto: aumento da biodisponibilidade devido à destruição dos agentes de ligação (por exemplo, fitatos). Os estudos sobre perdas incidiram principalmente sobre os minerais Ca, Zn e Fe.

Cozzolino (1997) cita alguns fatores que podem estar relacionados a perda da biodisponibilidade dos metais são: sua forma físico-química (solubilidade, dispersibilidade, presença de agentes ligantes); estado de oxidação; presença de potenciadores como ascorbato (para o ferro), ácidos orgânicos, aminoácidos, peptídeos, ácidos graxos; presença de inibidores como fosfatos, fitatos, polifenóis (taninos), oxalatos, carbonatos; inibidores competitivos dos sítios de ligação ou de absorção das proteínas de transporte (por exemplo, minerais com características de ligação semelhantes).

Uma vez que as formas complexas de íons metálicos podem ter uma capacidade de absorção diferente, o conhecimento da forma química é fundamental para a compreensão do impacto fisiológico do mineral. Nos minerais orgânicos, os agentes quelantes ou carreadores se ligam ao átomo de metal por mais de um ponto, formando uma estrutura química estável e neutra através de ligações covalentes, por meio de agrupamentos aminos ou oxigênio (Leeson & Summers, 2001; Oliveira, 2006). Essa estrutura estável aumenta a disponibilidade do mineral.

Os minerais orgânicos na forma de glicinatos estão englobados dentro da classificação de quelato metal aminoácido. O quelato de aminoácido específico refere-se a um complexo formado entre um íon metálico e um aminoácido específico, nesse contexto a glicina (AAFCO, 1999).

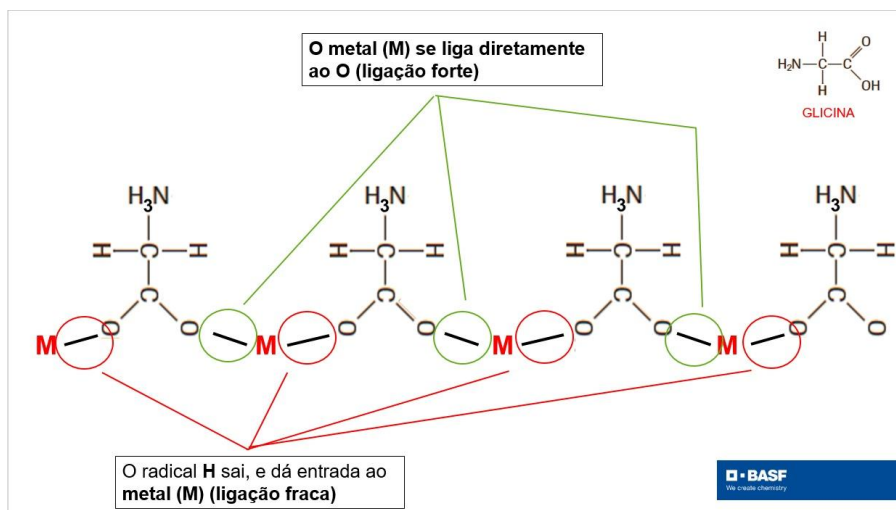


Figura 4. Estrutura mineral glicinato BASF.

Para serem considerados minerais orgânicos devem estar fundamentados e atender os seguintes pontos tecnológicos: o tamanho do quelato deve ser pequeno suficiente para que os minerais, com suas moléculas carregadoras, possam ser absorvidos sem sofrerem digestão. A estabilidade do elemento, em que esses são menos vulneráveis às interações minerais adversas que ocorrem no aparelho digestivo. E por último, neutralidade, onde o composto final não possui carga elétrica, com isto, o quelato pode ser absorvido no trato digestivo do animal na forma original, além de não sofrer possíveis interferências dos demais componentes da dieta, que o tornaria insolúvel (LOPES, 2010).



Figura 5. Minerais de Cobre, Ferro, Manganês e Zinco na forma glicinato (BASF, 2024).

Os microelementos apresentam papéis essenciais na estrutura de tecidos e biomoléculas, além de atuar no metabolismo animal, participando como cofatores enzimáticos, ativação de ação hormonal, como responsáveis pela pressão osmótica e pelo equilíbrio ácido-básico (McDOWELL, 1992). Por isso é importante evidenciar a partir de marcadores individuais as oscilações de cada elemento no organismo e como sua forma química pode influenciar na retenção orgânica de cada um.

2.3.6. Impacto ambiental

A inclusão dos quelatados ou microelementos na forma orgânica deve ser considerada também se baseando na diminuição dos impactos ambientais gerados. Um dos fatores importantes para a sustentabilidade dentro do setor é a redução da competitividade de ingredientes utilizados na nutrição humana. Como apontado por Okin (2017), o setor pode gerar um impacto considerável sobre o ambiente, já que o consumo de produtos por cães e gatos na América do Norte é responsável pela liberação de até 64 milhões de toneladas de CO₂ equivalentes como metano e óxido nitroso, dois poderosos gases que contribuem para o efeito estufa.

Quando gerenciados com responsabilidade, os produtores podem diminuir os efeitos ambientais do descarte de resíduos orgânicos e ajudar a recuperar nutrientes valiosos. Miudezas de animais limpas como vísceras, fígado entre outras fornecem proteínas de boa qualidade e níveis mais altos de microelementos, como ferro, zinco, cálcio e cobre, em comparação com tecidos musculares e podem ser incorporados em alimentos para animais de estimação em formas cruas, secas ou processadas. A renderização desses resíduos evita pelo menos 90% de potenciais emissões de gases do efeito estufa (GEE) quando comparada à compostagem industrial, o que equivale a retirar mais de 12 milhões de carros das ruas (Acuff *et al*, 2021).

Ainda os alimentos para cães têm um impacto maior do que alimentos para gatos, devido ao maior volume de consumo; alimentos úmidos excedem os impactos dos alimentos secos, devido à elevada utilização de recursos naturais para a produção de embalagens. Acuff *et al* (2021) pontua que, globalmente, as categorias de impacto mais relevante para os alimentos de animais de companhia foram determinadas como sendo as alterações climáticas, eutrofização (água doce, marinha, terrestre), utilização da terra e esgotamento dos recursos naturais (água, mineral e fóssil).

Ainda segundo Mechi e Sanches (2010) praticamente toda atividade de mineração implica supressão de vegetação ou impedimento de sua regeneração. Em muitas situações, o solo superficial de maior fertilidade é

também removido, e os solos remanescentes ficam expostos aos processos erosivos que podem acarretar em assoreamento dos corpos d'água do entorno. A qualidade das águas dos rios e reservatórios podem ser prejudicadas por conta dos sedimentos carregados, podendo ser retidos nos efluentes das áreas de mineração, tais como óleos, graxa, metais pesados e consequentemente atingindo as águas subterrâneas.

Outra forma de contaminação ambiental é pelos excrementos de animais de estimação (urina e fezes), que são talvez o contribuinte mais amplamente examinado para impactar o ecossistema. Podendo representar um risco para a saúde pública devido ao potencial de transmissão de microrganismos patogênicos, parasitas ou contaminação de cursos d'água, especialmente em áreas urbanas com população humana e de animais densa (CINQUEPALMI *et al*, 2013; PAILLAT *et al*, 2005). Expondo assim a grande importância do uso de fontes de minerais mais biodisponíveis e com menor excreção, gerando menor consumo desses insumos e menor poluição.

1. HIPÓTESE

Os quatro microelementos na forma de glicinato terão melhor disponibilidade, ao final da extrusão e na vida de prateleira, as rações compreenderão menor número de reações de oxidação dada a baixa reatividade dos microelementos por conta da ligação covalente com aminoácido glicina (glicinato), prolongando a vida útil e diminuindo formação de peróxido.

2. OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a retenção orgânica de zinco, cobre, ferro e manganês na forma de glicinato ou sulfato em rações e avaliação da influência dos glicinatos na extrusão e vida de prateleira (*shelf life*).

3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAFCO, Association of American Feed Control Officials. Official Publication. 1999.

ACUFF, H. L.; DANTON, A. N.; DHAKAL, J.; KIPROTICH, S.; ALDRICH, G. **Sustainability and Pet Food Is There a Role for Veterinarians?** REVIEW ARTICLE, v.51, n.3, p.563-581, may, 2021.

AHN, J.; GRÜN, I. U.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, 24, 7–14. 2007.

ALLES, G. Particle reduction technology. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. **Petfood technology**. Illinois: Mt. Morris, 2003, p. 327-335.

ANDERSSON, Y.; HEDLUND, B.; JONSSON, L.; SVENSSON, S. Extrusion cooking of a high-fiber cereal product with crispbread character. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 58, n. 5, p. 370-374, 1981.

ANDREWS, G.A.; SMITH, J.E. Iron metabolism. In: FELDMAN, B. F.; ZINK, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.129- 134.

ANDREWS, N. C. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med*; 341(26):1986–95. 1999.

ANDREWS, N. C. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood*;112(2):219–30. 2008.

ANKE, M.; SCHNEIDER, H.J.; GRÜN M.; GROPPÉL B.; HENNIG A. The diagnosis of manganese, zinc and copper deficiency and cadmium exposure. **Zentralblatt für Pharmazie, Pharmakotherapie und Laboratoriumsdiagnostik**; 117:688–707. 1978.

ARAÚJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, B. C.; OLIVEIRA, E. R. A. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p.53-60, 2008.

Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET). Disponível em: < <http://abinpet.org.br/site/mercado/>>. Acesso em junho de 2022.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. Atlanta, GA. Official Publication. 2003.

BALLER, M. A. **Aplicação de energia termomecânica na formação dos kibbles, palatabilidade, digestibilidade e retenção de nutrientes em alimentos extrusados para cães e gatos**. Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, Jaboticabal, 2020.

BALLER, M. A.; PACHECO, P. D. G.; VITTA-TAKAHASHI, A.; PUTAROV, T. C.; VASCONCELLOS, R. S.; CARCIOFI, A. C. Effects of thermal energy on extrusion characteristics, digestibility and palatability of a dry pet food for cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 105, p. 76-90, 2021.

BALLER, M.A.; PACHECO, P.; MONTI, M.; PACHECO, P.D.G.; PERES, F.M.; CARCIOFI, A.C. The effects of in-barrel moisture on extrusion parameters, kibble macrostructure, starch gelatinization, and palatability of a cat food. **Anim. Feed Sci. Technol.** 246, 82–90. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.10.003>

BARAK P.; HELMKE, P. A. The Chemistry of Zinc. in A. D. Robson (ed.), **Zinc in Soils and Plants Springer**: Dordrecht, Netherlands, 1993.

BAZOLLI, R.S.; VASCONCELLOS, R.S.; DE-OLIVEIRA, L.D.; SÁ, F.C.; PEREIRA, G.T.; CARCIOFI, A.C. Effect of the particle size of maize, rice, and sorghum in extruded diets for dogs on starch gelatinization, digestibility, and the fecal concentration of fermentation products. **J. Anim. Sci.** 93, 2956–2966. 2015.

BERGER, K. G.; HAMILTON, R. J. **Developments in Oils and Fats**; Hamilton, R. J., ed.; Chapman & Hall: London, cap. 7, 1995.

BJÖRCK, I.; ASP, N.G. The effects of extrusion cooking on nutritional value - A literature review. **J. Food Eng.** 2, 281–308. 1983.

BRENNAN, C., BRENNAN, M., DERBYSHIRE, E., TIWARI, K. B. Effects of extrusion on the polyphenols vitamins and antioxidants activity of foods. **Food Sci. Technol.** 22, 570-575. 2011.

CALLIGARES, S.; MANZOCCO, L., ANESE, M., NICOLI, M. C. Shelf CARCIOFI, A. C.; BAZOLLI, R. S.; PRADA, F. Ácidos graxos poliinsaturados $\omega 6$ e $\omega 3$ na alimentação de cães e gatos. **Rev.educ.contin.CRMV-SP/Continuous Education Journal CRMV-SP**. São Paulo. volume 5. fasciculo 3, p.268-277. 2002.

CARCIOFI, A. C.; TAKAKURA, F.S.; DE-OLIVEIRA, L.D.; TESHIMA, E.; JEREMIAS, J.T.; BRUNETTO, M.A.; PRADA, F. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.** (Berl). 92, 326–336. 2008.

CARCIOFI, A.C.; PALAGIANO, C.; SÁ, F.C.; MARTINS, M.S.; GONÇALVES, K.N.V.; BAZOLLI, R.S.; SOUZA, D.F.; VASCONCELLOS, R.S. Amylase utilization for the extrusion of dog diets. **Anim. Feed Sci. Technol.** 177, 211–217. 2012.

CASE, L. P., DARISTOTLE, L., HAYEK, M. G., RAASCH, M. F. **Canine and feline nutrition**. Elsevier. 2011.

CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A.; DARISTOTLE, L. **Canine and feline nutrition: A resource for companion animal professionals**. Mosby, Inc., St. Louis, Missouri, USA, 2000.

CHARLTON, S. J.; EWING, W. N. The vitamin directory. Context Products Ltd. England. 2007.

CHRISTIAN, P.; WEST JR, K. P. Interactions between zinc and vitamin A: an update. **Am J Clin Nutr.** 68(suppl):435S–41S. USA. American Society for Clinical Nutrition, 1998.

CINQUEPALMI V.; MONNO R.; FUMAROLA L.; VENTRELLA, G.; CALIA, C.; GRECO, M. F.; DE VITO, D.; SOLEO, L. Environmental contamination by dog's faeces: a public health problem? **Int J Environ Res Public Health**, v.10: p.72-84, 2013.

COELHO, M. Vitamins and carotenoids in pet care. In: Kvamme, J. L.; Phillips, T.D. (Eds.). **Pet Food Technology**. Mt. Morris, IL: Watt Publishing Company. 2003.

COUTO, H. P. **Fabricação de rações e suplementos para animais - Gerenciamento E Tecnologias**. Viçosa: CPT, 226p.2008.

COWELL, C. S.; STOUT, N. P.; BRINKMAN, M. F.; MOSER, E. A.; CRANE, S. W. Making commercial pet food. In: HAND, M. et al. **Small animal clinical nutrition**, 4ed Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p. 127-146.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. **R. Nutr. Campinas**, 10(2): 87-98, jul./dez., 1997.

CRANE, S.W.; GRIFFIN, R.W.; MESSENT, P.R. Introduction to commercial pet foods. In: HAND. M. et al. **Small animal clinical nutrition**. 4 ed. Kansas: Mark Morris Institute. 2000, p.111-126.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*. Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DE-OLIVEIRA, L.D.; DE CARVALHO PICINATO, M.A.; KAWAUCHI, I.M.; SAKOMURA, N.K.; CARCIOFI, A.C. Digestibility for dogs and cats of meat and bone meal processed at two different temperature and pressure levels. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.** (Berl). 96, 1136–1146. 2012.

EDISON, E. S.; BAJEL A.; CHANDY M. Iron homeostasis: new players, newer insights. **Eur J Haematol**; 81(6):411–24. 2008.

FAHEY Jr., G.C. Soybean use – Companions Animals. Soybean Meal Information Center. Illinois Urbana Champaign, 2007, p.2 - 4.

- FAO. Quality and quality changes in fresh fish: post mortem changes in fish. Roma: FAO, 2003.
- FASCETTI, A. J.; DELANEY, S. J.; LARSEN, J.A.; VILAVERDE, C. **Applied Veterinary Clinical Nutrition**. Wiley-Blackwell; 2 ed. Set. 630p. 2023.
- FERREIRA, M. F.; AYLOR, A. E. A.; MELLANBY, R. J.; CAMPBELL, S. M.; GOW, A. G. Investigation of manganese homeostasis in dogs with anaemia and chronic enteropathy. **Open Veterinary Journal**, Vol. 7(4): 360-366. 2017.
- FOGAÇA, F.H.S.; SANT'ANA, L.S. Oxidação lipídica em peixes: mecanismo de ação e prevenção. **Archives of Veterinary Science**, v.14, n.2, p.117-127, 2009.
- FRAIHA, M. Efeitos da temperatura, pressão e taxa de cisalhamento sobre a viabilidade de esporo termofílico durante a extrusão de alimentos para animais. Tese de Doutorado. Tese. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola.--Campinas, SP. 2008.
- FRANKEL, E. N. **Lipid oxidation**. 2ed. Bridgwater: OilyPress, p. 391-405. 2005.
- FRANKEL, E. N.; GERMAN, J. B.; DAVIS, P. A. Headspace gas chromatography to determine human low density lipoprotein oxidation. **Lipids** 27, 1047–1051. 1992.
- GADIENT, M. Effect of pelleting on nutritional quality of feed. **Proceedings of Maryland Nutrition Conference**. pp. 73–79. 1986.
- GIBSON, M.; ALAVI, S. **Pet Food Processing — Understanding Transformations in Starch during Extrusion and Baking** 58, 232–236. 2013.
- GOFF J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid-base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status, **J. Dairy Sci.** 2018.
- GONZÁLEZ, F. H.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 198p. 2003.
- GOODE, C.A.; DINH, C.T.; LINDER, M. C. Mechanism of copper transport and delivery in mammals: Review and recent findings. In Kies C (ed): **Advances in Experimental Medicine and Biology: Copper Bioavailability and Metabolism**. New York, Plenum Press, pp. 131-144. 1989.
- Harper, J. M. Effects of extrusion processing on nutrients. In: **Nutritional Evaluation of Food Processing**. Karmas, E. and Harris, R.S. Eds., Van Nostrand Reinhold Company, New York, USA. 3rd ed. pp. 365–391.1988.
- HAWTHORNE, F. C.; KRIVOVICHEV, S. V.; BURNS, P. C.; **The Crystal Chemistry of Sulfate Minerals. Reviews in Mineralogy and Geochemistry** 40 (1): 1–112. 2000
- HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Inorganic Chemistry**. Pearson Education. 2012.
- HYUN, C.; FILIPPICH, L. J. Inherited copper toxicosis with emphasis on copper toxicosis in Bedlington terriers. **Journal of Experimental Animal Science**, ed. 43, p. 39–64. 2004.
- KANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. **Meat Science**, v. 36, n. 1/2, p. 169-189. 1994.
- KANNER, J.; ROSENTHAL, L. An assessment of lipid oxidation in foods. *Pure and Applied Chemistry*, v. 64, n. 12, p. 1959-1964. 1992.
- KARMAS, E.; HARRIS, R.S. **Nutritional Evaluation of Food Processing**, Van Nostrand Reinhold, New York. 1988.
- KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.3, p. 206–220, 2005.
- KIRK, J. R. Biological availability of nutrients in processed foods. **Journal of Chemical Education**, v. 61, n. 4, p. 364-367. 1984.

KLAASSEN, C. D. Biliary Excretion of Metals. **Drug Metabolism Reviews**, 5(2), 165–196. 1976.

KOURY, J. C.; de OLIVEIRA, C. F.; DONANGELO, C. M. Associação da concentração plasmática de cobre com metaloproteínas cobre-dependentes em atletas de elite. **Rev Bras Med Esporte**, v. 13, nº 4 – Jul/Ago, 2007.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4 ed. Guelph, Ontario: University Books, 591.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6. ed. São Paulo: Sarvier, 839p. 2014.

life assessment of food undergoing oxidation – a review. **Food Science and Nutrition**. 56, 1903-1912. 2015.

LILLARD, D. A. Effect of processing on chemical and nutrition changes in food lipids. **Journal of Food Protection**, v. 46, n. 1, p. 61-67, 1983.

LINDER M, C, HOULE P, A, ISAACS E, MOOR J, R, SCOTT L, E: Copper Regulation of Ceruloplasmin in Copper-Deficient Rats. **Enzyme**; 24:23-35. 1979.

LOPES, M. T. **Efeito da substituição parcial e total de fontes inorgânicas por fontes orgânicas de microminerais sobre o desempenho e qualidade de carcaças de frangos de corte**. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Erechim, RS – Brasil. Nov. 2010.

LOUREIRO, B. A; Oliveira, M. C. C.; Peixoto, M. C.; Ribeiro, E. M.; Schauf, S.; Castrillo, C.; Carciofi, A. C.. Starch gelatinization implications for nutrient digestibility and fermentation products in the faeces of Beagle dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 309, p. 115894, 2024.

MAHONEY, J.P.; SMALL, W. J. Studies on manganese: III. The biological half-life of radiomanganese in man and factors which affect this half-life. **J Clin Invest**. 47:643–653; 1968.

MAPA. **Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento**. Instrução Normativa nº 44, de 15 de dezembro de 2016.

MASUCHI, M. H.; CELEGHINI, M. S.; GONÇAVES, L. A. G.; GRIMALDI, R. Quantifi cação de TBHQ (terc butil hidroquinona) e avaliação da estabilidade oxidativa em óleos de girassol comerciais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1053-1057, 2008.

MCCOWN, J. L; SPECHT, A. J. Iron Homeostasis and Disorders in Dogs and Cats: A Review. **J Am Anim Hosp Assoc**; 2011.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 524p. 1992.

MECHI, A.; SANCHES, D. L. **Impactos ambientais da mineração no Estado de São Paulo. Estudos avançados**, 24 (68), 2010.

MILNE, D.B.; SIMS, R.L.; RALSTON, N.V. Manganese content of the cellular components of blood. **Clin. Chem.**, 36, pp. 450-452. 1990.

MOSCICKI, L., **Extrusion-Cooking Techniques, Techniques**. 2011.

NUNES, T. S.; SILVA, K. N.; VARGAS JÚNIOR, J. G. Cobre na alimentação animal. In: TRIVILIN, L. O.; CARDOSO, L. D.; da SILVA; M. A.; MENDONÇA, P. P. Tópicos especiais em ciência animal VII. Alegre, ES: Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, **CAUFES**, v.1, 302 p. 2018.

OGOSHI, R. C. S., REIS, J. S., ZANGERONIMO, M. G., & SAAD, F. M. O. B. Conceitos básicos sobre nutrição e alimentação de cães e gatos. **Ciência Animal**, v.25, n.1, 64–75, 2015.

OKIN, G. S. Environmental impacts of food consumption by dogs and cats. **Plus One**, v.12 n. 8, 2017.

OLIVEIRA, R. C; COSTA, L. F; FERNANDES, E. A; ALVARENGA, B. O; MATIOLI, S. R; BELETTI, M. E. Bone histomorphometry of broilers submitted to different phosphorus sources. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 41, n. 10, p. 1517- 1523, 2006.

OLIVEIRA, R. R. **Utilização do ácido fítico como antioxidante natural em produtos cárneos**. 2012. n. f. 32 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – 19. Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2012.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, p. 641-651. 2002.

OTTAWAY, P. B. 19 - Stability of vitamins during food processing and storage, Editor(s): Leif H. Skibsted, Jens Risbo, Mogens L. Andersen, In: Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages, **Woodhead Publishing**, Pages 539-560. 2010.

PACHECO, P.D.G.; PUTAROV, T.C.; BALLER, M.A.; PERES, F.M.; LOUREIRO, B.A.; CARCIOFI, A.C. Thermal energy application on extrusion and nutritional characteristics of dog foods. **Anim. Feed Sci. Technol.** 243. 2018.

PAIANO, D.; BIAZZI, H. M.; TREVISAN, C.; CASAROTTO, S.; ZIMMER, F.; KRAHL, G.; LOPES, L. S. Macro ingredientes como indicadores da qualidade de mistura de rações. **Semina: Ciências Agrárias**, 35(3), 1463–1474. 2014.

PAILLAT J.M.; ROBIN P.; HASSOUNA M.; HASSOUNA, M. Predicting ammonia and carbon dioxide emissions from carbon and nitrogen biodegradability during animal waste composting. **Atmos Environ**, v.39, n.36, p. 6833-6842, 2005.

PANDEY, A.; SZAKACS, G.; SOCCOL, C. R.; RODRIGUEZLEON, A.; SOCCOL, V. T. Production, purification and properties of microbial phytases. **Bioresource Technology**. Essex, v. 77, n. 3 , p. 203-214, 2001.

PAŁACK, N.; MAINZER, B.; LAHRSEN-WIEDERHOLT, M.; SCHAFFT, H.; PALAVINSKAS, R.; BREITHAUPT, A.; ZENTEK, J. Concentrations of strontium, barium, cadmium, copper, zinc, manganese, chromium, antimony, selenium, and lead in the liver and kidneys of dogs according to age, gender, and the occurrence of chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Science**; v.16(1): 57-66. 2015.

PEREIRA, A. M. B. **Improving bioavailability of trace elements in dog feed: The role of organic sources**. Tese Ciência Animal- Universidade do Porto, 2020.

PESCUMA, M. G. **Implicações do porte de cães nas necessidades de processamento e cozimento do amido de rações**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2023.

PIRES, L. S. A.; DITTRICH, R. L.; SOUZA, A. C.; BERTOL, M. A. F.; PATRICIO, L. F. L. Parâmetros utilizados na avaliação do metabolismo do ferro em cães. **Ciência Rural**, v.41, n.2, fev, 2011.

POKORNÝ, J.; KOLAKOWSKA, A. Lipid-Protein and Lipid-Saccharide Interactions. In: SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A. **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**. Boca Raton: CRC PRESS, Cap.17. 2003.

POND, W. G., CHURCH, D. C., POND, K. R. Basic animal nutrition and feeding. 4. ed. New York: John Wiley, 1995.

POZZA, P.C.; POZZA, M.S. DOS S.; RICHART, S.; OLIVEIRA, F.G. DE; GASPAROTTO, E.S.; SCHLICKMANN, F. **Avaliação da moagem e granulometria do milho e consumo de energia no processamento em moinhos de martelos**; 35, 235–238. 2005.

RAMALHO, V. C.; Jorge, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**. vol.29 no.4 São Paulo Jul/Ago. 2006.

RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. Starch: sources and processing. In: Encyclopedia of Food Science. **Food Technology and Nutrition**. 2nd ed. Rev. New York: John Wiley & Sons, p.5567-5572, 2003.

RIAZ, M. **Extruders in food applications**. Lancaster. 2000.

RIAZ, M.N. **Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds**. Agrimedia, Clenze, USA. 2007.

RIAZ, M.N.; ASIF, M.; ALI, R. Stability of vitamins during extrusion. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 49, 361–368. 2009.

RIBEIRO, P.M. **Oxidação lipídica no processo de extrusão em pet food.** Dissertação (Mestrado), no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração: Produção Animal. 2018.

ROLFE, D. S.; TWEDT, D. C. Copper-associated hepatopathies in dogs. Liver disease In: **Veterinary clinics of north america: small animal practice**, VOL. 25 • N. 2, MARCH, 1995.

SÁ, F. C. **Efeito da suplementação de enzimas sobre o processamento e digestibilidade de dietas extrusadas para cães contendo farelo de trigo.** XII, 45 P. II. Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, Jaboticabal, 2011.

SÁ, F. C. **Energia Mecânica, Energia Térmica E Moagem Na Extrusão De Alimentos Para Cães E Gatos.** VII, 94 P. II. Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, Jaboticabal, 2015.

SATHE, S. K.; REDDY, N. R. Introduction. In: REDDY, N. R.; SATHE, S. K. **Food phytates**, Florida: CRC Press, 2002. p. 1-4.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 135, n. 2, p. 1-41, 2007.

SHARMA, S., KAUR, S., DAR, B., SINGH, B. Storage stability and quality assessment of processed cereal brans. **Journal of Food Science and Technology** 51, 583–588. 2014.

SHEN, Q.; ZHANG, Z.; EMAMI, S.; CHEN, J.; LEITE NOBREGA DE MOURA BELL, J. M.; TAHA, A. Y. Triacylglycerols are preferentially oxidized over free fatty acids in heated soybean oil. **npj Science of Food**, v. 5, n. 1, p. 7, 2021.

SILVA, A.A.; PENA, S.A.; ASSIS, F.G.; CASTILHA, L.D.; NASCIMENTO, S.T.; VASCONCELLOS, R.S. **Estabilidade oxidativa e qualidade de bifeinhos para cães formulados com antioxidante natural** v. 11 No. 02 p. 103-206. 2017.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos Para Avaliação Do Grau De Oxidação Lipídica E Da Capacidade Antioxidante. **Quim. Nova**, p. 94-103. 1999.

SILVA, I. C. Fontes e níveis de metais de transição sobre a estabilidade oxidativa em pet food. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração Produção Animal. 2021.

SJÖVALL, O.; LAPVETELÄINEN, A.; JOHANSSON, A.; KALLIO, H. Analysis of volatiles formed during oxidation of extruded oats. **Agric. Food Chem.** 45, 11, 4452–4455. 1997.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição. Campinas**, v.15, n. 1, p. 71 – 81. 2002.

SPEARS, J. K.; FAHEY, G. C. Resistant Starch as Related to Companion Animal Nutrition, **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, Volume 87, Issue 3, , Pages 787–791. 2004.

ŚPITALNIAK-BAJERSKA, K., SZUMNY, A., KUCHARSKA, A. Z., & KUPCZYŃSKI, R. Effect of natural antioxidants on the stability of linseed oil and fish stored under anaerobic conditions. **Journal of Chemistry**, 2018.

STERNLIEB, I. Copper and the Liver: Comparative Aspects in man and animals. In: **Proceedings of the 10th American College of Veterinary Internal Medicine Forum**, San Diego, CA, pp. 49-52. 1992.

TIAN, F.; DECKER, E.A.; GODDARD, J.M. Controlling Lipid Oxidation Of Food By Active Packaging Technologies. **Food. Funct.**, 4 (2013), Pp. 669-680.

TRAN, Q., **Extrusion processing: Effects on Dry Canine Diets.** 2008.

ULLRICH, F., GROSCH, W. Identification of the most intense odor compounds formed during autoxidation of methyl linolenate at room temperature. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 65(8), 1313–1317. 1988.

ULLRICH, F.; GROSCH, W. Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. **Z. Lebensm. Unters. Forsch.** 184, 277-282. 1987.

VASCONCELLOS, R. S. A segurança do uso de antioxidantes sintéticos em pet food. **Rev. Pet Food Brasil**, ed. 16, p. 16-18, 2011.

VITALI, A. A., QUAST, D. G. Shelf life de alimentos. In: Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. 3 ed. Campinas: **ITAL. Manual Técnico**, 2004. p. 49-57.

WANG X., B. ZHOU. Dietary zinc absorption: A play of ZIPs and ZnTs in the gut, **IUBMB Life** 62(3). 2010.

WATZKE, H. Impact of processing on bioavailability examples of minerals in foods. **Trends in Food Science & Technology** 9, p.320-327. 1998.

WHANGER, P. D.; WESWIG, P. H. Effect of some copper antagonists on induction of ceruloplasmin in the rat. **J. Nutr.** v.100: 341-348, 1970.

WHITE, S.D.; BOURDEAU, P.; ROSYCHUK, R.A.; COHEN, B.; BONENBERGER, T.; FIESELER, K.V.; IHRKE, P.; CHAPMAN, P.L.; SCHULTHEISS, P.; ZUR, G.; et al. Zinc-responsive dermatosis in dogs: 41 cases and literature review. **Vet. Dermatol.** 12, 101–109. 2001.

ZENG, M.; MORRIS, C.F.; BATEY, I.A.N.L.; WRIGLEY, C. W. Sources of Variation for Starch Gelatinization, Pasting, and Gelation Properties in Wheat. **Am. Assoc. Cereal Chem.** 74, 63–71. 1997.

CAPÍTULO 2 – MICROELEMENTOS ORGÂNICOS *versus* INORGÂNICOS: IMPACTO SOBRE VIDA DE PRATELEIRA

1. INTRODUÇÃO

Microelementos são essenciais para o desenvolvimento de cães e gatos. Zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe) e manganês (Mn) são elementos essenciais envolvidos em processos digestivos (Huang *et al*, 2019), funções fisiológicas (Vohra and Kratzer, 1957), respostas imunológicas (Smith *et al*, 2018), e síntese biológica (Pasternak *et al*, 2012). Deficiências em minerais podem levar à redução da qualidade de vida e comprometimento do desenvolvimento do animal (Suttle, 2010).

Para evitar deficiências em animais de companhia, os microelementos devem ser suplementados através de sais inorgânicos, como carbonatos, óxidos ou sulfatos, uma vez que os ingredientes utilizados na ração não suprem todas as necessidades nutricionais de cães e gatos. No entanto, fontes inorgânicas possuem baixas solubilidades, baixa digestibilidade, e o uso dessas fontes leva à poluição ambiental através da excreção (Ashmead, 1993; Goff, 2018). Em animais de produção, microelementos ligados a moléculas orgânicas, como aminoácidos, têm sido empregados como uma alternativa às fontes inorgânicas para melhorar o desempenho e o estado de saúde (Favero *et al*, 2013; Pereira *et al*, 2020; Silva *et al*, 2020; Noetzold *et al*, 2022).

Os micro-minerais que estão ligados a diferentes moléculas orgânicas possuem características e biodisponibilidades distintas, a AAFCO (2002) padronizou a classificação como quelatos, bis-glicinatos, proteinatos e minerais complexados com aminoácidos com base na molécula orgânica utilizada. No Brasil, o Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA), através da INSTRUÇÃO NORMATIVA No 110, DE 24 DE NOVEMBRO DE 2020, classifica todos os microminerais orgânicos como quelato (ferro quelato, cobre quelato, zinco quelato e manganês quelato). O AAFCO (2002) refere-se a um íon metálico ligado a um aminoácido, que cria um mineral orgânico estável, solúvel e menos suscetível a interações com outras moléculas orgânicas, como as vitaminas. Consequentemente, o mineral orgânico é mais disponível para o organismo em comparação ao sal inorgânico (Goff, 2018). Isso ocorre porque na absorção no

intestino essas moléculas não participam do processo de competição iônica, que envolve interações antagônicas que inibem o processo de absorção (Ashmead, 1993).

Para produzir alimentos que atendam às exigências de animais de estimação, além de formulas de dietas balanceadas, precisa-se observar o processamento por extrusão e o período de vida de prateleira. Mesmo que, as dietas sejam formuladas seguindo as necessidades nutricionais, por meio da composição química dos ingredientes, é conhecido que a condição do processamento dos alimentos por extrusão promove efeitos indesejáveis, incluindo destruição de vitaminas, oxidação de lipídeos e redução na disponibilidade de vitaminas (Baller, 2020), aminoácidos, principalmente da lisina, envolvida na reação de Maillard (Lankhorst *et al*, 2007, Baller *et al*, 2018), que infelizmente ainda são pouco conhecidos e usados pelos e pela indústria. Os micro-minerais contribuem para a oxidação da gordura presente nas dietas, agindo como catalisadores na formação de radicais livres (HILL, 2003). Os radicais livres que resultam dessa oxidação podem reagir com os nutrientes do alimento, como as proteínas, vitaminas ou outros constituintes, reduzindo a qualidade nutricional do alimento e induzindo o stress oxidativo no organismo (Kanner, 2007; Marquéz-Ruiz *et al*, 2008; Lillard, 1983).

Tendo em vista os possíveis efeitos das interações entre as fontes de micro-minerarias e o processo de extrusão sobre o valor nutricional das dietas para cães, neste estudo foram avaliadas as modificações oxidativas e *shelf life* ocorridas em alimentos extrusados para cães contendo diferentes fontes de micro-nutrientes (ferro, cobre, zinco e manganês).

2. OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi avaliar a influência da estrutura química dos microminerarias (zinco, cobre, ferro e manganês) orgânica na forma de glicinato ou inorgânica na forma de sulfato em dietas de cães sobre a influência no processo de extrusão e sobre a vida de prateleira (*shelf life*).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal (FCAV/UNESP) em parceria com a MCassab e BASF.

As dietas experimentais foram obtidas pela inclusão de sulfato e glicinato à formulação, gerando três dietas experimentais: uma dieta controle sem mineral (DC), uma dieta controle com os minerais orgânicos (DCG), uma dieta controle com os minerais inorgânicos (DCS). A alteração da fonte de mineral de orgânico para inorgânico foi realizada em substituição ao premix mineral, permanecendo os demais ingredientes inalterados (Tabela 1).

3.1. Dietas experimentais

Três dietas para cães adultos em manutenção, foram formuladas seguindo as recomendações da *The European Pet Food Industry Federation* FEDIAF (2022), conforme descrito na Tabela 1, com as inclusões de microelementos 1,5 vezes do recomendado pelo FEDIAF (2022).

Foram utilizadas no estudo uma dieta controle sem mineral (DC), uma dieta controle com os minerais orgânicos (DCG), uma dieta controle com os minerais inorgânicos (DCS). Os minerais orgânicos são os glicinatos, produzidos pela empresa BASF, a fonte de ferro é glicinato de ferro (quelato ferroso de hidrato de glicina), possui 21% de ferro (Fe), densidade 750 – 1000 kg/m³, solúvel em água, com coloração bege a acastanhado, a fonte de cobre é glicinato de cobre (quelato de cobre (II) de hidrato de glicina (sólido)), densidade 800 – 1200 kg/m³, solúvel em água, com coloração azul turquesa, a fonte de manganês é glicinato de manganês (quelato de manganês de hidrato de glicina), densidade 600 – 1000 kg/m³, solúvel em água, com branca e a fonte de zinco é glicinato de zinco (quelato de zinco de hidrato de glicina), densidade 800 – 1100 kg/m³, solúvel em água, com branca a bege. Os minerais inorgânicos são sulfatos (Mayara vai pegar RT).

Para serem adicionados a dieta, as fontes de microelementos orgânicas ou inorgânicas foram inicialmente diluídas em milho moído e homogeneizadas em misturador tipo Y. Após esta pré-diluição e pré-mistura, foram adicionados no misturador juntamente com o restante dos ingredientes. A composição

química das dietas experimentais após o revestimento com gordura de aves e intensificador de palato foi semelhante entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 1. Formula das dietas experimentais.

Ingrediente (%)	Tratamentos ^a		
	Controle	Glicinato	Sulfato
Milho Grão	54,63	54,60	54,60
Farinha vísceras de aves (<i>low ash</i>)	27,72	27,72	27,72
Gordura de Aves	7,94	7,94	7,94
Fibra de Cana	4,90	4,90	4,90
Palatabilizante ¹	3,00	3,00	3,00
Sal Comum	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Potássio	0,48	0,48	0,48
Cloreto de Colina	0,32	0,32	0,32
Premix vitamínico	0,04	0,04	0,04
Premix mineral	-	0,09 ³	0,07 ⁴
Calcário	0,30	0,30	0,30
Antifúngico ⁵	0,10	0,10	0,10
L-Triptofano	0,05	0,05	0,05
Antioxidante ⁶	0,01	0,01	0,01
DL - Metionina	0,02	0,02	0,02

a- DC – Dieta controle; DCG – Dieta controle fonte orgânica (glicinato); DCS – Dieta controle fonte inorgânica (sulfato);

1 Palatabilizante Líquido, SPF do Brasil Indústria e Comércio Ltda., Descalvado, Brasil.

2 Adicionado por kg da dieta: Vitamina A, 17,550 IU; Vitamina D3, 1,600 IU; Vitamina E, 83,5 IU; Vitamina K3, 1,5 mg; Vitamina B1, 5 mg; Vitamina B2, 14 mg; ácido pantotênico, 33 mg; Vitamina B6, 3,5 mg; Vitamina B12, 78 mcg; Vitamina B3 38 mg; niacina 0.0625; ácido fólico, 60 mcg

3 Ferro glicinato, 63mg; cobre glicinato, 12,5 mg; manganês glicinato, 10 mg; zinco glicinato, 125 mg; iodo, 1.8 mg; selênio, 0.33 mg (MCASSAB)

4 Ferro sulfato 63mg; cobre sulfato, 12,5 mg; manganês sulfato, 10 mg; zinco sulfato, 125 mg; iodo, 1.8 mg; selênio, 0.33 mg (MCASSAB)

5 Antifúngico, REDOXR KEMIN do Brasil LTDA.

6 Antioxidante, ANTIOXTM AV Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda., Araucária, Brasil.;

Tabela 2. Composição bromatológica das dietas experimentais.

Ingrediente (%)	Tratamentos ^a		
	Controle	Glicinato	Sulfato
Matéria Seca	93,3	93,47	93,41
Matéria Mineral	4,75	4,69	4,78
Fibra Bruta*	3,17	3,58	3,56
Proteína Bruta*	25,91	27,60	27,63
Extrato Etéreo Hidrólise Ácida*	13,81	14,59	14,78
Cálcio (Ca)	0,64	0,72	0,73
Fósforo (P)	0,61	0,66	0,66
Enxofre	-	-	-
Cobre (Cu) ¹	17,5	34,0	32,0
Ferro (Fe) ¹	145,0	200,0	190,0
Manganês (Mn) ¹	15,9	24,3	23,4
Zinco (Zn) ¹	50,0	165,0	160,0

*teores na MS

a- Dieta controle; Dieta controle fonte orgânica (glicinato); Dieta controle fonte inorgânica (sulfato);

¹valores em miligramas (mg)

3.2 Processamento das dietas

As dietas experimentais foram produzidas na Fábrica de rações da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal (FCAV/UNESP). Os ingredientes foram misturados e moídos em moinho de martelos (Sistema Tigre de Mistura e Moagem, Moinhos Tigre Ltda, São Paulo, Brasil), em peneira de 0,8 mm, posteriormente as dietas foram extrusadas em extrusora de rosca simples (Mex-250, Manzoni Industria Ltda, Campinas, Brasil) com capacidade de processamento de 250 kg/h. Para determinação dos efeitos da extrusão sobre a oxidação das rações, os parâmetros variáveis de processo: adição de água, taxa de alimentação e velocidade da rosca extrusora permaneceram inalterados para as duas rações. Após a estabilização do sistema, as condições de processamento foram registradas a cada 15 minutos como a velocidade da rosca de alimentação (rpm); velocidade do eixo do pré-condicionador (rpm); fluxo de água e de vapor no pré-condicionador (kg/h); temperatura da massa à saída do pré-condicionador (°C); velocidade da rosca da extrusora (rpm); carga do motor (A); temperatura (°C) e pressão (bars) da massa antes da placa extrusora;

velocidade da faca de corte (rpm); pressão do vapor (psig); temperatura ambiente (°C) e umidade do ar (%). A densidade aparente dos kibbles após a extrusão e após a secagem (g/L) foi registrada a cada tempo de amostragem, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros de processamento das dietas experimentais.

Ingrediente (%)	Tratamentos ^a			Valor P
	DC	DCG	DCS	
Pré condicionador				
Temperatura da massa (°C)	86,30	88,00	89,50	0,36
Umidade da massa (%)	27,70	27,00	27,50	
Massa do condicionador para extrusora (kg/h)	216,00	234,00	216,00	
Extrusora				
Amperagem (A)	42,70	41,00	41,00	
Pressão (Mpa)	15,90	15,20	14,80	
Temperatura da massa (°C)	89,25	88,75	89,00	
Umidade da massa (%)				
Produtividade (kg/hr)	216,00	204,60	207,20	
Energia Mecânica Específica (kW-h/ton)				
Macroestrutura do kibble				
Densidade aparente (g/L)	380,0	374,8	382,8	

a- DC – Dieta controle; DCG – Dieta controle fonte orgânica (glicinato); DCS – Dieta controle fonte inorgânica (sulfato);

3.3. Análises laboratoriais

3.3.1. Teste de *shelf life*

Para o teste de *shelf life* as rações com diferentes fontes de minerais foram coletadas 1 kg de amostra dos tratamentos DC sem mineral, DCG e DCS ao final do engorduramento e acondicionadas em embalagens de filme poliéster com acabamento tipo “mate” 12 micrómetro (µm), laminado com polietileno pigmentado de 108 micrómetros (µm) e seladas para evitar o contato com o meio externo. Todas as amostras foram acondicionadas em estufa a 30°C e 65% de umidade relativa (Nova Ética, Modelo: 410/6NDR, Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil) e mantidas nestas condições por 12 meses. As embalagens foram dispostas dentro da estufa de maneira que não houvesse influência do local dentro da estufa.

A cada cento e vinte dias uma amostra de cada tratamento foi retirado da estufa para a realização das análises laboratoriais, seguindo a metodologia

Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2009. Desta forma, as amostras foram retiradas nos dias 0, 120, 240 e 360. Determinou-se a umidade seguindo as recomendações da AOAC, 1995. As análises dos índices de peróxido foram feitas a cada 45 dias.

3.3.2. Composição bromatológica

A composição química de cada tratamento foi determinada nas rações após a cobertura por gordura de aves e palatabilizante. Determinou-se analisados seguindo as recomendações da AOAC, 1995 para matéria seca (MS) (method 934.01), umidade (U), matéria mineral (MM) (method 942.05), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) (method 990.03). Os extrativos não nitrogenados foram determinados pela diferença entre 100% e os demais nutrientes analisados em cada dieta.

3.3.3. Determinação dos micro-minerais cobre, zinco, ferro e manganês

A determinação dos microelementos (cobre, zinco, ferro e manganês) nas dietas foi de acordo com as metodologias (968.08) descritas pela AOAC (2019).

Para a determinação da concentração total dos elementos químicos Cu, Fe, Mn e Zn foi utilizado um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (Nexlon 2000, PerkinElmer, Norwalk, CT, EUA), operando com argônio de alta pureza (99,999%, AirLiquid, Brasil).

Os padrões de calibração analíticos foram preparados numa concentração variando entre 0 e 200 ug.L⁻¹, com uma solução de HNO₃ 2%, purificado por destilação abaixo da temperatura de ebulição (sub-boiling), utilizando destilador de quartzo (Kürner Analysentechnik). Para verificar a exatidão e a precisão da análise, materiais de referência certificados provenientes do Wadsworth Center – New York State Department of Health, National Institute of Standards & Technology (NIST) e Centre de Toxicologie du Quebec Canadá (INSPQ) foram analisados.

Após otimização do equipamento e análise das curvas de calibração, cada amostra diluída foi injetada diretamente no equipamento, com leituras em triplicata e os resultados com resultados expressos em ug/L ou ng/g. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Toxicologia Analítica e de Sistemas

da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (ASTox), da Universidade de São Paulo, sob coordenação do Prof. Fernando Barbosa Júnior.

3.3.4. Perfil de ácidos graxos

Para análise, a metodologia seguiu o que foi descrito por Silva (2021) cromatográfica, aproximadamente 100 mg de óleo foram pesados em um tubo e misturados com 2,0 mL de n-heptano, agitando por 2 min. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de solução de KOH/metanol (2,0 mol L⁻¹) e a mistura foi agitada por 2 min. Após a adição de 500 µL de padrão interno (23:0), a fase superior da mistura foi coletada e injetada no GC. A análise cromatográfica foi realizada em uma cromatografia Thermo Scientific TRACE Ultra 3300 equipada com um detector de ionização de chama, um sistema de injeção de amostra com/sem divisão e uma coluna capilar de sílica fundida (Select FAME, 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, filme de 0,25 µm espessura, cianopropil como fase estacionária). As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 235 °C. A temperatura da coluna foi iniciada em 165 °C, mantida por 7 min nesta temperatura, aquecida até 185 °C com rampa de 4 °C min⁻¹, mantida por 3 min, aquecida até 235 °C com rampa de 6 °C min⁻¹, e mantida nesta temperatura por 2,67 min, totalizando 26 min de análise. O hidrogênio foi usado como gás de arraste a uma vazão constante de 1,2 mL min⁻¹ e o nitrogênio como gás de reposição a 30 mL min⁻¹. A chama do detector foi produzida com H₂ e ar sintético em vazões de 30 e 300 mL min⁻¹, respectivamente. As amostras foram injetadas em modo split na proporção de 1:40 e um volume de injeção de 1,0 µL. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados comparando seus tempos de retenção com os dos padrões. Um fator de correção foi utilizado para calcular as concentrações de ácidos graxos, conforme descrito por Visentainer (2014), e os resultados são expressos em mg g⁻¹. Um fator de correção também foi utilizado para contabilizar as leituras do detector, pois a magnitude do sinal gerado pelo detector de ionização de chama é proporcional ao número de átomos de C⁺ ligados aos átomos de hidrogênio.

3.3.5. Concentração de antioxidantes sintéticos BHA e BHT

O residual de antioxidantes BHA e BHT foram determinados por HPLC (High Performance Liquid Chromatography). A extração dos antioxidantes na gordura foi realizada de acordo com o método 983.15 da AOAC. A análise cromatográfica foi realizada em laboratório da MCassab utilizando um módulo de separação, bomba quaternária e detector de fotodiodo. Foi empregada uma coluna Thermo Scientific TG-5MS – 30Mx0,25mmx0,25µm. O método de extração dos analitos e derivatização utilizou do solvente acetonitrila.

3.3.6. Índice de peróxido

Para as análises de índice de peróxido nas rações foi utilizado o método descrito no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2023), método 2021.032.

3.3.7. Compostos voláteis

A análise de compostos voláteis é via cromatógrafo CG-DIC, sendo de interesse da análise para a ração o Hexanal, Octanal, Nonenal e Decadienal.

Para extração, em um tubo de vidro são pesadas 2,0 g de amostra de ração (triturada) que são dissolvidas em 4 mL de Acetato de etila. A mistura é colocada no ultrassom por 20 min em uma temperatura de 40°C, após filtrar o sobrenadante com poros de 0,22 µm antes de serem injetados no CG-DIC.

A análise cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo (Schimadzu GC-2010 Plus, Kyoto, Japão) equipado com um detector DIC, sistema de injeção de amostra split/splitless e uma coluna capilar de sílica fundida (CP-Wax CB, 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,50 µm). As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 250°C. Os compostos voláteis foram analisados em triplicata onde: a temperatura do forno foi programada para iniciar em 40 °C, aumentar para 250 °C usando uma rampa de aquecimento de 4 °C min⁻¹ após 7 min, mantida constante por 5,00 min. Totalizando um tempo de análise de 39 min. O gas hidrogênio (H₂), com fluxo constante de 1,2 mL min⁻¹, foi usado como gás de arraste e o nitrogênio (N₂) como gás auxiliar (make-up) com fluxo de gás de 30 mL min⁻¹. A chama foi produzida no detector utilizando H₂ e ar sintético, com vazões de 40 e 400 mL min⁻¹, respectivamente. As amostras foram injetadas em modo split, com proporção de 1:40 e volume de injeção de 1,0 µL. Os Compostos voláteis foram identificados comparando-se o

tempo de retenção dos constituintes das amostras com os de um padrão analítico.

3.3.8. Vitaminas A, D e E

As análises de vitaminas A (Vitamina A por LC-DAD de acordo com EN 12823-1 2014), D (ISO 14892:2002) foram realizadas no Laboratório da MCassab. As amostras foram extraídas em hexano, homogeneizadas e centrifugadas (AOAC, 2012). Para quantificação foi utilizada a razão entre a área do analito e a área do padrão interno, em comparação com uma curva de calibração. A vitamina E foi determinada de acordo com o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2023), método 2021.060.

3.4. Análise estatística

O estudo foi analisado segundo delineamento inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo, com 3 tratamentos e 4 repetições por tratamento e 5 tempos de análise (0, 60, 120, 240 e 360). A homocedasticidade das variâncias e a normalidade dos erros foram verificadas utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Para a análise estatística, foi realizada uma ANOVA considerando os efeitos dos fatores A (tratamento) e B (tempo) e sua interação. Posteriormente, foi aplicada uma análise de comparação de médias usando o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre os tratamentos e tempos. A unidade experimental foi considerada uma repetição. As análises estatísticas foram realizadas com o programa computacional R x64 (4.1.2).

4. RESULTADOS

Foram feitas análises no farelo e na ração extrusada (pós secagem) de residual de antioxidantes (BHT e BHA), índice de peróxido, compostos voláteis e teores dos microelementos (Zn, Cu, Mn e Fe). Não houve efeito de tratamento para a retenção de antioxidantes ($P < 0,05$), porém para BHT os tratamentos tiveram perdas de 32,87% (DC sem mineral), 35,22% (DCG) e 36,08% (DCS) e para o BHA 29,31% (DC sem mineral), 31,41% (DCG) e 31,76% (DCS), onde as maiores taxas de retenção foram observadas nos tratamentos contendo minerais orgânicos.

Para o peróxido a dieta controle (DC) teve níveis de 2,34 mEq/kg no farelo e 14,42 mEq/kg no extrusado, um aumento de 6,16 vezes em relação ao farelo, a DCS apresentou um nível elevado de peróxido no farelo de 9,20 mEq/kg e de 18,09 mEq/kg no extrusado, aumento de 1,96 vezes comparado com o farelo, o tratamento DCG apresentou 3,92 mEq/kg e de 12,62 mEq/kg, com aumento de 3,21 vezes, porém sem efeito estatístico ($p < 0,05$).

Tabela 4. Estabilidade das dietas experimentais antes e após a extrusão.

Ração	Tratamento	Item			
		BHT	BHA	BHT e BHA	Peróxido
Farelada	DC	72,34±11,02	55,99±2,82	128,33	2,34±0,02
Extrusada		48,56±8,86	39,58±3,82	88,14	14,42±1,40
EPM		5,56	3,29		2,31
Valor de P		0,1	0,85		0,23
Farelada	DCG	67,91±13,61	56,03±0,49	123,94	3,92±0,04
Extrusada		43,99±6,17	38,43±7,30	82,42	12,62±1,92
EPM		6,20	3,90		1,81
Valor de P		0,1	0,85		0,23
Farelada	DCS	66,88±15,21	55,01±2,72	121,89	9,20±0,80
Extrusada		42,75±4,87	37,54±5,04	80,29	18,09±3,52
EPM		5,38	3,94		1,78
Valor de P		0,1	0,85		0,23

Nos resultados da Comparando farelo e extrusado na tabela 5, o hexanal tende a aumentar mais rapidamente no farelo, sugerindo uma maior suscetibilidade à oxidação devido à maior exposição dos lipídios aos fatores ambientais durante o processamento.

O decadienal, um aldeído resultante da degradação de ácidos graxos poli-insaturados, similar ao hexanal, seus níveis foram mais altos no farelo comparado ao extrusado. Esta diferença pode ser atribuída ao processo de extrusão, que tende a proteger os lipídios da oxidação ao encapsulá-los em uma matriz mais estável. Também o nonenal, um derivado principalmente da oxidação de ácidos graxos monoinsaturados, teve seus níveis mais baixos no extrusado sendo apenas os dois compostos que apresentaram uma diferença estatística entre a ração farelada e após a extrusão ($p<0,05$).

No farelo, o octanal aumentou rapidamente, o que é consistente com os outros compostos voláteis analisados, sugerindo uma maior taxa de oxidação. Indicando que a oxidação de ácidos graxos saturados é menos pronunciada, mas ainda relevante para a estabilidade do produto.

Tabela 5. Estabilidade das dietas experimentais antes e após a extrusão.

Ração	Tratamento	Item (ppm/kg) ¹				
		Hexanal	Octanal	Nonenal	Decadienal	Total
Farelada ²	DC	9,42±0,16	2,58±0,40	335,14Aa±10,64	3,05Aa±0,22	350,19
Extrusada ³		8,38±0,26	1,44±0,83	52,22Ba±5,76	1,85Ba±0,11	63,89
EPM ⁴		0,21	0,30	53,54	0,24	
Valor de P		0,14	0,12	<0,01	<0,01	
Farelada ²	DCG	9,59±0,33	4,25±0,35	248,78Ab±0,35	2,38Ab±0,11	265,00
Extrusada ³		8,46±0,57	2,40±0,07	50,89Ba±2,45	2,44Ab±0,47	64,19
EPM ⁴		0,28	0,39	39,98	0,11	
Valor de P		0,14	0,12	<0,01	<0,01	
Farelada ²	DCS	8,73±0,47	3,21±0,23	263,67Ac±5,16	1,83Ac±0,12	277,44

Extrusada ³	8,14±0,14	2,33±0,17	49,61Ba±1,17	2,36Bb±0,28	62,44
EPM ⁴	0,15	0,17	37,62	0,12	
Valor de P	0,14	0,12	<0,01	<0,01	

1-(ppm/kg)particula por milhão por quilo

A Tabela 6 fornece uma visão detalhada sobre os níveis de minerais (Zn, Cu, Mn, Fe) nas dietas fareladas e extrusadas, permitindo avaliar a estabilidade desses nutrientes antes e após a extrusão.

Os níveis de zinco foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre as rações fareladas e extrusadas para os tratamentos, com uma perda de 1,14% na dieta com glicinato (DCG) e a dieta com sulfato (DCS) apresentou uma perda de 6,26% e o Cu apresentou perda de 20% (DC), 13,97% (DCG) e 30,77% (DCS), porém não demonstraram diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$) entre as rações fareladas e extrusadas, indicando que o processo de extrusão não impacta de forma significativa a estabilidade deste mineral.

Os níveis de manganês não foram estatisticamente significativos. Isso sugere que o manganês é relativamente estável tanto em rações fareladas quanto extrusadas. O ferro apresentou uma estabilidade semelhante entre as rações fareladas e extrusadas, com diferenças não significativas. Isso pode indicar que o ferro, semelhante ao manganês, é relativamente estável e menos suscetível às mudanças de processamento.

Tabela 6. Estabilidade das dietas experimentais antes e após a extrusão.

Ração	Tratamento	Item (mg/100g)			
		Zn	Cu	Mn	Fe
Farelada ²		4,35Aa±1,73	2,0±40	1,45±0,26	15,7±0,58
Extrusada ³	DC	4,90Ba±2,31	1,6±0	1,69±1,48	16,0±3,46
EPM ⁴		1,24	0,76	0,56	0,94
Valor de P		<0,01	0,31	0,89	0,97
Farelada ²	DCG	1,76 Ab±4,62	3,1±0	2,62±0,56	20,9±9,24

Extrusada ³		1,74 Ab±1,73	2,67±0,58	2,77±0,94	21,1 ±6,93
EPM ⁴		1,35	0,88	0,40	2,92
Valor de P		<0,01	0,31	0,89	0,97
Farelada ²		1,77Ab±2,89	2,6±0	2,49±2,28	20,0±0,58
Extrusada ³	DCS	1,66Bc±5,46	1,8±4,58	2,69±0,78	20,4 ±8,29
EPM ⁴		2,41	1,77	0,61	2,06
Valor de P		<0,01	0,31	0,89	0,97

Shelf life

Os níveis de ácido alfa-linolênico e o ácido linoleico diminuem ao longo do tempo de vida de prateleira, mas apresentando uma semelhança entre os valores de P sem manifestar resultados estatísticos significativos ($p < 0,05$), com perdas de 8,64% (DC), 12,59% (DCG) e 8,46% (DCS) para o alfa-linolênico e de 18,13% (DC), 10,53% (DCG) e 22,68% (DCS) para o linoleico. O ácido oleico mostra uma redução ao longo do tempo, com perda de 12,8% na dieta controle (DC) e 8,75% na dieta com sulfato (DCS), na dieta com mineral orgânico não foi expressada perdas significativas. Com isso a dieta DCG teve maior estabilidade, sugerindo que a fonte de minerais não afeta significativamente a estabilidade destes ácidos graxos.

Houve redução significativa, porém, sem significado estatístico ($p < 0,05$) dos ácidos graxos analisados durante o tempo de *shelf life*, o ácido graxo oleico (18:1n9); linoleico (18:2n6) e linolênico (18:3n3) apresentaram redução durante a vida de prateleira (Figuras 3, 4, 5). O ácido palmítico apresentou estabilidade durante a *shelf life*.

Tabela 7. Perfil de ácidos graxos (mg/g de gordura) de rações processadas com diferentes fontes de minerais.

Ácido alfa linolênico (18:3n3)					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	0,139±0,0	0,151±0,02	0,142±0,0	0	0,3
60	0,138±0,03	0,135±0,03	0,138±0,02	0,01	0,3

120	0,098±0,0	0,110±0,0	0,091±0,0	0	0,3
240	0,127±0,0	0,132±0,0	0,130±0,01	0	0,3
360	0,120±0,0	0,111±0,0	0,111±0,0	0	0,3
EPM ¹	0,01	0	0		
Valor de P	0,4	0,4	0,4		
Ácido linoleico (18:2n6)					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	3,63±0,36	3,55±0,36	3,66±0,31	0,09	0,8
60	3,13±0,12	3,34±0,35	3,36±0,39	0,09	0,8
120	2,65±0,14	2,77±0,11	2,55±0,09	0,04	0,8
240	2,71±0,08	2,89±0,09	2,83±0,11	0,03	0,8
360	2,88±0,06	2,66±0,04	2,66±0,04	0,03	0,8
EPM ¹	0,09	0,09	0,11		
Valor de P	0,3	0,3	0,3		
Ácido oleico (18:1n9)					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	5,35±0,40	5,26±0,47	5,33±0,35	0,11	0,5
60	4,48±0,23	4,81±1,00	4,17±1,13	0,24	0,5
120	3,88±0,17	4,53±0,11	4,13±0,29	0,1	0,5
240	4,36±0,13	4,93±0,18	4,75±0,19	0,08	0,5
360	4,80±0,13	4,72±0,08	4,72±0,08	0,03	0,5
EPM ¹	0,4	0,4	0,4		
Valor de P	0,5	0,5	0,5		
Ácido palmítico (16:0)					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	1,86±0,71	1,87±0,71	1,87±0,56	0,17	0,23
60	3,18±0,15	2,85±0,40	3,07±0,52	0,11	1,23
120	3,83±0,22	2,97±0,17	3,64±0,16	0,12	2,23
240	3,26±0,18	3,01±0,11	3,29±0,17	0,06	3,23
360	2,54±0,06	2,62±0,04	2,62±0,04	0,02	4,23
EPM ¹	0,17	0,12	0,16		
Valor de P	0,2	0,2	0,2		

Na tabela 7, não há alteração significativa no perfil de ácidos graxos das dietas (P>0,05).

Os níveis residuais de BHA e BHT reduziram significativamente durante a vida de prateleira ($P < 0,01$), como demonstrado na figura 7 e 8. Os resultados da Tabela 8 demonstram que tanto BHT quanto BHA apresentam uma maior retenção inicial em dietas com glicinato (DCG), no entanto durante a vida de prateleira a dieta controle apresentou maior estabilidade com perdas de 35,03% e 28,15% para BHT e BHA contra 58,02% e 41,05% (DCG) e 54,48% e 40,78% (DCS), expressando uma maior retenção a longo prazo e sugerindo que a fonte de minerais não impactou significativamente a estabilidade dos antioxidantes ao longo do tempo de prateleira.

Tabela 8. Residual de antioxidante (ppm/kg) de rações processadas com diferentes fontes de minerais.

BHT*					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	80,23A±17,87	92,82A±28,06	82,67A±21,63	5,48	0,13
60	73,16ABa±12,14	53,47Bb±2,59	53,55Bb±2,65	3,11	<0,01
120	59,08Ba±0,95	40,47Bb±0,26	40,31Bb±1,07	2,66	<0,01
240	60,17Ba±0,92	48,35Bb±3,00	44,56Bb±0,46	2,02	0,05
360	59,18Ba±0,91	40,33Bb±2,15	38,73Bb±0,60	2,8	<0,01
EPM ¹	2,5	5,04	4,04		
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01		

BHA					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	68,18Aa±4,47	76,46Ab±7,29	70,28Aa±2,70	1,48	<0,01
60	57,46B±9,38	55,59B±3,51	54,64B±1,43	0,96	0,3
120	51,69Ca±3,37	50,49BCa±0,50	47,21Cb±4,65	0,94	0,06
240	47,47Ca±1,85	47,93Ca±1,95	41,62Db±0,96	0,9	<0,01
360	46,51Ca±1,46	46,84Ca±3,31	39,79Db±0,52	1,01	<0,01
EPM ¹	1,92	2,57	2,59		
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01		

*elevado log

Tabela 9. Somatório BHT e BHA shelf life.

BHT e BHA (ppm)			
Período (dias)	Tratamento		
	Controle	Glicinato	Sulfato
0	158,67	196,45	168,16
60	142,75	109,05	108,19
120	110,76	90,96	87,52

240	107,64	96,27	86,18
360	102,69	87,17	78,52

Os resultados da Tabela 10 indicam que as fontes de minerais têm um impacto significativo na estabilidade das vitaminas lipossolúveis ao longo do tempo de prateleira.

Houve efeito de tratamento para a retenção das vitaminas lipossolúveis ($p < 0,05$), para a vitamina A os tratamentos tiveram perdas de 89,5% (DC sem mineral), 57,24% (DCG) e 87,41% (DCS) e para a vitamina D 85,01% (DC sem mineral), 62,27% (DCG) e 68,02% (DCS), onde as maiores taxas de retenção foram observadas nos tratamentos contendo minerais orgânicos.

Tabela 10. Estabilidade das vitaminas de rações processadas com diferentes fontes de minerais.

Vitamina A (UI/kg)					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	18056,62A±492,37	17652,37A±131,90	17641,20A±26,81	96,49	0,6
60	13892,61Ba±613,18	10444,39Bb±766,46	11186,83Ba±1702,02	536,06	<0,01
120	1698,46Ca±15,71	9409,34Bb±36,60	2203,95Cb±30,18	1061,9	<0,01
240	1896,41Ca±14,57	7549,43Cb±1569,21	2222,70Ca±34,71	710,61	<0,01
360	1937,89Ca±25,68	7963,54Cb±33,22	2258,55Ca±23,40	834,63	<0,01
EPM ¹	1618,21	888,63	1455,27		
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01		
Vitamina D (UI/kg)					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	1781,94Aa±18,63	1741,23Aa±129,71	1751,11Ab±58,83	18,93	0,6
60	1876,90Aa±114,60	1862,68Aa±55,26	1873,27Aa±183,46	33,71	0,9
120	249,79Ba±1,30	655,15Bb±7,82	521,08BCc±10,04	50,76	<0,01
240	267,68Ba±5,23	657,53Bb±35,00	560,03Bb±17,33	50,3	<0,01
360	250,24Ba±6,43	643,6Bb±30,10	424,03Cc±4,20	48,77	<0,01
EPM ¹	177,29	130,03	149,04		
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01		
Vitamina E (mg/kg)					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	116,42Aa±8,32	104,77Aab±2,40	91,87Ab±1,38	3,3	<0,01
60	88,50B±28,55	92,60A±9,36	79,18A±16,60	5,45	0,1
120	85,70Ba±6,34	93,55Aa±3,40	58,75Bb±0,78	4,62	<0,01
240	75,95B±1,24	87,45A±1,81	79,62A±6,97	1,82	0,23
360	70,20Ba±0,98	44,94Bb±2,51	43,68Bb±4,41	3,76	<0,01
EPM ¹	4,55	4,83	4,27		
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01		

Os resultados da Tabela 11 indicam que as diferentes fontes de minerais têm impacto significativo na formação de compostos voláteis ao longo do tempo de prateleira comparando o próprio tratamento no tempo zero com o tempo 360 ($p<0,05$), para o Hexanal não houve diferenças significativas comparando os tratamentos. O tratamento com glicinato (DCG) demonstrou consistentemente menor formação de octanal, nonenal e decadienal comparado aos outros tratamentos, sugerindo uma melhor proteção contra a oxidação lipídica ($p<0,05$).

Tabela 11. Níveis de compostos voláteis (ppm/kg) dos alimentos processados com diferentes fontes de minerais.

Hexanal					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	8,55±0,24	9,10±0,27	8,40±0,22	0,11	0,3*
120	9,58±0,36	9,68±0,39	9,32±0,42	0,11	0,3*
240	10,23±0,44	10,19±0,48	10,37±0,78	0,15	0,3*
360	12,58±1,05	15,86±1,52	11,98±1,22	0,61	0
EPM ¹	0,41	0,72	0,38		
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01		
Octanal					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	2,27A±0,27	2,05A±0,36	1,94A±0,77	0,14	0,46
120	2,97Aa±0,24	2,56Aa±0,07	1,26Ab±0,17	0,22	<0,01
240	5,48Ba±0,49	4,92Ba±0,54	2,83Bb±0,24	0,36	<0,01
360	6,45Ca±0,34	5,78Cb±0,41	3,29Bc±0,17	0,42	<0,01
EPM	0,45	0,41	0,22		
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01		
Nonenal					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	60,29Aa±0,90	62,88Aa±2,06	75,96Ab±1,83	2,11	<0,01
120	97,26Ba±1,66	86,12Bb±1,53	93,89Ba±1,11	1,46	<0,01
240	109,17Ca±2,17	93,38Cb±5,03	104,66Ca±8,23	2,5	<0,01
360	112,14Ca±1,62	91,15BCb±4,38	102,54Cc±1,92	2,7	<0,01
EPM ¹	5,34	3,23	3,08		
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01		
Decadienal					
Período (dias)	Tratamento			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	2,08A±0,13	1,98A±0,14	1,53A±0,22	0,09	0,05
120	4,2Ba±0,10	2,7Bb±0,14	2,24Bb±0,17	0,25	<0,01
240	8,31Ca±0,17	4,44Cb±0,22	4,69Cb±0,56	0,54	<0,01
360	8,55Ca±0,49	7,29Db±0,72	4,9Cc±0,25	0,48	<0,01

EPM ¹	0,71	0,54	0,39
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01

1 – EPM – Erro Padrão da Média

Tabela 12. Somatório compostos voláteis.

Período (dias)	Compostos voláteis totais		
	Tratamento		
	Controle	Glicinato	Sulfato
0	73,19	76,01	87,83
120	114,01	101,06	106,71
240	133,19	112,93	122,55
360	139,72	120,08	122,71

A variação no índice de peróxido ao longo do tempo sugere flutuações na formação e degradação de peróxidos, com um pico de oxidação das três dietas observado no dia 120 (tabela 13). Nesse período, os valores apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) comparando o próprio tratamento no tempo zero com o tempo 360, apenas no tempo 105, 150 e 330 os tratamentos tiveram diferença significativa quando comparados. Houve um aumento geral na oxidação lipídica, evidenciando maior formação na dieta com os minerais inorgânicos seguida da dieta controle e da dieta com glicinato.

Tabela 13. Índice de peróxido (mEq/kg) dos alimentos processados com diferentes fontes de minerais.

Peróxido mEq/kg					
Período (dias)	Tratamentos			EPM ¹	Valor de P
	Controle	Glicinato	Sulfato		
0	3,73C±0,90	4,17BC±0,73	4,05BCD±0,99	0,24	0,8
60	0,81D±0,33	0,60D±0,32	0,64E±0,23	0,08	0,1
105	2,91CDa±0,31	5,28Bb±0,78	2,88CDEb±0,42	0,37	<0,01
120	10,14A±0,83	9,72A±2,80	11,07A±3,74	0,7	0,1
150	2,57CDa±0,30	5,94Bb±0,78	5,08BCb±0,37	0,45	<0,01
195	0,82D±0,12	1,52D±0,16	1,71E±0,29	0,13	0,4
240	1,70CD±0,15	2,38CD±0,38	2,29DE±0,60	0,14	0,5
285	1,01D±0,18	2,08CD±0,27	1,62E±0,34	0,15	0,3
330	8,29ABa±0,54	10,06Ab±0,62	10,22Ab±0,81	0,32	<0,01
360	6,04B±0,63	5,08B±1,08	6,14B±0,50	0,32	0,2

EPM ¹	0,51	0,52	0,57
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01

1 – EPM – Erro Padrão da Média

5. DISCUSSÃO

5.1. Discussão farelo vs extrusado

Os estudos sobre perdas na extrusão incidiram principalmente sobre os minerais Ca, Zn e Fe, diferente dos resultados apresentados pelo presente trabalho, onde Zn e Fe não apresentaram perdas significativas durante o processo, concomitando com o descrito por Karmas & Harris (1988) que indicaram perdas de 3% dos minerais durante o processo de cocção; sendo possível que esses minerais não tenham sido perdidos e sim que tenham se combinado com nutrientes ou componentes não alimentares, esses podendo se tornar indisponíveis para a digestão e elucidando que o processo de extrusão não teve efeito sobre as perdas dos microelementos. Silva (2021) identificou em estudo que não houve o efeito dos metais de transição como catalisadores do processo oxidativo durante a extrusão, podendo ser justificado pelo curto período do processo de extrusão e a presença de concentrações adequadas de antioxidantes em todos os alimentos, que eventualmente mascararam o efeito

catalítico desses metais. A presença de níveis seguros de antioxidantes pode ter influenciado nos resultados apresentados.

Houve um consumo de antioxidantes no processo de extrusão, sendo as maiores taxas de retenção observadas nos tratamentos contendo minerais orgânicos, correlacionando que mesmo com as concentrações adequadas de antioxidantes houve um destaque em relação a retenção e estabilidade. O consumo dos antioxidantes pode ser explicado devido a atuação pela inibição da oxidação lipídica, estabilizando assim os ácidos graxos por meio da reação com radicais livres, quelando íons metálicos e interrompendo a fase de propagação (Masuchi *et al*, 2008, Silva, 2021).

O índice de peróxido é um método analítico que permite medir os hidroperóxidos, formados no início da oxidação (Shahidi & Zhong, 2005). O teor máximo sugerido para pet food é de 10 mEq/kg para farinhas de origem animal (ABINPET, 2019). Os tratamentos tiveram aumento de de 6,16 vezes na controle (DC, a DCS apresentou aumento de 1,96 vezes comparado com o farelo, a DCG um aumento de 3,21 vezes, indicando que o processo de mistura e extrusão exerceu maior estímulo para o processo de oxidação nas dietas, estes valores sugerem uma maior intensidade da fase de propagação da autooxidação (Sevanian; Hochstein, 1985; Halliwell; Chirico, 1993; Wang; Jiang; Lin, 1995), sendo importante correlacionar a expressão dos compostos secundários da oxidação.

Todas as rações apresentaram valores acima do sugerido pela ABINPET, sugerindo que as modificações estruturais, químicas e funcionais nos ingredientes via extrusão facilitaram a oxidação lipídica (autooxidação) e levando a formação dos peróxidos, os compostos primários da fase de propagação (Riaz, 2007; Alam *et al*, 2016).

Correlacionando com a oxidação lipídica, os compostos voláteis apresentaram um comportamento decrescente. O hexanal aumentou no farelo, sugerindo uma maior suscetibilidade à oxidação devido à maior exposição dos lipídios aos fatores ambientais durante o processamento de moagem e a oxidação do ácido linoleico (Sanahuja & García, 2021). Fritsch e Gale (1977)

relataram sobre a rancidez oxidativa de cereais, onde foi verificado que o início da formação de odor a ranço ocorreu quando a concentração de n-hexanal aumenta entre 5 e 10 mg/kg, teores que não foram alcançados nos tratamentos no processo de extrusão.

O decadienal, um aldeído também resultante da degradação de ácidos graxos poli-insaturados, apresentou variações notáveis, similar ao hexanal, ao nonenal e ao octanal, também derivados da oxidação de ácidos graxos insaturados, seus níveis foram mais altos no farelo comparado ao extrusado. Esta diferença pode ser atribuída ao processo de extrusão, que tende a proteger os lipídios da oxidação ao encapsulá-los em uma matriz mais estável como indicado por Silva *et al* (1999), onde a existência de interações hidrofóbicas entre as cadeias de ácidos graxos e as hélices de amilose, ou o encapsulamento dos lipídios pelas proteínas, podem conduzir ao retardamento dos processos oxidativos e da derivação dos compostos voláteis.

Além disso os resultados podem sugerir que o processo de extrusão não aumentou a oxidação na fase de terminação, onde esses compostos específicos, aldeídos de 6 a 9, são produzidos por oxidação da ligação dupla dos ácidos graxos (Vieira *et al*, 2017). Os compostos voláteis apresentaram um elevado teor no farelo, podendo indicar um potencial ingrediente da ração já em fase terminal de oxidação e a diminuição dos mesmos no extrusado pode estar relacionado a sua forma volátil, que em contato com a atmosfera passaram para o estado gasoso.

5.2. Shelf life

Os principais fatores que favorecem a oxidação dos ácidos graxos é a presença de oxigênio e elevadas temperaturas, além disso a característica destes ácidos graxos, como tamanho da cadeia e número de duplas ligações e presença de compostos pró-oxidantes como os metais podem favorecer a autooxidação. Além de iniciar o processo oxidativo, esses fatores catalisam sua progressão, seja pela interação direta com ácidos graxos insaturados, gerando a formação de hidroperóxidos, ou pela formação de espécies reativas (Chaiyasit *et al*, 2007; Silva, 2021). Além disso, de acordo com Frankel (2005) estes

elementos podem captar elétrons dos hidroperóxidos, decompondo-os em novas espécies reativas.

As reduções foram mais evidentes para os ácidos graxos linoleico (18:2n6) e linolênico (18:3n3), por se tratarem de ácidos graxos poliinsaturados, apresentam estrutura lipídica mais susceptível à oxidação, uma vez, que é conhecida a relação entre o grau de insaturações e a propensão a oxidação (Cosgrove; Church; Pryor, 1987; Silva, 2021). O ácido oleico também apresentou perdas, sendo que a dieta com mineral orgânico não foram expressadas perdas significativas do ácido graxo. Como relatado por Liu *et al* (2020), o octanal, o nonenal, o decanal, o (E)-2-decenal e o 2-undecenal são produzidos por clivagens homolíticas no grupo intermediário alcoílico do ácido oleico, podendo assim estar relacionada a oxidação lipídica desse ácido graxo monoinsaturado com a formação dos compostos voláteis secundários. O ácido palmítico não apresentou perdas expressivas, este por ser um ácido graxo saturado e apresentar menor susceptibilidade a oxidação como já expressado por Rios *et al* (2013). Portanto, independente do tratamento, houve redução significativa dos ácidos graxos insaturados analisados durante a *shelf life*, representando o potencial de oxidação desses ácidos graxos insaturados.

Os resultados determinaram que não houve efeito de tratamento na oxidação, estando relacionado com os achados de Ribeiro (2018), confirmando que a proteção de moléculas lipídicas por antioxidantes em alimentos extrusados diminui as perdas durante o armazenamento, evitando a oxidação lipídica e trazendo estabilidade e maior tempo de *shelf life* para o alimento.

Os antioxidantes atuam inibindo a oxidação lipídica e prevenindo a deterioração dos alimentos, estabilizando assim os ácidos graxos por meio da reação com radicais livres, quelando íons metálicos e interrompendo a fase de propagação (Masuchi *et al*, 2008, Silva, 2021).

Para controle da oxidação lipídica em alimentos, os antioxidantes têm a função de inativar os radicais livres, por meio dos doadores de hidrogênio e elétrons, podendo atuar de forma secundária na complexação de íons metálicos, inativação de espécies reativas de oxigênio. O BHA irá agir sequestrando radicais peróxidos ao passo que o BHT agirá como regenerador de radicais BHA

(Araújo, 2011; Silva, 2021). A diminuição dos níveis de antioxidantes destaca o papel protetor e significativo desses compostos em *pet food*. Os antioxidantes agem protegendo os lipídios contra os iniciadores da oxidação, diminuindo a produção de espécies reativas e interrompe autooxidação lipídica (Gordon, 2004).

Os níveis residuais de BHA e BHT reduziram significativamente durante a vida de prateleira. Os resultados demonstram que tanto BHT quanto BHA apresentam uma maior retenção inicial em dietas com glicinato (DCG), no entanto, a retenção a longo prazo é melhor na dieta controle, sugerindo que a fonte de minerais não impactou significativamente a estabilidade dos antioxidantes ao longo do tempo de prateleira e que as duas fontes apresentaram comportamento parecido durante o período de *shelf life*.

A destruição das vitaminas lipossolúveis se dá pelo processo de oxidação lipídica, onde após a formação de peróxidos, formam-se outros compostos voláteis (aldeídos, cetonas, ácidos e outros) e por consequência desse processo, a perda das vitaminas lipossolúveis, diminuição da palatabilidade, perdas no conteúdo de energia e de proteína (Santos, 2023). As maiores taxas de retenção foram observadas nos tratamentos contendo minerais orgânicos.

Como já descrito, a oxidação lipídica afeta a qualidade nutricional devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, prejudicando a qualidade, integridade e segurança dos alimentos devido à formação de compostos potencialmente tóxicos (XIONG, 2000). No presente trabalho houve efeito de tratamento para a retenção das vitaminas lipossolúveis, elucidando que a presença de minerais na forma orgânica diminui o potencial de catalisar a formação de espécies reativas, que participam ativamente das reações de transferência de elétrons (Kanner & Rosenthal, 1992; Shen *et al*, 2021).

Além disso como descrito por Harper (1988), há uma perda maior durante a estocagem, devido à grande exposição ao oxigênio devido à sua área de superfície expandida (kibble expandido) e as interações com peróxidos ou radicais livres provenientes da oxidação de lipídios. Assim, qualquer forma de prevenção da oxidação de lipídios aumenta a retenção de vitaminas lipossolúveis.

A variação no índice de peróxido ao longo do tempo sugere flutuações na formação e degradação de peróxidos, com um pico de oxidação das três dietas observado no dia 120, onde a fase de propagação da autooxidação se apresentou intensificada. Nesse período, os valores apresentaram diferença significativa, indicando um aumento geral na oxidação lipídica, sendo os valores mais altos atingidos pela dieta com sulfato (DCS) com valores de 12,77 mEq/kg enquanto a dieta com glicinato (DCG) obteve valores de 10,91 mEq/kg e a controle (DC) 10,14 mEq/kg.

Valores sugerem que a ração teve uma maior tendência oxidativa e apresentou níveis elevados de peróxido, ultrapassando o indicado pela ABINPET (2019), como já descrito pela literatura os índices elevados indicaram a fase de propagação da autooxidação, seguindo para a formação de compostos secundários (Oliveira *et al*, 2012), sendo importante a correlação com a formação dos compostos voláteis. Estes achados mostram a importância de se controlar os níveis de microelementos nos alimentos de pet food, e adicionalmente, quando usados na forma orgânica, esta pareceu ser mais efetiva na prevenção da oxidação (Silva, 2021).

Dentre os compostos voláteis alcanais, o Hexanal, um dos dominantes principais produtos da degradação de ácidos graxos poliinsaturados (n-6), junto com 2(E)-nonenal, identificados como os compostos de aroma mais potentes no ácido linoleico autoxidado (Ullrich e Grosch, 1988; Sjoval *et al*, 1997).

A predominância do hexanal sobre os demais compostos no perfil volátil pode ser atribuída à multiplicidade de suas vias de síntese. Nieto *et al* (2011) afirmaram que este aldeído pode ser gerado a partir do ácido oleico, do ácido linoleico e araquidônico, e através da degradação de outros aldeídos insaturados, como o 2,4-decadienal. Por outro lado, o nonenal é um produto de oxidação do ácido oleico. Além disso a presença de radicais livres no meio ataca outros ácidos graxos menos susceptíveis, como o ácido oleico, favorecendo a síntese do heptanal, do octanal e do nonanal, podendo contribuir para o aumento dos mesmos no alimento. (Domínguez *et al*, 2014).

Ainda segundo Kerler e Grosch (1997), os aldeídos analisados (hexanal, heptanal, octanal e nonanal) são os componentes que mais contribuem para o

aparecimento de notas desagradáveis de de sabor, devido à sua elevada taxa de formação e ao seu baixo limiar de sabor (Nieto *et al*, 2011), sendo indicativos importantes da estabilidade da ração. O tratamento com glicinato (DCG) demonstrou consistentemente menor formação de compostos voláteis comparado aos outros tratamentos, sugerindo uma melhor proteção contra a oxidação lipídica (autooxidação) e consequentemente um produto mais estável vida de prateleira (*shelf life*).

Devem ser consideradas algumas limitações do presente estudo. Foram utilizados três laboratórios diferentes para as análises podendo influenciar nos resultados, já que mesmo as amostras homogeneizadas na hora da coleta, as amostras de diferentes pontos e lugares pode ter influência nos resultados. Doses maiores dos minerais não foram empregadas para correlacionar sua influência oxidativa tanto na extrusão quanto na vida de prateleira. Os teores de antioxidantes foram relativamente altos, podendo influenciar e mascarar a oxidação das dietas. Por esses motivos, os minerais na forma orgânica tiveram comportamento similar aos minerais na forma inorgânica durante a vida de prateleira.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a presença de antioxidantes adequados pode mascarar o efeito catalítico dos microelementos no processo oxidativo durante a extrusão, sugerindo que um tempo de processamento mais curto e o uso correto de antioxidantes podem minimizar esses efeitos indesejados. Além disso o consumo de antioxidantes durante a *shelf life* também foi significativo, com maiores taxas de retenção observadas em dietas contendo minerais orgânicos. Destaca-se a importância da avaliação dos compostos primários e secundários de forma associada, assegurando um controle maior da oxidação do alimento. Em suma, a utilização de micronutrientes na forma orgânica e estratégias de processamento adequadas melhora a retenção de nutrientes e assegura uma maior estabilidade oxidativa, essencial para a saúde e bem-estar dos cães.

7. REFERÊNCIAS

- A.O.A.C. - ASSOCIATIONS OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists. 21st ed., 2019. Method 968.08 – Minerals in Animal Feed and Pet Food (4.8.02).
- ACUFF, H. L.; DANTON, A. N.; DHAKAL, J.; KIPROTICH, S.; ALDRICH, G. **Sustainability and Pet Food Is There a Role for Veterinarians?** REVIEW ARTICLE, v.51, n.3, p.563-581, may, 2021.
- ALAM, M. S.; KAUR, J.; KHAIRA, H.; GUPTA, K. Extrusion and extruded products: Changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 3, p. 445-475. 2016.
- ARAÚJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, B. C.; OLIVEIRA, E. R. A. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p.53-60, 2008.
- Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET). Disponível em: < <http://abinpet.org.br/site/mercado/>>. Acesso em junho de 2022.
- ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official and tentative methods of analysis**. Arlington, Virginia: AOAC International, 16. ed., 1995.
- ASSUMPTÃO, Rosely M. Viegas; MORITA, Tokio. **Manual de Soluções Reagentes e Solventes – padronização, preparação, purificação**. 2. ed., 1972. p. 399, 414.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. 1. ed. Lavras - MG: Ed. UFLA, v.1. 302 p. 2006.
- CARCIOFI, A. C.; TAKAKURA, F. S.; de OLIVEIRA, L. D.; TESHIMA, E.; JEREMIAS, J. T.; BRUNETTO, M. A.; PRADA, F. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 3, p. 326–336, 2008.
- CASANOVA, M. A.; MEDEIROS, F. **Recentes evidências sobre os ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 na doença cardiovascular**. Rev. Hosp. Univ. Ped. Ern. UERJ. 10:74-80. 2011.
- Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, Métodos analíticos. Método 40 – **Minerais e Contaminantes Inorgânicos por Espectrometria de Absorção Atômica (EAA)**, p.180-185. 2017.
- COUTO, H. P. **Fabricação de rações e suplementos para animais - Gerenciamento E Tecnologias**. Viçosa: CPT, 2008. 226p.
- DE MORAIS CARDOSO, L.; PINHEIRO, S.S.; DE CARVALHO, C.W.P.; QUEIROZ, V.A.V.; DE MENEZES, C.B.; MOREIRA, A.V.B.; DE BARROS, F.A.R.; AWIKA, J.M.; MARTINO, H.S.D.; PINHEIRO-SANTANA, H.M. Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. **J. Cereal Sci.** **2015**, 65, 220–2.
- DOMÍNGUEZ, R.; GÓMEZ, M.; FONSECA, S.; LORENZO, J.M. Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. **Meat science**, v. 97, n. 2, p. 223-230, 2014.
- DROZDOWSKI B., SZUKALSKA E. **A Rapid Instrumental Method for the Evaluation of Fats**, JAOCS, v. 64, p. 1008-1011, 1987.

EBELER, S. E.; TERRIEN, M. B.; BUTZKE, C. E. Analysis of brandy aroma by solid-phase microextraction and liquid-liquid extraction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80 (Issue 5) (2000), pp. 625-630.

FAHEY Jr., G.C. Soybean use – Companions Animals. **Soybean Meal Information Center**. Illinois Urbana Champaign, 2007, p.2 - 4.

FEDIAF. European Pet Food Industry Federation. **Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs**. Bélgica, 2021. 99p.

FRANKEL, E. N. Lipid oxidation. 2ed. Bridgewater: OilyPress, p. 391-405. 2005.

FRANKEL, E. N.; GERMAN, J. B.; DAVIS, P. A. Headspace gas chromatography to determine human low density lipoprotein oxidation. **Lipids** 27, 1047–1051 (1992). <https://doi.org/10.1007/BF02535586>

FRANKEL, E.N.; NEFF, W.E.; SELKE, E. Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry: VII. **Volatile thermal decomposition products of pure hydroperoxides from autoxidized and photosensitized methyl oleate, linoleate and linolenate**. *Lipids*, Austin, v.16, n.5, p.279-292, 1981.

FRITSCH, C. W.; GALE, J. A. Hexanal as a measure of rancidity in low fat foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 54, n. 6, p. 225-228, 1977.

GORDON, M. H. Factors affecting lipid oxidation. In: Steel R, editor. **Understanding and measuring the shelf-life of food**. Boca Raton: CRC Press, 2004.

HILL. Cap 3. Petfood technology, editors, Jennifer L.Kvamme, Timothy D.Phillips. 1st ed. 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. Ed., pag. 740. 2005.

KANNER, J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. **Meat Science**, v. 36, n. 1/2, p. 169-189. 1994.

KANNER, J.; ROSENTHAL, L. An assessment of lipid oxidation in foods. **Pure and Applied Chemistry**, v. 64, n. 12, p. 1959-1964. 1992.

KARMAS, E.; HARRIS, R.S. **Nutritional Evaluation of Food Processing**, Van Nostrand Reinhold, New York. 1988.

KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.3, p. 206–220, 2005.

KIRK, J. R. 1984. Biological availability of nutrients in processed foods. **Journal of Chemical Education**, v. 61, n. 4, p. 364-367.

KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. **Espectrometria de Absorção Atômica Parte 1. Fundamentos e atomização com chama**. Jun. 2004.

LAFLAMME, D. P. **Development and validation of body condition score system for dogs**. *Canine Practices*, v. 22, p. 10-15, 1997.

LAMPI, A.M.; DAMERAU, A.; LI, J.; MOISIO, T.; PARTANEN, R.; FORSELL, P.; PIIRONEN, V. Changes in lipids and volatile compounds of oat flours and extrudates during processing and storage. **J. Cereal Sci.** 2015, 62, 102–109.

LILLARD, D.A. Effect of processing on chemical and nutrition changes in food lipids. **Journal of Food Protection**, v. 46, n. 1, p. 61-67, 1983.

LIU, Y.; LI, J.; CHENG, Y.; LIU, Y. Volatile components of deep-fried soybean oil as indicator indices of lipid oxidation and quality degradation. **Eur Food Res Technol** 246, 1183–1192 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03475-2>

LOPES, M. T. **Efeito da substituição parcial e total de fontes inorgânicas por fontes orgânicas de microminerais sobre o desempenho e qualidade de carcaças**

de frangos de corte. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Erechim, RS – Brasil. Nov. 2010.

MABE, I. **Efeitos da suplementação dietética com quelatos de zinco e de manganês na produção de ovos e morfologia intestinal de galinhas poedeiras.** 94p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, USP. 2001.

MAPA. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Instrução Normativa nº 44**, de 15 de dezembro de 2016.

MÁRQUEZ-RUIZ, G., GARCÍA-MARTÍNEZ, M.C.; HOLGADO, F. Changes and Effects of Dietary Oxidized Lipids in the Gastrointestinal Tract Instituto del Frío (CSIC), José Antonio Novais 10, 28040 Madrid. **Lipids Insights** 2008:2 11–19. 2008.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats.** Washington, DC: National Academy Press, 2006.

NIETO, G.; BAÑÓN, S.; GARRIDO, M.D. Effect of supplementing ewes' diet with thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat. **Food Chemistry**, 125, pp. 1147-1152. 2011.

OGOSHI, R. C. S., REIS, J. S., ZANGERONIMO, M. G., & SAAD, F. M. O. B. **Conceitos básicos sobre nutrição e alimentação de cães e gatos.** *Ciência Animal*, v.25, n.1, 64–75, 2015.

OKIN, G. S. Environmental impacts of food consumption by dogs and cats. **Plus One**, v.12 n. 8, 2017.

OTTAWAY, P. B. 19 - Stability of vitamins during food processing and storage, Editor(s): Leif H. Skibsted, Jens Risbo, Mogens L. Andersen, In: **Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages**, Woodhead Publishing, Pages 539-560. 2010.

PAILLAT J.M.; ROBIN P.; HASSOUNA M.; HASSOUNA, M. Predicting ammonia and carbon dioxide emissions from carbon and nitrogen biodegradability during animal waste composting. **Atmos Environ**, v.39, n.36, p. 6833-6842, 2005.

PAOLINI, M; TONIDANDEL, L; LARCHER, R. Development, validation and application of a fast GC-FID method for the analysis of volatile compounds in spirit drinks and wine. **Food Control**. Volume 136, June 2022.

POKORNÝ, J.; KOLAKOWSKA, A. Lipid-Protein and Lipid-Saccharide Interactions. In: SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A. **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**. Boca Raton: CRC PRESS, Cap.17. 2003.

RIAZ, M. N.; ASIF, M.; ALI, R. Stability of Vitamins during Extrusion. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 49(4), 361–368. 2009.

RIBEIRO, P.M. Oxidação lípidica no processo de extrusão em pet food. Dissertação (Mestrado), no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração: Produção Animal. 2018.

ROCHA, R. C. C. **Desenvolvimento de método para determinação de elementos tóxicos e essenciais em pelo canino por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado.** Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2021.

RUTZ, F.; PAN, E. A.; XAVIER, G. B. 2007. Efeito de minerais orgânicos sobre o metabolismo e desempenho de aves. **Revista Aveworld**, 2007.

SÃ, FABIANO CESAR. **Energia Mecânica, Energia Térmica E Moagem Na Extrusão De Alimentos Para Cães E Gatos.** VII, 94 P. II. Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, Jaboticabal, 2015.

SANAHUJA A. B.; GARCÍA, A. V. New Trends in the Use of Volatile Compounds in Food Packaging. **Polymers**. 2021; 13(7):1053. <https://doi.org/10.3390/polym13071053>

SANTOS, F. O. Avaliação de estabilidade por método acelerado em alimento específico semiúmido para cães com inclusão de antioxidantes sintéticos e natural. Dissertação (Mestrado), no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal da Universidade Estadual Paulista - Área de Concentração: Ciência e Tecnologia Animal. 2023.

SHAHIDI, F., ZHONG. Y. Bailey's industrial oil and fat products – **lipid oxidation: measurement methods**, 6th ed. John Wiley & Sons, Inc., St. John's, Newfoundland, Canada. 2005.

SHARIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, Volume 2, 6th Edition. John Wiley & Sons, 2005.

SILVA, A.A.; PENA, S.A.; ASSIS, F.G.; CASTILHA, L.D.; NASCIMENTO, S.T.; VASCONCELLOS, R.S. **Estabilidade oxidativa e qualidade de bifeinhos para cães formulados com antioxidante natural** v. 11 No. 02 p. 103-206. 2017.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química nova**, 22(1). 1999.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. **Métodos Para Avaliação Do Grau De Oxidação Lipídica E Da Capacidade Antioxidante**. Quim. Nova, p. 94-103. 1999.

SJÖVALL, O.; LAPVETELÄINEN, A.; JOHANSSON, A.; KALLIO, H. Analysis of volatiles formed during oxidation of extruded oats. **Agric. Food Chem.** 45, 11, 4452–4455. 1997. <https://doi.org/10.1021/jf970320a>

SJÖVALL, O.; LAPVETELÄINEN, A.; JOHANSSON, A.; KALLIO, H. Analysis of Volatiles Formed during Oxidation of Extruded Oats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45(11), 1997.

USP <852> USP 41-NF 36, 2018.

VIEIRA, S. A.; ZHANG, G.; DECKER, E. A. Biological Implications of Lipid Oxidation Products. **J Am Oil Chem Soc.** 94:339–351. 2017.

VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**. 5. ed, p. 646-654. 1992.

WATZKE, H. Impact of processing on bioavailability examples of minerals in foods. Trends in Food Science & Technology 9, p.320-327. 1998.

XIONG, Y. L. Protein oxidation and implications for muscle food quality. In: DECKER, E., C., F. & Lopez-Bote, C. J. (eds.) **Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality**. Chichester: Wiley, 2000.