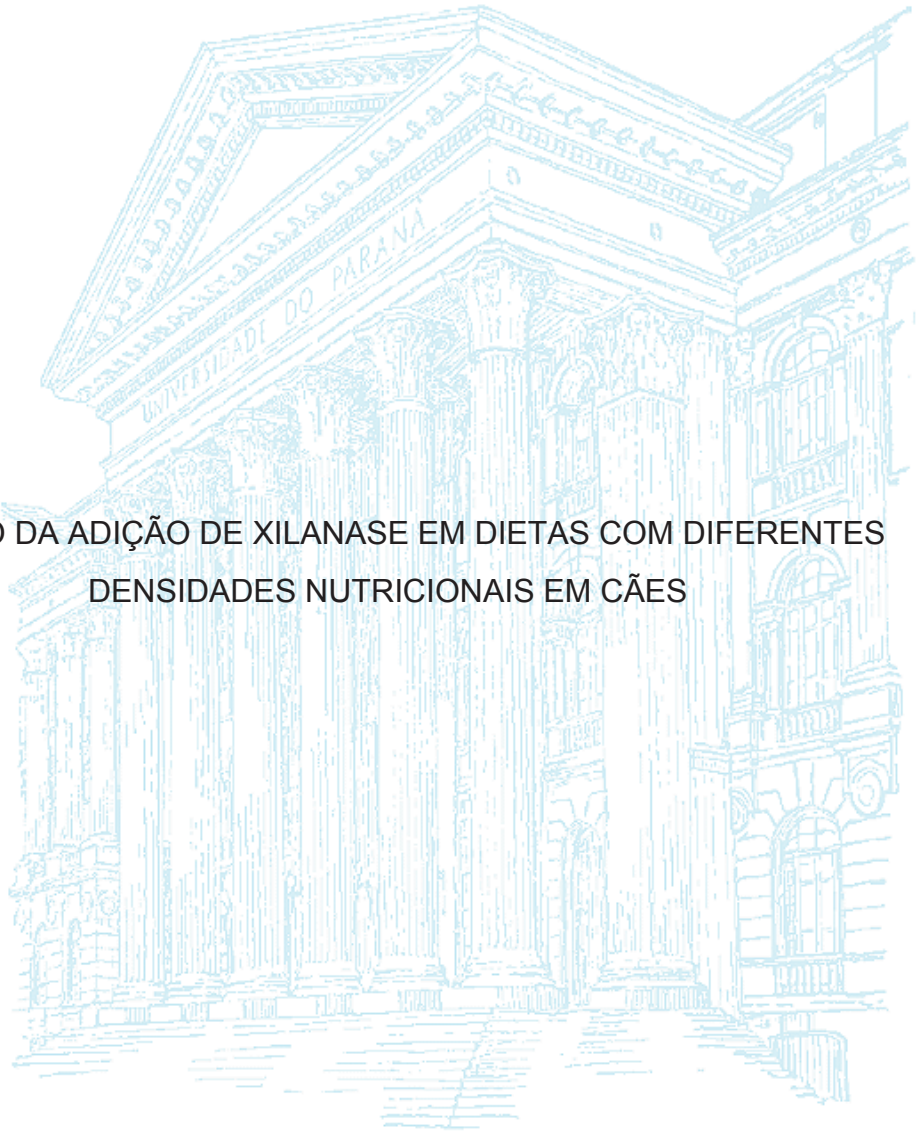
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
NAYARA OSTAPECHEN CARNEIRO



EFEITO DA ADIÇÃO DE XILANASE EM DIETAS COM DIFERENTES DENSIDADES NUTRICIONAIS EM CÃES

CURITIBA
2019

NAYARA OSTAPECHEN CARNEIRO

EFEITO DA ADIÇÃO DE XILANASE EM DIETAS COM DIFERENTES DENSIDADES NUTRICIONAIS EM CÃES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, ofertado no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como um dos requisitos de obtenção de Título de Mestre.

Orientador: Profª. Dra. Simone Gisele de Oliveira

Co-orientação: Profª. Dra. Ananda Portella Félix

CURITIBA

2019

Carneiro, Nayara Ostapechen
C289e Efeito da adição de xilanase em dietas com diferentes densidades nutricionais em cães / Nayara Ostapechen Carneiro. - Curitiba, 2019.
59 p.: il.,

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
Orientadora: Simone Gisele De Oliveira
Coorientadora: Ananda Portella Félix

1. Dietas. 2. Nutrição animal. 3. Beagle (Cão). 4. Fezes. 5. Enzimas. I. Oliveira, Simone Gisele De (Orientadora). II. Félix, Ananda Portella (Coorientadora). III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.

CDU 636.76.084.42

Sistema de Bibliotecas/UFPR, Biblioteca de Ciências Agrárias
Paula Carina de Araújo - CRB9/1562

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA - 40001016082P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **NAYARA OSTAPECHEN CARNEIRO** intitulada: **Efeito da adição de xilanase em dietas com diferentes densidades nutricionais em cães**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Fevereiro de 2019.

SIMONE GISELE DE OLIVEIRA
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

ALEX MAIORKA
Avaliador Interno (UFPR)

LUIS DANIEL GIUSTI BRUNO
Avaliador Externo (UNIOESTE)

Dedico a Deus, pela vida, saúde e fé em chegar até aqui, aos meus pais, meu marido e aos meus animais que sempre foram meus maiores incentivadores.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida saúde e força que me dá todos os dias.

A Universidade Federal do Paraná.

A minha família que sempre me apoiou e acreditam nos meus sonhos. Principalmente minha mãe, dona Rosangela por sempre me levantar quando pensava em desistir. Irmãos Dani e Léo por lutarem por mim e ao meu Pai por todo o carinho. Ao meu marido, Leandro por sempre confiar que eu era capaz, por toda ajuda, e todo amor. E a minha segunda família: Su, Day, Léo e afilhados Manuela e João Pedro.

Aos amigos que Deus colocou em minha vida para torná-la mais leve e divertida. A querida melhor amiga que foi uma das incentivadoras da minha pós graduação, Manu.

A minha querida orientadora, Professora Simone, pela atenção, ajuda e aconselhamentos. Aos Professores Ananda e Alex por sempre estarem juntos conosco auxiliando sempre.Ao LENUCAN e LEPNAN por proporcionarem que esse mestrado fosse possível, e a todos os integrantes pela ajuda e conselhos. Em especial as meninas do lenucan que sempre estão dispostas a ajudar: Gis, Carol, Mel, Adri, Dani, Taby, Cami, Cleusinha, Tais e Alina e ao pessoal do Lab. de Nutrição (UFPR) por todo auxilio.

Aos meus animais incentivadores de tudo: Bocaina, Itaúna, Kira, Atena, Anyta e principalmente a Corona, melhor presente da minha vida!

Agradecimento especial a aqueles que fazem a minha alegria matinal, e que tornam este trabalho possível: Amora, Amarula, Babalu, Bexiga, Bud, Cacau, Chanel, Cookie, Paçoca, Soluço, Scooby, Tequila, Toddy, Thor, Xuxo e Olívia (por quem me apaixonei).

Muito Obrigada!

Nayara Ostapechen

“A imaginação é mais importante que a ciência,
porque a ciência é limitada, ao passo que a
imaginação abrange o mundo inteiro”.

(Albert Einstein)

RESUMO

O uso de enzimas como aditivo alimentar pode melhorar a digestibilidade e a saúde intestinal dos animais. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de xilanase em dietas para cães com diferentes densidades nutricionais (standard e super premium) com e sem a adição da enzima, por meio de dois experimentos. No primeiro, foram utilizados 12 cães da raça Beagle, em esquema fatorial 2 x 2, para a avaliação das características fecais, digestibilidade e funcionalidade intestinal. As dietas avaliadas foram: super premium sem xilanase (SP), standard sem xilanase (ST), super premium com xilanase (SPX) e standard com xilanase (STX). Para avaliar a palatabilidade foram utilizados 16 cães da raça Beagle e os testes foram feitos comparando-se as dietas SP vs SPX e ST vs STX. Não houve efeito da enzima sobre o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos seguintes parâmetros: matéria seca (MS), extrato etéreo hidrólise ácida (EEA), proteína bruta (PB), energia bruta (EB), matéria orgânica (MO) e energia metabolizável (EM). A dieta SP apresentou maiores CDA comparada a dieta ST para todos os componentes analisados ($P<0,01$). Com relação aos AGCC, houve interação ração e enzima para os ácidos propionato (ST), isovalérico (SP) ($P<0,05$) e isobutírico (SP) ($P<0,01$), sendo que houve aumento de concentração nas fezes de animais que não continham a xilanase. A dieta ST apresentou valores mais altos para permeabilidade, ($P<0,05$). A palatabilidade não foi alterada pela adição da enzima aos tratamentos. A adição da enzima nas concentrações utilizadas neste experimento não ocasionou alterações nos CDA dos componentes ou nas características fecais dos cães. O efeito da dieta alterou a permeabilidade intestinal. A xilanase não alterou a palatabilidade das dietas.

Palavras-chave: Aditivos nutricionais. Enzimas. Escore fecal. Saúde intestinal.

ABSTRACT

The use of enzymes as a feed additive can improve the digestibility and intestinal health of animals. In this context, the objective of this study was to evaluate the effect of the addition of xylanase in diets for dogs with different nutritional densities (standard and super premium) with and without the addition of the enzyme, by means of two experiments. In the first one, 12 Beagle dogs were used in a 2 x 2 factorial scheme to evaluate the fecal characteristics, digestibility and intestinal function. The evaluated diets were: super premium without xylanase (SP), standard without xylanase (ST), super premium with xilanase (SPX) and standard with xilanase (STX). To evaluate the palatability, 16 Beagle dogs were used and the tests were done comparing the SP vs SPX and ST vs STX diets. There was no effect of the enzyme on the apparent digestibility coefficient (ADC) of the following parameters: dry matter (DM), ethereal acid hydrolysis (EEA), crude protein (CP), crude energy (EB), organic matter metabolizable energy (ME). The SP diet presented higher CDA compared to the ST diet for all components analyzed ($P < 0.01$). In relation to AGCC, there was interaction of ration and enzyme for propionate (ST), isovaleric (SP) ($P < 0.05$) and isobutyric (SP) ($P < 0.01$)), with an increase in feces concentration of animals that did not contain xylanase. The ST diet had higher values for permeability, ($P < 0.05$). The palatability was not altered by the addition of the enzyme to the treatments. The addition of the enzyme at the concentrations used in this experiment did not cause changes in the CDA of the components or in the fecal characteristics of the dogs. The effect of diet altered intestinal permeability. The xylanase did not alter the palatability of the diets.

Keywords: Nutritional additives. Enzymes. Fecal score. Intestinal health.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. ESTRUTURA DA CELULOSE E HEMICELULOSE..... 19

FIGURA 3. LIGAÇÕES B 1-4 DA CADEIA PRINCIPAL DO XILANO 22

FIGURA 4. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO EPITÉLIO INTESTINAL E ROTAS DE TRANSLOCAÇÃO DE NUTRIENTES E COMPONENTES DA DIETA. 28

FIGURA 5. COMPARATIVO DA AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL A MARCADOR FLUORESCENTE DE ALTO PESO MOLECULAR PARA DIETA 49

FIGURA 6. COMPARATIVO DA AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL A MARCADOR FLUORESCENTE DE ALTO PESO MOLECULAR PARA ADIÇÃO DA ENZIMA XILANASE 50

FIGURA 7. AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL A MARCADOR FLUORESCENTE DE ALTO PESO MOLECULAR ENTRE OS TRATAMENTOS AVALIADOS 50

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS DE ALIMENTOS SECOS INDUSTRIALIZADOS PARA CÃES, DE ACORDO COM SUA CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL 17

TABELA 2. IMPORTANTES BENEFÍCIOS DO USO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL 24

TABELA 3. INGREDIENTES DAS DIETAS EXPERIMENTAIS STANDARD E SUPERPREMIUM COM E SEM ENZIMA XILANASE 38

TABELA 4. COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA (% DE MATÉRIA SECA) DAS DIETAS STANDARD E SUPER PREMIUM COM E SEM ADIÇÃO DE XILANASE 39

TABELA 5. ANÁLISE QUÍMICA DAS FRAÇÕES DOS POLISSACARÍDEOS NÃO AMILÁCEOS (PNA) PRESENTES NAS DIETAS 41

TABELA 6. MÉDIAS DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE (CDA, %), ENERGIA METABOLIZÁVEL (EM, KCAL/KG) E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE DIETAS SP E ST COM E SEM ENZIMA XILANASE 46

TABELA 7. MÉDIAS (MMOL/G MS FECAL) DOS ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC) DAS FEZES DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS SUPER PREMIUM E STANDARD COM E SEM ENZIMA XILANASE 47

TABELA 8. MEDIANAS DE ESCORE, ODOR FECAL, AMINAS BIOATIVAS E ÁCIDO GRAXO DE CADEIA CURTA ANALISADOS ESTATISTICAMENTE POR KRUSKAL-WALLIS DE CÃES ALIMENTADOS COM AS DIETAS SUPER PREMIUM E STANDARD COM E SEM XILANASE. 48

TABELA 9. NÚMERO DE VISITAS AO COMEDOURO DA DIETA A E RAZÃO DE INGESTÃO (RI± ERRO PADRÃO) PARA CÃES 52

LISTA DE ABREVIAÇÕES

AGCC - Ácidos graxos de cadeia curta

CDA - Coeficiente de digestibilidade aparente

DDGS - Grãos secos de destilaria contendo solúveis

EB - Energia bruta

EM - Energia metabolizável

EE - Extrato etéreo

EEA - Extrato etéreo em hidrólise ácida

FB - Fibra bruta

FDA - Fibra em detergente ácido

FDN - Fibra em detergente neutro

g - gramas

IA - Ingestão alimentar

Kg - quilo gramas

m- metros

ml- mililitros

Mm - milímetro

MM - Matéria mineral

MO - Matéria orgânica

MS - Matéria seca

MSf - Matéria seca fecal

PB - Proteína bruta

PNA - Polissacarídeos não amiláceos

RI - Razão de ingestão

SP -super premium

SPX - super premium com xilanase

ST -standard

STX - standard com xilanase

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS 14
1 INTRODUÇÃO 14
2 REVISÃO DE LITERATURA 16
2.1 TIPOS DE ALIMENTOS PARA CÃES 16
2.1.1 ALIMENTOS COMERCIAIS 16
2.2 CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA 18
2.2.1 PAREDE CELULAR 18
2.2.1.1 POLISSACARÍDEOS NÃO AMILÁCEOS 20
2.2.2 XILANO 22
2.2.3 ENZIMA XILANASE 22
2.2.3.1 POSSÍVEIS AÇÕES DA XILANASE EM MONOGÁSTRICOS 24
2.3 FUNCIONALIDADE INTESTINAL EM CÃES 25
2.3.1 INTEGRIDADE INTESTINAL 25
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS 29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 30
CAPITULO II– EFEITO DA ADIÇÃO DE XILANASE SOBRE DIGESTIBILIDADE DAS DIETAS E FUNCIONALIDADE INTESTINAL EM CÃES 36
1 INTRODUÇÃO 36
2 MATERIAL E MÉTODOS 37
2.1 EXPERIMENTO I: ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS 37
2.1.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES 37
2.1.2 DIETAS 37
2.1.3 DIGESTIBILIDADE 39
2.1.4 CARACTERÍSTICAS DAS FEZES 41
2.1.5 DELINEAMENTO E ANÁLISES ESTATÍSTICAS 43
2.2 EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE 44
2.2.1 DIETAS 44
2.2.2 ANIMAIS E INSTALAÇÕES 44
2.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS 44
2.3.1 DELINEAMENTO E ANÁLISES ESTATÍSTICAS 45
3 RESULTADOS 45

3.1 EXPERIMENTO I: DIGESTIBILIDADE APARENTE, CARACTERÍSTICAS FECAIS E FUNCIONALIDADE INTESTINAL 45
3.2 ENSAIO DA PALATABILIDADE 52
4 DISCUSSÃO 52
4.1 COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE APARENTE E CARACTERÍSTICAS FECAIS 52
4.2 ENSAIO DA PALATABILIDADE 55
5 CONCLUSÕES 56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 60
ANEXO 1 – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS 68

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTO E PROBLEMA

Nos últimos 10 anos as pesquisas sobre alimentação e nutrição de pets deixaram de focar somente nas necessidades mínimas dos animais, e começaram a estabelecer recomendações nutricionais que buscam atender padrões de saúde, bem-estar e longevidade (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010).

Com maior número de nichos de mercado se formando há a necessidade de se diversificar as dietas já estabelecidas e classificadas como super premium, uma vez que o diferencial pode ser decisivo na escolha do tutor. Em dietas de qualidade inferior, classificadas como standard ou econômica, a disputa pelo menor preço do produto final incentivou a maior utilização de diferentes ingredientes nas dietas formuladas, em especial coprodutos da indústria. Essa diversidade de ingredientes pode acarretar dificuldades de assimilação eficaz dos nutrientes pelos animais, sendo necessária a inclusão de aditivos que facilitem ou estimulem uma melhor digestibilidade da dieta, contribuindo para saúde e qualidade de vida do animal.

Neste cenário, o uso de aditivos enzimáticos vem ganhando força, visto que estes possibilitam melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, tornando possível o uso de coprodutos como matéria prima (OLEMPSKA BEER et al., 2006), possibilitando assim, a redução de fatores antinutricionais e consequentemente, aumento na digestibilidade dos ingredientes (DERSJANT-LI et al., 2015).

A xilanase é uma enzima pertencente a classe das carboidrases, que tem como principal função minimizar fatores antinutricionais e melhorar o aproveitamento dos polissacarídeos não amiláceos (PNA). Ela atua degradando os complexos e fibras solúveis responsáveis pelo aumento da viscosidade da digesta (CAMPESTRINI; SILVA; APPELT, 2005).

Além da melhora na digestibilidade dos PNA a utilização de carboidrases pode ter resultado benéfico na saúde intestinal pelo possível efeito prebiótico

que pode ser alcançado por sua inclusão (MARCHINI et al., 2015). Esse efeito é o diferencial buscado em dietas super premium para cães, uma vez que a saúde dos animais tem destaque na formulação dessas dietas.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar a inclusão de xilanase em dietas com diferentes densidades nutricionais, comercialmente classificadas como super premium e standard.

1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a digestibilidade dos nutrientes, a energia metabolizável e a palatabilidade da xilanase em cães.
- Avaliar as características fecais e efeitos sobre a funcionalidade intestinal em cães alimentados com dietas com diferentes densidades nutricionais (standard e super premium) e adição de xilanase.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TIPOS DE ALIMENTOS PARA CÃES

2.1.1 ALIMENTOS COMERCIAIS

Segundo dados apresentados pela ABINPET (2018) a comercialização de produtos para pet apresentou crescimento de 7,9% no ano de 2017 no Brasil, movimentando cerca de R$ 20,3 bilhões de reais, colocando o país na terceira posição global em faturamento com esse mercado. Grande parte do crescimento vem do petfood cerca de 68,8%, crescendo do ano de 2016 para o ano de 2017 9,9%.

As dietas para cães e gatos deixaram de ser formuladas apenas para a mantença e saciedade da fome, começando a apresentar novas características que visam promover uma melhora da saúde, redução do risco de doenças e bem-estar para os animais (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010).

As fontes de alimentos industrializados para cães e gatos são separadas de acordo com o segmento comercial proposto por cada indústria, baseando-se na concentração nutricional, qualidade dos ingredientes, aspecto da embalagem e preço (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010). Comercialmente os alimentos destinados a nutrição de cães e gatos são classificados em: standard, premium e super premium e suas principais características estão descritas na TABELA 1.

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS DE ALIMENTOS SECOS INDUSTRIALIZADOS PARA CÃES, DE ACORDO COM SUA CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL

Classificação comercial	Características
Alimentos Standard	Por receberem recursos financeiros para publicidade, apresentam embalagem mais convidativa do que os alimentos econômicos. Sua formulação depende da disponibilidade e valores dos ingredientes. Os níveis de proteína e extrato etéreo são melhores, possuem menos fibra, porém matéria mineral alta. A digestibilidade desses produtos é em média de 75%.
Alimentos Premium	Com maiores investimentos em marketing esse segmento possui apelo de venda na com base em ingredientes diferenciados e nutracêuticos. Na maioria possuem formulação fixa, e atendem melhor as necessidades nutricionais, com maior energia metabolizável e digestibilidade cerca de 87%.
Alimentos Super premium	São conhecidos por sua alta qualidade, com formulação fixa e ingredientes com alto valor nutricional. Possuem ingredientes especiais que visam ótima saúde do animal. Seu processamento é otimizado e com controle de possíveis interações e desbalanços. Presume-se que suas formulas tenham passado por testes científicos com animais. Esse tipo de alimento é produzido com maior quantidade de proteína animal apresentando digestibilidade ou aproveitamento da proteína em torno de 92%.

FONTE: Adaptado de Carciofi (2007), França (2009) e http://www.equilibriototalalimentos.com.br Acesso em 15/05/2018.

Mesmo que o mercado pet food utilize, na maioria das vezes, proteínas de origem animal que possuem melhor perfil de aminoácidos, a maior

dificuldade encontrada pelo setor é a padronização da qualidade da matéria prima (BELLAVER, 2001). Para diminuir a dificuldade de padronização protéica das dietas, as proteínas de origem vegetal entram como uma solução no Brasil, principalmente com a possibilidade de fazer o uso de coprodutos de boa qualidade, com menor variação bromatológica e preços mais baixos (LOWE, 1989).

Grande parte dos coprodutos de origem vegetal apresenta maior teor de fibra em sua composição o que é um problema pois, animais não possuem enzimas endógenas que promovam a quebra da fibra para aproveitamento de seus nutrientes junto a dieta. Com isso, a suplementação nutricional a partir de enzimas exógenas em dietas de cães tem sido considerada ferramenta para proporcionar longevidade aos animais melhorando a eficiência dos ingredientes utilizados nas formulações (CAPPELLI; MANICA; HASHIMOTO, 2016).

2.2 CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA

2.2.1 PAREDE CELULAR

Presente em células vegetais, a parede celular é um importante componente de proteção e estrutura da célula. A parede celular é formada principalmente pela mistura de polissacarídeos unidos de forma organizada por ligações covalentes e não covalentes (TAIZ; ZIEGER, 2002).

A parede celulósica secretada logo após a divisão celular é a parede primária depositada durante o crescimento celular. Depois que a célula atingiu o seu tamanho e forma definitivos, ela secreta uma nova parede internamente à parede primária, a parede secundária.

A parede celular primária possui estrutura maleável a fim de permitir expansão celular e é composta por celulose, hemicelulose e pectinas, considerados polissacarídeos estruturais. Como forma-se após o fim do crescimento da célula vegetal a parede celular secundária atribui rigidez e estabilidade mecânica a planta.

A parede celular secundária possui os polissacarídeos celulose e hemicelulose entremeados à lignina, que possui caráter hidrofóbico e apresenta menor teor de água. Em relação a espessura a parede celular

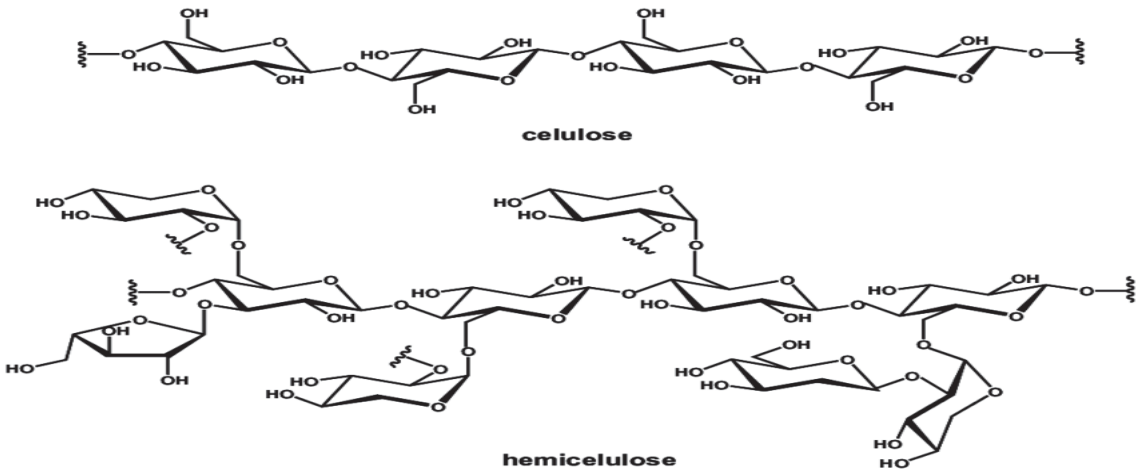
primária é menos espessa do que a secundária que apresenta maior quantidade de camadas lignificadas. A parede celular vegetal apresenta outros compostos em sua estrutura, tais como lipídios e proteínas (TAIZ; ZIEGER, 2002).

A celulose, homopolissacarídeo estrutural sem ramificações é um dos principais componentes da parede celular. Possui em sua estrutura apenas moléculas de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas do tipo β-1,4. As hemiceluloses são heteropolissacarídeos formados por vários açúcares ligados predominantemente por ligações glicosídicas do tipo β-1,4 podendo ou não conter ramificações (FIGURA 1).

A classificação das hemiceluloses é dada de acordo com o açúcar que predomina na cadeia, e as principais hemiceluloses presentes nas plantas são os mananos, xiloglucanos, glucoronoarabinoxilanos, ácidos urônicos e grupos acetila. Em todas as situações a hemicelulose é composta por uma cadeia principal de glicose, xilose e manose, nessa ordem, a qual pode ser ramificada com outros monossacarídeos diferentes (FIGURA 2).

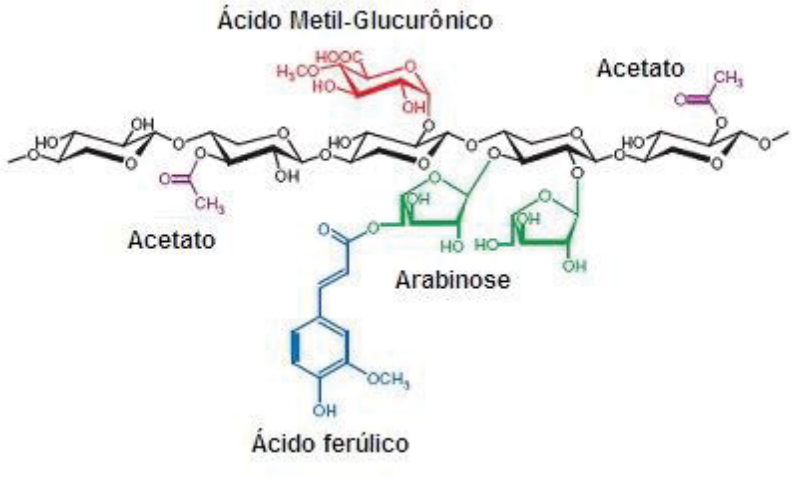
Os glucoronoarabinoxilanos estão presentes em maiores quantidades em paredes celulares de gramíneas (família *Poaceae*), cereais como trigo, arroz e aveia (BUCKERIDGE, 2010).

FIGURA 1. ESTRUTURA DA CELULOSE E HEMICELULOSE



FONTE: https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Estruturas-da-celulose-e-da-hemicelulose_fig1_307657596

FIGURA 2. ESTRUTURA TÍPICA DA HEMICELULOSE MOSTRANDO AS DIFERENTES LIGAÇÕES E COMPOSTOS ENCONTRADOS NAS RAMIFICAÇÕES



FONTE: (FARINAS, 2011).

A lignina, polímero orgânico que une as fibras celulósicas é responsável por aumentar a rigidez da parede celular e está concentrada em tecidos incumbidos do deslocamento de solutos e suporte mecânico (FARINAS, 2011). Possui estrutura aromática de natureza altamente fenólica, composta por hidroxilas fenólicas dos alcoóis trans-p-cumarílico, trans-coniferílicoe álcool trans-sinapilico (FENGEL; WEGENER, 1989).

2.2.1.1 POLISSACARÍDEOS NÃO AMILÁCEOS

A fibra pode ser definida de duas formas segundo Southgate (1990), uma fisiológica e outra química, sendo a fisiológica “fibra corresponde aos componentes do alimento que resistem à degradação por parte das enzimas dos mamíferos” e química “fibra é o conjunto dos polissacarídeos não amiláceos (PNA) e lignina”.

Os PNA estão presentes na parede celular vegetal e fazem parte dessa classe moléculas presentes em sementes de oleaginosas: pentoses, estaquiose, rafiose e sacarose, encontradas no centeio e no trigo: pentosanas como as arabinoxilanas e presentes em alta concentração na aveia e na cevada: beta-glucanos (BRITO et al., 2008).

As fibras podem ser diferenciadas segundo a sua origem, tipo de processamento e solubilidade (MONRO, 2000). São classificadas em solúveis e insolúveis em relação a solubilidade na água, gerando diferentes efeitos sobre o trato gastrointestinal.

As insolúveis são em sua maioria pouco fermentáveis e não viscosas, sendo eliminadas praticamente intactas aumentam o bolo fecal, e consequentemente o peso das fezes, ainda, através da estimulação física sobre as paredes do intestino são capazes de aumentar o peristaltismo (NRC, 2006).

As fibras solúveis associam-se a água formando um gel viscoso que aumenta o tempo de transito intestinal, retardando o esvaziamento gástrico podendo reduzir o ritmo de absorção de nutrientes. Isso ocorre pois em um ambiente viscoso, nutrientes como amido, gorduras e proteínas tem a disponibilidade afetada tornando-se menos acessíveis as enzimas endógenas (BRITO et al., 2008).

Em relação a fermentação pela microbiota intestinal as fibras podem ser de fermentabilidade alta, moderada ou baixa. Segundo Case et al. (2000) as fibras solúveis são de alta a moderada ao mesmo tempo que as insolúveis são de baixa fermentabilidade. De acordo com os mesmos autores a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) é uma das consequências da fermentação da fibra no cólon.

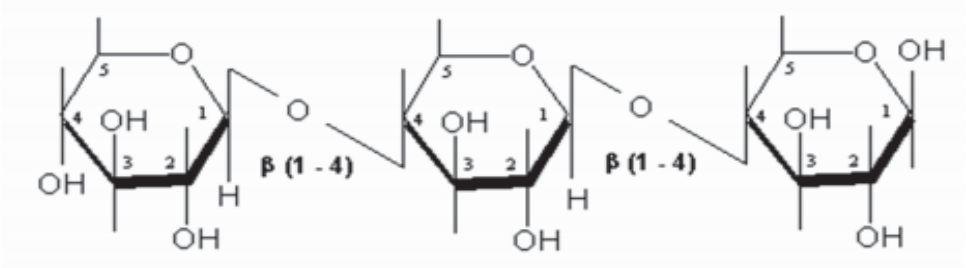
Os AGCC acético e propiônico são produzidos em maiores quantidades e são absorvidos na circulação sanguínea fornecendo energia para tecidos periféricos. O butírico outro AGCC importante é produzido em menor quantidade do que os dois primeiros e é a principal fonte energética para os colonócitos (ROEDIGER, 1982). Os AGCC melhoram o fluxo sanguíneo intestinal, estimulam a proliferação e a diferenciação celular, aumentam a motilidade ileal e reduzem o pH intestinal, o que promove aumento de bactérias benéficas inibindo o desenvolvimento de patógenos (SCHEPPACH, 1994; TOPPING; CLIFTON, 2001).

2.2.2 XILANO

O xilano é o segundo polissacarídeo mais abundante da terra, atrás somente da celulose. É o principal componente da hemicelulose e, junto com a celulose, soma mais de 50% da biomassa de uma planta (SÁ PEREIRA, et. al 2003). A cadeia ramificada do xilano é composta por ligações do tipo beta β 1-4, como demonstra a FIGURA 3.

Sua conversão em açúcares como xilose e arabinose importante para a produção em biodrodutos como etanol, essencial para o processo de formação de energia renovável através da biomassa vegetal (DODD; CANN, 2009).

FIGURA 2. LIGAÇÕES B 1-4 DA CADEIA PRINCIPAL DO XILANO



FONTE: VIEIRA, 2007

Os xilanos possuem função estrutural e são constituídos por polímeros de diferentes resíduos de açúcar e sua degradação é enzima dependente. A principal enzima responsável pela quebra do xilano é a endo β-1,4 xilanase (COUGHLAN; HAZLEWOOD, 1993).

2.2.3 ENZIMA XILANASE

As enzimas são conhecidas como proteínas globulares, que agem nas reações químicas das células acelerando a velocidade da reação, sem alterar o produto final. Como catalisadoras são eficazes, pois possuem alta especificidade que é determinada pelo seu tamanho e forma tridimensional, os quais formam regiões de afinidade com os reagentes (substratos). Essa

complementaridade é denominada combinação chave-fechadura. (CHAMPE; HARVERY, 1989).

A função catalítica depende do ambiente em que a reação ocorre (valor de pH, temperatura e umidade), da concentração de enzima e substrato e da presença de inibidores e coenzimas. No uso de enzimas na alimentação animal estas devem sobreviver a fabricação e estocagem do alimento, além de resistir as enzimas proteolíticas e ao baixo pH do trato digestivo (VIEIRA, 2007).

Na indústria, o uso de enzimas está ligado ao uso de matérias primas com composição bromatológica de baixa digestibilidade. Esta utilização possui dois objetivos principais: complementar as enzimas já existentes (endógenas) produzidas em quantidades insuficientes (como as amilases e lipases) e/ou fornecer enzimas que os animais não conseguem produzir (como as carboidrases e as fitases) (FISCHER et al., 2002).

As xilanases podem ser produzidas por diferentes microrganismos, bactérias e fungos, e são capazes de hidrolisar as ligações da cadeia principal do xilano, transformando-o em moléculas de menor tamanho, os xilo-oligômeros (DEKKER; RICHARDS, 1976).

As xilanases hidrolisam as ligações β 1-4 do xilano e fazem parte da família das glicosidases (COLLINS et al., 2005). Seu modo de ação consiste na degradação das arabinoxilanas solúveis, agindo na redução da viscosidade da dieta através da decomposição da fibra presente na parede celular das plantas. Assim proporcionam maior acesso de enzimas endógenas aos nutrientes encapsulados nesta parede, beneficiando a digestibilidade do nutriente (CAMPESTRINI; SILVA; APPELT, 2005).

TABELA 2. IMPORTANTES BENEFÍCIOS DO USO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL

Atuação	Meio de ação
Aumenta a eficiência e diminui custo de produção	Diminuindo fatores antinutricionais e melhorando a digestão dos nutrientes presentes na dieta.
Reduz impacto ambiental	Com a melhora na digestão e absorção de nutrientes reduz a eliminação de nitrogênio e fósforo no meio ambiente.
Maior uniformidade de ingredientes	Reduz a variação da composição nutricional dos ingredientes.
Manutenção da saúde e integridade intestinal	Com a melhora na digestão dos nutrientes, reduz a presença de nutrientes não digeridos estes podem ser substrato para o crescimento microbiano patogênico.

FONTE: Adaptado de BARLETTA (2011) e DASSI (2015)

2.2.3.1 POSSÍVEIS AÇÕES DA XILANASE EM MONOGÁSTRICOS

Os efeitos esperados pela adição de xilanase a uma dieta são: melhor aproveitamento dos PNA através da liberação energética pela fermentação intestinal e minimização dos efeitos antinutricionais desse nutriente, ocasionando em melhora da digestibilidade (CAMPESTRINI; SILVA; APPELT, 2005).

Em estudo com inclusão de resíduo seco de destilaria contendo solúveis em cães, Silva et al. (2016) verificaram que a inclusão de 18% desses resíduos às dietas reduz a digestibilidade da matéria seca e energia. Os autores adicionaram a xilanase como aditivo enzimático e observaram que a mesma dieta apresentou melhora da digestibilidade da proteína, matéria seca e matéria orgânica das dietas.

Twomwy et al. (2003) testaram a adição de amilase, beta-glucanase e xilanase em dietas com crescentes níveis de adição de PNA solúveis e encontraram maior coeficiente de digestibilidade para energia, matéria seca e gordura. Em pesquisa para avaliar o efeito de enzimas xilanase e β-glucanase na digestibilidade de nutrientes Mathlouthi, Mallet e Saulinier (2002) testaram dietas à base de trigo e cevada para frangos de corte, avaliando as condições físicas (tempo de trânsito gastrointestinal) e químicas (processo de absorção) do intestino e ceco e verificaram melhora da digestibilidade e da energia metabolizável aparente da dieta.

O efeito benéfico do uso de xilanases foi verificado Yang et al. (2008) concluindo que a suplementação dessa enzima (1.000xU/g de dieta) em dietas a base de trigo melhoraram o ganho de peso e a conversão alimentar de frangos dos oito aos 21 dias e o peso corporal aos 21 dias de idade.

Muitos trabalhos científicos vêm sendo realizados para avaliar o real efeito da adição de xilanase em dietas contendo PNA. Porém, muitos desses trabalhos são inconclusivos, indicando a necessidade de maior investigação dos efeitos dessa enzima em dietas de monogátricos (PEDERSEN et al., 2015).

2.3 FUNCIONALIDADE INTESTINAL EM CÃES

2.3.1 INTEGRIDADE INTESTINAL

Muitos fatores podem afetar a digestão de ingredientes presentes em uma dieta para animais. Angel e Sorbara (2014) citam alguns deles, o pH da digesta, o tempo em que o alimento se mantem em cada porção do trato gastrintestinal, tamanho do extrusado, e ainda a composição dos ingredientes presentes na ração.

A taxa de passagem influencia na digestibilidade dos nutrientes de um alimento no trato gastrintestinal, visto que modifica o tempo em que os substratos ficarão expostos à superfície absortiva do epitélio intestinal e assim à ação das enzimas (ANGEL; SORBARA, 2014). A velocidade da passagem do alimento pelo trato gastrointestinal também pode modificar a população microbiana residente em cada porção do trato (ANGEL et al., 2013).

Segundo Dharne (2007) para manter as funcionalidades e ser considerado saudável um intestino deve ser capaz de fazer a digestão e absorção dos nutrientes presentes na dieta, minimizar excreção de nutrientes e ainda prover proteção em combate a agentes patogênicos.

A nutrição tem papel importante na saúde intestinal dos cães, é ela que ditará as mudanças na composição da microbiota, incluindo formação de colônias de microrganismos que influenciará na saúde ou desordem digestiva (GOMES, 2009). Wenk (2006) cita que a utilização de alguns aditivos alimentares como enzimas, acidificantes, prebióticos e probióticos na formulação de dietas pode influenciar no perfil da microbiota residente, tendo ação benéfica para o animal.

Os microrganismos existentes no trato gastrintestinal mantêm com o animal hospedeiro relações de associação ou de antagonismo, alimentando-se da fração do alimento não digerida pelo hospedeiro e das secreções liberadas pelo trato gastrintestinal (TESHIMA, 2003). Os microrganismos podem ser encontrados livres na luz intestinal como podem estar intimamente associados ao epitélio do mesmo (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Os microrganismos presentes no trato gastrintestinal são capazes de produzir inúmeros compostos, dentre eles enzimas que atuam na quebra de substâncias com ação benéfica ou maléfica ao hospedeiro.

Em homeostase as populações microbiológicas encontram-se em equilíbrio, porém, em condições de estresse causado por situação externa desfavorável (até mesmo mudança de dieta) as populações nocivas tendem a se proliferar e as favoráveis à saúde intestinal a diminuir (GOMES, 2009). O desequilíbrio das populações microbiológicas é chamado de disbiose, e é um dos causadores da piora no desempenho animal, além de afetar a saúde do mesmo (SILVA; NORNBERG, 2003). Os mesmos autores citam ainda que a microbiota benéfica pode produzir vitaminas que poderão ser utilizadas pelo animal hospedeiro, colaborar na digestão e absorção de nutrientes, e por exclusão competitiva diminuir a multiplicação de agentes patogênicos.

A microbiota nativa do trato gastrintestinal além de participar da prevenção de doenças produz AGCC e ácido lático. Estes por sua vez, proporcionam a diminuição do pH fecal, o que favorece a proliferação de enterócitos e a inibição de bactérias nocivas à saúde intestinal. Podendo dessa

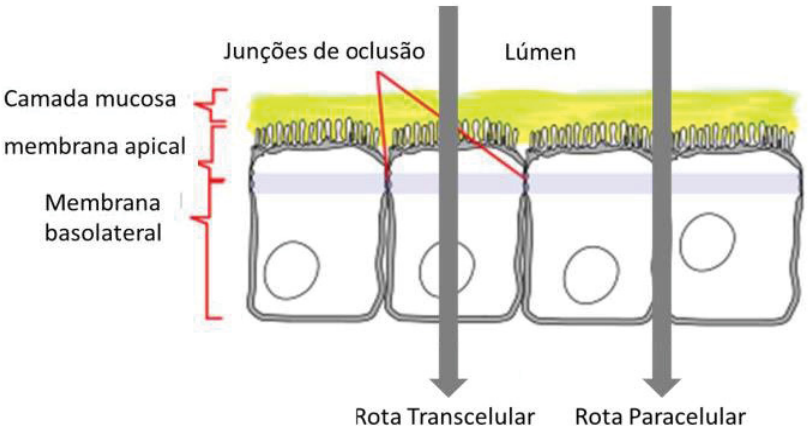
forma melhorar a estrutura e integridade da parede celular, contribuindo com uma melhor capacidade de absorção de nutrientes pelo intestino (HUSSEIN; FLICINGER; JUNIOR, 1999). Com o aumento de microrganismos nocivos pode ocorrer o contrário: diminuição da absorção de nutrientes e aumento da velocidade de passagem do alimento pelo aumento da espessura da mucosa (GOMES, 2009). Ainda a alta população microbiana indesejável pode aumentar a produção de gases, amônia e aminas biogênicas como histamina e putrescina que são nocivos à integridade da mucosa e à saúde intestinal (FLEMMING, 2005).

Furlan (2004) e Flemming (2005) citam que microrganismos não desejáveis a saúde intestinal competem com o hospedeiro por nutrientes, produtos do processo digestivo. Sendo assim, o equilíbrio da microbiota do trato gastrintestinal é fundamental para manutenção da saúde do animal (WENK, 2006).

A utilização de enzimas exógenas, carboidrases, pode ter efeito benéfico na saúde intestinal pelo possível efeito prebiótico que pode ser alcançado por sua inclusão (MARCHINI et al., 2015). Segundo Jia et al. (2009) algumas enzimas são capazes de produzir através da hidrólise, substratos que atuam como prebióticos, e por meio da manipulação da flora patogênica e não-patogênica manter a saúde intestinal. Porém, a efetividade da resposta da enzima adicionada à dieta depende de fatores que favoreçam sua ação. Segundo Ravidran (2013) existem limites fisiológicos à melhora da digestão proporcionada pelas enzimas, tais como pH e tempo de retenção no trato digestivo, e estratégias nutricionais que amenizem estes limites precisam ser exploradas.

A permeabilidade intestinal é um indicador de eficiência para a barreira protetora formada pelo TGI, que impede a translocação paracelular de compostos indesejados, como toxinas bacterianas e micro-organismos do lúmen do intestino, para a lâmina própria e posteriormente para a corrente sanguínea (FIGURA 4) (JEURISSEN et al., 2002). A integridade da parede intestinal é garantida por uma camada contínua de células epiteliais, unidas por junções de oclusão, e por uma camada mucosa acima do epitélio como demostra a FIGURA 4.

Figura 3. Representação esquemática do epitélio intestinal e rotas de translocação de nutrientes e componentes da dieta.



FONTE: IMUNOVA, 2018

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de aditivos na dieta de animais possibilita que ingredientes de menor qualidade nutricional sejam melhor utilizados, podendo ser adicionados a dieta sem comprometer a sua qualidade. Com isso, o uso de enzimas exógenas na alimentação de cães poderia ser um artifício capaz de melhorar a qualidade de dietas mesmo quando se utilizam ingredientes de baixo valor biológico e com fatores antinutricionais. Estudos demonstram que adição de enzima xilanase, além de proporcionar melhora na digestibilidade da dieta, pode ter efeito benéfico na funcionalidade intestinal. No entanto, a efetividade da resposta da enzima adicionada à dieta depende de fatores que favoreçam sua ação, sendo importante conhecer os efeitos de seu uso na alimentação de monogástricos, bem como em que níveis os resultados podem ser benéficos a estes animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGEL, R.; SORBARA, J. O. B. Why is it important to understand substrates if we are to optimize exogenous enzyme efficacy? **Poultry Science**, v. 93, p. 2375–2379, 2014. http://dx.doi.org/ 10.3382/ps.2013-03869.

ANGEL, R.; KIM, S. W.; LI, W.;JIMENEZ-MORENO, E. **Velocidad de paso y pH intestinal en aves: implicaciones para la digestión y el uso de enzimas**. XXIXCURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA, Madrid, 6 e 7 de novembro de 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. Disponível em <http://abinpet.org.br/site/> - Acesso em 03/04/2018

BARLETTA, A. Current market and expected developments. In: BEDFORD M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition.** 2° ed, Londres: CAB international, p. 1-12, 2011.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In: **SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL**. Campinas. Anais. Campinas, SP:CBNA, 2001. p.167-190, 2001.

BEDFORD, M.R.; SCHULZE, H.; 1998. Exogenous enzymes for pigs and poultry, **Nutrition Research Reviews**, v.11, p.91-114.

BRITO, M.S.; OLIVEIRA, C.F.S.; SILVA, T.R.G., LIMA, R.B.; MORAIS, S.N.; SILVA, J.H.V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – Revisão.**Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, p.111-117, 2008

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T. M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CAPPELLI, S.; MANICA, E.; HASHIMOTO, J.H. Importância dos aditivos na alimentação de cães e gatos: Revisão. **PUBVET – Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia,**2016.

CARCIOFI, A.C. Classificação e avaliação de alimentos comerciais para cães e gatos. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DE CÃES E GATOS, 3., 2007, Lavras. **Anais**...Lavras: UFLA, 2007.296p

CARCIOFI, A.C.; JEREMIAS, J.T. Progresso científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.35-41, 2010

CASE, L.P., CAREY, D.P., HIRAKAWA, D.A., DARISTOTLE, L., 2000. **Canine and Feline Nutrition:** A Resource for Companion Animal Professionals, 2nd ed. Mosby, St. Louis.

CASE, L.P; CAREY, D.P; HIRAKAWA, D.A. Nutrição canina e felina – Manual para profissionais. 2ª edição. Lisboa: Harcourt Brace, 1998. 424 p

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Enzimas. In: Bioquimica Ilustrada, 2 ed. São Paulo: Artesmédicas, 1989. 446p. p53-66.

CONTE, A.J., et al. Efeito da Fitase e Xilanase sobre o Desempenho e as características Ósseas de Frangos de Corte Alimentados com Dietas Contendo Farelo de Arroz. In: **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.32, p.1147-1156, 2003.

COUGLHAN, M.P. and HAZLEWOOD, G.P. B-1-4 Dxylan-degrading enzyme systems: biochemistry molecular biology and application. **Biotechnol appl Biochem** 17, 259-289, 1993.

COUSINS, Bart. Enzimas na nutrição de aves. In: I Simpósio Internacional ACAV Embrapa sobre Nutrição de Aves, 1999, Concórdia – SC. **Anais**...Concórdia: 1999. 15p.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G.Xylanases, xylanase families and extremophilicxylanases. **FEMS microbiologyreviews**, v.29, n.1, p.3-23, 2005.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science***.,* v.85, p.878-885, 2006.

DASSI, S.C. Avaliação bioquímica e zootécnica de proteases para frango de corte. 93 p. Tese (Mestrado em fisiologia) – Universidade Federal do Paraná, 2015.

DEKKER, R. F. H.; RICHARDS, G.N. Hemicellulases: their occurrence purification properties and mode of action **carbohydrate chemistry and biochemistry**, 32, 277, 1976.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing fator. **Journal of the Science of food and agriculture,** v. 95, p. 878-896, 2015.

DHARNE, H. V. Maintaining gut integrity. **Avitech Technical Bulletin**, Jan, 2007.

DODD, D.; CANN, I. K. O. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **GCB Bioenergy**, v.1, p. 2–17, 2009.

FARINAS, C.S. A parede celular vegetal e as enzimas envolvidas na sua degradação. Documentos, ISSN: 1518-7179; 54). São Carlos: 13 p. – Embrapa Instrumentação, 2011.

FENGEL, D. & WEGENER, G. Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Berlin: Walter de Gruyter, 1989.

FIELD, C.J.; MCBURNEY, M.L.; MASSIMINO, S.; HAYEK, M.G.; SUNVOLD, G.D. The fermentable fiber content of the diet alters the function and composition of canine gut associated lymphoid tissue. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.72, p. 325-341, 1999.

FISCHER, G.; MAIER, J.C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V.L. Desempenho de Frangos de Corte Alimentados com Dietas à Base de Milho e Farelo de Soja, com ou sem Adição de Enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.402-410, 2002.

FLEMMING, J.S. Utilização de leveduras, probióticos e mannanoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frango de corte. 2005. 109f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

FRANÇA, J. Alimentos convencionais versus naturais para cães adultos. 2009. 93fp. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃ, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5°, 2004, Balneário Camboriú. **Anais** p.06-28.

GUENTER, W. Pratical experience with the use of enzymes. Acesso em 10 de abril de 2018. Online. Disponível na Internet http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html.

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. Dissertação de mestrado. Jaboticabal, SP – Brasil, 2009.

HUBER, T.L.; WILSON, R.C.; McGARITY, S.A. Variations in digestibility of dry dog foods with identical label guaranteed analysis. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.22, n.5, p.571-575, 1986.

HUSSEIN, H.S.; FLICINGER, E.A.; G.C. Jr. Petfood Applications of Inulin and Oligofructose. **Journal of Nutrition**, v.129, p. 1454-1456, 1999.

JEURISSEN, S. H. M.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J. D.; MROZ, Z.; REBEL, J. M. J.; TER HUURNE, A. A. H. M. Parameters and Techniques to Determine Intestinal Health of Poultry as Constituted by Immunity, Integrity, and Functionality. **Current Issues in Intestinal Microbiology** 3: 1–14. 2002.

JIA W, SLOMINSKI BA, BRUCE HL, BLANK G, CROW G, JONES O. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health on broiler

chickens uring subclinical *Clostridium pefringens* challenge. **Poultry Science**. 2009; 88:132-40.

KULKARNI, A.; SHENDYE, M. Molecular and biotechnological aspects of xylanases FEMS **Microbiology Reviews**, 23, 411, 1999.

LOWE, J. A. Effective use of new and novel concepts in pet food design. In: Proc. Alltech´s Fifth Annual Symposium. **Biotechnology in the Feed Industry. Alltech´s Technical Publications**, Nicholasville, KY. P209- 221, 1989.

MAIA, G.V.C; SAAD, F.M.O.B; ROQUE, N.C; FRANÇA, J; LIMA, L.M.S; AQUINO, A.A; Zeólitas e Yucca schidigera em rações para cães: palatabilidade, digestibilidade e redução de odores fecais. **Revista Brasileira de Zootecnia**v.39, n.11, p.2442-2446, 2010

MALAFAIA, M. I. F. R.; PEDROZO, E. A.; SANTOS, J. A. P.; RIBEIRO, M. D.; MALAFAIA, P.; LANA, A. M. Q. Consumo de nutrientes, digestibilidade in vivo e in vitro de dietas para cães contendo polpa de citrus e folha de alfafa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 121-126, 2002.

MARCHINI, C.F.P; OLIVEIRA, E.M; CASTEJON, F.V; NETO, L.D.S; MARTINS, P; CARVALHO, F.B; CAFÉ, M.B; STRINGHINI, J.H. Aditivos alimentares para produção de frangos: aplicações recentes e tendências. In: **XVI SIMPÓSIO SUL DE AVICULTURA,** Chapecó, 2015.

MATHLOUTHI N; MALLET S. S.; SAULINIER L; Effects of xylanase and beta-glucose addition on performance, nutriente digestibility and physic-chemical conditions in the small intestinecontents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. **Animal Research** 51:395-406. 2002.

MONRO, J. A. Evidence- based food choice: the need for new mesuares of food effects. **Trends Food science and technology.**, Ontário, v. 11, p. 136-144, 2000.

MONTASSIER, H.J. Importância da imunidade em pintos na primeira semana de vida. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DE PINTOS DE CORTE. Conferência Apinco. Campinas. Anais... Campinas: FACTA, p.99-120, 1998

NRC - National Research Council. 2006. In: **Nutrient Requirements of Dogs**. National Academy Press. Washington, p.428.

OLEMPSKA-BEER, Z. S.; MERKER, R. I.; DITTO, M. D.; DINOVI, M. J. Food-processing enzymes from recombinant microorganisms - a review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** v.45, p.144–158, 2006.

PEDERSEN, M.B.; DALSGAARD, S.; ARENT, S.; LORENTSEN, R.; KNUDSEN, K.E.B.; YU, S.; LAERKE, H.N. Xylanase and protease increase solubilization of non-starch polysaccharides and nutrient release of corn-and

wheat distillers dried grains with solubles. **Biochemical Engineering Journal**, v.98, p.99-106, 2015.

RAVINDRAN V., CABAHUG S., RAVINDRAN G., BRYDEN W.L. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**., 78, 699–706, 1999.

RAVINDRAN V. Feed enzymes: the science, practice and metabolic realities. J **The Journal of Applied Poultry Research** 2013; 22:628-36.

REVISTA V&Z EM MINAS. N° 126. [2015]. Disponível em: < http://www.crmvmg.org.br/RevistaVZ/Revista26.pdf>. Acesso em: 10 maio 2018.

RISOLIA, L.W. Efeito da adição das enzimas xilanase e protease em dietas contendo grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) para cães. 76p. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, 2017.

ROCHA, M. A. Biotecnologia na nutrição de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia.** Viçosa, vol. 37, 2008.

ROEDIGER, W.E.W. The effect of bacterial metabolism on the nutrition and function of the colon mucosa: a symbiosis between man and bacteria. In: H. Goebbel; H. Kaspar; **Colon and nutrition.** 1. Ed. Lancaster: M.T.P. Press, 1982, p.11-26.

SÁ-FORTES, C.M.L. Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SA PEREIRA, P., PAVEIA H. COSTA-FERREIRA, M., AIRES-BARROS, M. R. A new look ate xilanases. **Molecular Biotechnology**, v. 24, p. 257-281. 2003.

SARTORI, J. R. Uso de enzimas em rações. **Revista alimentação animal**, Rio de Janeiro, n.1, p. 11-13, 1999.

SILVA, E.N. & ANDREATTI FILHO, R.L. Probióticos e Prebióticos na Avicultura. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, Santa Maria, RS. Anais… Santa Maria, p.45-54, 2000.

SILVA, J. R., DOMINGUES, L. P., SABCHUK, T. T., MALINOSKI, F., FELIX, A. P., OLIVEIRA, S. G. Efeito da aplicação da enzima xilanase em dietas contendo resíduo seco de destilaria contendo solúveis (ddgs) na alimentação de cães. **XV Congresso CBNA PET**, Expo D. Pedro - Campinas, SP. 2016.

SILVA, J.R. Uso de resíduo seco de destilaria contendo solúveis (DDGS), com e sem xilanase, na alimentação de cães**.** 76p. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, 2015.

SILVA, LP. & NORNBERG, J.L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, v.33, p.983-990, 2003.

SOUTHGATE D. A. T. The role of dietary fibre in the diet**. The Jounal of the Royal Society for the Promotion of Health**, London, v. 110, n. 5, p. 174-178, 1990.

SCHEPPACH, W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function.**Gut**, v.35, p.35-38, 1994.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.

TESHIMA, E. Aspectos terapêuticos de probióticos, prebióticos e simbióticos. In: FERREIRA, C.L.L.F. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção.** Viçosa, 2003.p.35-60, 2003.

TOPPING, D.L.; CLIFTON, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological Reviews**, v.81, p.1031-1064, 2001.

TWOMEY, L.N.; PLUSKE, J.R.; ROWE, J.B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; McCONNELL, M.F.; PETHICK, D.W. The effects of increasing levels of soluble non-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on fecal quality and digestibility. **Animal Feed Science and Technology.** v.108, p.71-82, 2003.

VIEIRA, D.S. Estrutura, termoestabilidade e atividade de xilanases: um estudo via simulação molecular. 148p. Tese (Doutorado em ciências: química) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, 2007.

YAMKA, R. M.; HARMON, D. L.; SCHOENHERR, W. D.; et al. In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, p. 88–94, 2006.

YANG Y, IJI PA, KOCHER A, MIKKELSEN LL, CHOCT M. Effect of xylanase on growth and gut development of broiler chickens given a wheatbased diet. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,** 2008.

CAPITULO II– EFEITO DA ADIÇÃO DE XILANASE SOBRE DIGESTIBILIDADE DAS DIETAS E FUNCIONALIDADE INTESTINAL EM CÃES

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da preocupação dos tutores por seus pets, a indústria passou a produzir rações cada vez mais específicas para cada animal e estas obtidas através do uso de aditivos. Com a intenção de aumentar a longevidade, saúde, e com função terapêutica, muitos componentes estão sendo adicionados as formulações. A suplementação nutricional possui funções que beneficiam a eficiência dos ingredientes utilizados, melhoraram a aparência, a palatabilidade e aumentam o tempo de prateleira das rações (CAPPELLI; MANICA; HASHIMOTO, 2016).

A vista disso, torna-se interessante o estudo sobre enzimas na alimentação de cães, uma vez que estas proporcionam melhor aproveitamento de nutrientes oriundos de ingredientes de qualidade inferior. A xilanase seria capaz de reduzir a viscosidade da dieta, e assim promover maior acesso das enzimas endógenas aos nutrientes, através da hidrólise do xilano pertencente a porção hemicelulose da parede celular, resultando na melhora na digestibilidade dos nutrientes da dieta.

Além da melhora na digestibilidade, outras possíveis ações da xilanase vêm sendo estudadas, como o resultado benéfico na funcionalidade intestinal. Através da hidrólise as carboidrases podem alcançar efeito prebiótico, estimulam apenas a proliferação das bactérias benéficas mantendo a funcionalidade intestinal (JIA et al. 2009).

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atuação da enzima xilanase sobre esses efeitos, através da medição da digestibilidade, características fecais e permeabilidade intestinal, além da verificação do perfil de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e aminas bioativas nas fezes de cães alimentados com dietas de diferentes níveis nutricionais com e sem a adição da enzima.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio experimental foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná - Curitiba, PR, Brasil.

2.1 EXPERIMENTO I: ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

2.1.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Para ensaio de digestibilidade e características das fezes foram utilizados 12 cães adultos da raça Beagle (sendo seis machos e seis fêmeas), sadios, vacinados e desverminados, com idade 3,5± 0,1 anos e peso médio de 11,3 ± 1,07 kg. Os cães foram alojados individualmente em baias de alvenaria com solário (5 metros de comprimentos x 2 metros de largura).

2.1.2 DIETAS

Foram avaliadas duas dietas com diferentes níveis nutricionais, classificadas comercialmente como dietas standard e super premium, com e sem adição da enzima xilanase. A enzima aplicada foi a (Econase- XT25, AB Vista Wiltshire, UK) (I.V.B. 3.2.1.8) produzida a partir de cepas de *Trichoderma reesei*, contendo160.000 BXU/g. As Unidades Xilanases (BXU) são determinadas em substrato de xilano (extraído de *Betula alba*) a 50º C e pH 5,3.

A quantidade de enzima utilizada foi de 0,5 g/kg, e sua adição junto à ração foi feita por meio de mistura prévia com óleo de vísceras e aplicação realizada através de um misturador centrífugo betoneira. O período de homogeneização do óleo de vísceras com a ração foi de 10 minutos. As dietas foram armazenadas por sete dias em sacos lacrados protegidos da luz solar direta, antes de serem fornecidas aos cães.

Os tratamentos foram compostos pelas dietas: ST- standard sem xilanase, STX- standard com xilanase, SP- super premium sem xilanase e SPX- superpremium com xilanase. As dietas utilizadas atenderam as necessidades nutricionais de cães adultos, segundo a AAFCO (2004). Os

ingredientes utilizados nas dietas experimentais estão na TABELA 3 e a composições químicas de cada uma delas estão na TABELA 4.

TABELA 3. INGREDIENTES DAS DIETAS EXPERIMENTAIS STANDARD E SUPERPREMIUM COM E SEM ENZIMA XILANASE

Ingredientes (g/kg)	**Standard**	**Super premium**
Milho	557,49	445,77
Farelo de glúten 21	200	-
Farinha de vísceras	170	245
Protenose	-	150
Polpa de beterraba	-	20
Palatabilizante	20	20
Casca de arroz	20	-
Gordura aves	15	100
Sal branco comum	5	5
Premix*	4	4
Cloreto de potássio	3,33	5,66
Cloreto de colina	2	2
Propionato de cálcio	2	2
Dl-metionina	0,61	-
Xilanase**	0,5	0,5
Ácido cítrico	0,35	0,35
Bht	0,15	0,15
Bha	0,08	0,08

FONTE: O autor (2018).
NOTA: * Enriquecimento por kg de produto: vitamina A (retinol) = 20.000 UI; vitamina D3 = 2000 UI; vitamina E (alfa-tocoferol α) = 48 mg; vitamina K3 = 48 mg; vitamina B1= 4 mg; vitamina B2 = 32 mg; ácido pantotênico = 16 mg; = 56 mg de niacina; colina = 800 mg; Como óxido de zinco Zn = 150 mg; Fe como sulfato ferroso = 100 mg; Cu como sulfato de cobre = 15 mg; I, tal como iodeto de potássio = 1,5 mg; Mn como óxido de manganês = 30 mg; Se como selenito de sódio = 0,2 mg; antioxidante = 240 mg.
** Em dietas que continham xilanase.

TABELA 4. COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA (% DE MATÉRIA SECA) DAS DIETAS STANDARD E SUPER PREMIUM COM E SEM ADIÇÃO DE XILANASE

	DIETAS			
Composição química (%)	**ST**	**STX**	**SP**	**SPX**
Matéria seca	95,24	94,71	94,59	95,08
Proteína bruta	22,62	22,80	30,95	30,19
Extrato etéreo HA	8,67	8,67	15,31	15,36
Fibra bruta	3,67	3,59	1,57	1,63
FDN	20,48	20,31	18,44	18,00
FDA	4,37	4,46	2,62	2,58
Matéria mineral	7,5	7,70	8,03	8,33
Cálcio	1,59	1,48	1,77	1,96
Fósforo	0,98	0,935	1,01	1,07
Energia bruta (Kcal/kg)	4646,72	4646,82	5146,42	5146,68

FONTE: O autor (2018).
NOTA: HA: Hidrólise ácida; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; ST: standard sem xilanase; STX: standard com xilanase; SP: super premium sem xilanase; SPX: super premium com xilanase; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido.

2.1.3 DIGESTIBILIDADE

O experimento teve duração de 60 dias, sendo composto por dois períodos de 30 dias. O ensaio de digestibilidade seguiuas recomendações da Association of American Feed Contro Officials AAFCO (2003), com 25 dias de adaptação às dietas e instalações e cinco dias de colheita total de fezes. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (08h30 minutos e 15h30 minutos) em quantidade suficiente para suprir suas necessidades de energia metabolizável (NEM) segundo a equação proposta pelo NRC (2006).

$$NEM\ (kcal/dia) = 130 \times Peso\ corporal\ (kg)^{0,75}$$

A água foi fornecida *ad libitum*. As fezes foram colhidas e pesadas duas vezes ao dia e acondicionadas em potes plásticos individuais, previamente identificados, tampados e armazenados em freezer individualmente a -14ºC.

No final de cada período experimental, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ventilação forçada à 55ºC durante 48

horas até peso constante. As fezes secas e as dietas foram moídas à 1 mm e analisadas para determinação dos teores de matéria seca (MS) à 105ºC por 12 horas, proteína bruta (PB, método 954.01), fibra bruta (FB, método 962.10), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA, método 954.02) e matéria mineral (MM, método 942.05), segundo a AOAC (1995). A energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica (Par Instrument Co. model 1261, Moline, IL, USA). A matéria seca original das fezes foi obtida por: (MS55 x MS105) /100. Os extrativos não nitrogenados (ENN, %) foram estimados segundo a equação: 100 – (umidade% + PB% + EEA% + FB% + MM%). O conteúdo de CIA foianalisado segundo metodologia descrita por Scott e Boldaji (1997). As análises de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram feitas de acordo com Silva e Queiroz (2002). Foram analisadas ainda as frações dos PNA solúveis e insolúveis presentes nas dietas (Tabela 5) de acordo com metodologia descrita por Englyst et al. (1982).

Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da MS, MO, PB, EEA e EB das dietas experimentais:

CDA% = ((g nutriente ingerido – g nutriente excretado)/ g nutriente ingerido) x 100.

A energia metabolizável (EM) foi estimada de acordo com a AAFCO (2003):

EM (kcal/g) = {kcal/g EB ingerida – kcal/g EB das fezes – [(g PB ingerida – g PB das fezes) x 1,25kcal/g]}/g ração ingerida.

TABELA 5. ANÁLISE QUÍMICA DAS FRAÇÕES DOS POLISSACARÍDEOS NÃO AMILÁCEOS (PNA) PRESENTES NAS DIETAS

Item (%)	**SP**		**SPX**		**ST**		**STX**	
	S	I	S	I	S	I	S	I
Ramnose	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Fucose	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Arabinose	0.2	0.9	0.3	0.9	0.2	2.1	0.2	2.0
Xilose	0.0	1.0	0.1	1.0	0.0	3.3	0.2	3.2
Manose	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1
Galactose	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.5	0.2	0.5
Glucose	0.3	1.4	0.3	1.4	0.3	3.2	0.2	3.2
Ácido glicurônico	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
Ácido galacturônico	0.4	0.0	0.4	0.0	0.1	0.0	0.2	0.0
Total (g/100g)	1.1	3.8	1.4	3.6	0.8	9.3	1.3	9.1
SD	**0.1**	**0.1**	**0.1**	**0.1**	**0.2**	**0.2**	**0.1**	**0.1**

FONTE: O autor (2018).
NOTA: S: solúvel; I: insolúvel; SD: desvio padrão; SP: super premium sem xilanase; SPX: super premium com xilanase; ST: standard sem xilanase; STX: standard com xilanase;

2.1.4 CARACTERÍSTICAS DAS FEZES

As características das fezes foram avaliadas pelo teor de matéria seca total, produção, consistência, odor, nitrogênio amoniacal e pH fecal.

O teor de amônia foi determinado de acordo com Brito et al. (2010). A concentração de amônia fecal foi calculada como: amoníaco-N (g / kg) = N × fator de correção × 17 × (volume de ácido - em branco) / peso da amostra (g). A concentração de amônia fecal foi corrigida para MS fecal.

O pH fecal foi mensurado por meio de um pHmêtro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste Ltda, São Paulo, SP, Brasil) utilizando 2,0 g de fezes frescas (coletadas no máximo 15 minutos após a defecação) e diluídas com 20 ml de água destilada.

O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias e malformadas; 3 = fezes macias, formadas e úmidas; 4 = fezes bem formadas e consistentes; 5 = fezes bem formadas, duras e secas (CARCIOFI et al., 2009).

Para a avaliação do odor fecal foram feitos dois testes, sendo o primeiro teste feito com fezes frescas de animais que se alimentavam das dietasstandard sem xilanse, super premium sem xilanase e super premium com xilanase, utilizando a primeira como padrão. O segundo teste foi feito com fezes frescas de animais alimentados com super premium sem xilanase, standard sem xilanase e standard com xilanase, sendo a primeira utilizada como padrão.

As fezes foram amostradas no último dia de coleta as 8h30 minutos. Coletadas de forma aleatória as fezes de três animais por tratamento, foram homogeneizadas e colocadas em quantidades iguais (40 g) em potes do mesmo tamanho e volume, os quais foram cobertos por filme plástico contendo o mesmo número e tamanho de furos, para preservar o odor. Os potes identificados com letras de acordo com as dietas. A avaliação foi realizada por 20 pessoas, por meio da comparação do odor em relação à dieta controle (padrão). Os valores atribuídos em relação ao odor da dieta controle foram:

1-Melhor que a dieta controle; 2-Igual à dieta controle; 3-Pior que a dieta controle.

2.1.4.1 PARÂMETROS DO TRATO GASTROINTESTINAL

Com o intuito de verificar possíveis alterações no padrão fermentativo da microbiota, foi determinada a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) nas fezes dos animais. Para tanto, as fezes dos cães foram coletadas frescas, no máximo 15 minutos após a defecação. Em um recipiente plástico devidamente identificado e com tampa, 10 g de amostra de fezes eram pesados e misturados com 30 ml de ácido fórmico 16%. Esta mistura foi homogeneizada e armazenada em geladeira a 4ºC por um período de 3 a 5 dias. Depois disso, estas soluções passaram por centrifugação a 5000 rotações por minuto em uma centrífuga (2K15, Sigma, Osterodeam Hans, Alemanha) por 15 minutos. Ao final da centrifugação o sobrenadante foi separado e submetido a uma nova centrifugação. Cada amostra passou por três centrifugações e ao final da última, parte do sobrenadante foi transferida para um eppendorff devidamente identificado para posterior congelamento. Posteriormente as amostras foram descongeladas e passaram por uma nova

centrifugação a 14000 rotações por minuto por 15 minutos (Rotanta 460 Robotic, Hettich, Tuttlingen, Alemanha). Os AGCC fecais foram analisados por cromatografia gasosa (SHIMADZU, modelo GC-2014, Quioto, Japão). Foi utilizado uma coluna de vidro (Agilent Technologies, HP INNOwax – 19091N, Santa Clara, EUA) de 30 m de comprimento e 0,32 mm de largura. O nitrogênio foi o gás transportador, com uma taxa de fluxo de 3,18 ml / min. As temperaturas de trabalho foram 200°C na injecção, 240°C na coluna (na velocidade de 20ºC/min) e 250°C no detector de ionização de chama.

Para a avaliação da concentração de aminas bioativas fecais, foram coletados cinco gramas de fezes frescas armazenas e identificadas em tubo falcon e posteriormente congeladas. As amostras foram encaminhadas para análise no Laboratório de Bioquímica de Alimentos no Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG – Belo Horizonte, MG. O método utilizado foi o de cromatografia líquida de alta performance (HPLC, Shimadzu modelo LC-10AD, Kyoto, Japão) por par iônico, derivação pós-coluna com o-ftalaldeído e detecção fluorimétrica, seguindo a metodologia descrita por Vale e Gloria (1997).

A permeabilidade intestinal foi avaliada por meio da técnica de passagem de marcador fluorescente (Dextran-FITC), de acordo com a metodologia de Vicuña et al. (2012) ajustando-se a dose e o tempo de trânsito de acordo com as especificidades do presente teste.

2.1.5 DELINEAMENTO E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados seguindo-se delineamento em blocos casualizados, sendo o período o fator de blocagem. O experimento foi composto por quatro tratamentos, em esquema fatorial 2 x 2, repetidos em dois períodos com 12 cães em cada período (3 cães por tratamento), totalizando seis repetições por tratamento. Todos os tratamentos foram distribuídos em cada período. Os dados foram previamente verificados quanto à sua normalidade (Shapiro-Wilk) e quando atendida essa premissa foram analisados utilizando o procedimento fatorial do kit Statix edição 8 considerando como diferença significativa5% de probabilidade.Os dados que não apresentaram normalidade foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis ($P<0,05$) assim como o escore fecal.

2.2 EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE

2.2.1 DIETAS

Foram avaliadas duas dietas com diferentes níveis nutricionais, classificadas comercialmente como dietas standard e super premium, com e sem adição da enzima xilanase (32.000 BXU/kg de xilanase, Econase XT 25, AB Vista, Wiltshire, UK). Foi realizada a comparação das dietas com xilanase vs sem xilanase.

2.2.2 ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Foram utilizados 16 cães adultos da raça Beagle (sendo seis machos e seis fêmeas), sadios, vacinados e desverminados, com idade 3,5 $\pm$ 0,1 anos e peso médio de 11,3 $\pm$ 1,07 kg. Os cães foram alojados individualmente em baias de alvenaria com solário (5 metros de comprimentos x 2 metros de largura).

2.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Foram realizados dois testes, sendo o primeiro comparando as dietas SP vs SPX e o segundo ST vs STX. Cada teste era realizado por um período de dois dias, totalizando 32 repetições. A cada alimentação, os animais receberam as necessidades energéticas diárias mais 30% de cada dieta, com base na fórmula para cães adultos em manutenção do NRC (2006), assegurando assim a presença de sobras. Os animais receberam as dietas uma vez ao dia, pela manhã, e estas ficaram à disposição durante 30 minutos ou até consumirem totalmente uma das dietas. As quantidades fornecidas e as sobras foram quantificadas para se calcular a preferência alimentar. A primeira escolha foi definida pelo registro do primeiro pote que o animal se aproximou durante a oferta simultânea dos alimentos. Em cada alimentação sucessiva, a posição dos comedouros foi alternada, a fim de evitar a lateralidade.

2.3.1 DELINEAMENTO E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Previamente, os dados foram verificados quanto à sua normalidade (Shapiro-Wilk) e quando atendida essa premissa foram analisados segundo delineamento inteiramente casualizado. Os resultados da razão de ingestão foram comparados pelo teste t de Student a 5% de significância e a primeira escolha pelo teste Qui-quadrado a 5%, totalizando 32 repetições por teste (16 cães x 2 dias de avaliação) para cada teste realizado (super premium com e sem xilanase e standard com e sem xilanase).

A razão da ingestãofoi calculada com base no consumo (fornecido – sobras) relativo das dietas (A e B), sendo: Razão da ingestão (%) = [g ingeridas da dieta A ou B/ g totais consumidas (A + B)] x 100

3 RESULTADOS

3.1 EXPERIMENTO I: DIGESTIBILIDADE APARENTE, CARACTERÍSTICAS FECAIS E FUNCIONALIDADE INTESTINAL

DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

Os cães consumiram totalmente o ofertado e não houve episódios de vômito ou diarreia. A adição da enzima xilanase nas dietas não proporcionou nenhum efeito nos CDA dos nutrientes e EM (P>0,05).

A dieta SP apresentou maior energia metabolizável e maiores coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) comparada à dieta ST para todos os componentes analisados (P<0,01, TABELA 6).

TABELA 6. MÉDIAS DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE (CDA, %), ENERGIA METABOLIZÁVEL (EM, KCAL/KG) E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE DIETAS SP E ST COM E SEM ENZIMA XILANASE

						P		
Item	**Ração**	**Com**	**Sem**	**Média**	**CV**	**Ração (A)**	**Enzima (B)**	**A*B**
CDA								
	SP	85,80	85,82	85,81	2,05	<0,01	0,3146	0,3202
MS	ST	78,81	80,90	79,85				
	Média	82,31	83,36					
	SP	89,98	89,82	89,90	1,55	<0,01	0,2775	0,2049
MO	ST	81,51	83,48	82,50				
	Média	85,75	86,65					
	SP	87,48	87,75	87,62	2,06	<0,01	0,2897	0,4122
PB	ST	81,05	83,07	82,06				
	Média	84,27	85,41					
	SP	92,56	92,98	92,77	1,01	<0,01	0,0657	0,2241
EE	ST	83,52	85,30	84,41				
	Média	88,04	89,14					
	SP	4616,70	4622	4619,3	1,43	<0,01	0,1736	0,2172
EM	ST	3775,10	3873,5	3824,3				
	Média	4195,90	4247,8					
Características Fecais								
	SP	0,66	0,64	0,65	23,45	<0,01	0,880	0,651
PF	ST	0,92	0,97	0,94				
	Média	0,79	0,80					
	SP	38,73	36,91	37,82	3,86	0,2856	0,3244	<0,05
MSf (%)	ST	35,09	38,65	36,87				
	Média	36,91	37,78					
	SP	7,03	7,12	7,07	2,82	<0,01	0,315	0,917
pH	ST	6,67	6,74	6,71				
	Média	6,85	6,93					
	SP	0,11	0,11	0,11	49,31	0,489	0,697	0,882
Amônia (%)	ST	0,13	0,12	0,13				
	Média	0,12	0,11					

FONTE: O autor (2018).
NOTA: MS: Matéria seca; EEA: Extrato etéreo em hidrólise ácida; PB: Proteína bruta; EB: Energia bruta; MO: Matéria orgânica; EM: Energia metabolizável; PF: Produção de fezes; MSF: Matéria seca fecal; SP: super premium sem xilanase; SPX: super premium com xilanase; ST: standard sem xilanase; STX: standard com xilanase;

Com relação aos AGCC, houve interação entre ração e enzima para os ácidos propiônico, isovalérico (P<0,05) e isobutírico (P<0,01), sendo que os mesmos aumentaram nas dietas que não continham a enzima xilanase. A ração super premium apresentou maior concentração de isobutírico quando comparada a standard (P<0,05, TABELA 7), sendo que cães alimentandos com a dieta SPX apresentaram maior concentração desse AGCC em suas fezes. Os ácidos acético e butírico não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (TABELA 7 e TABELA 8).

TABELA 7. MÉDIAS (MMOL/G MS FECAL) DOS ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC) DAS FEZES DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS SUPER PREMIUM E STANDARD COM E SEM ENZIMA XILANASE

						P		
AGCC	**Ração**	**Com**	**Sem**	**Média**	**CV**	**Ração (A)**	**Enzima (B)**	**A*B**
	SP	28,091	29,793	28,942	15,89	0,5733	0,2901	0,8717
Acético	ST	26,734	29,039	27,887				
	Média	27,413	29,416					
	SP	11,570	9,584	10,577	20,28	0,1642	0,5269	<0,05
Propiônico	ST	10,329	13,515	11,922				
	Média	10,950	11,550					
	SP	0,801	1,047	0,924	17,17	<0,05	0,2517	<0,01
Isobutírico	ST	0,826	0,720	0,773				
	Média	0,813	0,884					
	SP	0,982	1,349	1,166	21,58	0,1809	0,3043	<0,05
Isovalérico	ST	1,113	0,950	1,031				
	Média	1,047	1,149					

FONTE: O autor (2018).

A cadervina foi encontrada em maior concentração nas fezes de animais alimentados com a dieta STX em relação aos animais alimentados com dieta SP (P<0,01, TABELA 8).

Em relação às características fecais houve maior produção de fezes (PF) nos cães alimentados com a dieta ST (P<0,01). A adição da enzima xilanase não teve efeito significativo no valor de pH fecal. O efeito da dieta foi evidenciado nesse parâmetro, sendo que animais alimentados com dieta super premium obtiveram maior valor de pH fecal quando comparado aos que

receberam a dieta standard (P<0,01). Houve interação entre ração e xilanase (P<0,05) na MSf dos cães, sendo que a dieta SP com xilanase apresentou maior porcentagem de MSf comparada a SP sem xilanase, e o contrário foi observado nas dietas ST. A amônia não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (TABELA 6).

Os animais alimentados com as dietas SP com e sem xilanase apresentaram fezes menos fétidas em relação a controle ST (P<0,01). Não houve diferença significativa (P>0,05) quanto ao escore fecal entre os tratamentos (TABELA 8).

TABELA 8. MEDIANAS DE ESCORE, ODOR FECAL, AMINAS BIOATIVAS E ÁCIDO GRAXO DE CADEIA CURTA ANALISADOS ESTATISTICAMENTE POR KRUSKAL-WALLIS DE CÃES ALIMENTADOS COM AS DIETAS SUPER PREMIUM E STANDARD COM E SEM XILANASE.

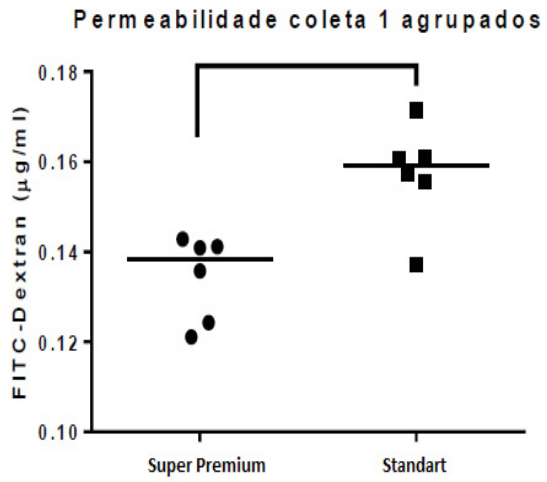
Item	**SP**	**SPX**	**ST**	**STX**	**P**
Odor fecal	1ab	1b	2a		<0,01
	2		3	2	0.1478
Escore	4	4	4	4	0.5942
Concentrações de aminas bioativas (mg/100g de fezes na matéria original)					
Putrescina	43,37	11,85	21,17	46,89	0,0628
Cadaverina	0b	2,28ab	4,59ab	8,11a	<0,01
Histamina	0a	0a	4,27a	8,05a	<0,05
Espermina	72,95	57,67	67,74	85,75	0,8599
Triptamina	0	0	9,796	0,47	0,2046
Ácido Graxo de Cadeia Curta (mmol/g MS fecal)					
Butírico	5,43	4,36	4,79	4,64	0,7791

FONTE: O Autor (2018).
NOTA: a,b. Letras distintas indicam diferença pelo teste de Kruskal-Wallis (P<0,05).
SP: super premium sem xilanase; SPX: super premium com xilanase; ST: standard sem xilanase; STX: standard com xilanase;
Número de visualização de aminas por tratamento: Cadervina: SP = 0, SPX = 4; Histamina: SP = 0, SPX = 0; ST = 3, STX = 3.

PERMEABILIDADE INTESTINAL

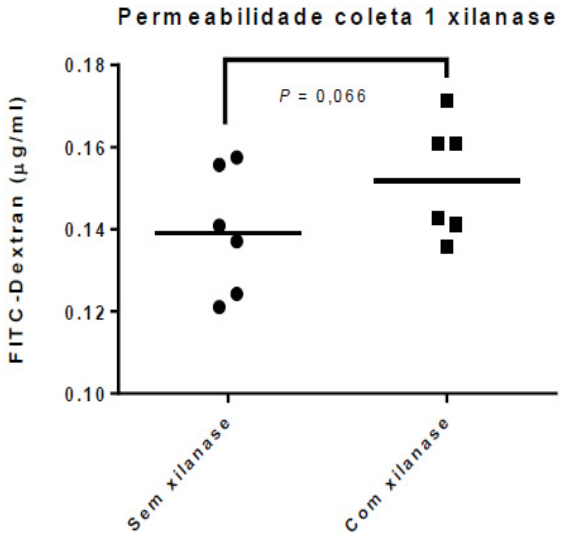
A permeabilidade apresentou diferença significativa entre os animais tratados com as diferentes dietas, SP e ST, (P <0,05), que foram agrupadas independentemente da adição da enzima. A dieta ST apresentou valores mais altos para permeabilidade, o que é indicativo de menor integridade da mucosa (FIGURA 5). Comparando a xilanase isoladamente, não houve diferença significativa entre a permeabilidade intestinal de animais alimentados com dietas com e sem a adição da enzima (FIGURA 6). Na comparação entre os tratamentos não houve diferença estatística (FIGURA 7).

FIGURA 4. COMPARATIVO DA AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL A MARCADOR FLUORESCENTE DE ALTO PESO MOLECULAR PARA DIETA



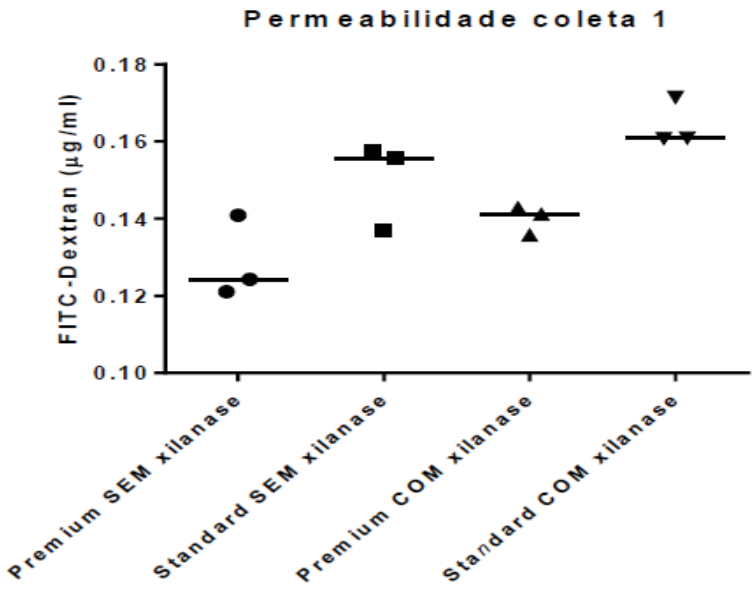
FONTE: O autor (2018).

FIGURA 5. COMPARATIVO DA AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL A MARCADOR FLUORESCENTE DE ALTO PESO MOLECULAR PARA ADIÇÃO DA ENZIMA XILANASE



FONTE: O autor (2018).

FIGURA 6. AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL A MARCADOR FLUORESCENTE DE ALTO PESO MOLECULAR ENTRE OS TRATAMENTOS AVALIADOS



Comparações entre tratamentos	P
SP vs ST	0,4233
SP vs SPX	>0,9999
ST vs STX	0,5229

Médias comparadas pelo teste de Dunn's

FONTE: O autor (2018).

3.2 ENSAIO DA PALATABILIDADE

Em relação à razão de ingestão (RI), não houve diferença significativa para as dietas com e sem a enzima xilanase (P>0,05, TABELA 9).

TABELA 9. NÚMERO DE VISITAS AO COMEDOURO DA DIETA A E RAZÃO DE INGESTÃO (RI± ERRO PADRÃO) PARA CÃES

Dieta A x B	N[a]	RI dieta A[b]
SPX vs SP	16	0,42 ± 0.04
STX vs ST	17	0,55 ± 0.05

FONTE: O autor (2018)
NOTA: [a]Número de visitas para o comedouro B é obtido por 32 – n. [b] RI (Razão de ingestão): g ingeridas da dieta A ou B/ g totais fornecidas (A+B). RI da dieta B é obtido por: 1 – RI da dieta A.

4 DISCUSSÃO

4.1 COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE APARENTE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

Os maiores CDA das dietas super premium podem ser explicadas pela seleção de ingredientes e a composição nutricional dos mesmos (RICHARDSON; MIKUS, 2004). Essa diferença foi vista por Carciofi et al. (2009) onde os autores avaliaram o CDA de dietas com diferentes níveis nutricionais, encontrando maior CDA em dietas super premium. O pior CDA da dieta standard pode estar relacionado ao uso de ingredientes mais fibrosos como é o caso do farelo de glúten 21 (200g/kg) e da casca de arroz (20g/kg). A casca de arroz pode conter níveis elevados de sílica e lignina, possui baixo valor nutricional e interfere negativamente para a digestibilidade. Porém a adição da enzima xilanase neste estudo não promoveu melhora significativa na digestibilidade da dieta de pior qualidade. Este fato ocorreu também em estudo feito por Sá (2011), para avaliar os efeitos da adição de diferentes misturas de enzimas, incluindo a xilanase, adicionadas a dieta para cães contendo 25% de farelo de trigo. O autor encontrou menor CDA de todos os nutrientes para as dietas contendo farelo de trigo comparado a dieta sem farelo de trigo, observando que mesmo com a adição das enzimas não se verificou diferença nos CDA. O mesmo ocorreu em estudo realizado por Risolia (2017), em que a

autora utilizou dietas com diferentes níveis de inclusão de grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) com a adição de enzimas xilanase e protease na alimentação de cães.

A falta da ação da enzima nos CDA das dietas super premium pode ser efeito da menor quantidade de xilano presente nesses tratamentos, uma vez que, é necessário considerar a quantidade de xilano presente nas amostras, sendo que dietas de melhor qualidade apresentam menos substrato, e assim, menor efeito enzimático (RISOLIA, 2017). O efeito enzimático em dietas contendo ingredientes de menor qualidade, pode ser visto em estudo realizado por Barekatain et al. (2013). Os autores testaram o efeito da associação das enzimas protease e xilanase em dieta contendo níveis de DDGS de sorgo para frangos. Foi observado no estudo interação entre o nível de inclusão de DDGS e a resposta da xilanase, e obtiveram maior resposta enzimática no maior nível de inclusão do ingrediente (30%), quando comparado ao menor nível (15%), demonstrando que em maior concentração de xilano, o efeito da xilanase é mais significativo.

A ação esperada pela adição da enzima xilanase à dieta é representada pelo melhor aproveitamento dos PNA na fermentação intestinal e redução possíveis efeitos antinutricionais destes nutrientes, resultando assim em melhor digestibilidade do alimento (CAMPESTRINI; SILVA; APPELT, 2005). No entanto, segundo Bedford e Schulze (1998) são diversos os fatores que podem influenciar na eficácia das enzimas exógenas, tais como a fonte enzimática, interação com os componentes da dieta, variação e processamento dos ingredientes e fatores intrínsecos ao animal. E esses fatores podem ser responsáveis pela falta da resposta enzimática nos CDA do presente estudo.

Com adição da enzima as concentrações dos AGCC isobutírico e isovalérico foram semelhantes, ou seja, a xilanase pode ter disponibilizado mais xilanos para fermentação e a dieta ST se igualou a dieta SP em produção de AGCC. Agora, quando na ausência da enzima houve menor solubilização da fibra e menor fermentação nas dietas ST, levando à diminuição na produção de AGCC. Esses dados corroboram com os encontrados por Risolia (2017), onde a autora encontrou maiores valores desses AGCC em dietas contendo 20% de DDGS e suplementadas com enzima xilanase.

A dieta de menor densidade nutricional não promoveu diferença no nitrogênio amoniacal, sendo mantido o parâmetro dentro do considerado adequado. A maior PF, assim como a menor porcentagem de MSf apresentada pelas dietas standard já era esperada e pode ser explicada pelo menor CDA dessa dieta: a indigestibilidade aumenta o bolo fecal e por consequência o volume das fezes (NRC, 2006). Essa dieta também apresenta maior teor total de fibra insolúvel, (9,3 g/100g) na ração standard contra (3,8 g/100g) na ração super premium. A fibra insolúvel retém água e é excretada praticamente intacta nas fezes, sendo essa característica responsável pelo aumento do peso e volume das fezes.

A menor porcentagem de MSf das dietas standard pode ser explicada pelo seu menor CDA. Segundo França et al. (2011) a qualidade fecal está diretamente relacionada com a qualidade da dieta oferecida aos animais, visto que fontes de proteínas e lipídeos interferem na digestibilidade, podendo alterar parâmetros fecais. Em contrapartida, o parâmetro escore fecal, que é diretamente influenciado pelo teor de umidade das fezes, permaneceu dentro do nível desejado para a espécie (4 na escala de 1 a 5) nas dietas avaliadas neste estudo. Esta característica também foi observada por Silva et al. (2016), onde os autores encontraram maior teor de MSf com o aumento da inclusão de DDGS sem modificar o escore fecal.

As fezes dos animais alimentados com a dieta SPX foram menos fétidas do que as dos animais alimentados com a ST. O efeito de maior odor fecal pode ter sido diminuído com a adição da xilanase, visto que só houve diferença entre os seguimentos das rações com a presença da enzima. Durante a fermentação microbiana são formadas várias substâncias voláteis putrefativas que são responsáveis pelo mau odor das fezes, entre elas as aminas biogênicas alifáticas (tiramina, cadaverina, putrescina e agmatina). Com exceção da agmatina, essas aminas estão presentes nas amostras fecais dos cães avaliados neste estudo. A cadaverina apresentou diferenças significativas, com maior incidência nas fezes de cães alimentados com STX, e não sendo encontrada nas fezes de animais que se alimentaram da dieta SP. A histamina não foi encontrada nas fezes de animais que consumiram a dieta super premium. Essa diferença na maior presença das aminas nos tratamentos pode

significar que o maior mau cheiro das fezes dos animais que consumiram a dieta standard não foi causado pela maior presença de aminas biogênicas nesses tratamentos.

Segundo Tortola (2011), grande parte dos estudos publicados com a adição de enzimas exógenas possuem divergências na composição da dieta utilizada, tanto na composição e quantidade de PNA, quanto aos tipos e quantidades de enzimas adicionadas, dificultando assim a comparação de resultados.

INTEGRIDADE INTESTINAL

A xilanase tem diversos efeitos sobre o intestino, podendo resultar em melhora na integridade das mucosas. Em outros estudos com frangos, a enzima foi capaz de aumentar o tamanho de vilo, indicando efeitos benéficos do tratamento nesse órgão (MATHLOUTHI et. al., 2002). O uso de ração standard elevou a passagem do marcador utilizado do intestino para o sangue. Porém, o uso da enzima não foi capaz de reverter a alteração intestinal oriunda da dieta de baixa qualidade. Em aves, foi verificado que, a xilanase não altera a taxa de proliferação de células da cripta intestinal, mas, em doses elevadas, o uso da xilanase é capaz de inibir essa atividade celular que é importante na manutenção da integridade intestinal (SILVA; SMITHARD, 2002; SOUZA et al., 2014).

4.2 ENSAIO DA PALATABILIDADE

São muitos fatores que podem influenciar nos resultados de palatabilidade, entre eles características do alimento, comportamento individual e social do próprio animal (FÉLIX; OLIVEIRA; MAIORKA, 2010). Neste estudo, não houve influência da adição de xilanase na palatabilidade das dietas. Este fato também foi visto por Silva et al. (2016) onde os autores testaram dietas com a adição de 18% de DDGS com e sem a enzima xilanase, não encontrando diferenças significativas.

5 CONCLUSÕES

Dietas super premium apresentam melhores CDA dos nutrientes. A adição de enzima nas concentrações utilizadas neste experimento, não ocasionou alterações nos CDA dos nutrientes e EM das dietas ou nas características fecais dos cães. Dietas com maior densidade nutricional promovem melhora na integridade intestinal. A adição da enzima não influencia na palatabilidade das dietas para cães.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. Official and tentative methods of analysis, 16.ed., Washington, DC, USA, 1995.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Official Publications 2003.Association of American Feed Control Officials, 2003.

BAREKATAIN, M.R.; ANTIPATIS, C.; CHOCT, M.; IJI, P.A. Interaction between protease and xylanase in broiler chicken diets containing sorghum distillers' dried grains with solubles. **Animal feed science and technology**, v. 182, p. 71-81, 2013.

BEDFORD, M.R.; SCHULZE, H.; 1998.Exogenous enzymes for pigs and poultry, **Nutrition Research Reviews**, v.11, p.91-114.

BRITO, C.B.M.; FÉLIX, A.P.; DE JESUS, R.M.; DE FRANÇA, M.I.; DE OLIVEIRA, S.G.; KRABBE, E.L.; MAIORKA, A.Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. **Animal feed science and technology**, v. 159, p. 150-155, 2010.

CAMPESTRINI E., SILVA V.T.M. &APPELT M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, 2005.

CAPORASO, J. G., J. KUCZYNSKI, J. STOMBAUGH, K. BITTINGER, F. D. BUSHMAN, E. K. COSTELLO, N. FIERER, A. G. PEÑA, J. K. GOODRICH, AND J. I. GORDON. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Natural Methods** 7: 335–336. 2010.

CAPORASO, J. G., C. L. LAUBER, W. A. WALTERS, D. BERG-LYONS, C. A. LOZUPONE, P. J. TURNBAUGH, N. FIERER, AND R. KNIGHT. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Poultry Science** 108: 4516–4522. 2011.

CAPPELLI, S.; MANICA, E.; HASHIMOTO, J.H. Importância dos aditivos na alimentação de cães e gatos: Revisão. **PUBVET – Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia,** v.10, n.3, p.212-223, Mar, 2016.

CARCIOFI, A. C.; TESHIMA, E.; BAZOLI, R. S.; BRUNETTO, M. A.; VASCONCELLOS, R. S.; PEREIRA, G. T.; OLIVEIRA, L. D. Qualidade e digestibilidade de alimentos comerciais de diferentes segmentos de mercado para cães adultos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, p.489-500, 2009.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing fator. **Journal of the Science of food and agriculture,** v. 95, p. 878-896, 2015.

ENGLYST, H.; WIGGINS, H.S.; CUMMINGS, J.H. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst**, v. 107, p. 307-318, 1982.

FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A.; **Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos**, Em: Vieira S.L.;1º Ed.; Consumo e Preferência alimentar dos animais domésticos. PhytobioticsBrasil, Londrina, p. 162-199, 2010.

FRANÇA, J.; SAAD, B. O. M. F.; SAAD, P. E. C.; SILVA, C. R.; REIS, S. J. Avaliação de ingredientes convencionais e alternativos em ração de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2011.

GAVAZZA, A., ROSSI, G.; LUBAS, G.; CERQUETELLA, M.; MINAMOTO, Y.; SUCHODOLSKI, J. S. Faecal microbiota in dogs with multicentric lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. 16: E169–E175. 2018.

NRC - National Research Council. 2006. In: Nutrient Requirements of Dogs. National Academy Press. Washington, p.428.

RICHARDSON, R.; MIKUS, J.H. Ingredient processing innovations. In: PETFOOD FÓRUM, 2004, Chicago. **Proceedings** Chicago, 2004. p.19-31.

RISOLIA, L.W. Efeito da adição das enzimas xilanase e protease em dietas contendo grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) para cães. 76p. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, 2017.

SÁ, F. C. Efeito da suplementação de enzimas sobre o processamento e digestibilidade de dietas extrusadas para cães contendo farelo de trigo. 58p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, 2011.

SILVA, J.R.; SABCHUK, T.T.; LIMA, D.C.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, S.G.;Use of distillers dried grains with solubles (DDGS), with and without xilanase. **Animal Feed Science and Technology**, v.220, p.136-142, 2016.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002, p. 235.

SILVA, S. S. P.;SMITHARD R. R.Effect of enzyme supplementation of a rye-based diet on xylanase activity in the small intestine of broilers, on intestinal crypt cell proliferation and on nutrient digestibility and growth performance of the birds. Br. **Poultry Science**. 43: 274–282. 2002.

SOUZA, K. M. R., D. E. DE FARIA, R. B. ARAÚJO, M. I. SAKAMOTO, T. T. DOS SANTOS, C. DE G. KIKUCHI, D. T. NAKASHIMA, AND V. C. CAETANO. Performance and morphometry of the intestinal mucosa of laying hens fed diets containing xylanase. **Revista Brasileira Ciência Avícola** 16: 241–248. 2014.

TORTOLA, L. Enzimas exógenas em dietas extrusadas para cães contendo farelo de soja. 72p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, 2011.

VALE, S.R.; GLÓRIA, M.B.A. Determination of biogenic amines in cheese. **Journal of the Association of Official and Analytical Chemists International**, v.80, p.1006-1012, 1997.

VICUÑA, E. A., KUTTAPPAN, V. A., TELLEZ, G., HERNANDOZ-VELASCO, X., SEEBER-GALARZA, R., LATORRE, J. D., FAULKNER, O. B., WOLFENDEN, A. D., HARGIS, B. M., BIELKE, L. R. Dose titration of FITC-D for optimal measurement of enteric inflammation in broiler chicks, 2012.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGEL, R.; SORBARA, J. O. B. Why is it important to understand substrates if we are to optimize exogenous enzyme efficacy? **Poultry Science**, v. 93, p. 2375–2379, 2014. http://dx.doi.org/ 10.3382/ps.2013-03869.

ANGEL, R.; KIM, S. W.; LI, W.;JIMENEZ-MORENO, E. **Velocidad de paso y pH intestinal en aves: implicaciones para la digestión y el uso de enzimas**. XXIXCURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA, Madrid, 6 e 7 de novembro de 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. Disponível em <http://abinpet.org.br/site/> - Acesso em 03/04/2018

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. Official and tentative methods of analysis, 16.ed., Washington, DC, USA, 1995.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Official Publications 2003.Association of American Feed Control Officials, 2003.

BAREKATAIN, M.R.; ANTIPATIS, C.; CHOCT, M.; IJI, P.A. Interaction between protease and xylanase in broiler chicken diets containing sorghum distillers' dried grains with solubles. **Animal feed science and technology**, v. 182, p. 71-81, 2013.

BARLETTA, A. Current market and expected developments. In: BEDFORD M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition.** 2° ed, Londres: CAB international, p. 1-12, 2011.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In: **SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL**. Campinas. Anais. Campinas, SP:CBNA, 2001. p.167-190, 2001.

BEDFORD, M.R.; SCHULZE, H.; 1998. Exogenous enzymes for pigs and poultry, **Nutrition Research Reviews**, v.11, p.91-114.

BRITO, M.S.; OLIVEIRA, C.F.S.; SILVA, T.R.G., LIMA, R.B.; MORAIS, S.N.; SILVA, J.H.V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – Revisão.**Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, p.111-117, 2008

BRITO, C.B.M.; FÉLIX, A.P.; DE JESUS, R.M.; DE FRANÇA, M.I.; DE OLIVEIRA, S.G.; KRABBE, E.L.; MAIORKA, A.Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. **Animal feed science and technology**, v. 159, p. 150-155, 2010.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T. M.; APPELT, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CAPORASO, J. G., J. KUCZYNSKI, J. STOMBAUGH, K. BITTINGER, F. D. BUSHMAN, E. K. COSTELLO, N. FIERER, A. G. PEÑA, J. K. GOODRICH, AND J. I. GORDON. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Natural Methods** 7: 335–336. 2010.

CAPORASO, J. G., C. L. LAUBER, W. A. WALTERS, D. BERG-LYONS, C. A. LOZUPONE, P. J. TURNBAUGH, N. FIERER, AND R. KNIGHT. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Poultry Science** 108: 4516–4522. 2011.

CAPPELLI, S.; MANICA, E.; HASHIMOTO, J.H. Importância dos aditivos na alimentação de cães e gatos: Revisão. **PUBVET – Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia,** v.10, n.3, p.212-223, Mar, 2016.

CARCIOFI, A.C. Classificação e avaliação de alimentos comerciais para cães e gatos. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DE CÃES E GATOS, 3, 2007, Lavras. **Anais**...Lavras: UFLA, 2007.296p

CARCIOFI, A. C.; TESHIMA, E.; BAZOLI, R. S.; BRUNETTO, M. A.; VASCONCELLOS, R. S.; PEREIRA, G. T.; OLIVEIRA, L. D. Qualidade e digestibilidade de alimentos comerciais de diferentes segmentos de mercado para cães adultos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, p.489-500, 2009.

CARCIOFI, A.C.; JEREMIAS, J.T. Progresso científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.35-41, 2010

CASE, L.P., CAREY, D.P., HIRAKAWA, D.A., DARISTOTLE, L., 2000. **Canine and Feline Nutrition:** A Resource for Companion Animal Professionals, 2nd ed. Mosby, St. Louis.

CASE, L.P; CAREY, D.P; HIRAKAWA, D.A. Nutrição canina e felina – Manual para profissionais. 2ª edição. Lisboa: Harcourt Brace, 1998. 424 p

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Enzimas. In: Bioquimica Ilustrada, 2 ed. São Paulo: Artesmédicas, 1989. 446p. p53-66.

CONTE, A.J., et al. Efeito da Fitase e Xilanase sobre o Desempenho e as características Ósseas de Frangos de Corte Alimentados com Dietas Contendo Farelo de Arroz. In: **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.32, p.1147-1156, 2003.

COUGLHAN, M.P. and HAZLEWOOD, G.P. B-1-4 Dxylan-degrading enzyme systems: biochemistry molecular biology and application. **Biotechnol appl Biochem** 17, 259-289, 1993.

COUSINS, Bart. Enzimas na nutrição de aves. In: I Simpósio Internacional ACAV Embrapa sobre Nutrição de Aves, 1999, Concórdia – SC. **Anais**...Concórdia: 1999. 15p.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G.Xylanases, xylanase families and extremophilicxylanases. **FEMS microbiologyreviews**, v.29, n.1, p.3-23, 2005.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Phytic acid and phytase: implications for protein utilization by poultry. **Poultry Science***.,* v.85, p.878-885, 2006.

DASSI, S.C. Avaliação bioquímica e zootécnica de proteases para frango de corte. 93 p. Tese (Mestrado em fisiologia) – Universidade Federal do Paraná, 2015.

DEKKER, R. F. H.; RICHARDS, G.N. Hemicellulases: their occurrence purification properties and mode of action **carbohydrate chemistry and biochemistry**, 32, 277, 1976.

DERSJANT-LI, Y.; AWATI, A.; SCHULZE, H.; PARTRIDGE, G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing fator. **Journal of the Science of food and agriculture,** v. 95, p. 878-896, 2015.

DHARNE, H. V. Maintaining gut integrity. **Avitech Technical Bulletin**, Jan, 2007.

DODD, D.; CANN, I. K. O. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **GCB Bioenergy**, v.1, p. 2–17, 2009.

ENGLYST, H.; WIGGINS, H.S.; CUMMINGS, J.H. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst**, v. 107, p. 307-318, 1982.

FARINAS, C.S. A parede celular vegetal e as enzimas envolvidas na sua degradação. Documentos, ISSN: 1518-7179; 54). São Carlos: 13 p. – Embrapa Instrumentação, 2011.

FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A.; **Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos**, Em: Vieira S.L.;1º Ed.; Consumo e Preferência alimentar dos animais domésticos. PhytobioticsBrasil, Londrina, p. 162-199, 2010.

FENGEL, D. & WEGENER, G. Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Berlin: Walter de Gruyter, 1989.

FIELD, C.J.; MCBURNEY, M.L.; MASSIMINO, S.; HAYEK, M.G.; SUNVOLD, G.D. The fermentable fiber content of the diet alters the function and composition of canine gut associated lymphoid tissue. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.72, p. 325-341, 1999.

FISCHER, G.; MAIER, J.C.; RUTZ, F.; BERMUDEZ, V.L. Desempenho de Frangos de Corte Alimentados com Dietas à Base de Milho e Farelo de Soja, com ou sem Adição de Enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.402-410, 2002.

FLEMMING, J.S. Utilização de leveduras, probióticos e mannanoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frango de corte. 2005. 109f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

FRANÇA, J. Alimentos convencionais versus naturais para cães adultos. 2009. 93fp. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FRANÇA, J.; SAAD, B. O. M. F.; SAAD, P. E. C.; SILVA, C. R.; REIS, S. J. Avaliação de ingredientes convencionais e alternativos em ração de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2011.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃ, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5°, 2004, Balneário Camboriú. **Anais** p.06-28.

GAVAZZA, A., ROSSI, G.; LUBAS, G.; CERQUETELLA, M.; MINAMOTO, Y.; SUCHODOLSKI, J. S. Faecal microbiota in dogs with multicentric lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. 16: E169–E175. 2018.

GUENTER, W. Pratical experience with the use of enzymes. Acesso em 10 de abril de 2018. Online. Disponível na Internet http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html.

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. Dissertação de mestrado. Jaboticabal, SP – Brasil, 2009.

HUBER, T.L.; WILSON, R.C.; McGARITY, S.A. Variations in digestibility of dry dog foods with identical label guaranteed analysis. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.22, n.5, p.571-575, 1986.

HUSSEIN, H.S.; FLICINGER, E.A.; G.C. Jr. Petfood Applications of Inulin and Oligofructose. **Journal of Nutrition**, v.129, p. 1454-1456, 1999.

JEURISSEN, S. H. M.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J. D.; MROZ, Z.; REBEL, J. M. J.; TER HUURNE, A. A. H. M. Parameters and Techniques to Determine Intestinal Health of Poultry as Constituted by Immunity, Integrity, and Functionality. **Current Issues in Intestinal Microbiology** 3: 1–14. 2002.

JIA W, SLOMINSKI BA, BRUCE HL, BLANK G, CROW G, JONES O. Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health on broiler chickens uring subclinical *Clostridium pefringens* challenge. **Poultry Science**. 2009; 88:132-40.

KULKARNI, A.; SHENDYE, M. Molecular and biotechnological aspects of xylanases FEMS **Microbiology Reviews**, 23, 411, 1999.

LOWE, J. A. Effective use of new and novel concepts in pet food design. In: Proc. Alltech´s Fifth Annual Symposium. **Biotechnology in the Feed Industry. Alltech´s Technical Publications**, Nicholasville, KY. P209- 221, 1989.

MAIA, G.V.C; SAAD, F.M.O.B; ROQUE, N.C; FRANÇA, J; LIMA, L.M.S; AQUINO, A.A; Zeólitas e Yucca schidigera em rações para cães: palatabilidade, digestibilidade e redução de odores fecais. **Revista Brasileira de Zootecnia**v.39, n.11, p.2442-2446, 2010

MALAFAIA, M. I. F. R.; PEDROZO, E. A.; SANTOS, J. A. P.; RIBEIRO, M. D.; MALAFAIA, P.; LANA, A. M. Q. Consumo de nutrientes, digestibilidade in vivo e in vitro de dietas para cães contendo polpa de citrus e folha de alfafa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 121-126, 2002.

MARCHINI, C.F.P; OLIVEIRA, E.M; CASTEJON, F.V; NETO, L.D.S; MARTINS, P; CARVALHO, F.B; CAFÉ, M.B; STRINGHINI, J.H. Aditivos alimentares para produção de frangos: aplicações recentes e tendências. In: **XVI SIMPÓSIO SUL DE AVICULTURA,** Chapecó, 2015.

MATHLOUTHI N; MALLET S. S.; SAULINIER L; Effects of xylanase and beta-glucose addition on performance, nutriente digestibility and physic-chemical conditions in the small intestinecontents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. **Animal Research** 51:395-406. 2002.

MONRO, J. A. Evidence- based food choice: the need for new mesuares of food effects. **Trends Food science and technology.**, Ontário, v. 11, p. 136-144, 2000.

MONTASSIER, H.J. Importância da imunidade em pintos na primeira semana de vida. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DE PINTOS DE CORTE. Conferência Apinco. Campinas. Anais... Campinas: FACTA, p.99-120, 1998

NRC - National Research Council. 2006. In: **Nutrient Requirements of Dogs**. National Academy Press. Washington, p.428.

OLEMPSKA-BEER, Z. S.; MERKER, R. I.; DITTO, M. D.; DINOVI, M. J. Food-processing enzymes from recombinant microorganisms - a review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** v.45, p.144–158, 2006.

PEDERSEN, M.B.; DALSGAARD, S.; ARENT, S.; LORENTSEN, R.; KNUDSEN, K.E.B.; YU, S.; LAERKE, H.N. Xylanase and protease increase solubilization of non-starch polysaccharides and nutrient release of corn-and wheat distillers dried grains with solubles. **Biochemical Engineering Journal**, v.98, p.99-106, 2015.

RAVINDRAN V., CABAHUG S., RAVINDRAN G., BRYDEN W.L. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuffs for broilers. **Poultry Science**., 78, 699–706, 1999.

RAVINDRAN V. Feed enzymes: the science, practice and metabolic realities. J **The Journal of Applied Poultry Research** 2013; 22:628-36.

REVISTA V&Z EM MINAS. N° 126. [2015]. Disponível em: < http://www.crmvmg.org.br/RevistaVZ/Revista26.pdf>. Acesso em: 10 maio 2018.

RICHARDSON, R.; MIKUS, J.H. Ingredient processing innovations. In: PETFOOD FÓRUM, 2004, Chicago. **Proceedings** Chicago, 2004. p.19-31.

RISOLIA, L.W. Efeito da adição das enzimas xilanase e protease em dietas contendo grãos secos de destilaria contendo solúveis (DDGS) para cães. 76p. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, 2017.

ROCHA, M. A. Biotecnologia na nutrição de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia.** Viçosa, vol. 37, 2008.

ROEDIGER, W.E.W. The effect of bacterial metabolism on the nutrition and function of the colon mucosa: a symbiosis between man and bacteria. In: H. Goebbel; H. Kaspar; **Colon and nutrition.** 1. Ed. Lancaster: M.T.P. Press, 1982, p.11-26.

SÁ, F. C. Efeito da suplementação de enzimas sobre o processamento e digestibilidade de dietas extrusadas para cães contendo farelo de trigo. 58p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, 2011.

SÁ-FORTES, C.M.L. Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SA PEREIRA, P., PAVEIA H. COSTA-FERREIRA, M., AIRES-BARROS, M. R. A new look ate xilanases. **Molecular Biotechnology**, v. 24, p. 257-281. 2003.

SARTORI, J. R. Uso de enzimas em rações. **Revista alimentação animal**, Rio de Janeiro, n.1, p. 11-13, 1999.

SCHEPPACH, W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function.**Gut**, v.35, p.35-38, 1994.

SILVA, E.N. & ANDREATTI FILHO, R.L. Probióticos e Prebióticos na Avicultura. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, Santa Maria, RS. Anais… Santa Maria, p.45-54, 2000.

SILVA, J. R., DOMINGUES, L. P., SABCHUK, T. T., MALINOSKI, F., FELIX, A. P., OLIVEIRA, S. G. Efeito da aplicação da enzima xilanase em dietas contendo resíduo seco de destilaria contendo solúveis (ddgs) na alimentação de cães. **XV Congresso CBNA PET**, Expo D. Pedro - Campinas, SP. 2016.

SILVA, J.R. Uso de resíduo seco de destilaria contendo solúveis (DDGS), com e sem xilanase, na alimentação de cães**.** 76p. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, 2015.

SILVA, J.R.; SABCHUK, T.T.; LIMA, D.C.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, S.G.;Use of distillers dried grains with solubles (DDGS), with and without xilanase. **Animal Feed Science and Technology**, v.220, p.136-142, 2016.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002, p. 235.

SILVA, S. S. P.;SMITHARD R. R.Effect of enzyme supplementation of a rye-based diet on xylanase activity in the small intestine of broilers, on intestinal crypt cell proliferation and on nutrient digestibility and growth performance of the birds. Br. **Poultry Science**. 43: 274–282. 2002.

SILVA, LP. & NORNBERG, J.L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. **Ciência Rural**, v.33, p.983-990, 2003.

SOUTHGATE D. A. T. The role of dietary fibre in the diet**. The Jounal of the Royal Society for the Promotion of Health**, London, v. 110, n. 5, p. 174-178, 1990.

SOUZA, K. M. R., D. E. DE FARIA, R. B. ARAÚJO, M. I. SAKAMOTO, T. T. DOS SANTOS, C. DE G. KIKUCHI, D. T. NAKASHIMA, AND V. C. CAETANO. Performance and morphometry of the intestinal mucosa of laying hens fed diets containing xylanase. **Revista Brasileira Ciência Avícola** 16: 241–248. 2014.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.

TESHIMA, E. Aspectos terapêuticos de probióticos, prebióticos e simbióticos. In: FERREIRA, C.L.L.F. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção.** Viçosa, 2003.p.35-60, 2003.

TOPPING, D.L.; CLIFTON, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological Reviews**, v.81, p.1031-1064, 2001.

TORTOLA, L. Enzimas exógenas em dietas extrusadas para cães contendo farelo de soja. 72p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, 2011.

TWOMEY, L.N.; PLUSKE, J.R.; ROWE, J.B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; McCONNELL, M.F.; PETHICK, D.W. The effects of increasing levels of soluble non-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on fecal quality and digestibility. **Animal Feed Science and Technology.** v.108, p.71-82, 2003.

VICUÑA, E. A., KUTTAPPAN, V. A., TELLEZ, G., HERNANDOZ-VELASCO, X., SEEBER-GALARZA, R., LATORRE, J. D., FAULKNER, O. B., WOLFENDEN, A. D., HARGIS, B. M., BIELKE, L. R. Dose titration of FITC-D for optimal measurement of enteric inflammation in broiler chicks, 2012.

VIEIRA, D.S. Estrutura, termoestabilidade e atividade de xilanases: um estudo via simulação molecular. 148p. Tese (Doutorado em ciências: química) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, 2007.

YAMKA, R. M.; HARMON, D. L.; SCHOENHERR, W. D.; et al. In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, p. 88–94, 2006.

YANG Y, IJI PA, KOCHER A, MIKKELSEN LL, CHOCT M. Effect of xylanase on growth and gut development of broiler chickens given a wheatbased diet. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,** 2008.

ANEXO 1 – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 025/2018, referente ao projeto "**Efeito da adição de xilanase em dietas com diferetes densidades nutricionais em cães**", sob a responsabilidade de **Simone Gisele de Oliveira** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 1 de invasividade, em reunião de 04/05/2018.

Vigência do projeto	Junho/2018 até Agosto/2018
Espécie/Linhagem	*Canis lupus familiaris* (cão)
Número de animais	16
Peso/Idade	10 kg/1,5 – 1,6 anos
Sexo	Female and male
Origem	Laboratório de Estudos em Nutrição Canina – LENUCAN – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, Paraná, Brasil

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 025/2018, regarding the project "**Effect of addition of xylanase on different diets nutritional densities in dogs**" under **Simone Gisele de Oliveira** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 1 of invasiveness, in session of 04/05/2018.

Duration of the project	June/2018 until August/2018
Specie/Line	*Canis lupus familiaris* (dog)
Number of animals	16
Wheight/Age	10 kg/1,5 – 1,6 year
Sex	Female and male
Origin	Canine Nutrition Studies Laboratory – LENUCAN – Sector of Agricultural Sciences, Federal University of Paraná, in Curitiba, Paraná, Brazil

Curitiba, 4 de maio de 2018.

Chayane da Rocha
Coordenadora CEUA-SCA

Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias - UFPR