

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DA
MATÉRIA-PRIMA E DA CONFIGURAÇÃO DA
EXTRUSORA NO CONTEÚDO DE AMIDO RESISTENTE,
DIGESTIBILIDADE, FERMENTAÇÃO INTESTINAL E
RESPOSTAS METABÓLICAS DE CÃES**

Fernando de Oliveira Roberti Filho

Médico Veterinário

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DA
MATÉRIA-PRIMA E DA CONFIGURAÇÃO DA
EXTRUSORA NO CONTEÚDO DE AMIDO RESISTENTE,
DIGESTIBILIDADE, FERMENTAÇÃO INTESTINAL E
RESPOSTAS METABÓLICAS DE CÃES**

Fernando de Oliveira Roberti Filho

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a qualificação para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

2013

Roberti Filho, Fernando de Oliveira
R639i Influência da granulometria da matéria-prima e da configuração da extrusora no conteúdo de amido resistente, digestibilidade, fermentação intestinal e respostas metabólicas de cães / Fernando de Oliveira Roberti Filho. – – Jaboticabal, 2013
x, 54 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013

Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

Banca examinadora: Sajid Alavi, Márcio Antônio Brunetto

Bibliografia

1. Amido resistente. 2. Gelatinização. 3. Moagem. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.086:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DA MATÉRIA-PRIMA E DA CONFIGURAÇÃO DA EXTRUSORA NO CONTEÚDO DE AMIDO RESISTENTE, DIGESTIBILIDADE, FERMENTAÇÃO INTESTINAL E RESPOSTAS METABÓLICAS DE CÃES

AUTOR: FERNANDO DE OLIVEIRA ROBERTI FILHO

ORIENTADOR: Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA , pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. MARCIO ANTONIO BRUNETTO

Universidade de São Paulo / Pirassununga/SP


Prof. Dr. SAJID ALAVI

Kansas State University / Manhattan/KS

Data da realização: 09 de setembro de 2013.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Fernando de Oliveira Roberti Filho – nascido em 30 de abril de 1987, em Barretos – SP, se graduou em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP – Jaboticabal) em dezembro de 2010 e concluiu sua pós-graduação em Zootecnia pela mesma instituição em setembro de 2013. Durante sua formação realizou uma parte do seu estágio curricular na escola de veterinária de Nantes, na França, e no final do seu mestrado desenvolveu um projeto de pesquisa junto a uma empresa que desenvolve e comercializa palatilizantes para alimentos para cães e gatos, localizada em Elven, também na França. Já atuou na área técnico comercial dentro da indústria e atualmente é especialista técnico no ramo de nutrição animal na Biorigin – Zilor, empresa brasileira que desenvolve e comercializa ingredientes baseados em leveduras, onde é responsável pela pesquisa aplicada dos produtos do portfólio da empresa.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Fernando e Claudia, por toda a base, todo o amor, todo o apoio e todas as oportunidades que me propiciaram.

Ao meu irmão André, pela amizade e pelo companheirismo.

Aos meus familiares, por todo o amor e apoio.

Ao meu orientador, professor Aulus, por todas as oportunidades, pela orientação, pela confiança e pela amizade.

À FAPESP, pela concessão da minha bolsa de estudos durante o meu mestrado.

Às grandes amizades que fiz durante os anos que estive em Jaboticabal: Bola, Leilão, Xuains, Lessy, Toskera, Norréia, Pente, Krroça, Lerdo, Burns, Gus, Timmy, Kichute, Waka, Colóquia, entre outros. Às repúblicas Karkanela e Pombal onde vivi e tanto aprendi.

Aos estagiários e pós-graduandos do laboratório de nutrição pelo companheirismo: Sivi, Flávio, Fabiano, Márcio, Ricardo, Fábio, Érico, Leandro, Sandra, Márcia, Mari, Ju, Bruna, Raquel, Laura, Chyanne, Karina, Ana, Thaila, Iris e Mariana e aos funcionários Elaine, Diego, Claudia e Renata.

Ao laboratório de nutrição e doenças nutricionais e aos beagles, que tornaram possível o desenvolvimento do meu projeto de pesquisa.

À SPF França, pela valiosa oportunidade que me deram, em especial à Marianne Lusseau, Cécile Nicéron e Françoise Michel-Salaun, e aos meus amigos Audrey, Laura, Jean Baptiste, Pierre, Nicolas, Karl, Raphaël e Ana que tão bem me acolheram durante a minha estadia.

Obrigado a todos!

SUMÁRIO

	Página
Lista de tabelas	ii
Lista de figuras	iii
Título - resumo	v
Palavras-chave.....	vi
Title - abstract.....	vii
Keywords.....	viii
1.INTRODUÇÃO	1
2.REVISÃO DE LITERATURA	2
3.MATERIAL E MÉTODOS	10
a. Animais e manejo	10
b. Dietas	10
c. Delineamento experimental	16
d. Protocolo de digestibilidade.....	16
e. Mensuração dos produtos de fermentação das fezes	17
f. Composição microbiana das fezes.....	18
g. Avaliação das respostas pós-prandiais	18
h. Análise estatística.....	19
4.RESULTADOS.....	21
a. Parâmetros de produção de alimentos	21
b. Digestibilidade	23
c. Produção e característica das fezes	25
d. Concentração de produtos de fermentação e contagem de bactérias das fezes	25
e. Respostas pós-prandiais de glicose e insulina	30
5.DISSCUSSÃO	40
6.REFERÊNCIAS.....	48

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Formulação de ingredientes da dieta experimental para cães.....	12
Tabela 2. Distribuição do tamanho de partículas, diâmetro geométrico médio (DGM), composição química e parâmetros de qualidades das dietas experimentais para cães.....	13
Tabela 3. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes de dietas experimentais moídas em diferentes tamanhos de peneira e extrusadas sob duas conformações de extrusora, fornecida para cães.....	24
Tabela 4. Produção e características fecais de cães alimentados com dietas experimentais moídas em diferentes tamanhos de peneira e extrusadas sob duas conformações de extrusora.....	26
Tabela 5. Concentração de produtos de fermentação nas fezes de cães alimentados com dietas experimentais moídas em diferentes tamanhos de peneira e extrusadas sob duas conformações de extrusora.....	27
Tabela 6. Contagem microbiana nas fezes de cães alimentados com dietas processadas com diferentes tamanhos de peneira e conformação de extrusora.....	29
Tabela 7. Peso corporal, escore de condição corporal e consumo de nutriente durante a avaliação das respostas pós-prandiais dos cães alimentados com dietas processadas com diferentes tamanhos de peneira e conformação de extrusora.....	31
Tabela 8. Respostas de glicose pós-prandiais de cães alimentados com dietas processadas com diferentes tamanhos de peneira e conformação de extrusora.....	33
Tabela 9. Respostas de insulina pós-prandiais de cães alimentados com dietas processadas com diferentes tamanhos de peneira e conformação de extrusora.....	37

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Energia gasta para a extrusão (kW/ton/h) em relação ao tamanho da peneira (mm) usada para moer as dietas experimentais.....	22
Figura 2. Relação entre a porcentagem de gelatinização do amido e a formação de amido resistente (%) em ração para cães à base de milho.....	23
Figura 3. Relação entre o pH e a concentração de ácido láctico ($\mu\text{mol/g}$ fezes na matéria seca) das fezes de cães alimentados com rações à base de milho moídas em diferentes tamanhos de partícula da matéria-prima e extrusadas em duas configurações.....	28
Figura 4. Respostas glicêmicas pós-prandiais de cães alimentados com dietas experimentais à base de milho processadas com diferentes tamanhos de peneira ou configurações de extrusora.....	32
Figura 5. Respostas insulínicas pós-prandiais de cães alimentados com dietas experimentais à base de milho processadas com diferentes tamanhos de peneira ou configurações de extrusora.....	36
Figura 6. Secreção inicial de insulina em cães (AAC 0-120 min do incremento de insulina plasmática) desencadeada por rações extrusadas à base de milho com diferentes tamanhos de partícula da matéria-prima.....	39

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 019049/11 do trabalho de pesquisa intitulado "Influência da granulometria e do processo de extrusão no conteúdo de amido resistente, digestibilidade, formação de produtos de fermentação e parâmetros metabólicos em dietas secas para cães", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavaliere Carciofi está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 02 de Setembro de 2011.

Jaboticabal, 05 de Setembro de 2011.


Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui
Presidente - CEUA


Med. Vet. Maria Alice de Campos
Secretária - CEUA

**INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DA MATÉRIA-PRIMA E DA
CONFIGURAÇÃO DA EXTRUSORA NO CONTEÚDO DE AMIDO
RESISTENTE, DIGESTIBILIDADE, FERMENTAÇÃO INTESTINAL E
RESPOSTAS METABÓLICAS DE CÃES**

RESUMO – durante a extrusão dos alimentos, o tamanho das partículas de cereais e a configuração da extrusora induzem a alterações físicas nos ingredientes, alterando sua absorção e metabolismo, com possíveis benefícios à saúde. Este estudo comparou para cães dietas à base de milho com quatro diferentes diâmetros geométricos médios (DGM), extrusadas sob duas configurações distintas, quanto à digestibilidade dos nutrientes e da energia, respostas pós-prandiais de glicose e insulina, produtos de fermentação e composição microbiana das fezes. Foi formulada ração para manutenção de cães (56% milho, 29% farinha vísceras frango, 8,5% gordura de aves, 3% fibra de cana), moída em moinho de martelos com peneiras de 0,5mm, 0,8mm, 1,4mm e 2mm, resultando em DGM de $169\pm 2\mu\text{m}$, $248\pm 2\mu\text{m}$, $252\pm 2\mu\text{m}$ e $290\pm 2\mu\text{m}$. Estas quatro rações com diferentes tamanhos de partícula foram extrusadas em duas configurações diferentes, com matriz com área aberta de saída de 64mm^2 ou 24mm^2 , gerando oito tratamentos. Foi avaliada a porcentagem de gelatinização do amido e de amido resistente das rações, sendo estas testadas em seis cães cada uma. A digestibilidade foi avaliada por coleta total de fezes, a enumeração de bactérias das fezes por cultivo, a resposta pós-prandial ao alimento após 12h de jejum (os cães receberam alimento suficiente para consumir $7\text{g amido/kg}^{0,75}$, em 15min, sendo avaliados por 6h). Os dados foram submetidos à análise de variância considerando-se os feitos de DGM, configuração de extrusora e suas interações, sendo as médias comparadas por contrastes polinomiais (DGM) ou pelo teste F (configuração da extrusora) ($P < 0,05$). A gelatinização do amido aumentou com a redução na área aberta de saída da matriz (74% *versus* 81%) e com a redução do DGM (69% *versus* 86%), enquanto o oposto foi verificado para a porcentagem de amido resistente (3,4% *versus* 0,5%). Para todos os nutrientes e energia, exceto amido e gordura, verificou-se redução linear de digestibilidade com o aumento do DGM da matéria-prima ($P < 0,004$), sem influência da configuração da extrusora. A matéria seca, pH e escore das fezes diminuiu, enquanto a produção de fezes aumentou linearmente com o aumento do DGM da matéria-prima ($P < 0,002$). No entanto, estas alterações foram pequenas, a digestibilidade reduziu menos de 2 pontos de porcentagem e todas as fezes permaneceram adequadas. As concentrações fecais dos ácidos acético, propiônico e butírico aumentaram de maneira quadrática ($P < 0,05$), enquanto a de aeróbios totais, anaeróbios totais e bifidobactéria aumentaram linearmente com o aumento no DGM da matéria-prima ($P < 0,01$). Na avaliação pós-prandial, o incremento máximo de glicose, área abaixo da curva (AAC) do incremento de glicose (0-360min), concentração média e máxima de insulina e

a secreção inicial de insulina (AAC do incremento de insulina de 0-120min) diminuíram de maneira quadrática com o aumento do DGM da matéria-prima ($P < 0,05$). Foi demonstrado que a digestibilidade, a formação de produtos da fermentação, a microbiota fecal e o metabolismo de carboidratos são afetados pelo tamanho geométrico das partículas da matéria-prima da ração, sem efeito da configuração da extrusora. A porcentagem de gelatinização e a formação de amido resistente, no entanto, são afetadas tanto pelo DGM da matéria-prima como pela configuração da extrusora. O controle do DGM da matéria-prima pode promover saúde intestinal, modulando a microbiota do colo e sua atividade metabólica, e alterar as respostas metabólicas ao alimento.

Palavras-chave: amido resistente, bifidobacteria, butirato, gelatinização, insulina, moagem

**INFLUENCE OF RAW MATERIAL PARTICLE SIZE AND EXTRUDER
CONFORMATION ON RESISTANT STARCH CONTENT, DIGESTIBILITY,
GUT FERMENTATION AND METABOLIC RESPONSES OF DOGS**

ABSTRACT - During food extrusion, cereal particle size and extruder conformation can induce physical changes in ingredients under processing, altering its nutrient absorption and metabolism, and thereby may be possible benefits for animal health. This study compared for dogs a diet ground at four mean geometric diameters (MGD) and processed under two extruder conformations regarding nutrient digestibility, postprandial responses, fermentation products and microbial counts of faeces. A diet was formulated to meet dog maintenance (56% maize, 29% poultry meal, 8.5% poultry fat, 3% sugarcane fiber), and ground in a hammer mill fitted with screens with 0.5mm, 0.8mm, 1.4mm, and 2mm, resulting in foods with MGD of $169\pm 2\mu\text{m}$, $248\pm 2\mu\text{m}$, $252\pm 2\mu\text{m}$, and $290\pm 2\mu\text{m}$. This four particle sizes were then extruded under two conditions, with a diet output area of 64mm^2 or 24mm^2 , adding up 8 treatments. The degree of starch gelatinization and resistant starch of the foods was evaluated and each food was tested in 6 beagle dogs. Digestibility was measured by total collection of faeces, faecal bacteria enumeration was done by pour plate, postprandial response tested after 12h fast (dogs receive food enough to consume 7g of starch per kg BW^{0.75}, in 15min, and was evaluated for 6h). Data was submitted to analysis of variance considering the MGD, extruded conformation and its interactions and means compared by polynomial contrasts (MGD) or the F test (extruder conformation) ($P<0.05$). The degree of starch gelatinization increased with the reduction of the extruder die output area (74% *versus* 81%) and the reduction of raw material MGD (69% *versus* 86%), and the opposite was verified for the resistant starch (3.4% *versus* 0.5%). For all nutrients and energy, except starch and fat, a linear decrease in digestibility was verified with raw material MGD increase ($P<0.004$), without effect of extruder conformation. Fecal dry matter, pH, and score decreased, and fecal amount increased linearly with the increase in MGD ($P<0.002$). All these alterations, however, were small, digestibility reduced less than 2 points of percentage and all feces remained adequate. Fecal acetic, propionic and butyric acid concentration increased quadratically ($P<0.05$), and total aerobes, total anaerobes, and bifidobacteria increased linearly as MGD increase ($P<0.01$). At the postprandial response test, the maximum incremental glucose concentration, area under the curve (AUC) of glucose increment from 0-360min, mean and maximum insulin concentration, and initial secretion of insulin (AUC of insulin secretion from 0-120min) decreased quadratically as the MGD increase ($P<0.05$). Results shown that nutrient apparent digestibility, fermentation end products, microbial population, and carbohydrate metabolism were affected by raw material particle size, without effects of the extruder conformation. The degree of starch gelatinization and resistant starch content, however, seems to be affected by both the raw particle size and the extruder conformation. The different grinding levels of raw ingredients may promote gut

health by the modulation of bacterial populations and metabolic activity, and also change the dog's metabolic response to the food.

Key words: bifidobacteria, butyrate, gelatinization, grind, insulin, resistant starch

1. INTRODUÇÃO

Diversos fatores influenciam a qualidade nutricional e respostas metabólicas induzidas pelos alimentos. Embora a qualidade das matérias-primas e a formulação das rações sejam os primeiros pontos a serem considerados, o processamento também exerce papel importante (Tran, et al. 2008), embora este seja muito pouco estudado para cães. A redução do tamanho de partículas representa custo de produção relevante (Amerah, et al. 2007), em relação ao processamento, esta é normalmente estudada quanto à sua influência na eficiência da extrusora, índice de gelatinização do amido, índice de absorção de água, taxa de expansão (Desrumaux, et al. 1998; Mathew, et al. 1999) e aparência do produto. O tamanho das partículas dos cereais pode induzir alterações na digestibilidade dos nutrientes em frangos e suínos (Amerah, et al. 2007; Wondra, et al. 1995) e alterar a resposta pós-prandial em seres humanos (Holt e Miller, 1994; Pereira, et al. 2002), mas não há informações disponíveis a este respeito para cães.

Outro ponto crítico no processamento de alimentos para cães é a extrusão: água na forma líquida e de vapor, configuração de rosca e fluxo de ração são normalmente ajustados para maximizar a produtividade, reduzir custos e melhorar a densidade e a aparência do croquete. Parâmetros de extrusão como temperatura, força de cisalhamento, tempo de retenção e pressão, no entanto, agem diretamente no índice de gelatinização do amido, disponibilidade de aminoácidos e perdas de vitaminas e outros nutrientes (Camire, et al. 1990), influenciando diretamente a saúde do animal. É possível que definindo-se parâmetros adequados de processamento, com tamanho de partícula da matéria-prima e configuração de extrusora específicos, benefícios para a saúde do animal possam ser alcançados pela formação de amido resistente. Esta fração particular do amido é amplamente estudada como prebiótico para seres humanos (Topping e Clifton, 2001), mas pouco pesquisada para animais. Com base nisso, foi investigada a influência do tamanho das partículas da matéria-prima e da configuração da extrusora na digestibilidade dos nutrientes e da energia, microbiota fecal, formação de produtos finais de fermentação e respostas pós-prandiais de glicose e insulina de cães.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Estimativas atuais apontam que 95% dos alimentos comerciais destinados para cães e gatos são atualmente representados por dietas secas extrusadas (SPEARS & FAHEY, 2004; ANFAL PET, 2010). A grande difusão da tecnologia de extrusão para a produção de alimentos para cães e gatos deve-se à versatilidade do processo produtivo, durante o qual os ingredientes crus são misturados, cozidos, texturizados, pasteurizados e sanitizados em curto período (RIAZ, 2000).

Para que os alimentos sejam extrusados, deve haver inicialmente a redução do tamanho de partículas, que tem como principais funções no processo proporcionar uma mistura homogênea dos ingredientes e facilitar sua extrusão (FRAILHA, 2005). O principal método de redução do tamanho de partículas é a moagem com moinho de martelos (COWELL et al., 2000). O moinho de martelos consiste em um conjunto de facas rombas com alguns milímetros de espessura, perfiladas paralelamente umas as outras a um eixo de alta rotação (BAZOLLI, 2007). Ao redor desse sistema é fixada uma peneira com diâmetros de furos que podem variar dependendo da característica desejada do produto final e que garantirão um determinado tamanho de partícula médio. O sistema de martelos e peneira está contido na câmara de moagem (BAZOLLI, 2007).

Durante essa etapa, os ingredientes entram na câmara de moagem, onde encontram os martelos que estão em alta rotação. Esse primeiro contato reduz o material ao estado moído ou semi-moído. Além disso, o atrito gerado entre os ingredientes e a peneira proporciona a redução do tamanho das partículas, que passam pelos forames da mesma, impulsionadas pela força centrífuga (OWENS & HEIMANN, 1994). Esta uniformização do tamanho das partículas do alimento antes da extrusão garante que cada partícula seja cozida de forma adequada e uniforme, o que resulta em melhor aparência e palatabilidade da dieta (PHILLIPS, 1994).

Esta etapa representa um elevado custo na indústria de rações (Amerah et al., 2007), sendo responsável por uma grande parcela no custo de produção de rações. Para exemplificar a importância desse custo, Healy et al. (1994) demonstraram que para reduzir o tamanho de partícula de 900 μ m para 300 μ m, houve um aumento em 5 vezes no consumo de energia e a redução em quase 3 vezes na quantidade produzida no mesmo período de tempo, evidenciando o fato

de que quanto menor o tamanho de partícula desejado, maior é o custo para sua obtenção. Na mesma linha, Dozier (2002) demonstrou que o aumento no tamanho de partícula, através da substituição de uma peneira com forames mais finos para uma peneira com forames maiores, foi capaz de reduzir o custo da produção de alimentos para frangos através da diminuição da energia consumida, além de aumentar a produtividade, com maiores quantidades produzidas em um menor espaço de tempo, evidenciando novamente a diminuição na produtividade do processo para obtenção de partículas mais finas.

Antes de atingir o canhão da extrusora, a mistura de ingredientes passa pelo pré-condicionador, onde recebe adição de umidade na forma de água líquida e de vapor. Nessa fase do processo, a umidade da massa é mantida em torno de 10 a 25% e a sua temperatura entre 70 a 90°C, podendo ser adicionados também carne fresca, óleos ou outros aditivos líquidos (RIAZ, 2003). A mistura é homogeneizada por um sistema de barras cilíndricas e o objetivo dessa fase é aumentar a umidade e temperatura da massa, aumentando assim a estabilidade da extrusora e a qualidade do produto final (BAZOLLI, 2007). A extrusora consiste em um tubo raiado com um sistema de rosca sem fim, denominado de canhão. Dentro desse tudo um sistema de rosca é responsável por comprimir a massa, o que gera energia mecânica. O atrito causado pela ação da rosca gera energia térmica, o que eleva a temperatura da massa e proporciona o cozimento do amido. A escolha da velocidade de rotação e da configuração da rosca influencia a energia mecânica aplicada à massa (DING et al., 2004). Além disso, é possível injetar vapor de água diretamente no canhão da extrusora, o que aumenta ainda mais a temperatura da massa. O aumento da umidade proporcionado pelo vapor auxilia também a redução da fricção da massa e o aumento da produção, o que reduz o desgaste mecânico das peças. No final do canhão da extrusora a pressão pode chegar a 37 atm e a temperatura de 150°C (RIAZ, 2003).

Durante a extrusão, dietas para cães e gatos sofrem mudanças físicas e químicas que alteram a qualidade física e nutricional do produto (KVAMME & PHILLIPS, 2003). As mudanças podem envolver a formação de compostos de Maillard, oriundos da reação entre aminoácidos alcalinos e açúcares redutores (TRAN, 2008), sendo o primeiro fornecedor de um grupamento amina e o segundo de um grupamento carbonila e originando no final da reação substâncias que podem conferir cor e aroma ao produto final, mas que podem indisponibilizar

aminoácidos para o uso animal (TRAN, 2008). O processo pode também texturizar e desnaturar proteínas (LIN et al., 1997), o que pode causar mudanças na estrutura desse nutriente e torná-lo mais digestível (MACLEAN et al., 1983; COULTER & LORENZ, 1991), além de ser capaz de inativar fatores protéicos nutricionalmente ativos através da destruição da integridade de suas estruturas e inibir suas atividades (ALONSO et al., 2000).

Trabalhos que avaliaram a influência da moagem e/ou do processamento térmico em rações já foram realizados com suínos, peixes e aves (MEDEL et al., 2000; ZHU et al., 2001; LICHOVNIKOVA, 2004). Medel et al. (2000) encontraram resultados que demonstram que o processamento térmico da cevada aumenta em 13% o desempenho de leitões nos primeiros 14 dias de experimento. Em estudo realizado por Zhu et al. (2001), demonstrou-se que rações com maiores graus de moagem (partículas menores), peletizadas à mesma temperatura, tiveram um impacto positivo na taxa de conversão alimentar. Peixes alimentados com rações moídas grosseiramente apresentaram ganho de peso 4,6% menor que peixes alimentados com as rações moídas em peneiras mais finas. Lichovnikova et al. (2004) avaliaram o efeito da extrusão em dietas para galinhas poedeiras e obtiveram maiores coeficientes de digestibilidade aparente para o extrato-etéreo e para a proteína nos grupos alimentados com dietas extrusadas.

Poucos estudos avaliaram o efeito de mudanças no processamento sobre o aproveitamento dos nutrientes para animais de companhia. Em um estudo realizado com cães, Bazolli (2007) avaliou o efeito da moagem de três diferentes ingredientes (arroz, milho e sorgo). Foi demonstrado que o aumento da granulometria das dietas de 0,8mm para 3,0mm resultou em diminuição do índice de gelatinização do amido e redução do coeficiente de digestibilidade aparente de alguns nutrientes, sendo notado também um efeito de acordo com o ingrediente testado. Em um outro estudo, Hilcko et al. (2009) utilizaram o milho como fonte de amido e quatro peneiras diferentes para gerar alimentos com quatro tamanhos de partícula distintos. Assim como observado em outros estudos, a medida que houve um aumento no tamanho de partícula dos alimentos (de 0,8mm até 1,5mm), houve uma perda no aproveitamento de nutrientes e na utilização da energia contidos nos alimentos por cães. Estas evidências indicam que a moagem tem um efeito direto na digestibilidade de alimentos *in vivo* e que

possivelmente uma maior quantidade de resíduos de nutrientes pode alcançar o intestino quando uma moagem mais grosseira é utilizada.

Carboidratos são importantes fontes de energia para os animais (LENINGER, 1993). Os grãos, que possuem em sua composição de 50 a 90% de amido, são os ingredientes quantitativamente mais empregados na indústria de alimentos para cães e gatos, dentre estes o milho e o arroz são os mais utilizados. Estruturalmente, o amido se encontra como partículas semi-esféricas altamente ordenadas denominadas grânulos, formadas por cadeias de amilose e amilopectina (RATNAYAKE & JACKSON, 2003). A estrutura altamente ordenada do grânulo de amido confere a característica de birrefringência, que é típica de substâncias cristalinas e de forma geral, os grânulos de amido são compostos majoritariamente por amilopectina, sendo esta fração mais susceptível à ação enzimáticas que a amilose (DONA et al., 2010). Grânulos de amido são insolúveis em água à temperatura ambiente, possivelmente devido às várias pontes de hidrogênio presentes em sua estrutura e isto limita o uso de grânulos crus na alimentação tanto humana como animal (RATNAYAKE & JACKSON, 2009).

Os ingredientes amiláceos têm função essencial no processo de extrusão (CRANE et al., 2000) pois são eles que conferem a coesão entre todos os ingredientes e nutrientes da mistura e por esta razão estão diretamente ligados à qualidade final do extrusado. Durante este processo, o amido recebe água na forma líquida e de vapor, calor na forma de atrito mecânico e vapor, pressão e força de cisalhamento, etapas que são responsáveis pelo seu cozimento e por transformá-lo em um alimento com textura adequada. Com o progressivo aumento da temperatura e umidade, os grânulos absorvem água e perdem sua birrefringência, ocorrendo aumento da sua viscosidade (RATNAYAKE & JACKSON, 2009). Essa mudança estrutural é denominada gelatinização. Amostras de amido gelatinizado são mais susceptíveis à degradação pela α -amilase que amostras de amido cru (DONA et al., 2010). Durante o resfriamento e armazenamento de amostras de amido gelatinizado pode ocorrer a retrogradação, que é a associação das moléculas de amilose e amilopectina em uma estrutura cristalina. Essa estrutura pode resistir à hidrólise pela amilase (BROWN, 2004), formando uma porção do amido que passa intacta pelo intestino delgado, denominada de amido resistente. Nas situações onde ocorre a proteção física do amido no grão ou semente, como no caso de grãos inteiros ou grosseiramente

moídos, o amido também encontra-se inacessível às enzimas sendo também classificado como amido resistente (BROWN, 2004).

A quantidade de amido presente na dieta é o principal fator que altera e influencia a resposta pós-prandial à glicose e insulina em cães adultos saudáveis (NGUYEN et al., 1998). Devido a ausência de amilase salivar, em cães e gatos a digestão deste nutriente inicia-se no estômago, onde ao entrar em contato com um pH bastante baixo sofre digestão ácida. Do estômago, o alimento ingerido alcança o intestino delgado onde há o encontro com as secreções pancreáticas. Nestas secreções há bicarbonato de sódio, que é responsável por neutralizar a acidez e fazer com que o pH fique em torno de 8, e α -amilase, que dá continuidade à hidrólise do amido gerando glicose e oligossacarídeos (DONA et al., 2010). Os substratos não digeridos pela α -amilase são degradados em glicose por enzimas presentes na membrana de enterócitos do intestino delgado e os monossacarídeos restantes são absorvidos por transporte ativo através da membrana dos enterócitos, passando posteriormente para a corrente sanguínea (LENINGER, 1993). Após atingir a corrente sanguínea ocorre a liberação de insulina pelo pâncreas, hormônio hipoglicemiante que facilita a utilização da glicose pelas células e que está envolvido na oxidação intracelular da glicose e gliconeogênese no fígado (GRECCO & STABENFELDT, 1999).

Outros fatores dietéticos que podem influenciar essas respostas são a composição da dieta (NGUYEN et al., 1998) e as condições de processamento do alimento, pois se a composição e o processo forem capazes de modular a disponibilidade e velocidade de absorção da glicose, é possível que sejam observadas diferentes curvas de glicemia. Em estudo realizado por Carciofi et al. (2008), com a utilização de seis fontes diferentes de amido para cães, foi verificado que a fonte do nutriente pode ser responsável por diferentes respostas glicêmicas e insulínicas, tendo sido encontradas respostas mais rápidas (picos ocorrendo mais rapidamente após o consumo) para o arroz e o milho, e respostas mais tardias para o sorgo e a ervilha. Bazolli (2007), ao avaliar a influência do ingrediente e do grau de moagem nas respostas metabólicas de cães, encontrou diferenças estatísticas apenas para os ingredientes, mas não para as diferentes granulometrias dos grãos que compunham a ração.

Amidos-resistentes têm também demonstrado a habilidade de agir como prebiótico, e sugere-se também que as várias formas e tipos de amido-resistente

podem fornecer outros benefícios à saúde, como reduzir sintomas de diarreia (BROWN et al., 2000). A maior parte da microbiota do trato gastrointestinal de cães e gatos se concentra no intestino grosso, onde há uma população bacteriana heterogênea e complexa, bastante dinâmica e constituída por diversas espécies bacterianas. A densidade de bactérias pode atingir até 10^{10} unidades formadoras de colônias por grama de fezes, havendo a presença predominantemente de estreptococos, bifidobactérias, lactobacilos, *Bacteroides* e *Clostridium* (GOMES, 2009).

A microbiota benéfica é responsável por auxiliar a digestão e absorção de nutrientes, produzir vitaminas que são utilizadas pelo hospedeiro e diminuir por exclusão competitiva a proliferação de bactérias nocivas (SILVA & NÖRNBERG, 2003). Dentre os gêneros de bactérias benéficas, o *Lactobacillus* e o *Bifidobacterium* são normalmente os mais estudados e mais associados a estes efeitos. Além dos efeitos citados, os microorganismos benéficos também são responsáveis pela produção dos ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) e de ácido lático, que são capazes de diminuir o pH fecal, favorecer a inibição de bactérias patogênicas e estimular a proliferação de enterócitos. Com isto, pode ocorrer melhoria da estrutura e integridade celular, o que favorece a capacidade de absorção intestinal de nutrientes (GOMES, 2009). Por outro lado, bactérias nocivas (normalmente dos gêneros *Escherichia*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* e *Salmonella*) podem gerar metabólitos tóxicos e causar inflamações de mucosa.

Estudos *in vivo* já avaliaram o efeito do consumo de dietas com frações de amido resistente sobre a microbiologia fecal de animais. Em um estudo realizado com ratos, KLEESSEN et al. (1997) encontraram resultados que indicam que quando consumiram uma mistura de amido rico em amilose e amido de batata (totalizando 10% de amido resistente no alimento consumido), ratos possuíram maior proliferação fecal de lactobacilos e bifidobactérias, bactérias estas conhecidas pelos seus efeitos benéficos. Em um estudo realizado com suínos, BROWN (1997) forneceu aos animais duas dietas: uma rica em amilose (e menos susceptível à ação enzimática) e uma com baixos níveis de amilose. No fornecimento de ambas as dietas foi associado o fornecimento de um probiótico. Os resultados demonstraram que quando os animais consumiram a dieta rica em amilose, eles apresentaram maiores contagens fecais de bifidobactérias,

indicando que este tipo de amido pode ser potencialmente empregado com um prebiótico, servindo como substrato para a proliferação destes microorganismos.

A partir da década de 80, estudos em ratos e humanos constataram que determinados efeitos fisiológicos antes atribuídos às fibras alimentares, poderiam ser também atribuídos ao amido resistente. Considerável importância tem sido dada aos benefícios dos ácidos graxos de cadeia curta (acetato, butirato e propionato) e estes também são produzidos no colon pela fermentação de amido. O butirato, além de ser a principal fonte de energia dos colonócitos (SCHWIERTZ et al., 2002), tem sido apontado como o responsável por outras importantes mudanças fisiológicas, tais como a capacidade de reverter alterações neoplásicas *in vitro* (FERGUSON et al., 2000), efeitos nutritivos exercidos no epitélio do cólon e indução de apoptose em células danificadas (MENTSCHERL & CLAUS, 2003). Em estudo realizado por Champ (2004), foram encontrados resultados *in vivo* que demonstraram que o amido resistente produz maiores concentrações de butirato quando comparado à fibra de aveia, fibra de trigo, celulose, goma guar e pectina. O amido resistente produziu concentrações duas vezes maiores de butirato que o trigo e quatro vezes maiores que a pectina. Em estudo realizado com cães obesos, Respondek et al. (2008) avaliaram os efeitos da fibra fermentável (frutooligossacarídeo) sobre a sensibilidade à insulina dos animais. Os resultados demonstraram que o uso deste nutriente foi eficiente em melhorar a ação insulínica, sendo tal efeito relacionado com a fermentação desse substrato no cólon e à produção de propionato. Cabe ressaltar que trabalhos que tenham avaliado a produção de ácidos graxos de cadeia curta a partir da fermentação de amido resistente sobre a sensibilidade insulínica em cães hígidos ou obesos são inexistentes.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que tenham avaliado em cães os efeitos do tamanho da partícula da ração e da temperatura de extrusão no conteúdo de amido resistente da dieta e sua relação com a digestibilidade, diferentes parâmetros fecais, metabólicos e sensibilidade insulínica. Estas informações serão importantes para: auxiliar o entendimento dos mecanismos envolvidos na formação de amido resistente na extrusão; o estabelecimento de critérios científicos que fundamentem melhor os parâmetros e condições de moagem e extrusão; elaboração de dietas mais adequadas, contribuindo para o

desenvolvimento de alimentos funcionais que possibilitem melhor nutrição, promoção de saúde e diminuição do risco de doenças.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O Comitê de Ética para o uso de animais da Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, *Campus* de Jaboticabal aprovou previamente todos os procedimentos experimentais.

Animais e manejo

O experimento foi conduzido com 48 cães beagles adultos, fêmeas ou machos, com escore de condição corporal entre 4 e 6 (Laflamme, 1997b) e peso corporal médio de $12,4 \pm 1,5$ kg. Estes pertenciam ao Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, Universidade Estadual Paulista-UNESP, *campus* de Jaboticabal, Brasil. Antes do início do experimento, a saúde dos animais foi avaliada por meio de exame físico, hemograma, perfil bioquímico (alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, uréia, creatinina, albumina) e exames de urina e fezes. Durante os testes de digestibilidade e coleta de fezes frescas para contagem bacteriana os cães foram mantidos individualmente em gaiolas metabólicas de aço inox com 0,9 x 0,9 x 0,9 m. Durante os testes de resposta pós-prandial estes foram mantidos em canis de 1,5 x 4,5 m com solário. A energia metabolizável das dietas foi estimada por suas composições químicas e a quantidade de alimento fornecida foi inicialmente calculada usando-se equações padrões que determinam a necessidade energética de cães em manutenção ($EM, kcal = 130 \times kg PC^{0,75}$), de acordo com as recomendações do NRC (2006). Os cães eram alimentados uma vez ao dia (8h), sendo as sobras recolhidas após 15min, pesadas e o consumo registrado. Os animais foram pesados semanalmente e o fornecimento de alimento era então individualmente ajustado de modo a manterem peso corporal constante. Água esteve disponível *ad libitum*.

Dietas

Uma dieta foi formulada de acordo com as recomendações nutricionais para cães adultos, expressas pela American Association of Feed Control Officials (AAFCO, 2009), usando o milho com a fonte de carboidratos (Tabela 1). Esta

formulação foi então dividida em quatro dietas diferentes pela moagem dos ingredientes em quatro diferentes tamanhos de partícula, empregando-se para isto moinho de martelos (Modelo 4, D'Andrea, Limeira, Brasil) com quatro diferentes tamanhos de peneira: 0,5, 0,8, 1,4 e 2mm. Os diâmetros geométricos médios (DGM) das dietas foram analisados de acordo com o procedimentos descritos por Zanotto e Bellaver (1996), modificado quanto ao tamanho das peneiras, que foram de 1mm, 0,5mm, 0,25mm, 0,105mm e fundo. Os valores finais de DGM foram calculados com o programa Gransuave (Embrapa, Brasília, Brasil), estando apresentados na Tabela 2.

As dietas foram processadas na fábrica de ração da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, *Campus* de Jaboticabal, em extrusora de rosca simples (Mab 400S, Extrucenter, Monte Alto, Brasil) em duas configurações diferentes: configuração A - matriz de saída com área aberta de 63,9 mm²; configuração B – matriz de saída com a área aberta de 23,7 mm². Isto foi estabelecido para mudar a relação matéria-seca produzida:área de saída (kg/h/mm²) e, conseqüentemente, a quantidade de força de cisalhamento aplicada, resistência de transporte da massa e a temperatura no interior da extrusora. Infelizmente apenas a temperatura pode ser medida, e foi mantida na configuração A < 115°C (baixa temperatura) e na configuração B > 135°C (alta temperatura). Durante o processo de extrusão vários parâmetros foram avaliados e registrados a cada 15 minutos: adição de água e temperatura (>92°C para todos os tratamentos) no condicionador, tempo de retenção, amperagem, taxa de alimentação, velocidades da rosca e da faca, temperatura dentro do canhão da extrusora, densidade do croquete na saída da extrusora e a produtividade da extrusora. A composição química e os parâmetros de qualidade das dietas estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 1. Formulação de ingredientes da dieta experimental para cães.

Ingredientes	%, material natural
Milho	55,8
Farinha de vísceras de frango	28,6
Gordura de aves	8,5
Fibra de cana-de-açúcar	3,0
Palatabilizante	2,0
Premix mineral e vitamínico ¹	0,5
Sal	0,5
Cloreto de potássio	0,5
Cloreto de colina	0,2
Óleo de peixe	0,15
Antioxidante ²	0,1
Carbonato de cálcio	0,07
Antifúngico ³	0,04
Lisina, HCl	0,04

¹ Adição por kg de produto: Ferro, 100 mg como sulfato de ferro; Cobre 9,25 mg como sulfato de cobre; Manganês 6,25 mg como sulfato de manganês; Zinco 150 mg como sulfato de zinco; Iodo 1,87 mg como iodeto de potássio; Selênio 0,13 mg como selenito de sódio; vitamina A 18,750 UI; vitamina D 1,500 UI; vitamina E 250 UI; vitamina K 0,15 mg; Tiamina 5 mg; Riboflavina 16 mg; Ácido pantotênico 35,75 mg; Niacina 62,5 mg; Piroxidina 7,5 mg; Cobalamina 45 mcg; Acido fólico 0,75 mg,

² Mold Zap (Dipropionato de amônio, ácido acético, ácido sórbico and ácido benzóico; Alltech do Brasil Agroindustrial Ltd, Curitiba, PR, Brasil)

³ Banox (BHA, BHT, propyl gallate, and calcium carbonate; Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.)

Tabela 2. Distribuição do tamanho de partículas, diâmetro geométrico médio (DGM), composição química e parâmetros de qualidade das dietas experimentais para cães.

Item	Tamanho da peneira do moinho, mm							
	0,5		0,8		1,4		2,0	
Abertura da peneira, µm	-----% de partículas retidas-----							
1000	0,0		0,0		0,1		1,2	
500	0,2		15,2		17,3		26,0	
250	20,4		33,6		31,8		26,1	
105	62,9		40,2		36,0		38,3	
Fundo	16,6		11,1		14,9		8,4	
DGM, µm	169		248		252		290	
DGM, desvio padrão	1,8		2,1		2,2		2,2	
	-----Configuração da extrusora-----							
	A ¹	B ²	A	B	A	B	A	B
Composição Química, % sobre a matéria seca								
Matéria seca	94,9	94,0	94,6	95,0	94,3	94,3	94,3	95,0
Matéria mineral	6,9	6,9	6,7	6,7	7,5	7,5	7,1	7,1
Proteína bruta	24,5	24,6	25,2	25,2	24,7	24,9	24,3	23,9
Extrato etéreo hidrólise ácida	13,4	14,2	14,6	15,3	15,2	14,9	16,2	14,6
Amido	42,3	40,8	42,1	40,8	41,0	40,3	41,3	41,5
Fibra dietética	12,1	12,8	11,6	13,5	12,7	13,5	10,1	11,9
	continua ...							

Parâmetros de qualidade de processamento								
Densidade do croquete, g/L	360	340	390	360	430	440	425	390
Gelatinização do amido, %	84,57	89,74	80,04	87,00	73,24	77,61	66,4	75,33
Amido resistente, %	0,59	0,56	1,45	0,74	1,9	1,26	3,39	1,86
Força de corte, kgf	2,96	3,21	3,28	3,91	3,58	3,07	3,56	3,08

¹ Saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta

² Saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta

As rações foram analisadas quanto à força de corte dos kibbles (n=20), empregando-se texturômetro (Texture Analyser TAX/T2I) com a distância de penetração de 20 mm, velocidade de 2,0m/s⁻¹ e ponteira tipo Warner Bratzler. A porcentagem de gelatinização do amido foi determinada pelo método da amiloglicosidase. Resumidamente, a amostra é dividida em duas partes, uma tem seu conteúdo de amido total determinado como descrito por Hendrix (1993), enquanto a outra é tratada com amiloglicosidase, enzima que hidrolisa somente a fração gelatinizada do amido. Para a análise, 0,5g de amostra é diluída em 10 mL de tampão acetato (18,2g de acetato de sódio é diluído em 300 mL de água destilada, transferindo-se o conteúdo para frasco volumétrico de 1 L e adicionando-se 44,6 mL de ácido acético glacial. O pH é ajustado para 4,2 empregando-se solução 2N de NaOH ou HCl e o volume final é ajustado para 1 L com água destilada), adicionando-se à amostra 100 µL de amiloglicosidase (de *Aspergillus niger*, código A9913, Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil) que então é colocada em banho-maria à 40°C (±1°C) por quatro horas (mexendo-se a cada hora). Após este período a atividade enzimática é interrompida adicionando-se 5 mL de solução de ácido tricloroacético a 33% (p/v). O conteúdo é transferido para frasco volumétrico de 100 mL, sendo o volume completado com água destilada. Uma alíquota é transferida para tubo de 15 mL e centrifugada por 10 min (2.700 g e 29°C). A glicose é então mensurada no sobrenadante pelo método da glicose oxidase (GOD-ANA, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil) empregando-se analisador semiautomático (Labquest model BIO-2000, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil). A quantidade de amido gelatinizado da amostra é determinada pela seguinte fórmula: amido gelatinizado (mg) = (absorbância / peso da amostra) x 0,9 x 100. A porcentagem de gelatinização do amido é encontrada multiplicando-se a quantidade de amido gelatinizado (mg) por 100 e dividindo-se o resultado pela quantidade total de amido da amostra. As concentrações de amido resistente das rações foram determinadas segundo Association of Official Analytical Chemist (AOAC), método 2002.02, seguindo-se as especificações do fabricante do kit (Resistant starch assay procedure, Megazyme, Wicklow, Irlanda).

Delineamento experimental

O experimento foi organizado em arranjo fatorial 4 x 2 de tratamentos (4 dietas e 2 configurações de extrusora), originando 8 dietas experimentais. Os 48 cães foram separados em três blocos de 16 animais, de modo que dois animais fossem alimentados com a mesma dieta dentro de cada bloco e um total de seis cães recebesse cada dieta. O experimento foi realizado em três períodos com um grupo (bloco) avaliado por período. Em cada período os cães foram alimentados com as respectivas dietas experimentais por 21 dias: do dia zero ao 11^o para a avaliação da digestibilidade; nos dias 12 e 13 para a coleta de fezes frescas para as análises de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); dos dias 14^o ao 17^o para a coleta de fezes frescas para análises microbiológicas; dos dias 18^o ao 21^o para os testes de resposta pós-prandial.

Protocolo de digestibilidade

O teste de digestibilidade foi realizado de acordo com as recomendações e procedimentos de cálculo da AAFCO (2009), com seis dias de adaptação e cinco dias para a coleta total de fezes. A cada dia, o alimento foi pesado e fornecido as 08:00hs. As vasilhas eram removidas após 15 minutos e as sobras pesadas e registradas. No primeiro dia de coleta, todas as fezes foram removidas das gaiolas e descartadas antes das 08h00. As fezes foram então coletadas durante as próximas 120 horas, pelo menos 3 vezes ao dia. Assim que recolhidas estas eram pesadas e congeladas (-20°C). As fezes foram também classificadas de acordo com o seguinte sistema: 1 = aquosa-líquida; 2 = mole, não formada – fezes assumem o formato do pote que as contêm; 3 = moles, úmidas, macias – fezes macias mas que mantêm seu formato; 4 = resistentes, formadas, secas – mantêm-se firmes mas macias; 5 = duras e secas – pequenas, duras, podem quebrar/esfarelar.

No final do período de coleta, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas compondo uma amostra por animal e pesadas. Antes de se realizarem as análises químicas, as fezes foram secas em uma estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 h (Fanem, São Paulo, Brasil) e moídas em um moinho de facas (MOD 340, ART LAB, São Paulo) com uma peneira de 1mm. Amostras das dietas foram moídas da mesma maneira. As dietas e as fezes foram analisadas para matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta

(PB; método Kjeldahl) e extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA), segundo procedimentos recomendados pela AOAC (1995). A fibra dietética total (FDT) foi determinada de acordo com Prosky et al. (1992). Os conteúdos de energia bruta (EB) das dietas e das fezes foram determinados em bomba calorimétrica adiabática (Modelo 1261, Parr Instrument Company, Moline, IL). A quantidade total de amido foi determinada de acordo com Miller (1959) e Hendrix (1993). Todas as amostras foram analisadas em duplicatas e repetidas quando a variação foi superior a 5%.

Mensuração dos produtos de fermentação nas fezes

Fezes frescas de cada cão foram colhidas após os testes de digestibilidade para avaliar o pH e as concentrações de AGCC, ácido láctico e amônia. As fezes foram colhidas em dois dias sucessivos e no máximo 15 minutos após a defecação. Para os AGCC, imediatamente após a coleta as amostras de fezes (aproximadamente 10g) foram misturadas com 30 ml de solução de ácido fórmico 4,2 N (1:3 w/v), precipitadas a 4°C por 72 horas e o sobrenadante centrifugado (5804R, Eppendorf, Hamburgo, Brasil) três vezes a 4.500 x g e 15°C por 15 minutos, sendo o sobrenadante transferido para um novo tubo a cada centrifugação para limpar a amostra e evitar a obstrução da coluna de cromatografia. Os AGCC foram analisados por cromatografia gasosa (Modelo 9001, Finnigan, San Jose, CA) de acordo com o método descrito por Erwin et al. (1961) usando-se coluna de vidro de 2m de comprimento e 3,17mm de espessura coberta com 80/120 Carbopack B-DA/4% Carbowax 20M (Supelco, Bellefonte, PA). O nitrogênio foi o gás de arraste com fluxo de 25 mL/min. As temperaturas de trabalho foram 220°C na injeção, 210°C na coluna e 250°C no detector de ionização de chama. O ácido láctico foi determinado segundo Pryce (1969) usando-se método colorimétrico (Espectofotômetro Quick – Lab, Drake, São José do Rio Preto, Brasil). O pH das fezes foi determinado em pHmetro (modelo Q-400-Bd, Quimis, Brasil) com 1g de fezes frescas diluídas em 5 ml de água MilliQ. A concentração de amônia foi determinada de acordo com Vieira (1980) nos mesmos extratos usados para a determinação dos AGCC.

Composição microbiana das fezes

Dos dias 14 ao 17, amostras de fezes frescas (recolhidas imediatamente após eliminação) foram empregadas para contagem de grupos selecionados de bactérias (aeróbios totais, anaeróbios totais, *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Clostridium spp* e *Enterobacteriaceae*). Para isto, 10 g de fezes frescas foram pesadas em recipiente estéril e as análises começaram dentro de no máximo 30 minutos após a defecação. As populações bacterianas foram determinadas por diluições em série (10^{-1} a 10^{-7}) de amostras de fezes em água peptonada, inoculadas em placas de *petri* contendo ágar estéril. Para as contagens de aeróbios e anaeróbios totais, as amostras diluídas foram semeadas em Ágar Plate Count. Para contagem de *Enterobacteriaceae* empregou-se Ágar MacConkey e para *Lactobacilli* empregou-se Ágar Man-Rogosa Sharpe (todos os meios oriundos de Acumedia Manufacturers Inc., Lansing, MI, USA). O meio seletivo para bifidobactéria foi o Ágar Bifidobactéria (Himedia Laboratories, Mumbai, Índia). O meio usado para o crescimento de *Clostridium* foi o Ágar Reinforced Clostridium (Oxoid Ltda., Basingstoke, Hampshire, Reino Unido). As amostras para anaeróbios totais, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Clostridium* foram incubadas anaerobicamente (73% de N, 20% de CO₂ e 7% de H₂) a 37°C. As amostras para aeróbios totais e *Enterobacteriaceae* foram incubadas aerobicamente a 37°C. As placas foram contadas entre 24 e 48 horas após a inoculação. Unidades formadoras de colônia (ufc) foram definidas como colônias distintas medindo pelo menos 1 mm em diâmetro.

Avaliações das Respostas Pós-Prandiais

As respostas pós-prandiais de glicose e insulina foram avaliadas de acordo com o procedimento descrito por Carciofi et al. (2008), com uma medida adicional 360 minutos após a refeição. Antes do teste, os cães foram condicionados a ingerir todo o alimento em 15 minutos. Cães que levaram mais que 15 minutos para consumir a quantidade total de alimento não foram testados e o procedimento foi repetido no dia seguinte. Desta forma, os animais foram mantidos sem alimento por 24 horas antes da avaliação. No dia do teste, cada cão recebeu assepticamente cateter intravenoso periférico inserido na veia cefálica (Angiocath 20 GA x 1,16 in., Bektom Dickinson, EUA). Os cães foram, então, alimentados com quantidade de ração que correspondesse à ingestão de

7g de amido por $\text{kg}^{0,75}$. Amostras de sangue foram coletadas antes da alimentação (amostra basal, tempo 0) e aos 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos. O tempo era marcado pelo final dos 15 minutos de alimentação. O sangue era sempre coletado no mesmo horário, começando-se às 10:00 horas. Cada amostra de sangue de 3 mL foi tomada utilizando seringa e transferida para tubo com heparina sódica, centrifugada ($2000 \times g$ durante 5 min) e o plasma dividido igualmente em 2 tubos Eppendorf. As amostras de plasma para a determinação de glicose foram mantidas sob refrigeração (4°C) durante um máximo de 2 horas antes da análise. As amostras de plasma para análise da insulina foram congeladas (-70°C) durante no máximo dois meses antes de serem analisadas.

As concentrações plasmáticas de glicose foram determinadas pelo teste de glicose oxidase (GOD – ANA, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil) usando-se analisador de glicose semi-automático (Labquest modelo BIO – 2000, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil). A insulina plasmática foi medida por radioimunoensaio, usando-se kit disponível comercialmente (insulina humana como padrão; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA; I^{125} como marcador) previamente validado para cães (Holste et al. 1989). O coeficiente de variação do intra-ensaio da insulina foi de 7,6% e o erro padrão de 0,12 μIU por mL.

As mudanças nas concentrações plasmáticas de glicose e insulina foram calculadas para cada período pós-prandial. As respostas foram comparadas quanto às concentrações basais, média e máxima, aumentos médio e máximo do incremento (a diferença entre a concentração absoluta da amostra e a concentração basal do metabólito), e o tempo para o pico. As áreas abaixo da curva (AAC) das respostas pós-prandiais de glicose e insulina foram calculadas por integrações numéricas pelo método trapezoidal, usando-se o software Origin (Microcal Software Inc. Northampton, MA).

Análise estatística

A pressuposição de normalidade dos erros foi avaliada pelo teste de Cramer-von Mises e a de homoscedasticidade das variâncias pelo teste de Levine. Os dados foram analisados em delineamento em blocos casualizados usando-se o procedimento GLM do SAS (versão 9; SAS Inst. Inc., Cary, NC). A

unidade experimental foi o cão. As somas dos quadrados do modelo foram separada nos efeitos de dieta, período (blocos) e animal. As interações quando significativas entre as variáveis testadas (tamanho de partícula e configuração de extrusora) foram analisadas pela função SLICE. Quando diferenças significativas foram detectadas no modelo, as médias dos tamanhos de partícula do alimento foram avaliadas usando-se contrastes polinomiais (efeitos linear, quadrático e cúbico). As médias do tipo de configuração de extrusora (A e B) foram comparadas usando-se o teste F. Análise de variância de medidas repetidas com dois fatores dentro do animal (dieta e tempo) e um fator entre os animais (dieta) foi o método estatístico escolhido para serem avaliados os efeitos da dieta e do tempo nas mudanças pós-prandiais plasmáticas de glicose e insulina. Foram considerados no modelo o bloco, tratamento, momento e período. Comparações de medias foram realizadas pelo teste de Tukey. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos e de $P < 0,1$ como tendência. Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão.

4. RESULTADOS

Parâmetros de produção dos alimentos

Após a moagem, a distribuição do tamanho de partículas foi diferente para as matérias-primas. Partículas maiores do que 500 μ m representaram apenas 0,2% do alimento moído com a peneira de 0,5mm, enquanto mais de 27% do alimento moído com a peneira de 2,0mm (Tabela 2). Apesar das diferenças no tamanho de orifício, os alimentos moídos com as peneiras de 0,8mm e 1,4mm resultaram em DGM similares, o que não era esperado. A composição química das rações foi semelhante, as pequenas variações encontradas devem-se a desvios de amostragem e análises laboratoriais, pois todas vieram de um mesmo lote de produção.

No processamento, a temperatura do condicionador foi mantida acima de 92°C para todas as dietas. Considerando a produção média de ração (kg MS/h) durante a extrusão, a configuração A resultou em relação área de saída:produtividade do alimento de $0,81 \pm 0,05\text{mm}^2/\text{kg/h}$, enquanto a configuração B de $0,26 \pm 0,01\text{mm}^2/\text{kg/h}$, valor três vezes mais baixo. A adição de água foi similar entre as dietas, com aproximadamente 21% de umidade no alimento ao sair da extrusora. A temperatura dentro da extrusora mudou de acordo com a configuração da extrusora e o tamanho de partícula. A configuração A resultou em temperatura média na extrusora de 113°C, menor que o valor médio registrado para a configuração B, de 137°C ($P < 0,001$). Considerando o tamanho de partícula, a sua influência na temperatura da extrusora foi diferente para cada conformação. Enquanto na configuração A nenhum efeito do tamanho de partícula foi verificado para a temperatura da extrusora (média variando no intervalo de 112°C a 116°C), a temperatura da extrusora diminuiu linearmente conforme o DGM do alimento aumentou na configuração B, reduzindo-se de $144,7 \pm 1,5^\circ\text{C}$ para o alimento moído na peneira de 0,5mm para $124,5 \pm 0,8^\circ\text{C}$ para a dieta moída com a peneira de 2,0mm ($P = 0,013$). Em relação à energia gasta para a extrusão, não houve variação de acordo com a configuração da extrusora ($69,5 \pm 5,3 \text{ kW/ton/h}$ para a configuração A e $67,4 \pm 1,9 \text{ kW/ton/h}$ para a configuração B), mas houve redução linear com o aumento do tamanho de partícula da matéria-prima ($R^2=0,49$; $P < 0,001$), como pode ser visto na Figura 1.

Dentre os parâmetros de qualidade de processamento, a densidade do croquete (g/L) e a força de corte (kgf) não variaram entre as dietas ($P > 0,05$; Tabela 2). A gelatinização do amido aumentou com a redução na área aberta de saída da matriz ($P < 0,001$) e com a redução do DGM da matéria-prima ($P < 0,001$), enquanto o oposto foi verificado para a porcentagem de amido resistente, que diminuiu nas duas situações ($P < 0,001$). Verificou-se relação inversa entre a porcentagem de gelatinização do amido e a quantidade de amido resistente na ração ($R^2 = 0,95$; $P < 0,001$), como mostra a Figura 2.

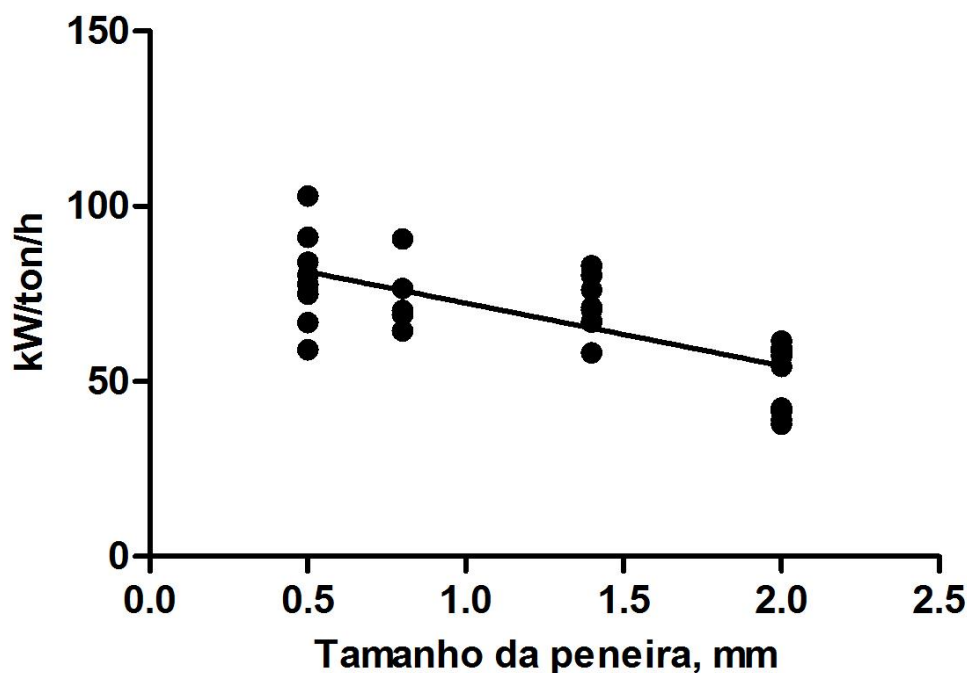


Figura 1. Energia gasta para a extrusão (kW/ton/h) em relação ao tamanho da peneira (mm) usada para moer as dietas experimentais ($R^2=0,49$; $P < 0,001$).

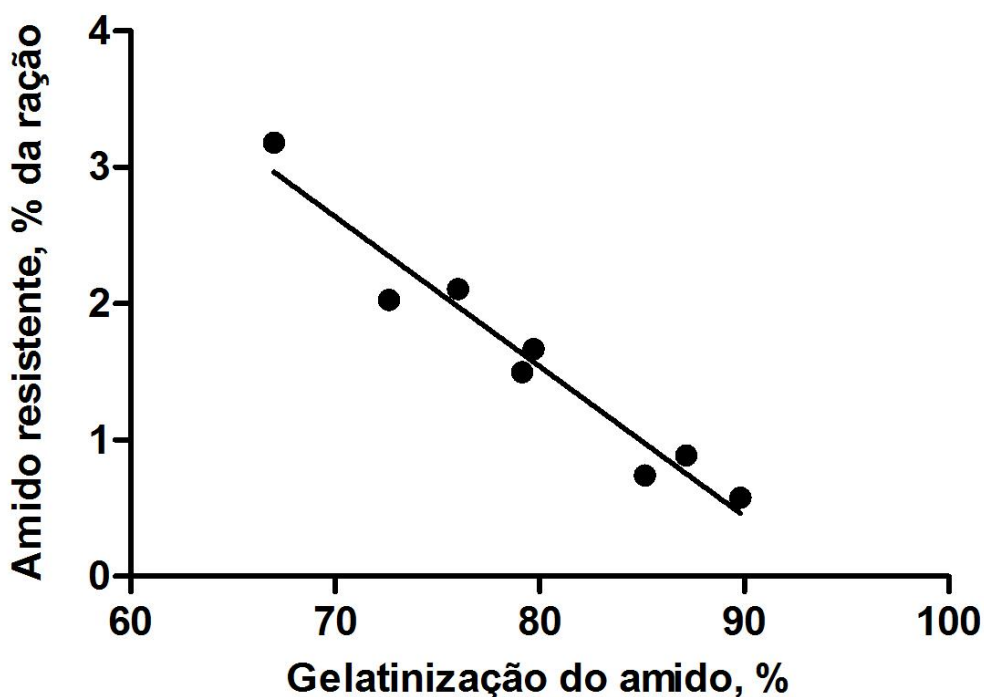


Figura 2. Relação entre a porcentagem de gelatinização do amido e a formação de amido resistente (%) em ração para cães à base de milho ($R^2=0,95$; $P < 0,001$).

Digestibilidade

Todos os cães consumiram quantidade adequada das dietas e seu peso corporal não variou durante o experimento. O consumo de nutrientes foi similar entre os tratamentos (Tabela 3). Não houve interação entre a configuração da extrusora e o tamanho de partículas para a digestibilidade de nenhum nutriente, assim as médias do tamanho de partícula foram comparadas independentemente da configuração da extrusora. Para todos os nutrientes, exceto amido e gordura foi verificada redução linear da digestibilidade conforme o tamanho de partícula aumentou ($P < 0,01$). As equações de regressão para a digestibilidade dos nutrientes em função do DGM apresentaram R^2 variando de 0,32 para a MS a 0,35 para a EB. A gordura apresentou tendência de redução ($P = 0,053$) e a digestibilidade do amido ficou em torno de 99,9% para todas as dietas.

Tabela 3. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes de dietas experimentais moídas em diferentes tamanhos de peneira e extrusadas sob duas conformações de extrusora, fornecidas para cães (média ± erro padrão).

Item	Configuração da extrusora	Tamanho da peneira, mm				Média	Valor de P	
		0,5	0,8	1,4	2,0		Linear	Quadrático
Consumo de ração, g/cão/d								
Matéria seca	A (63,6 mm ²) ¹	227,6±16,4	231,5±10,8	246,0±4,3	240,9±15,4	236,5±6,1		
	B (23,7 mm ²) ²	248,2±10,3	226,3±15,1	228,2±11,0	240,7±12,3	235,8±6,0		
	Média	237,9±9,7	228,9±8,9	237,1±6,2	240,8±9,4		0,665	0,469
Coeficientes de digestibilidade aparente								
Matéria seca	A (63,6 mm ²)	81,5±0,4	82,3±0,9	78,3±0,6	79,6±0,7	80,4±0,45		
	B (23,7 mm ²)	85,6±0,6	80,9±0,8	78,9±0,7	81,2±0,9	80,7±0,4		
	Média	81,7±0,4	81,6±0,6	78,6±0,5	80,3±0,6		0,007	0,084
Matéria orgânica	A (63,6 mm ²)	85,2±0,3	85,7±0,8	82,6±0,5	83,4±0,7	84,2±0,4		
	B (23,7 mm ²)	85,6±0,6	84,7±0,7	83,4±0,5	84,9±0,7	84,6±0,3		
	Média	85,4±0,3	85,2±0,5	83,0±0,4	84,1±0,5		0,004	0,126
Proteína bruta	A (63,6 mm ²)	84,6±0,4	84,2±0,9	80,9±0,9	81,4±1,1	82,8±0,5		
	B (23,7 mm ²)	85,4±0,8	84,4±0,9	82,2±0,7	83,0±0,7	83,7±0,4		
	Média	85,0±0,3	84,3±0,6	81,5±0,6	82,2±0,7		0,001	0,231
Gordura	A (63,6 mm ²)	91,2±0,7	92,6±0,8	89,9±2,1	91,2±0,8	91,5±0,5		
	B (23,7 mm ²)	92,2±0,6	91,1±0,9	91,0±0,7	90,3±0,7	91,1±0,4		
	Média	91,7±0,5	92,2±0,6	90,6±0,8	90,7±0,5		0,053	0,548
Amido	A (63,6 mm ²)	99,9±0,0	99,9±0,0	99,9±0,0	99,9±0,0	99,9±0,0		
	B (23,7 mm ²)	99,9±0,0	99,9±0,0	99,9±0,0	99,9±0,0	99,9±0,0		
	Média	99,9±0,0	99,9±0,0	99,9±0,0	99,9±0,0		0,810	0,453
Energia	A (63,6 mm ²)	85,7±0,3	85,9±0,7	82,9±0,5	83,8±0,7	84,6±0,4		
	B (23,7 mm ²)	85,8±0,7	85,1±0,7	83,7±0,5	85,2±0,7	85,0±0,4		
	Média	85,8±0,4	85,5±0,5	83,3±0,4	84,5±0,5		0,005	0,110

¹ Saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta

² Saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta

Produção e características das fezes

Nenhuma interação entre a configuração da extrusora e o tamanho de partículas da matéria-prima foi verificada para os parâmetros fecais. A configuração da extrusora não influenciou as características e a produção de fezes (Tabela 4), enquanto a moagem em diferentes tamanhos apresentou efeitos significativos. A produção diária de fezes (g/cão/dia) aumentou linearmente com aumento do tamanho de partículas da matéria-prima ($P = 0,002$), mas este efeito foi devido ao aumento da quantidade de água nas fezes, de modo que a excreção de fezes na matéria-seca não se alterou ($P = 0,159$). O teor de água das fezes aumentou linearmente ($P < 0,001$) com o aumento do tamanho de partícula da matéria-prima. O escore fecal também diminuiu conforme o tamanho de partícula aumentou ($P < 0,05$), mas todas as fezes se mantiveram adequadas, com escore acima de 3. O aumento do tamanho de partícula também ocasionou diminuição linear ($P < 0,001$) do pH das fezes.

Concentração de produtos de fermentação e contagem de bactérias das fezes

O DGM da matéria-prima alterou significativamente as concentrações de alguns produtos de fermentação nas fezes ($P < 0,05$), no entanto, não houve efeito da configuração da extrusora nem interação entre a configuração da extrusora e o tamanho de partícula (Tabela 5). O aumento do DGM resultou em aumento quadrático na concentração de todos os AGCC avaliados e do ácido láctico das fezes ($P < 0,05$). A concentração de amônia das fezes, por outro lado, diminuiu linearmente com o aumento do tamanho de partículas da matéria-prima ($P < 0,001$). As concentrações de ácido láctico e o pH das fezes demonstraram forte associação ($R^2=0,78$; $P < 0,01$; Figura 3)

Em relação à contagem dos microrganismos selecionados, não houve efeitos da configuração da extrusora nem interação entre esta e o DGM (Tabela 6). O tamanho de partícula da matéria-prima, no entanto, modificou significativamente as contagens de alguns microrganismos, com aumento linear nas populações de aeróbios totais ($P=0,002$), anaeróbios totais ($P=0,014$) e Bifidobacteria ($P=0,001$).

Tabela 4. Produção e características fecais de cães alimentados com dietas experimentais moídas em diferentes tamanhos de peneira e extrusadas sob duas conformações de extrusora (média \pm erro padrão).

Item	Configuração da extrusora	Tamanho da peneira, mm				Média	Valor de P	
		0,5	0,8	1,4	2,0		Linear	Quadrático
Produção de fezes, g/cão/dia	A (63,6 mm ²) ¹	104,9 \pm 8,7	112,25 \pm 9,5	143,8 \pm 5,6	144,8 \pm 17,4	126,4 \pm 6,4		
	B (23,7 mm ²) ²	114,1 \pm 8,9	116,6 \pm 11,7	130,0 \pm 7,8	133,0 \pm 12,2	123,4 \pm 5,1		
	Média	109,4 \pm 6,1	114,4 \pm 7,2	136,9 \pm 5,0	138,9 \pm 10,3		0,002	0,844
Produção de fezes, gMS/cão/dia	A (63,6 mm ²)	38,8 \pm 3,0	37,2 \pm 2,7	49,0 \pm 2,4	45,0 \pm 5,5	42,5 \pm 2,0		
	B (23,7 mm ²)	41,9 \pm 3,3	40,1 \pm 4,5	45,9 \pm 3,9	41,1 \pm 4,4	42,2 \pm 2,0		
	Média	40,3 \pm 2,2	38,7 \pm 2,5	47,4 \pm 2,2	43,0 \pm 3,4		0,159	0,611
Matéria seca das fezes, %	A (63,6 mm ²)	37,2 \pm 1,4	33,5 \pm 1,3	34,1 \pm 0,9	31,2 \pm 0,9	34,0 \pm 0,7		
	B (23,7 mm ²)	36,7 \pm 1,0	34,3 \pm 0,9	35,0 \pm 1,3	30,7 \pm 0,6	34,2 \pm 0,6		
	Média	36,9 \pm 0,8	33,9 \pm 0,8	34,6 \pm 0,7	30,9 \pm 0,5		<0,001	0,714
pH das fezes	A (63,6 mm ²)	6,85 \pm 0,07	6,67 \pm 0,05	6,37 \pm 0,07	6,33 \pm 0,07	6,55 \pm 0,05		
	B (23,7 mm ²)	6,77 \pm 0,07	6,77 \pm 0,08	6,58 \pm 0,08	6,42 \pm 0,67	6,64 \pm 0,05		
	Média	6,81 \pm 0,05	6,72 \pm 0,05	6,48 \pm 0,06	6,37 \pm 0,05		<0,001	0,930
Escore fecal ³	A (63,6 mm ²)	3,7 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	3,3 \pm 0,0	3,1 \pm 0,1	3,4 \pm 0,05		
	B (23,7 mm ²)	3,5 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1	3,2 \pm 0,0	3,5 \pm 0,05		
	Média	3,6 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1	3,2 \pm 0,0		0,001	0,049

¹ Saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta. ² Saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta. ³ Escore de acordo com o seguinte sistema: 1 = aquosa-líquida; 2 = mole, não formada – fezes assumem o formato do pote que as contêm; 3 = moles, úmidas, macias – fezes macias mas que mantém seu formato; 4 = resistentes, formadas, secas – mantêm-se firmes mas macias; 5 = duras e secas – pequenas, duras, podem quebrar/esfarelar.

Tabela 5. Concentração de produtos de fermentação nas fezes de cães alimentados com dietas experimentais moídas em diferentes tamanhos de peneira e extrusadas sob duas conformações de extrusora (média \pm erro padrão).

Item	Configuração da extrusora	Tamanho da peneira, mm				Média	Valor de P	
		0,5	0,8	1,4	2,0		Linear	Quadrático
$\mu\text{mol/g}$ fezes, na matéria seca								
Amônia	A (63,6 mm ²) ¹	132,3 \pm 5,0	120,5 \pm 8,0	120,68 \pm 8,7	103,1 \pm 6,7	119,1 \pm 4,0		
	B (23,7 mm ²) ²	172,1 \pm 1,0	143,7 \pm 14,5	122,9 \pm 12,1	114,7 \pm 7,0	138,4 \pm 7,0		
	Média	152,2 \pm 8,0	132,1 \pm 8,6	121,8 \pm 7,1	108,9 \pm 4,9		<0,001	0,623
Ácido acético	A (63,6 mm ²)	88,8 \pm 6,7	109,2 \pm 7,0	116,1 \pm 11,2	103,6 \pm 5,0	104,4 \pm 4,2		
	B (23,7 mm ²)	99,9 \pm 6,7	119,1 \pm 10,7	131,3 \pm 16,7	112,2 \pm 12,6	115,7 \pm 6,2		
	Média	94,4 \pm 4,8	114,2 \pm 6,3	123,7 \pm 9,9	107,9 \pm 6,6		0,136	0,020
Ácido propiônico	A (63,6 mm ²)	35,4 \pm 2,6	52,6 \pm 3,7	56,4 \pm 5,7	59,4 \pm 2,8	51,0 \pm 2,7		
	B (23,7 mm ²)	41,4 \pm 2,2	53,1 \pm 8,4	63,9 \pm 8,6	55,1 \pm 9,0	53,4 \pm 3,9		
	Média	38,4 \pm 1,8	52,9 \pm 4,4	60,2 \pm 5,0	57,0 \pm 4,5		0,018	0,049
Ácido butírico	A (63,6 mm ²)	15,0 \pm 2,3	18,1 \pm 1,0	18,7 \pm 2,1	15,5 \pm 1,4	16,8 \pm 0,9		
	B (23,7 mm ²)	15,5 \pm 0,6	16,1 \pm 2,2	26,2 \pm 5,3	17,4 \pm 2,1	19,0 \pm 1,7		
	Média	15,3 \pm 3,9	17,5 \pm 1,2	22,4 \pm 2,9	16,5 \pm 1,2		0,291	0,028
AGCC totais ³	A (63,6 mm ²)	139,2 \pm 10,2	179,9 \pm 11,2	191,2 \pm 17,9	178,6 \pm 8,7	172,2 \pm 7,1		
	B (23,7 mm ²)	156,8 \pm 7,6	189,1 \pm 19,1	221,4 \pm 29,7	184,7 \pm 22,7	188,0 \pm 11,1		
	Média	148,0 \pm 4,8	184,5 \pm 10,7	206,3 \pm 17,2	181,6 \pm 11,7		0,036	0,020
Ácido láctico	A (63,6 mm ²)	5,5 \pm 1,0	5,1 \pm 0,4	7,5 \pm 2,1	15,1 \pm 2,6	8,3 \pm 1,2		
	B (23,7 mm ²)	4,2 \pm 0,18	4,6 \pm 0,2	5,6 \pm 1,0	11,3 \pm 2,4	6,4 \pm 0,8		
	Média	4,8 \pm 0,5	4,8 \pm 0,2	6,5 \pm 1,1	13,2 \pm 1,8		<0,001	0,004

¹ Saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta. ² Saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta. ³ Soma dos ácidos acético, propiônico e butírico

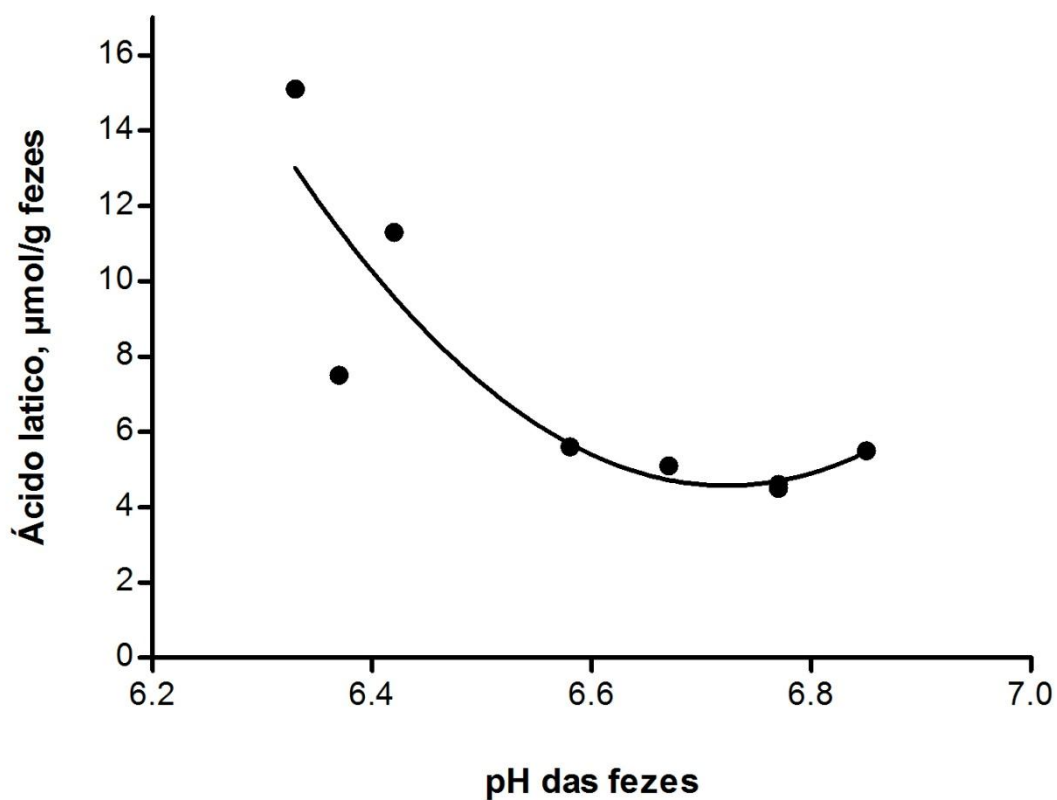


Figura 3. Relação entre o pH e a concentração de ácido láctico ($\mu\text{mol/g}$ fezes na matéria seca) das fezes de cães alimentados com rações à base de milho moídas em diferentes tamanhos de partícula da matéria-prima e extrusadas em duas configurações ($R^2=0,78$; $P < 0,01$).

Tabela 6. Contagem microbiana nas fezes de cães alimentados com dietas processadas com diferentes tamanhos de peneira e conformação de extrusora (média \pm erro padrão).

Item	Configuração da extrusora	Tamanho da peneira, mm				Média	Valor de P	
		0,5	0,8	1,4	2,0		Linear	Quadrático
log unidades formadoras colônia/g fezes, na matéria seca								
Aeróbios totais	A (63,6 mm ²) ¹	8,88 \pm 0,34	9,24 \pm 0,49	9,36 \pm 0,29	9,51 \pm 0,24	9,25 \pm 0,17		
	B (23,7 mm ²) ²	8,59 \pm 0,32	8,94 \pm 0,36	9,49 \pm 0,34	10,10 \pm 0,30	9,27 \pm 0,19		
	Média	8,73 \pm 0,22	9,09 \pm 0,29	9,43 \pm 0,21	9,79 \pm 0,19		0,002	0,993
Anaeróbios totais	A (63,6 mm ²)	8,97 \pm 0,33	9,22 \pm 0,39	9,48 \pm 0,35	9,52 \pm 0,24	9,29 \pm 0,16		
	B (23,7 mm ²)	9,08 \pm 0,47	8,83 \pm 0,60	9,90 \pm 0,42	10,36 \pm 0,28	9,49 \pm 0,26		
	Média	9,03 \pm 0,30	9,03 \pm 0,35	9,67 \pm 0,26	9,99 \pm 0,21		0,014	0,688
Enterobacteriaceae	A (63,6 mm ²)	6,42 \pm 0,44	6,37 \pm 0,23	5,28 \pm 0,47	5,55 \pm 0,29	5,90 \pm 0,20		
	B (23,7 mm ²)	6,37 \pm 0,33	5,95 \pm 0,39	6,99 \pm 0,69	6,00 \pm 0,36	6,30 \pm 0,20		
	Média	6,40 \pm 0,26	6,16 \pm 0,22	6,13 \pm 0,47	5,77 \pm 0,23		0,185	0,847
Clostridium	A (63,6 mm ²)	4,51 \pm 0,39	4,36 \pm 0,46	4,75 \pm 0,10	4,84 \pm 0,24	4,62 \pm 0,16		
	B (23,7 mm ²)	4,94 \pm 0,37	4,88 \pm 0,44	4,99 \pm 0,20	4,70 \pm 0,35	4,88 \pm 0,16		
	Média	4,71 \pm 0,27	4,62 \pm 0,31	4,87 \pm 0,10	4,77 \pm 0,20		0,679	0,977
Lactobacilli	A (63,6 mm ²)	8,60 \pm 0,25	9,29 \pm 0,19	9,27 \pm 0,59	9,14 \pm 0,24	9,08 \pm 0,19		
	B (23,7 mm ²)	8,50 \pm 0,28	8,67 \pm 0,21	8,10 \pm 0,98	9,40 \pm 0,30	8,66 \pm 0,25		
	Média	8,54 \pm 0,18	8,95 \pm 0,17	8,74 \pm 0,55	9,27 \pm 0,18		0,182	0,853
Bifidobacteria	A (63,6 mm ²)	8,33 \pm 0,34	8,79 \pm 0,38	9,10 \pm 0,29	9,26 \pm 0,15	8,87 \pm 0,16		
	B (23,7 mm ²)	8,60 \pm 0,38	8,15 \pm 0,41	9,19 \pm 0,11	9,41 \pm 0,19	8,84 \pm 0,17		
	Média	8,47 \pm 0,25	8,47 \pm 0,28	9,15 \pm 0,15	9,33 \pm 0,12		0,001	0,663

¹ Saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta. ² Saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta

Respostas pós-prandiais de glicose e insulina

O peso corporal e escore de condição corporal dos cães, assim como os consumos de matéria seca e amido não variaram entre as dietas durante as avaliações pós-prandiais (Tabela 7). As respostas de glicose estão ilustradas na Figura 4. Na avaliação de moagem independente de configuração da extrusora (Figura 4A), foi verificado que os cães alimentados com a ração moída a 0,5mm apresentaram elevação da glicemia, em relação à glicemia de jejum, aos 180 minutos e esta só retornou aos valores basais aos 360 minutos pós-prandiais ($P < 0,05$). Por outro lado, cães que receberam as rações moídas a 0,8mm, 1,4mm e 2,0mm não apresentaram elevação da glicemia em relação aos valores basais (com exceção dos alimentados com a ração moída a 1,4mm, aos 180min; $P < 0,05$). Na comparação entre rações dentro de cada tempo, foram verificadas diferenças de glicemia aos 180 minutos, 240 minutos, 300 minutos e 360 minutos, quando o consumo da ração moída mais finamente resultou (ou demonstrou tendência) em maiores glicemias do que mediante ingestão do tratamento com maior DGM (Figura 4A).

A configuração de extrusora também alterou a resposta glicêmica dos cães (Figura 4B). Na comparação com a glicemia basal, aos 120 minutos as duas dietas promoveram elevação da glicemia, que não retornou mais aos valores de jejum ($P < 0,05$). Na comparação entre configurações dentro de cada tempo, verificou-se que a glicemia basal ($P = 0,058$) e aos 60 min ($P = 0,09$) tendeu a ser maior, enquanto as glicemias aos 5, 15 e 300 minutos foi superior ($P < 0,05$) para os cães que consumiram as rações produzidas na configuração mais restritiva de processamento (área de saída de $23,7 \text{ mm}^2$; $0,26 \pm 0,01 \text{ mm}^2/\text{kg}$ de matéria seca/h), em relação aos alimentados com ração processada na configuração menos restritiva (área de saída de $63,6 \text{ mm}^2$; $81 \pm 0,05 \text{ mm}^2/\text{kg}$ de matéria seca/h).

Em relação aos parâmetros de avaliação glicêmica, além da glicemia basal, a glicemia média também tendeu a ser maior para cães alimentados com ração processada na configuração mais restritiva (área de saída de $23,7 \text{ mm}^2$; $P = 0,08$), da mesma forma que dentro da moagem 0,5mm, a configuração mais restritiva tendeu a resultar em maior glicemia máxima ($P = 0,07$) e maior AAC 0-360min de glicose ($P = 0,09$) do que a configuração menos restritiva, como apresentado na Tabela 8.

Tabela 7. Peso corporal, escore de condição corporal e consumo de nutriente durante a avaliação das respostas pós-prandiais dos cães alimentados com dietas processadas com diferentes tamanhos de peneira e conformação de extrusora (média \pm erro padrão)**

Item	Configuração da extrusora	Tamanho da peneira, mm				Média	Valor de P	
		0,5	0,8	1,4	2,0		Linear	Quadrático
Peso corporal, kg	A (63,6 mm ²) ¹	11,9 \pm 0,7	11,8 \pm 0,8	12,7 \pm 0,5	13,3 \pm 1,0	12,4 \pm 0,4		
	B (23,7 mm ²) ²	12,9 \pm 0,7	12,0 \pm 0,6	12,9 \pm 0,8	12,6 \pm 0,6	12,6 \pm 0,3		
	Média	12,4 \pm 0,5	11,9 \pm 0,5	12,8 \pm 0,4	12,9 \pm 0,6		0,266	0,505
Escore corporal ³	A (63,6 mm ²)	5,7 \pm 0,6	5,5 \pm 0,2	5,3 \pm 0,4	5,8 \pm 0,8	5,6 \pm 0,3		
	B (23,7 mm ²)	5,7 \pm 0,6	5,3 \pm 0,5	5,3 \pm 0,5	5,5 \pm 0,3	5,5 \pm 0,2		
	Média	5,7 \pm 0,4	5,4 \pm 0,3	5,3 \pm 0,3	5,7 \pm 0,4		0,957	0,395
Consumo durante o teste								
Matéria seca, g/cão	A (63,6 mm ²)	183,5 \pm 11,0	181,0 \pm 11,7	194,4 \pm 8,3	203,7 \pm 15,4	190,6 \pm 5,8		
	B (23,7 mm ²)	197,0 \pm 9,9	185,0 \pm 9,4	197,1 \pm 11,6	193,8 \pm 9,7	193,2 \pm 4,9		
	Mean	190,3 \pm 7,3	183,0 \pm 7,2	195,7 \pm 6,8	198,8 \pm 8,8		0,264	0,501
Amido, g/kg	A (63,6 mm ²)	7,2 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0	7,1 \pm 0,0	7,2 \pm 0,0		
	B (23,7 mm ²)	7,0 \pm 0,0	7,0 \pm 0,0	7,0 \pm 0,0	7,1 \pm 0,0	7,0 \pm 0,0		
	Média	7,1 \pm 0,03	7,1 \pm 0,04	7,1 \pm 0,04	7,1 \pm 0,0		0,551	0,553

¹ Saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta

² Saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta

³ Escore de condição corporal entre 1 (caquético) e 9 (obeso) (Laflamme, 1997b)

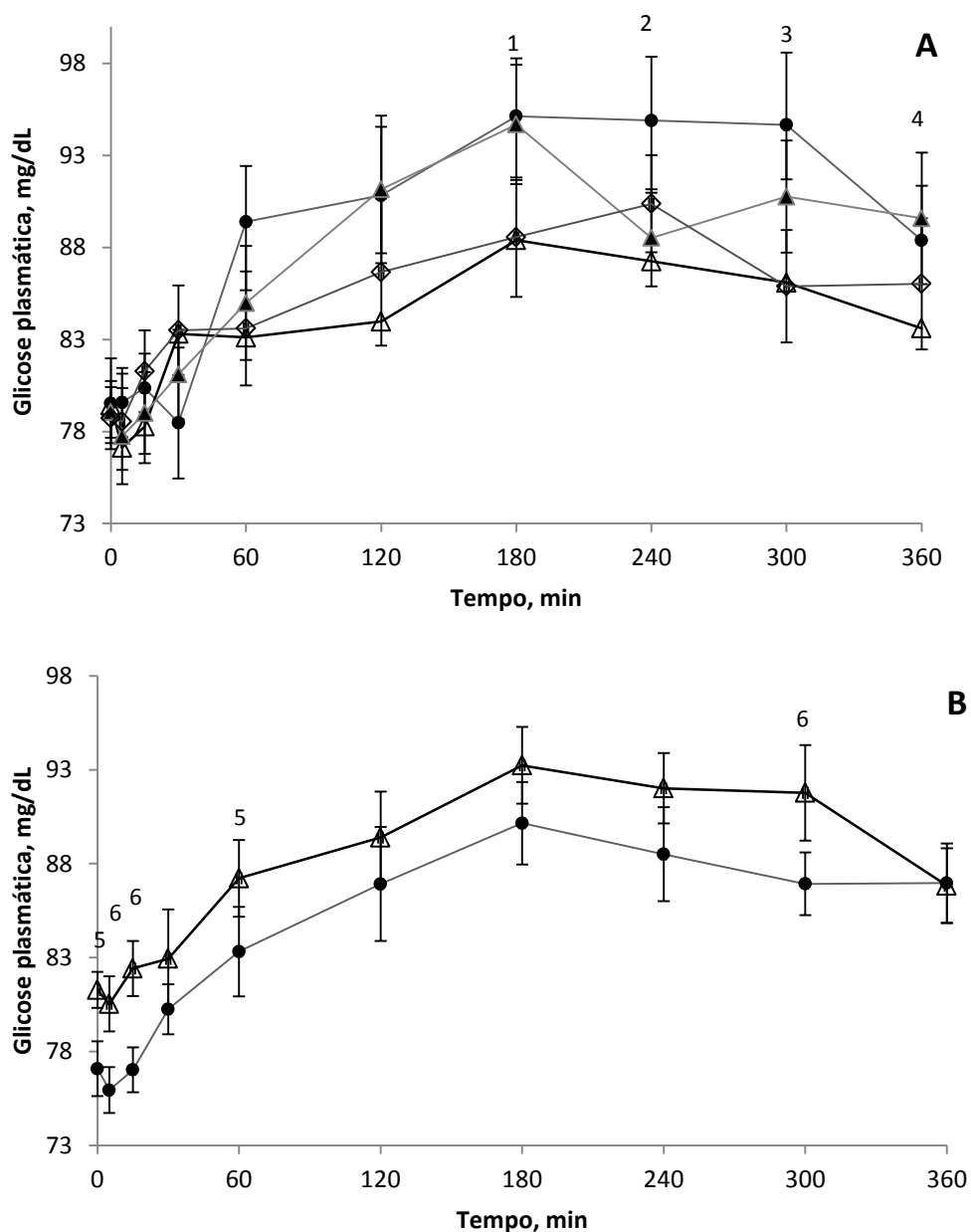


Figura 4. Respostas glicêmicas pós-prandiais de cães alimentados com dietas experimentais à base de milho processadas com diferentes tamanhos de peneira ou configurações de extrusora. **A:** tamanhos de peneira: -●- 0,5-mm; -△- 0,8-mm; -▲- 1,4-mm; -◇- 2,0-mm. ¹ Moagem 0,5mm maior que 2,0mm ($P = 0,06$). ² Moagem 0,5mm maior que 1,4mm e 2,0mm ($P < 0,05$). ³ Moagem 0,5mm maior que 0,8mm e 2,0mm ($P < 0,07$). ⁴ Moagem 0,5mm e 1,4mm maior que 2,0mm ($P < 0,05$). **B:** -●- saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta; -△- saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta. ⁵ tendência a diferença entre configurações ($P < 0,09$). ⁶ diferença entre configurações ($P < 0,05$).

Tabela 8. Respostas de glicose pós-prandiais de cães alimentados com dietas processadas com diferentes tamanhos de peneira e conformação de extrusora (média ± erro padrão)¹.

Item	Configuração da extrusora	Tamanho da peneira, mm				Média	Valor de P	
		0,5	0,8	1,4	2,0		Linear	Quadrático
Glicose, mg/dL (a menos que indicado de outra forma)								
Basal	A (63,6 mm ²) ²	76,3±4,2	76,6±2,7	78,1±2,6	77,4±2,5	77,1±1,6 [#]		
	B (23,7 mm ²) ³	82,7±2,1	82,3±1,4	80,0±2,3	80,1 ±2,1	81,3±1,0		
	Média	79,5±2,5	79,4±1,7	79,1±1,7	78,7±1,6		0,678	0,591
Média	A (63,6 mm ²)	83,5±1,4	81,1±2,3	85,8±4,0	82,9±3,3	83,3±1,4 [#]		
	B (23,7 mm ²)	90,7±3,7	85,0±1,3	85,5±2,7	85,7±1,7	86,8±1,3		
	Média	87,1±2,2	83,1±1,4	85,7±2,3	84,3±1,8		0,509	0,489
Máxima	A (63,6 mm ²)	97,8±2,2 [#]	92,8±2,4	102,2±5,7	96,0±6,0	97,2±2,2		
	B (23,7 mm ²)	107,7±4,5	97,1±2,7	97,4±3,7	100,4±3,6	100,6±1,9		
	Média	102,8±2,8	94,9±1,8	99,8±3,3	98,2±3,4		0,496	0,286
Tempo para o pico, min	A (63,6 mm ²)	170,0±42,2	220,0±36,9	230±42,2	250,0±32,6	217,5±19,0	0,164	0,702
	B (23,7 mm ²)	250,0±24,1	145,0±39,8	135,0±39,3	117,5±44,2	161,6±20,6	0,025	0,259
	Média	210,0±26,1	182,5±28,2	182,5±31,0	183,8±32,9			
AAC ⁴ 0-360 min, mg/dL/h	A (63,6 mm ²)	518,0±9,3 [#]	500,0±15,7	538,3±27,5	513,2±28,7	517,4±10,6		
	B (23,7 mm ²)	574,4±25,6	520,7±9,5	528,8±18,9	524,0±8,9	537,0±9,2		
	Média	546,2±15,5	510,4±9,3	533,5±16,0	518,6±14,4		0,348	0,462
AAC 0-120 min, mg/dL/h	A (63,6 mm ²)	166,21±3,0	160,8±6,9	166,2±3,0	164,2±7,9	164,8±3,4		
	B (23,7 mm ²)	177,6±8,2	168,9±3,6	177,6±8,2	170,6±3,8	171,8 ±2,8		
	Média	171,9±4,5	164,8±3,9	169,2±5,3	167,4±4,3		0,661	0,577

continua ...

AAC 120-360 mg/dL/h	A (63,6 mm ²)	351,8±7,5	339,2±9,7	370,3±18,7	348,9±21,5	352,5±7,6		
	B (23,7 mm ²)	396,8±18,6	351,9±10,3	358,4±13,8	353,4±6,8	365,1±7,2		
	Média	374,3±11,7	345,5±7,0	364,4±11,2	351,2±10,8		0,272	0,447
Incremento médio	A (63,6 mm ²)	7,2±3,7	4,5±1,9	7,7±1,4	5,5±3,6	6-2±1,3		
	B (23,7 mm ²)	8,0±2,1	2,8±1,1	5,5±1,2	5,7±1,4	5,5±0,8		
	Média	7,6±2,0	3,6±1,1	6,6±0,9	5,6±1,8		0,658	0,342
Incremento máximo	A (63,6 mm ²)	21,5±4,0	16,2±1,4	24,1±3,3	18,7±5,7	20,1±1,9	0,969	0,982
	B (23,7 mm ²)	25,0±3,2	14,8±1,6	17,3±3,1	20,3±2,1	19,4±1,5	0,330	0,019
	Média	23,3±2,5	15,5±1,1	20,7±2,4	19,5±2,9			
AAC 0-360 min do incremento, mg/dL/h	A (63,6 mm ²)	71,3±18,9	52,6±6,8	72,3±11,6	77,1±15,3	68,3±6,8		
	B (23,7 mm ²)	85,2±15,8	42,7±5,4	51,0±12,3	56,3±6,0	58,8±6,0		
	Média	78,3±11,9	47,6±4,4	61,6± 8,7	66,7±8, 5		0,601	0,045
AAC 0-120 min, do incremento mg/dL/h	A (63,6 mm ²)	20,4±6,2	16,1±2,3	14,4±3,6	22,7±4,4	18,4±2,2		
	B (23,7 mm ²)	19,0±3,9	12,7±2,1	12,5±2,8	17,0±3,1	15,3±1,5		
	Média	19,7±3,5	14,4±1,6	13,4± 2,2	19,8±2,7		0,964	0,031
AAC 120-360 min, do incremento mg/dL/h	A (63,6 mm ²)	50,9±13,9	36,4±6,26	57,9±8,6	54,4±11,6	49,9±5,17		
	B (23,7 mm ²)	66,2±12,7	30,0±5,4	38,6±10,4	39,3±5,1	43,5±5,1		
	Média	58,6±9,3	33,2±4,0	48,2 ±7,1	46,9±6,4		0,521	0,094

¹ Amostras de sangue coletadas no tempo 0 (pré alimentação) e aos 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 min após a alimentação

² Saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta

³ Saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta

⁴ Área abaixo da curva

tendência à diferença entre médias (P < 0,1)

O tempo para pico de glicemia e o incremento máximo de glicose apresentaram interação entre moagem e configuração de extrusora ($P < 0,05$). Enquanto para a configuração menos restritiva (área de saída de $63,6 \text{ mm}^2$) a moagem não interferiu nestes parâmetros, dentro da configuração mais restritiva ocorreu redução linear no tempo para glicemia máxima ($P = 0,025$) e redução quadrática no incremento máximo de glicose ($P = 0,019$) com o aumento do DGM da matéria-prima. Foi verificado, também, redução quadrática do incremento de glicose, da AAC 0-360min do incremento de glicose e da AAC 0-120min do incremento de glicose com o aumento do DGM da matéria-prima ($P < 0,05$), independentemente da configuração da extrusora.

Em relação à secreção de insulina, todas as dietas induziram aumento nas concentrações pós-prandiais deste hormônio, em comparação aos valores basais, a partir de 30 minutos de consumo do alimento ($P < 0,05$), como pode ser verificado na Figura 5. Verificou-se efeito de moagem nas respostas de insulina dos cães ($P < 0,001$), na avaliação da moagem independente da configuração da extrusora houve maior elevação da insulina em vários pontos da curva em cães alimentados com as dietas moídas a 0,5mm em relação às moídas a 0,8mm e/ou 1,4mm ($P < 0,05$; Figura 5A). Em relação à configuração de extrusora, apesar desta ter influência nas respostas de insulina ($P < 0,01$), seu efeito foi menos pronunciado e diferenças entre configurações ocorreram apenas aos 240 minutos pós-prandiais ($P < 0,05$; Figura 5B).

Não foi verificada interação entre moagem e configuração, nem tampouco efeito de configuração para os parâmetros insulínicos estudados (Tabela 9). O aumento do DGM da matéria-prima levou à redução quadrática da insulinemia média, máxima, AAC 0-120min de insulina, incremento insulínico máximo e AAC 0-120min do incremento de insulina ($P < 0,05$), bem como à tendência de redução da insulinemia basal, da AAC 0-360 min de insulina e do incremento médio de insulina ($P < 0,1$). Na Figura 6 está ilustrada a secreção inicial de insulina (AAC 0-120min do incremento de insulina) induzida pelas dietas em função dos diferentes DGM das matérias-primas.

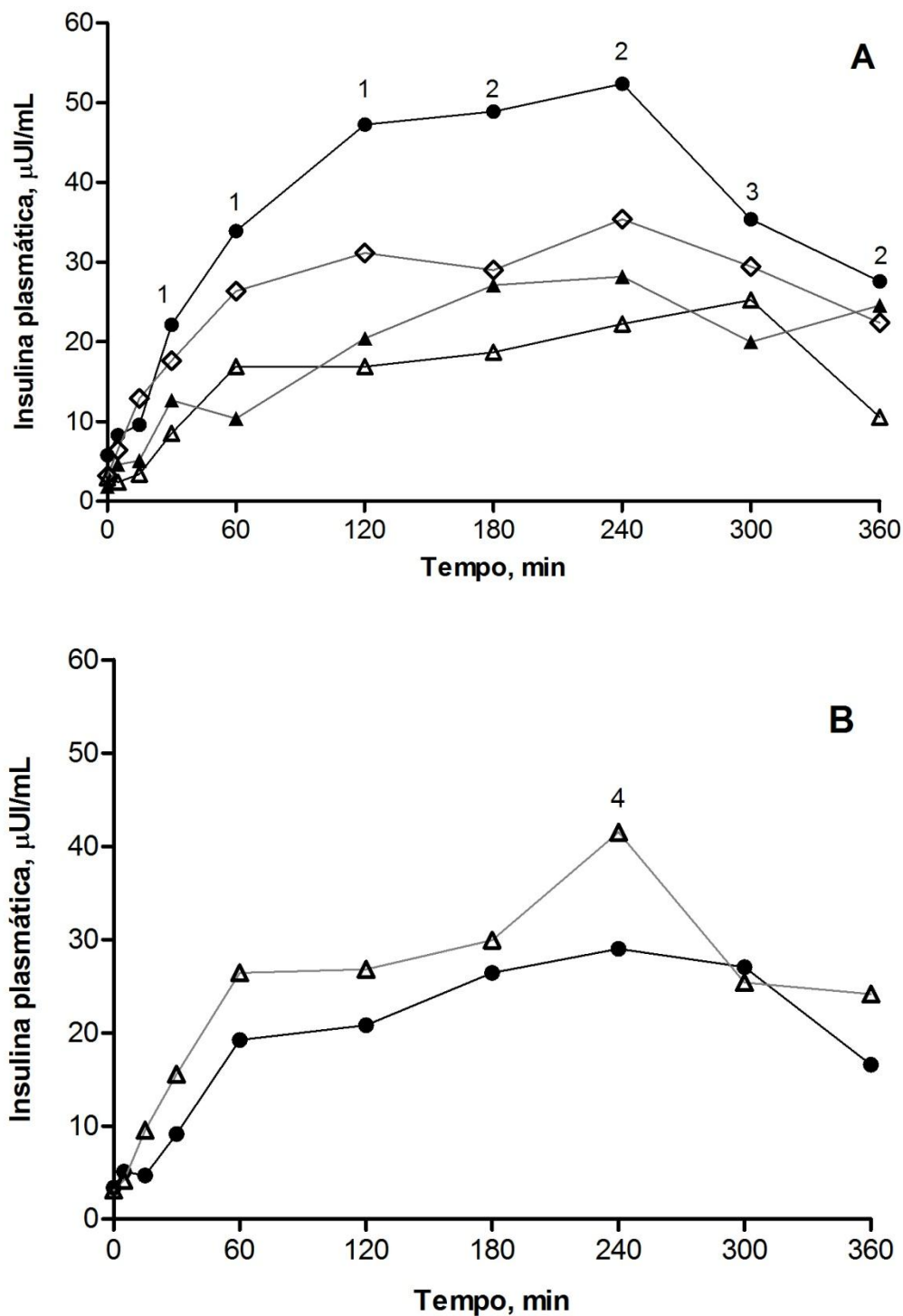


Figura 5. Respostas insulínicas pós-prandiais de cães alimentados com dietas experimentais à base de milho processadas com diferentes tamanhos de peneira ou configurações de extrusora. **A:** tamanhos de peneira: -●- 0,5-mm; -△- 0,8-mm; -▲- 1,4-mm; -◇- 2,0-mm. ¹ Moagem 0,5mm maior que 0,8mm e 1,4mm ($P < 0,05$). ² Moagem 0,5mm maior que 0,8mm ($P < 0,05$). ³ Moagem 0,5mm maior que 1,4mm ($P < 0,05$). **B:** -●- saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta; -△- saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta. ⁵ Diferença entre configurações ($P < 0,05$).

Tabela 9. Respostas de insulina pós-prandiais de cães alimentados com dietas processadas com diferentes tamanhos de peneira e conformação de extrusora (média \pm erro padrão)¹.

Item	Configuração da extrusora	Tamanho da peneira, mm				Média	Valor de P	
		0,5	0,8	1,4	2,0		Linear	Quadrático
Insulina, μ UI/mL (a menos que indicado de outra forma)								
Basal	A (63,6 mm ²) ²	4,9 \pm 1,2	2,4 \pm 1,2	3,4 \pm 1,7	4,8 \pm 1,5	3,9 \pm 0,7		
	B (23,7 mm ²) ³	5,5 \pm 1,9	4,3 \pm 0,9	1,5 \pm 0,7	2,4 \pm 0,8	3,3 \pm 0,6		
	Média	5,1 \pm 1,0	3,3 \pm 0,7	2,4 \pm 0,9	3,6 \pm 0,9		0,178	0,099
Média	A (63,6 mm ²)	26,0 \pm 4,4	12,6 \pm 1,0	19,8 \pm 5,1	23,3 \pm 4,8	20,4 \pm 2,2		
	B (23,7 mm ²)	31,4 \pm 5,6	21,3 \pm 5,4	20,2 \pm 5,3	22,3 \pm 3,5	23,5 \pm 2,5		
	Média	28,5 \pm 3,4	16,9 \pm 2,9	20,0 \pm 3,5	22,8 \pm 2,8		0,334	0,030
Máxima	A (63,6 mm ²)	69,1 \pm 11,7	33,5 \pm 3,2	50,3 \pm 11,2	56,1 \pm 11,9	52,4 \pm 5,5		
	B (23,7 mm ²)	79,1 \pm 15,6	54,6 \pm 13,7	42,9 \pm 10,4	47,2 \pm 6,8	55,0 \pm 6,2		
	Média	73,7 \pm 9,2	44,1 \pm 7,4	46,3 \pm 7,3	51,6 \pm 6,7		0,070	0,028
Tempo até o pico, min	A (63,6 mm ²)	155,0 \pm 42,7	200,0 \pm 45,6	216,0 \pm 40,7	170,0 \pm 24,1	183,9 \pm 18,9		
	B (23,7 mm ²)	192,0 \pm 55,0	180,0 \pm 21,9	240,0 \pm 30,9	210,0 \pm 25,7	206,1 \pm 16,3		
	Média	171,8 \pm 32,9	190,0 \pm 24,3	229,1 \pm 24,0	190,0 \pm 17,8		0,408	0,259
AAC ⁴ 0-360 min, μ UI/mL/h	A (63,6 mm ²)	205,7 \pm 36,8	107,0 \pm 7,5	177,9 \pm 56,5	192,6 \pm 39,5	170,5 \pm 19,3		
	B (23,7 mm ²)	286,4 \pm 61,6	174,7 \pm 47,0	169,5 \pm 46,3	166,6 \pm 25,7	195,5 \pm 23,5		
	Média	242,4 \pm 34,9	140,8 \pm 24,9	173,3 \pm 34,2	179,6 \pm 22,8		0,241	0,072
AAC 0-120 min, μ UI/mL/h	A (63,6 mm ²)	56,7 \pm 10,1	23,6 \pm 3,9	36,8 \pm 9,9	51,5 \pm 15,0	42,4 \pm 5,7		
	B (23,7 mm ²)	73,3 \pm 12,8	39,5 \pm 8,7	38,3 \pm 11,9	46,9 \pm 7,7	48,5 \pm 5,6		
	Média	64,3 \pm 8,0	31,6 \pm 5,3	37,6 \pm 7,5	49,2 \pm 8,1		0,239	0,004

continua ...

AAC 120-360 μUI/mL/h	A (63,6 mm ²)	148,9±28,3	74,7±6,6	141,1±47,7	134,8±28,3	124,2±15,1		
	B (23,7 mm ²)	213,2±58,7	135,1±42,5	131,2±34,7	119,6±18,6	147,0±5,6		
	Média	178,1±30,8	104,9±22,4	135,7±27,3	127,2±16,4		0,271	0,193
Incremento médio	A (63,6 mm ²)	21,2±4,7	9,9±1,8	21,8±6,0	18,9±5,3	18,0±2,4		
	B (23,7 mm ²)	33,7±8,5	17,1±5,4	18,6±5,1	19,8±3,7	22,3±3,1		
	Média	27,5±5,0	13,5±2,9	20,2±3,8	19,3±3,1		0,304	0,092
Incremento máximo	A (63,6 mm ²)	64,2±11,9	29,5±4,5	46,9±9,9	45,2±14,8	46,4±5,8		
	B (23,7 mm ²)	73,6±15,1	48,5±14,8	41,4±10,3	44,7±6,8	51,1±6,1		
	Média	68,5±9,1	39,0±7,9	43,9±6,9	44,9±7,8		0,072	0,051
AAC 0-360 min do incremento, μUI/mL/h	A (63,6 mm ²)	176,5±39,5	88,1±12,3	157,2±46,8	166,4±41,1	146,6±18,6		
	B (23,7 mm ²)	254,2±57,2	153,8±44,4	160,4±45,1	151,8±27,0	176,8±22,0		
	Média	211,8±34,2	121,0±24,1	158,9±30,9	159,1±23,5		0,346	0,114
AAC 0-120 min, do incremento μUI/mL/h	A (63,6 mm ²)	47,1±10,5	20,0±5,8	29,9±6,8	44,9±14,3	35,7±5,3		
	B (23,7 mm ²)	62,9±12,5	32,3±7,8	35,4±11,8	42,0±8,2	42,3±5,3		
	Média	54,3±8,0	26,2±5,0	32,9±6,8	43,4±7,8		0,415	0,008
AAC 120-360 min, do incremento μUI/mL/h	A (63,6 mm ²)	129,3±30,5	67,7±8,0	127,2±41,4	119,0±29,0	110,1±14,3		
	B (23,7 mm ²)	191,2±55,8	121,4±40,8	125,1±33,8	109,8±19,5	134,5±18,8		
	Média	157,5±30,2	94,5±21,4	126,0±24,9	114,4±16,7		0,358	0,281

¹ Amostras de sangue coletadas no tempo 0 (pré alimentação) e aos 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 min após a alimentação

² Saída da matriz com 63,6 mm² de área aberta

³ Saída da matriz com 23,7 mm² de área aberta

⁴ Área abaixo da curva

tendência à diferença entre médias (P < 0,1)

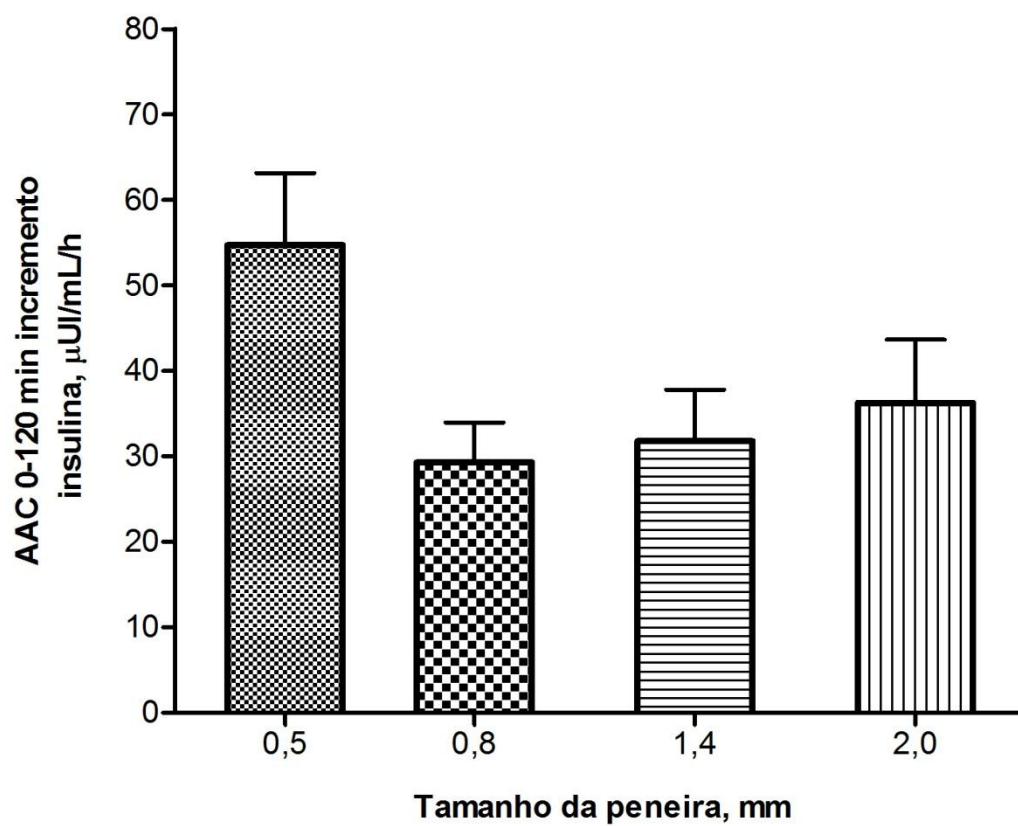


Figura 6. Secreção inicial de insulina em cães (AAC 0-120 min do incremento de insulina plasmática) desencadeada por rações extrusadas à base de milho com diferentes tamanhos de partícula da matéria-prima (Valor de P quadrático = 0,008).

5. DISCUSSÃO

Atualmente, 95% rações produzidas mundialmente para cães e gatos são processadas por extrusão (Spears e Fahey, 2004). Produtores de alimento e fornecedores de equipamento, normalmente visam obter alimentos muito bem processados, o que é comercialmente importante para atrair o consumidor, o proprietário de cães ou gatos, durante as decisões de compra. Muitas companhias buscam produzir kibbles muito bem expandidos, com cantos arredondados, aparência “estufada” e estrutura celular fina. Os ingredientes são moídos em tamanhos muito pequenos, de modo que o proprietário não os possa identificar visualmente. Infelizmente, este é objetivo comercialmente orientado e suas implicações para a saúde do animal e custo de processamento algumas vezes não são consistentemente consideradas.

Por um período a qualidade do alimento era estritamente associada com alta digestibilidade e produção de pequenas quantidades de fezes. Atualmente este conceito mudou, estando orientado para dietas que promovam outros benefícios a saúde (Carciofi e Jeremias, 2010). Mudanças no estilo de vida, castração, aumento da expectativa de vida, dentre outros, são fatores que têm contribuído para aumento da incidência de obesidade, doenças endócrinas e degenerativas em cães, condições que potencialmente podem ser melhoradas pela dieta. Fibra tem sido pesquisada e empregada para controle da digestibilidade dos alimentos, das respostas metabólicas pós-prandiais e promoção de saúde intestinal de cães (Diez, et al. 1998, Massimino, et al. 1998; Kimmel, et al. 2000). Outro ingrediente que tem sido especialmente estudado neste sentido são os prébióticos (Swanson, et al. 2002a, 2002b; Middelbos, et al. 2007). Nenhum estudo, do conhecimento dos autores, no entanto explorou o processo de extrusão e o tamanho de partículas da matéria-prima como potenciais ferramentas para controle da digestibilidade, alteração das respostas pós-prandiais e saúde intestinal de cães.

As diferenças verificadas na temperatura da massa dentro da extrusora, de acordo com sua configuração e o DGM da matéria-prima, indicam que o processo de extrusão foi alterado por esses parâmetros. A restrição da área de saída na configuração B ($0,26 \pm 0,01 \text{ mm}^2/\text{kg/h}$) aumentou a resistência

ao fluxo da massa, a força de cisalhamento, a pressão e a temperatura. Por outro lado, o aumento do tamanho de partículas da matéria-prima resultou em grânulos de amido mais intactos, nos quais a hidratação e transferência de calor são mais difíceis. Com isto a expansão e a geração de viscosidade na massa durante a extrusão é menor e mais lenta, gerando menos atrito e resistência ao fluxo e explicando assim a redução da temperatura. Nesta condição a massa flui também com menos resistência, explicando a redução da energia mecânica gasta para a extrusão do alimento (kW/ton/h) em mais de 30%, comparando os alimentos moídos com a peneira de 0,5mm e de 2,0mm (Figura 1). Isto já havia sido demonstrado por Mathew et al. (1999) e Al-Rabadi (2011), podendo vir a ser importante economia de energia durante a produção da ração. Estas alterações nas condições de processamento refletiram-se diretamente na porcentagem de gelatinização do amido e quantidade de amido resistente das rações. Estas duas condições particulares do amido mostraram-se sensíveis, alterando-se tanto com a conformação da extrusora como pelo DGM da matéria-prima.

Apesar das alterações nos parâmetros de produção induzidos pela área aberta da extrusora, essas não influenciaram a digestibilidade dos nutrientes e as características das fezes dos cães, o que não era esperado. Uma possível explicação seria o menor impacto da configuração de extrusora sobre a gelatinização do amido e quantidade de amido resistente. A restrição da área aberta da extrusora elevou, em média, em seis pontos de porcentagem a gelatinização do amido, enquanto o aumento do DGM reduziu esta em 20 pontos de porcentagem. Assim, este menor efeito da área aberta de saída pode não ter sido suficiente para resultar em alterações na digestibilidade aparente dos nutrientes. A maioria dos sistemas de extrusão comerciais emprega área de saída variando de 0,12 a 0,25mm²/kg/h. A restrição da área de saída é considerada aspecto importante da configuração da extrusora, determinando diretamente a resistência no fluxo da massa e, conseqüentemente, a transferência de energia mecânica pela rosca, força de cisalhamento, pressão, temperatura e cozimento do amido (Riaz, 2003). É possível, com base nos resultados do presente estudo, que as configurações empregadas comercialmente sejam excessivamente restritivas em relação ao

necessário para se alcançar digestibilidade adequada dos nutrientes, pois ela é, grande parte das vezes, definida em relação ao aspecto, taxa de expansão e densidade da ração. Um excesso de aplicação de energia mecânica, pressão e temperatura durante a extrusão pode, ainda, resultar em perda de outros nutrientes, como aminoácidos e vitaminas (Camire, et al. 1990), aspecto pouco entendido para sistemas de extrusão de pet food. A formação de complexos amino-carboidratos e lipídeo-carboidratos é também importante na extrusão e influenciada pela área de saída (Huber, 1991), embora as consequências da formação destes complexos para a digestibilidade de nutrientes, palatabilidade e respostas metabólicas aos alimentos sejam ainda pouco conhecidas para cães. A extensão da gelatinização do amido necessária para se otimizar a digestibilidade dos nutrientes é outra informação que precisa ainda ser estabelecida para cães. Esta pode vir a ser importante para a compreensão e definição de balanço apropriado entre os efeitos desejáveis e indesejáveis do processamento, para evitar-se gasto de energia desnecessário e mesmo para produzir alimentos que venham a propiciar benefícios à saúde intestinal.

O decréscimo linear na digestibilidade dos nutrientes com o aumento do tamanho de partícula das matérias-primas já havia sido verificado em estudos anteriores com outros animais monogástricos, tais como frangos (Carre, 2004), leitões (Healy, et al. 1994) e porcos em terminação (Wondra, et al. 1995). No único estudo encontrado com dietas extrusadas para cães, Hilcko et al. (2009) também encontraram redução linear da digestibilidade de nutrientes com o aumento do DGM, mas alguns achados incomuns como a falta de efeito na digestibilidade da matéria seca e a digestibilidade muito baixa da gordura das dietas interferiram na interpretação dos resultados. A redução na digestibilidade dos nutrientes é explicada pelo menor contato das enzimas digestivas com os nutrientes da dieta (Amerah, et al. 2007). No entanto, no presente estudo a redução na digestibilidade foi pequena e menor que 1,5 pontos de porcentagem. Apenas para a proteína a digestibilidade foi reduzida em mais de 2,5 pontos de porcentagem. A digestibilidade aparente do amido foi quase completa para todas as dietas, como previamente descrito para dietas extrusadas para cães (Walker, et al. 1994; Murray, et al. 1999a; Carciofi, et al. 2008), sem diferenças entre os alimentos. Limitação a ser considerada na

interpretação destes resultados, no entanto, é a diferença entre as digestibilidades ileal e a aparente total. Nos alimentos com maior DGM, a fermentação no colo dos cães do amido que escapou à digestão no intestino delgado pode ter reduzido as diferenças entre dietas. Esta fermentação pode ser verificada pelo aumento das concentrações de AGCC e diminuição do pH das fezes. Mesmo a menor digestibilidade da proteína verificada para as dietas com maior DGM de matéria-prima pode ser apenas aparente, resultado de maior crescimento de bactérias no colo, a partir da maior oferta de nutrientes para estes microrganismos (amido), e assim maior excreção de proteína microbiana pelas fezes.

O significado desta redução da digestibilidade dos nutrientes precisa ser considerado, no entanto, no contexto geral de saúde dos animais. Com o grande aumento da incidência de obesidade em cães ao redor do mundo (Lund, et al. 2006; German, 2006), alimentos com digestibilidade e valor energético reduzidos passaram a ser importantes. A alternativa usualmente empregada nestas situações envolve a inclusão de fibra (Fisher, et al., 2012), ingrediente que tem que ser adquirido aumentando o custo das formulações. Produzir alimentos empregando maior tamanho de partículas na matéria-prima, por outro lado resulta em menor gasto energético e custo na moagem e extrusão, podendo vir a ser alternativa interessante que mereceria ser melhor estudada.

O aumento linear na produção de fezes e a redução linear na matéria seca, score e pH das fezes são explicados pela redução na digestibilidade. Essas alterações nas fezes dos cães, embora consistentes ocorreram em limite considerado adequado e as características fecais permaneceram satisfatórias, sem formação de fezes moles ou flatulência aparente. A fermentação microbiana do amido e de outras matérias orgânicas que escaparam da digestão no intestino delgado explica a maior concentração fecal de AGCC (Cumming e Englist, 1995; Kienzle, et al. 2001) e a redução linear na concentração de amônia das fezes (Birkett, et al. 1996; Zentek, et al. 2002) verificada no presente estudo. A amônia é um catabólito da fermentação da proteína e a sua presença tem sido correlacionada com maior risco de formação de tumores (Lin e Viesek, 1991). Os AGCC têm sido extensamente

estudados pelos seus potenciais benefícios à saúde (NRC, 2006). Ao lado de serem fonte primária de energia para os colonócitos, os AGCC melhoram a imunidade e a estrutura da mucosa por estimularem a proliferação, maturação e diferenciação dos colonócitos nas criptas, facilitando também as funções secretoras e absorptivas no colo. Eles também estimulam a síntese de proteína e produção de mucina, melhorando a integridade e efetividade da barreira física intestinal (Topping e Clifton, 2001; Suchodolsk, 2011). Especial atenção tem-se dado ao butirato, com importantes ações fisiológicas no cólon (Hamer, et al. 2008), sendo também considerado capaz de inibir o desenvolvimento de células malignas neste tecido (Cunningham-Rundles e Lin, 1998).

Estudos anteriores com cães sobre a formação de AGCC no colón focaram fontes de fibra (Sunvold, et al. 1995a, 1995b; Biagi et al., 2010; Kawauchi, et al. 2011) ou prebióticos, tais como frutooligossacarídeos (Vickers, et al. 2001), parede celular de levedura (Swanson, et al. 2002b; Middelbos, et al. 2007) e outros oligossacarídeos (Strickling, et al. 2000; Propst, et al. 2003). Nenhum outro estudo sobre processamento de alimento como ferramenta potencial para alterar a atividade fermentativa da microbiota do colo de cães foi encontrado. Nem sempre a inclusão dos prebióticos estudados resultou em alterações significativas na formação de AGCC, especialmente o butirato parece ser difícil de elevar nas fezes dos cães (Swanson, et al. 2002a). O amido resistente é considerado importante prebiótico para o homem (Topping e Clifton, 2001), mas este não é muito bem estudado para cães (Spears e Fahey, 2004). Tanto o aumento do DGM da matéria prima como a área aberta da saída da matriz da extrusora influenciaram as quantidades de amido resistente presente nas rações. Considerando que as concentrações de AGCC nas fezes se elevaram de maneira quadrática, alimentos moídos na peneira de 1,4mm e com DGM de $252 \pm 2 \mu\text{m}$ seriam, nas condições do presente estudo, os mais adequados caso máxima produção destes compostos fosse o objetivo. A ração neste DGM apresentou, dependendo da configuração de extrusão, de 1,3% a 1,9% de amido resistente e 73% a 77% de porcentagem de gelatinização do amido.

Outro fator importante para a saúde do animal é a manutenção da condição de eubiose pelo estabelecimento e perpetuação de microbiota

saudável no trato digestório (Zentek, et al. 2002; Round e Mazmanian, 2009; Carciofi e Gomes, 2010). A microbiota intestinal normal exerce importante papel na digestão e metabolismo, além de representar mecanismo de defesa natural contra patógenos invasores (Hooper, et al. 2001; Kil e Swanson, 2011). Na presente pesquisa, o aumento de aeróbios e anaeróbios totais verificado com o aumento do DGM da matéria-prima foi resultado da redução da digestibilidade com maior entrada de matéria orgânica no intestino grosso, que serviu como substrato para crescimento destes microrganismos. A contagem de Bifidobacteria também se elevou, com aumento de quase um logaritmo, bactéria geralmente associada à saúde intestinal e estudada como probiótico para seres humanos e animais (Abe, et al. 1995; Sauter, et al. 2006). Para cães, não se localizou outros estudos sobre os efeitos do processamento da ração na microbiota fecal. Estudos com probióticos e prebióticos têm encontrado resultados controversos com relação à eficácia desses compostos modificarem as populações microbianas intestinais de cães (Strickling, et al. 2000; Swanson, et al. 2002a, 2002b; Middelbos, et al. 2007). Consideração importante sobre os prebióticos é a forte influência da dieta basal em sua ação. O tipo de alimento, composição nutricional, qualidade dos ingredientes, dentre outros possuem forte influência na composição da microbiota do colón e na formação de produtos de fermentação (Zentek, et al. 2003), apontando, talvez, para a necessidade de se empregar os prebióticos em situações alimentares específicas. A formação de amido resistente durante o processamento de ração à base de milho, verificada no presente estudo, torna-se então promissora pois não depende da adição de ingredientes especiais e pode ser induzida mediante redução nos custos de produção.

O processamento é considerado importante fator extrínseco do amido que influencia no homem a resposta glicêmica a uma refeição (Heaton, et al. 1988; Holt e Miller, 1994; Wolever e Bolognesi 1996b). Tipos diferentes de alimentos (seco, semi-úmido e enlatado) foram comparados em cães, tendo demonstrando diferentes respostas de glicose (Holste, et al. 1989), no entanto estudos quanto a diferenças de processamento de rações secas extrusadas não puderam ser localizados. As rações empregadas no presente estudo eram à base de milho (55,8%), fonte de amido considerada de rápida resposta

glicêmica em cães (Carciofi, et al. 2008). A adição de fibra às rações foi reduzida, restringindo-se a 3% de fibra de cana-de-açúcar, que apresenta 90% de fibra alimentar insolúvel. Como as ingestões de amido foram semelhantes entre dietas, os cães apresentaram idades semelhantes e nenhum era obeso, pode-se atribuir as diferenças observadas nas respostas de insulina e glicose pós-prandiais ao processamento e suas consequências na formação de amido resistente e porcentagem de gelatinização do amido.

Como a formação de amido resistente e a redução na porcentagem de gelatinização do amido foram mais pronunciadas mediante o aumento do DGM da matéria-prima do que em relação à configuração de extrusora, isto pode explicar, ao menos parcialmente, a maior influência do DGM sobre os parâmetros glicêmicos e insulínicos estudados. A ração com DGM de $169\pm 1,8\mu\text{m}$ (moída na peneira de 0,5mm) foi a que induziu maiores alterações de glicose nos cães após a refeição, vários pontos da curva pós-prandial de glicose foram mais elevados nesta dieta, que também apresentou tendência à maior glicemia máxima e AAC 0-360min quanto processada na configuração mais restritiva. Pelo fato da elevação da glicemia ser mais prolongada, verificou-se maior tempo para glicemia máxima quanto mais finamente moída foi a ração, o que também resultou em maior AAC 0-360min do incremento de glicose para rações com menores DGM de matéria-prima. A ração com $169\pm 1,8\mu\text{m}$ também induziu maior secreção pós-prandial de insulina nos cães, com vários pontos da curva apresentando maior insulinemia. Houve, também, redução quadrática da insulinemia média, máxima e da secreção inicial de insulina (AAC 0-120min do incremento de insulina) quanto maiores foram as partículas da matéria-prima. Mesmo a insulinemia basal tendeu a ser maior para cães que consumiram esta ração. Achados semelhantes já haviam sido verificados para o homem (Heaton et al. 1988; Holt e Miller, 1994).

Estas alterações nas respostas pós-prandiais estão, provavelmente, relacionadas à mais rápida e completa digestão e absorção do amido mais gelatinizado e de menor DGM, promovendo maior taxa de absorção de glicose pelo intestino delgado. No entanto, é possível também que a fermentação intestinal de matéria orgânica com geração de propionato tenha, de alguma forma, melhorado a sensibilidade insulínica dos animais (Diez, et al. 1997;

Respondek, et al. 2008), efeito, no entanto, ainda considerado controverso tanto em cães (Diez, et al. 1998) e no homem (Alles, et al. 1999).

Para controle da glicemia pós-prandial de cães tem-se buscado o emprego de fibras (Murray, et al. 1999b). É interessante se notar que apesar de muito especulado, poucos estudos sobre a eficácia das fibras neste sentido foram produzidos, sendo a maior parte deles em cães diabéticos (Nelson, et al. 1998; Kimmel, et al. 2000) e nem sempre a fibra apresentou bons resultados (Fleeman, et al. 2009). Os dados do presente estudo abrem oportunidade para nova abordagem no desenvolvimento de alimentos que induzam em cães menores e mais lentas respostas de glicose e insulina, o que se reveste de importância para animais obesos, idosos e diabéticos (Fall, et al. 2007; Rand, et al. 2004). Estudo em cães saudáveis também demonstrou que adequado metabolismo de carboidratos se correlaciona com a longevidade e a menor incidência de doenças degenerativas nos cães (Larson, et al. 2003). Com isto, talvez seja importante se contrapor a necessidade de se produzir alimento com aparência atrativa para o proprietário com os possíveis efeitos metabólicos negativos que uma ração muito finamente moída e extrusada pode apresentar nos cães.

6. REFERÊNCIAS

- AAFCO - Association of American Feed Control Officials. **Official Publication. Association of American Feed Control Officials**, Atlanta, GA, 2000 (referentes também às citações com ano de 2003, 2004 e 2009).
- ABE, F.; ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2838–2846, 1995.
- ALLES, M. S.; DE ROOS, N. M.; BAKX, J. C.; VAN DE LISDONK, E.; ZOCK, P. L.; HAUTVAST, J. G. A. J. Consumption of fructooligosaccharides does not favorably affect blood glucose and serum lipid concentrations in patients with type 2 diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 64–69. 1999.
- ALONSO, R.; AGUIRRE, A.; MARZO, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on anti-nutrients and *in vitro* digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. **Food Chemistry**, v. 68, p. 159-165, 2000.
- AL-RABADI, G. J.; TORLEY, P. J.; WILLIAMS, B. A.; BRYDEN, W. L.; GIDLEY, M. J. Particle size of milled barley and sorghum and physico-chemical properties of grain following extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 464-472, 2011.
- AMERAH, A. M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R. G.; THOMAS, D. G. Feed particle size: implications on the digestion and performance of poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.63, p. 439–55, 2007.
- AOAC – ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS. Official and tentative methods of analysis. 16. ed. Arlington, Virginia: **AOAC International**, 1995, p. 16-19.
- BIAGI, G.; CIPOLLINI, I.; GRANDI, M.; ZAGHINI, G. Influence of some potential prebiotics and fibre-rich foodstuffs on composition and activity of canine intestinal microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, p. 50–58, 2010.
- BIRKETT, A.; MUIR, J.; PHILLIPS, J.; JONES, G.; O'DEA K. Resistant starch lowers fecal concentrations of ammonia and phenols in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.63, p. 766-772, 1996.
- CAMIRE, M. E.; CAMIRE, A.; KRUMHAR, K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. **CRC Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.29, n. 1, p. 35–57, 1990.
- CARCIOFI, A. C.; TAKAKURA, F. S.; 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.

- CARCIOFI, A. C.; GOMES, M. O. S. Dietary Effects on Gastrointestinal Microbiota of Aging Dogs: Potential Tools to Health Improvement. *In: Companion Animal Nutrition Summit focus on gerontology*, Clearwater Beach, Florida, USA, 2010, p. 62-69.
- CARCIOFI, A. C.; JEREMIAS, J. T. Progresso Científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia (Online)**, v. 39, p. 35-41, 2010.
- CUMMINGS, J. H.; ENGLYST, H. N. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, p. 938S-945S, 1995.
- CUNNINGHAM-RUNDLES, S.; LIN, D. H. Nutrition and the immune system of the gut. **Nutrition**. v. 14, p. 573-579, 1998.
- DESRUMAUX, A.; BOUVIER, J. M.; BURRI, J. Corn grits particle size and distribution effects on the characteristics of expanded extrudates. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 857-863, 1998.
- DIEZ, M.; HORNICK, J. L.; BALDWIN, P.; ISTASSE, L. Influence of a blend of fructo oligosaccharides and sugar beet fiber on nutrient digestibility and plasma metabolite concentrations in healthy Beagles. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, p. 1238-1242, 1997.
- DIEZ, M.; HORNICK, J. L.; BALDWIN, P.; VAN EENAEME, C.; ISTASSE, L. The influence of sugar-beet fibre, guar gum and inulin on nutrient digestibility, water consumption and plasma metabolites in healthy Beagle dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 64, n. 2, p. 91-96, 1998.
- DING, Q.B.; AINSWORTH, P.; TUCKER, G.; MARSON, H. The effect of extrusion on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. **Jornal of Food Engineering**, v. 66, p. 283-289, 2005.
- DOZIER, W.A. Reducing utility cost in the feed mill. **Watt Poultry USA**, vol. 53, p. 40-44, 2002.
- ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44, p. 1768-1771, 1961.
- FALL, T.; HAMLIN, H. H.; HEDHAMMAR, A.; KÄMPE, O.; EGENVALL, A. Diabetes mellitus in a population of 180,000 insured dogs: incidence, survival, and breed distribution. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 6, 1209 -1216, 2007.
- FLEEMAN, L. M.; RAND, J. S.; MARKWELL, P. J. Lack of advantage of high-fibre, moderate-carbohydrate diets in dogs with stabilized diabetes. **Journal of Small Animal Practice**. v. 50, n. 11, p. 604–614, 2009.
- GERMAN, A. J. The growing problem of obesity in dogs and cats. **Journal of Nutrition**, v.136, p.1940S–1946S, 2006.

- GOMES, M.O.S. **Efeito da adição de parede celular de levedura sobre a digestibilidade, microbiota, ácidos graxos de cadeia curta e aminas fecais e parâmetros hematológicos e imunológicos de cães.** 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.
- HAMER, H. M.; JONKERS, D.; VENEMA, K.; VANHOUTVIN, S.; TROOST, F. J.; BRUMMER, R. J. Review article: the role of butyrate on colonic function. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 27, p. 104-119, 2008.
- HEALY, B. J.; HANCOCK, J. D.; KENNEDY, G. A.; BRAMEL-COX, P. J.; BEHNKE, K. C.; HINES, R. H. Optimum particle size of corn and hard and soft sorghum for nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 22-27, 1994.
- HEATON, K. W.; **MARCUS, S. N.; EMMETT, P. M.; BOLTON, C. H.** Particle size of wheat, maize, and oat test meals: effects on plasma glucose and insulin responses and on the rate of starch digestion in vitro. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 47, p. 675-682, 1988.
- HENDRIX, D. L. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science**, v. 25, p. 1306-1311, 1993.
- HILCKO, K. P.; FÉLIX, A. P.; OLIVEIRA, S.G.; BORTOLO, M.; MAIORKA, A.; BRITO, C. B. M.; ALVES, P. F. Different milling in diets for dogs. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2511-2515, 2009.
- HOLSTE, L. C.; NELSON, R. W.; FELDMAN, E. C.; BOTTOMS, G. D. Effect of dry, soft moist, and canned dog foods on postprandial blood glucose and insulin concentrations in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, p. 984-989, 1989.
- HOLT, S.H.; MILLER, J.B. Particle size, satiety and the glycaemic response. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, p. 496-502, 1994.
- HOOPER, L.V.; WONG, M. H.; THELIN, A.; HANSSON, L.; FALK, P. G.; GORDON, J. I. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. **Science**, v. 291, p. 881–884, 2001.
- HUBER, G. R. Carbohydrates in extrusion processing. **Food Technology**, v. 43, p. 160-161, 1991.
- KAWAUCHI, I. M.; SAKOMURA, N. K.; VASCONCELLOS, R. S.; DE-OLIVEIRA, L. D.; GOMES, M. O. S.; LOUREIRO, B. A.; CARCIOFI, A. C. Digestibility and metabolizable energy of maize gluten feed for dogs as measured by two different techniques. **Animal Feed Science and Technology**, v. 169, p. 96– 103, 2011.
- KIENZLE, E.; DOBENECKER, B.; EBER, S. Effect of cellulose on the digestibility of high starch versus high fat diets in dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, p. 174-185, 2001.
- KIL, D. Y.; SWANSON, K. S. Companion animals symposium: role of microbes in canine and feline health. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1498–1505, 2011.

- KIMMEL, S. E.; MICHEL, K. E.; HESS, R. S.; WARD, C. R. Effects of insoluble dietary fiber on glycemic control in dogs with naturally occurring insulin-dependent diabetes mellitus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 216, n. 7, p. 1076-1081, 2000.
- LAFLAMME, D. P. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine Practice**, v. 22, p. 13-18, 1997b.
- LARSON, B. T.; LAWLER, D. F.; SPITZNAGEL, E. L.; KEALY, R. D. Improved glucose tolerance with lifetime diet restriction favorably affects disease and survival in dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 133, p. 2887-2892, 2003.
- LIN, H. C.; VISEK, W. J. Large intestinal pH and ammonia in rats: dietary fat and protein interactions. **The Journal of Nutrition**, v. 121, p. 832-843, 1991.
- LUND, E. M.; ARMSTRONG, P. J.; KIRK, C. A.; KLAUSNER, J. S. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US Veterinary Practices. **International Journal of Applied Research Veterinary Medical**, v. 4, p. 177-186, 2006.
- MASSIMINO, S. P.; MCBURNEY, M. I.; FIELD, C. J.; THOMSON, A. B. R.; KEELAN, M.; HAYEK, M. G.; SUNVOLD, G. D. Fermentable dietary fiber increases GLP-1 secretion and improves glucose homeostasis despite increased intestinal glucose transport capacity in healthy dogs. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1786-1793, 1998.
- MATHEW, J. M.; HOSENEY, R. C.; FAUBION, J. M. Effects of corn hybrid and growth environment on corn curl and pet food extrudates. **Cereal Chemistry**, v. 76, p. 625-628, 1999.
- MIDDELBOSS, I. S.; GODOY, M. R.; FASTINGER, N. D.; FAHEY JR., G. C. A dose-response evaluation of spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: Effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 3022-3032, 2007.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.
- MURRAY, S. M.; FAHEY JR., G. C.; MERCHEN, N. R.; SUNVOLD, G. D.; REINHART, G. A. Evaluation of selected high-starch flours as ingredients in canine diets. **Journal of Animal Science**, v.77, p. 2180-2186, 1999a.
- MURRAY, S. M.; PATIL, A. R.; FAHEY JR., G. C.; MERCHEN, N. R.; WOLF, B. W.; LAI, C. S.; GARLEB, K. A. Apparent digestibility and glycaemic responses to an experimental induced viscosity dietary fibre incorporated into an enteral formula fed to dogs cannulated in the ileum. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, p. 47-56, 1999b.

- NELSON, R. W. Alternatives to insulin therapy for canine diabetes. *In: The North American Veterinary Conference, 1999, Orlando. **Recent advances in clinical management of diabetes mellitus.*** Dayton, The Iams Company, 1999, p.12-15.
- NRC - **Nutrient Requirements of Dogs and Cats.** National Research Council. The National Academy Press: Washington, D.C. 2006.
- PEREIRA, M. A.; JACOBS, D. R. JR.; VAN HORN, L.; SLATTERY, M. L.; KARTASHOV, A. I.; LUDWIG, D. S. Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults: the CARDIA Study. **The Journal of American Medical Association**, v. 287, p. 2081-2089, 2002.
- PROPST, E. L.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; MERCHEN, N. R.; FAHEY JR., G. C. A dose-response experiment evaluating the effects of oligofructose and inulin on nutrient digestibility, stool quality, and fecal protein catabolites in healthy adult dogs. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 3057–3066, 2003.
- PROSKY, L.; ASP, N. G.; SCHWEIZER, T. F.; DE VRIES, J. W.; FURDA, I. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**, v. 75, p. 360-367, 1992.
- PRYCE, J. D. A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. **The Analyst**, v. 94, p. 1121-1151, 1969.
- RAND, J. S.; FLEEMAN, L. M.; FARROW, H. A. Canine and feline diabetes mellitus: nature or nurture? **The Journal of Nutrition**, v. 34, n. 8, p. 2072S-2080S, 2004.
- RATNAYAKE, W.S.; JACKSON, D.S. Starch: sources and processing. *Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition.* 2nd ed. Rev. New York: John Wiley & Sons, p. 5567-5572, 2003.
- RATNAYAKE, W.S.; JACKSON, D.S. Starch gelatinization. *Advances in Food and Nutrition Research*, v. 55, 2009.
- RESPONDEK, F., SWANSON, K. S.; BELSIRO, K. R.; VESTER, B. N.; WAGNER, A.; ISTASSE, L.; DIEZ, M. Short-chain fructooligosaccharides influence insulin sensitivity and gene expression of fat tissue in obese dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 138 n. 9, p. 1712-1718, 2008.
- RIAZ, M. N. Extrusion basics. *In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. **Petfood technology.*** Illinois Mt Morris, p.347-360, 2003.
- ROUND, J. L.; MAZMANIAN, S. K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, p. 313-323, 2009.
- SAUTER, S. N.; BENYACOU, J.; ALLENSPACH, K.; GASCHEN, F.; ONTSOUKA, E.; REUTELER, G.; CAVADINI, C.; KNORR, R.; BLUM, J. W. Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, p. 269-277, 2006.

- SILVA, L.P.;NÖRNBERG, J.L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, p. 983-990, 2003.
- SPEARS, J. K.; FAHEY JR., G. C. Resistant starch as related to companion animal nutrition. **Journal of Association Official Analysis Chemistry International**, v. 87, p. 787-791, 2004.
- STRICKLING, J. A.; HARMON, D. L.; DAWSON, K. A.; GROSS, K. L. Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: Influences on nutrient digestion and microbial populations. **Animal Feed Science and Technology**, v. 86, p. 205–219, 2000.
- SUCHODOLSK, J. S. Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. **Journal of Animal Sciences**. v. 89, p. 1520–1530, 2011.
- SUNVOLD, G. D.; FAHEY JR., G. C.; MERCHEN, N. R.; REINHART, G. A. In vitro fermentation of selected fibrous substrates by dog and cat fecal inoculum: influence of diet composition on substrate organic matter disappearance and short-chain fatty acid production. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 1110-1122, 1995a.
- SUNVOLD, G. D.; FAHEY JR., G. C.; MERCHEN, N. R.; TITGEMEYER, E. C.; BOURQUIN, L. D.; BAUER, L. L.; REINHART, G. A. Dietary fiber for dogs IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 1099-1109, 1995b.
- SWANSON, K. S.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L.; HEALY, H.; DAWSON, K. A.; MERCHEN, N. R.; FAHEY JR., G. C. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 132, p. 980-989, 2002a.
- SWANSON, K. S.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; HEALY, H. P.; DAWSON, K. A.; MERCHEN, N. R.; FAHEY JR., G. C. Effects of supplemental fructooligosaccharides plus mannanoligosaccharides on immune function and ileal and faecal microbial populations in adult dogs. **Archives of Animal Nutrition**, v. 56, p. 309–318, 2002b.
- TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiology Review**, v. 81, p. 1031-1064, 2001.
- TRAN, Q. D.; HENDRIKS, W. H.; VAN DER POEL, A. F. B. Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 1487-1493, 2008.
- VICKERS, R. J.; SUNVOLD, G. D.; KELLEY, R. L.; REINHART, G. A. Comparison of fermentation of selected fructooligosaccharides and other fiber substrates by canine colonic microflora. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, p. 609-615, 2001.

- VIEIRA, P. F. Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes. Viçosa, MG: UFV. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1980.
- WALKER, J. A.; HARMON, D. L.; GROSS, K. L.; COLLINGS, G. F. Evaluation of nutrient utilization in the canine using the ileal cannulation technique. **The Journal of Nutrition**, v.124, p. 2672S-2676S, 1994.
- WOLEVER, T. M. S.; BOLOGNESI, C. Source and amount of carbohydrate affect postprandial glucose and insulin in normal subjects. **The Journal of Nutrition**, v. 126, n.11, p. 2798-2806, 1996b.
- WONDRA, K. J.; HANCOCK, J. D.; BEHNKE, K. C.; HINES, R. H.; STARK, C. R. Effects of particle size and pelleting on growth performance, nutrient digestibility, and stomach morphology in finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 757-763, 1995.
- ZANOTTO, D. L.; BELLAVER, C. **Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves**. EMBRAPA-CNPISA, p. 15, 1996.
- ZENTEK, J.; MARQUART, B.; PIETRZAK, T. Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs. **The Journal of Nutrition**. v. 132, n. 6, p. 1682S-1684S, 2002.
- ZENTEK, J.; MARQUART, B.; PIETRZAK, T.; BALLÈVRE, B.; ROCHAT, F. Dietary effects on bifidobacteria and Clostridium perfringens in the canine intestinal tract. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 87, p. 397-407, 2003.