

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**INFLUÊNCIA DOS TANINOS NA DIGESTIBILIDADE E GLICEMIA PÓS-
PRANDIAL DE CÃES ADULTOS**

LIEGE TEIXEIRA
Médica Veterinária / UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Zootecnia
Área de Concentração Produção Animal
Nutrição de Cães e Gatos

Porto Alegre (RS), Brasil
Junho de 2015

CIP - Catalogação na Publicação

Teixeira, Liege
INFLUÊNCIA DOS TANINOS NA DIGESTIBILIDADE E
GLICEMIA PÓS-PRANDIAL DE CÃES ADULTOS / Liege
Teixeira. -- 2015.
76 f.

Orientador: Luciano Trevizan.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2015.

1. Nutrição de cães. 2. Resposta glicêmica de
cães. 3. Metabolismo dos compostos fenólicos. 4.
Digestibilidade. I. Trevizan, Luciano, orient. II.
Título.

LIEGE TEIXEIRA
Médica Veterinária

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRA EM ZOOTECNIA

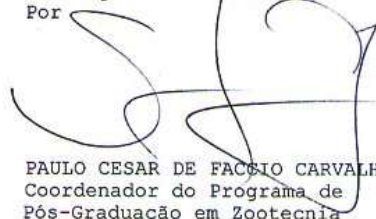
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 30.06.2015
Pela Banca Examinadora



LUCIANO TREVIZAN
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador

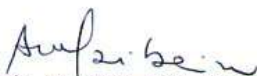
Homologado em: 05.08.2015
Por



PAULO CESAR DE FACCIO CARVALHO
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



ALEXANDRE DE MELLO KESSLER
PPG ZOOTECNIA-UFRGS



ANDRÉA MACHADO LEAL RIBEIRO
PPG ZOOTECNIA-UFRGS



RICARDO SOUZA VASCONCELLOS
UEM - Maringá/PR



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

“Eu canto o cão enlameado, o pobre cão, o cão sem casa, o mais vagabundo, o cão saltimbanco... Canto os cães calamitosos, aqueles que erram solitários, nas ravinas sinuosas das imensas cidades, ou os que disseram ao homem abandonado, com olhos faiscantes e espirituais: “Leve-me com você, e de nossas duas misérias faremos talvez uma espécie de felicidade!”

Charles-Pierre Baudelaire

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Geolar pelo apoio e compreensão durante o mestrado.

Ao Lucky, Melissa e Suzy, meus cães, pelo carinho e alegria com que sempre me recebem ao voltar pra casa.

Aos adoráveis cães Beagles, companheiros de jornada, Alemão, Bionda, Bituca, Chica, Coisinha, Evita, Lili, Queixinho, Sam e Savannah. Sempre carinhos, alegres e cooperativos.

Ao professor Luciano Trevizan pela disponibilidade em orientar e pela participação ativa durante o experimento.

Aos professores, colegas pós-graduandos, bolsistas, estagiários e funcionários do Lezo e LNA que auxiliaram na execução do projeto e nas análises laboratoriais.

À equipe do núcleo de assessoria estatística (NAE-UFRGS) pela ajuda nas análises dos dados deste trabalho.

À NutriBaur pela confecção das dietas extrusadas e à Silvateam pelo fornecimento do extrato de tanino hidrolisável.

.

INFLUÊNCIA DOS TANINOS NA DIGESTIBILIDADE E GLICEMIA PÓS-PRANDIAL DE CÃES ADULTOS¹

Autora: Liege Teixeira

Orientador: Dr. Luciano Trevizan

RESUMO

O sorgo possui semelhança nutricional ao arroz, sendo um bom substitutivo na alimentação de cães, porém apresenta taninos condensados em sua composição. Taninos são compostos fenólicos com alto peso molecular e habilidade para formar complexos com proteínas e carboidratos, reduzindo o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, podendo influenciar os níveis de glicose sanguínea pós-prandial. Os taninos são divididos em condensados (TC) e hidrolisáveis (TH). Esse estudo buscou verificar o efeito da substituição parcial do arroz por sorgo contendo TC e a inclusão de um extrato comercial de TH em dietas extrusadas. Para isso, foram conduzidos dois ensaios experimentais utilizados 8 cães adultos, de ambos os sexos, hípidos, divididos em quatro tratamentos e três períodos experimentais. O primeiro ensaio avaliou a digestibilidade das dietas e as características fecais (MS, escore, pH, produção de fezes) e urinários (MS, EB, PB, pH). Os tratamentos foram compostos por quatro dietas isonutritivas, como segue: dieta controle a base de arroz; dieta contendo 26% de arroz e 25% sorgo; dieta a base de arroz e adição de 0,10% de TH e dieta contendo 26% de arroz e 25% sorgo e adição de 0,10% de TH. O segundo ensaio avaliou a glicemia pós-prandial de cães utilizando as mesmas dietas acima. Os dados de ambos ensaios foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os resultados do primeiro experimento indicaram que o consumo da dieta contendo 26% de arroz e 25% sorgo foi menor que as demais dietas ($P < 0,05$). Houve influência negativa do acréscimo de sorgo na digestibilidade da MS, MO, PB, FB, ED e na EM ($P < 0,05$), sendo os menores valores correspondentes à dieta com 26% de arroz e 25% sorgo e 0,10% de TH. Porém, o TH incluído na dieta a base de arroz não apresentou esse efeito. Os cães que consumiram as dietas contendo sorgo apresentaram maior produção de fezes sem alteração do escore fecal ($P > 0,05$). A maior MS fecal resultou do consumo da dieta arroz e TH, e o TH parece reduzir o conteúdo de água das fezes. O sorgo e o TH não influenciaram as características urinárias analisadas ($P > 0,05$). Observou-se o escurecimento das dietas, da urina e das fezes dos cães. No segundo experimento, o sorgo e a inclusão de TH não afetaram a resposta glicêmica pós-prandial ($P > 0,05$) medida a partir da área abaixo da curva. A utilização do sorgo como fonte de carboidrato em dietas para cães é uma opção viável, especialmente em dietas de baixa EM. A utilização de TH ainda necessita maiores investigações.

¹ Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (76p.) Junho de 2015.

INFLUENCE OF TANNINS ON THE DIGESTIBILITY AND POSTPRANDIAL GLYCEMIA IN ADULTS DOGS²

Author: Liege Teixeira

Adviser: Dr. Luciano Trevizan

ABSTRACT

Sorghum has nutritional similarity with rice and could be used as an ingredient in diets for dogs as well. However, sorghum presents condensed tannins in its composition. Tannins are phenolic plant secondary compounds of high molecular weights having the ability to complex strongly with carbohydrates and proteins, reducing food intake, nutrients digestibility, and may lower the blood glucose levels. They are usually divided into hydrolyzable (HT) and condensed tannins (CT). The aim of this study was to evaluate the partial replacement of rice for sorghum with CT and the inclusion of commercial extract of HT in dry extruded diet for dogs. Two experiments were conducted with eight dogs, in four treatment and three periods. The first trial evaluated diets total tract apparent digestibility, fecal and urinary characteristics. The treatments were four isonutritive diets: control diet with rice; diet with 26% rice and 25% sorghum; diet with rice plus 0,10% HT; diet with 26% rice and 25% sorghum plus 0,10% HT. The second experiment evaluated the dog postprandial blood glucose response. Data was analyzed using ANOVA procedure by SAS and means were compared using Tukey test ($P < 0,05$). The experiment 1 indicated that the consumption of the diet with 26% rice and 25% sorghum was lower than the other diets ($P < 0,05$). There was a negative effect of sorghum on the digestibility of DM, OM, CP, CF, DE and ME ($P < 0,05$), with lowest values corresponding to the diet with 26% rice and 25% sorghum plus 0,10% HT. However, HT did not affect the digestibility. The sorghum diets presented greater feces production without alteration on the fecal score ($P > 0,05$), but fecal DM was higher for dogs fed diet rice plus 0,10% HT and HT seems to decrease water content in the feces. Sorghum and HT did not affect urinary characteristics ($P > 0,05$) but darkening on the diets, urine and feces were observed. In experiment 2, sorghum an HT did not affect the postprandial blood glucose response measured by the area under the curve ($P > 0,05$). The sorghum may be considered a viable source of carbohydrates especially in diets with low ME. The use of HT in dog nutrition needs further investigations.

² Master of Science dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (76p.) June, 2015

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Taninos.....	14
2.2.1 Quantificação dos taninos	16
2.2.2 Efeitos nutricionais e sistêmicos dos taninos.....	17
2.3 Sorgo na alimentação de cães.....	20
2.4 Glicemia em cães.....	22
3 HIPÓTESES E OBJETIVOS	25
CAPÍTULO II	
Influência na digestibilidade e glicemia pós-prandial da inclusão de sorgo como fonte de taninos condensados e da adição de taninos hidrolisáveis à dieta de cães adultos.....	27
Resumo	27
Introdução	28
Material e Métodos	30
Resultados e Discussão.....	36
Literatura citada.....	44
CAPÍTULO III	
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
6 APÊNDICES	66
7 VITA.....	76

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1.	Principais métodos utilizados para quantificação e determinação de taninos e polifenóis.....	16
Tabela 2.	Composição nutricional média dos grãos de sorgo em porcentagem (na matéria natural).....	21

Capítulo II

Tabela 1.	Composição nutricional do grão de sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> L. Moench.) utilizado nas dietas experimentais.....	49
Tabela 2.	Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais para cães.....	50
Tabela 3.	Consumo diário médio, coeficiente de digestibilidade aparente médio e energia metabolizável média dos cães alimentados com dietas experimentais	51
Tabela 4.	Características fecais e urinárias dos cães alimentados com as dietas experimentais.....	52
Tabela 5.	Áreas médias abaixo da curva (AAC) e características glicêmicas pós-prandiais médias dos cães alimentados com as dietas experimentais.....	53

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

Figura 1.	Curvas glicêmicas pós-prandiais médias (mg/dL) dos cães alimentados com as dietas experimentais.....	54
Figura 2	Incremento médio de glicose plasmática (mg/dL/min) de cada dieta experimental.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAC	Área abaixo da curva
AAFCO	Association of American Feed Control Officials
ALT	Alanina amino-transferase
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CDA	Coeficiente de digestibilidade aparente
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
dL	decilitro
EB	Energia bruta
ED	Energia digestível
EEHA	Extrato etéreo hidrólise ácida
EM	Energia metabolizável
FB	Fibra bruta
FDT	Fibra dietética total
g	Gramas
GLUT-4	Glucose transporter
HCl	Ácido clorídrico
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Kcal/kg	Quilocaloria por quilograma
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitros
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
NRC	National Research Council
PB	Proteína bruta
PRP	Proteínas ricas em prolina (Proline-rich protein)
rpm	Rotações por minuto
TC	Taninos condensados
TH	Taninos hidrolisáveis

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O sorgo possui semelhança nutricional ao milho e ao arroz, sendo um bom substitutivo na alimentação de cães. Além disso, o sorgo apresenta alta produtividade por hectare, tolerância ao estresse hídrico, resistência a pragas e menor custo de produção. O sorgo é comumente utilizado na alimentação de ruminantes, aves e suínos, sendo utilizado de forma insipiente na alimentação de cães. O aspecto mais conhecido do consumo do sorgo é sua reduzida palatabilidade e digestibilidade quando comparado com o milho e o arroz. A presença de compostos fenólicos, principalmente taninos, em seus grãos pode estar associada a essa característica. Os taninos formam complexos estáveis com proteínas e amido reduzindo o aproveitamento dos nutrientes. Possivelmente esta seja uma das causas da redução da digestibilidade do sorgo e do impacto negativo na taxa de crescimento e de ganho de peso dos animais. A redução da digestibilidade quando se têm dietas ricas em taninos, pode também ser explicada com base na inibição das enzimas digestivas ou também pela sua reação com mucoproteínas intestinais levando à redução da passagem de nutrientes através da parede intestinal.

Ainda não há um consenso quanto à classificação dos taninos, porém a mais usual é a divisão em dois grupos principais: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Há indícios que os efeitos dos taninos pertencentes aos diferentes grupos sejam específicos. Os taninos condensados formam complexos mais fortes com proteínas e possuem maior efeito inibitório sobre as enzimas digestivas que os taninos hidrolisáveis. Os taninos hidrolisáveis, por outro lado, apresentam ação tóxica quando em altas concentrações. Ambos taninos possuem apresentações comerciais, mas os taninos hidrolisáveis têm sido utilizados como aditivos na alimentação de suínos e aves.

Em suínos os taninos hidrolisáveis comerciais adicionados às dietas, melhoram o escore fecal e reduzem o odor das fezes, enquanto em aves há melhora na consistência das excretas. As evidências apontam para a interferência do tanino sobre a população microbiana no trato gastrointestinal. Além disso, os taninos possuem atividade antioxidante, reduzem os níveis de colesterol e estão associados à redução da obesidade em humanos.

Há evidências que o sorgo, que contém taninos condensados, altere as concentrações de glicose sanguínea produzindo menores picos glicêmicos pós-prandiais em cães, quando comparado com arroz. Os taninos presentes no grão do sorgo inibem a atividade enzimática, tornando a digestão do amido mais lenta. O amido é o principal nutriente que influencia a glicemia pós-prandial em cães. Essa característica sugere que o uso do sorgo possa ser uma alternativa para a confecção de dietas terapêuticas que produzam baixo índice glicêmico pós-prandial.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da inclusão de taninos condensados a partir do sorgo e dos taninos hidrolisáveis sobre a digestibilidade dos nutrientes e da energia em dietas para cães adultos e a influência sobre os parâmetros fecais (MS, escore, pH, produção de fezes), urinários (MS, EB, PB, pH), e seus efeitos na curva glicêmica pós-prandial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Taninos

Os taninos são compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas e definidos como polímeros solúveis em água e solventes polares, com peso molecular entre 500 e 3000 dáltons, que formam ligações com proteínas. Combinam-se à celulose e pectina para formar complexos insolúveis e precipitam alcalóides e gelatinas, interagem com outras macromoléculas como os polissacarídeos e enzimas envolvidas na digestão das proteínas e carboidratos (Jasman, 1993; Battestin et al., 2004). Entretanto, alguns taninos não são solúveis em água, alguns possuem peso molecular variando de 3000 a 30000 dáltons e podem ser encontrados associados a polissacarídeos da parede celular (Santos-Buelga & Scalbert, 2000; Serrano et al., 2009). Dessa forma, os taninos não são um grupo químico definido, mas um grupo de substâncias com algumas propriedades em comum (Jasman, 1993).

Nas plantas, o conteúdo de taninos varia de acordo com as condições climáticas e geográficas e podem apresentar composição química diversa (Jasman, 1993; Battestin et al., 2004). Podem ser encontrados nas raízes, lenho, casca, folhas, frutos, sementes e na seiva (Battestin et al., 2004), variando em teor e tipo, não só entre os vegetais, mas também dentro de uma mesma planta (Monteiro et al., 2005). Estão localizados principalmente em vacúolos celulares e na testa das sementes (espessa camada localizada logo abaixo do pericarpo), onde não interferem no metabolismo vegetal (Min et al., 2003; Butolo, 2014). Somente após o rompimento da parede celular (mastigação, por exemplo) eles podem apresentar seus efeitos (Min et al., 2003). Existe uma correlação entre a cor da flor e/ou semente e o conteúdo de taninos em cereais. Flores e sementes coloridas geralmente possuem níveis elevados de taninos em comparação com flores e sementes brancas (Jasman, 1993). Quando extraídos, os taninos podem apresentar-se como um pó amorfo com coloração variando do amarelo claro ao marrom, apresentando sabor adstringente (Khanbabaee & Ree, 2001).

A formação de complexos estáveis com proteínas depende de vários fatores: (i) pontes de hidrogênio entre fenóis e os grupos hidroxila; (ii) interações iônicas entre ânion fenolato e o sítio catiônico da proteína; (iii) interações hidrofóbicas entre a estrutura do anel aromático e regiões hidrofóbicas das proteínas e ligações covalentes formadas pela oxidação dos polifenóis (Frutos et al., 2004; Furlan et al., 2006; Correia, 2010). Além disso, proteínas com alto peso molecular e estruturas abertas e flexíveis associam-se mais fortemente aos taninos; a afinidade das proteínas aos taninos é maior no ponto isoelétrico da proteína, podendo haver variações quanto ao pH (Frutos et al., 2004). As proteínas ricas em prolina, como a kafirina no sorgo, são lineares, aumentando a superfície de contato, apresentando maior probabilidade de reação (Coelho, 2007).

Os taninos formam o complexo tanino-carboidrato, que reduz a atividade das enzimas amilolíticas, ocasionando diminuição da digestão dos carboidratos e, conseqüentemente, do seu aproveitamento energético (Fialho & Barbosa, 1992). Essa ligação aumenta quando os carboidratos apresentam alto

peso molecular (polissacarídeos), baixa solubilidade e conformação flexível (Fialho & Barbosa, 1992). A classificação mais usual dos taninos tem como base a estrutura molecular e os divide em taninos hidrolisáveis e taninos condensados (Jasman, 1993; Battestin et al., 2004).

Os taninos hidrolisáveis são constituídos por fenóis simples, como pirogalol e ácido elágico, e ésteres de ácido gálico ou digálico com um açúcar. São unidos por ligações éster-carboxila sendo hidrolisáveis em condições ácidas ou básicas produzindo carboidratos e ácidos fenólicos (Battestin et al., 2004). A unidade básica estrutural é um polial, usualmente D-glicose, com seus grupos hidroxila esterificados pelo ácido gálico ou pelo hexadihidroxifênico sendo divididos, de acordo com o produto de hidrólise, em galotaninos, que produzem ácido gálico, e em elagitaninos, que produzem ácido elágico (Min et al., 2003). Para serem considerados taninos é necessário que pelo menos 3 grupamentos hidroxil da molécula de glicose estejam esterificados para exibir a capacidade de se ligar e precipitar proteínas (Mueller-Harvey, 2006). Estão presentes em folhas, flores, galhos, cascas e madeira de várias árvores como a castanheira e o carvalho (Battestin et al., 2004). Algumas frutas silvestres e legumes também são fontes de taninos hidrolisáveis (Monteiro et al., 2005). O ácido tânico geralmente é um composto comercial de tanino hidrolisável podendo ser formado por ácido elágico ou ácido gálico (Battestin et al., 2004). Podem ser encontrados taninos elágicos em vinhos envelhecidos em barris de carvalho, como resultado da sua extração da madeira durante o envelhecimento (Clifford, 2000).

Os taninos condensados, também denominados de proantocianidinas, são oligômeros e polímeros formados pela ligação de dois ou mais unidades de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol e por uma ligação carbono-carbono entre o carbono 4 de um flavanol e o carbono 8 ou carbono 6 do flavanol seguinte (Hagerman et al., 1992; Jasman, 1993). Podem conter de duas a cinquenta unidades flavanóides variando o grau de polimerização; possuem estruturação complexa e são resistentes à hidrólise (Reed, 1995; Battestin et al., 2004). Os taninos condensados apresentam uma rica diversidade estrutural que pode afetar suas propriedades biológicas, como a capacidade de ligação às proteínas (Mueller-Harvey, 2006). Estão presentes principalmente em plantas lenhosas e na fração fibra alimentar de diferentes alimentos como cereais e leguminosas, nos quais são responsáveis por efeitos adversos na cor, sabor e qualidade nutricional (Serrano et al., 2009). São encontradas em altas concentrações em cacau e chocolate, uvas e vinho, maçã e amendoim e nas frutas silvestres, amêndoas, castanhas, nozes, cerveja e chá (Serrano et al., 2009; Efraim et al., 2011). Muitas espécies vegetais produzem galotaninos e elagitaninos, enquanto outras produzem misturas complexas contendo galotaninos, elagitaninos e taninos condensados. Por exemplo, castanheiras e acácias são conhecidas por produzirem ambos os taninos, condensados e hidrolisáveis (Mueller-Harvey, 2006).

Informações quanto a absorção, distribuição, metabolismo e eliminação dos polifenóis são escassos (Manach et al., 2004; Efraim et al., 2011). A absorção dos taninos são determinados inicialmente pela sua estrutura química, massa molecular, grau de polimerização e solubilidade (Bravo, 1998), sendo parcialmente absorvidos em diferentes partes do trato

gastrointestinal. O intestino delgado é o principal local de absorção dos taninos hidrolisáveis sendo fermentados em menor quantidade no cólon (Bravo, 1998; Saura-Calixto et al., 2007). São geralmente excretados na urina e bile (Bravo, 1998). A absorção dos taninos condensados no intestino delgado seria limitada pela formação de complexos com proteínas, amido e enzimas digestivas (Manach et al., 2004; Serrano et al., 2007). No cólon, os taninos condensado que apresentam baixo peso molecular são degradados em fenóis simples ou excretados nas fezes (Jardini & Mancini Filho, 2009), enquanto os com alto peso molecular e alta polimerização não são afetados pela microbiota (Bravo, 1998). A microbiota intestinal pode degradar ácido gálico e metabólitos de proantocianidinas; pequenas quantidades podem ser detectados nos resíduos do cólon após fermentação (Bravo, 1998; Mueller-Harvey, 2006; Saura-Calixto et al., 2007).

2.1.1 Quantificação dos taninos

Diferentes métodos foram desenvolvidos para estimar a concentração e atividade biológica dos taninos (Tabela 1).

Tabela 1. Principais métodos utilizados para determinação e quantificação de taninos e polifenóis.

Ensaio	Tipo	Vantagens	Desvantagens
Follin-Ciocalteu	Colorimétrico	Todos os fenóis	Reage com todos os fenóis
Azul da Prússia	Colorimétrico	Todos os fenóis	Reage com fenóis e agentes redutores
HCl/Butanol	Colorimétrico	Específico para TC	Requer padrão interno; cor varia com a estrutura química
Vanilina	Colorimétrico	Específico para meta-fenóis	Requer padrão interno; cor varia com a estrutura química; reage também com fenóis simples
Iodado de Potássio - KIO_3	Colorimétrico	Quantifica galotaninos e elagitaninos	Não é viável para misturas complexas de taninos; cor depende da temperatura e duração da reação
Rodanina	Colorimétrico	Específico para ésteres de ácido gálico	Não é específico para taninos (galotaninos)
Nitrito de sódio ($NaNO_2$)	Colorimétrico	Específico para elagitaninos	
Enzimático	Inibição enzimática	Indicado para avaliações biológicas	Algumas enzimas são mais suscetíveis que outras
Precipitação de proteínas	Precipitação	Reflete um importante processo biológico	Resultado depende de muitas variáveis, como as proteínas escolhidas.
Cromatografia líquida de alta resolução	HPLC	Para polímeros acima de 7-8 unidades	Alguns taninos condensados ligam-se irreversivelmente

Continuação. Tabela 1. Principais métodos utilizados para determinação e quantificação de taninos e polifenóis.

Inibição de crescimento microbiano	Toxicológico	Bom ensaio biológico	Escolha de bactéria e composição do meio podem afetar os resultados
Tiólise	Químico	Bom para determinar estruturas	Requer taninos puros
Precipitação por Ytérbio	Gravimétrico	Não precisa de padrão	Rendimento pode variar com a proporção Ytérbio:tanino

HCl: Ácido clorídrico; TC: Taninos condensado; HPLC: High Performance Liquid Chromatography; Adaptado de Monteiro et al. (2005).

Esses métodos fornecem importantes informações sobre os compostos fenólicos, porém a falta de padronização na escolha da metodologia contribui para as divergências e encontradas nas análises (Beelen et al., 2008). Além disso, problemas ligados à preparação das amostras (trituração, maceração, secagem) podem reduzir o conteúdo de tanino do material, pois os fenóis apresentam tendência à oxidação durante a preparação e extração das amostras (Coelho, 2007; Beelen et al., 2008).

2.1.2 Efeitos nutricionais e sistêmicos dos taninos

Os taninos presentes nos vegetais utilizados na nutrição de diversas espécies animais podem apresentar efeitos deletérios e benéficos quanto à saúde e à produção animal. Acredita-se que os efeitos biológicos dos taninos possam ocorrer de duas maneiras: (i) como uma estrutura complexa e inabsorvível, produz efeitos locais no trato gastrointestinal (ação antioxidante e sequestro de radicais livres, ação antibacteriana e antinutricional); (ii) como taninos absorvíveis (provavelmente com baixo peso molecular) e metabólitos produzidos através da fermentação da microbiota, afetam vários órgãos (Serrano et al., 2009).

Devido à característica adstringente dos taninos, pode ocorrer redução na ingestão de alimentos e na produtividade animal (Reed, 1995; Beelen et al., 2008). A adstringência é a sensação causada pela formação de complexos entre os taninos, proteínas salivares e o epitélio mucoso da cavidade oral ou através da ligação direta dos taninos com os receptores gustativos (Jasman, 1993; Reed, 1995; Beelen et al., 2008). A precipitação das proteínas salivares reduz as propriedades lubrificantes da saliva, causando a sensação de boca seca e afetando a ingestão do alimento (Jasman, 1993; Araptisas, 2012). Dois grupos de proteínas salivares, prolinas e histatinas, precipitam os taninos dietéticos livres, reduzindo seus níveis (Emmambux & Taylor, 2003). As prolinas da saliva possuem características hidrofóbicas e contribuem para a conformação mais aberta da molécula de proteína e apresentam alta afinidade pelos taninos (Kaufman et al., 2013). As prolinas foram encontradas na saliva de humanos, suínos, ratos, coelhos e cabras estando ausentes em hamsters e em níveis baixos em ovinos e bovinos (Mueller-Harvey, 2006). O nível de prolina salivar nos herbívoros e

possivelmente em humanos é regulado pela exposição frequente aos taninos condensados presentes na dieta (Mueller-Harvey, 2006; Costa et al., 2008). Costa et al. (2008) observaram em camundongos alimentados com dietas contendo 5% de ácido tânico ou 5% de tanino condensado, alteração no padrão das proteínas salivares, além de hipertrofia das glândulas parótidas e redução da massa muscular.

Os taninos afetam a digestibilidade da dieta ao formar complexos com proteínas, carboidratos, macromoléculas e outros polímeros, precipitando-os. Dietas ricas em taninos podem reduzir a atividade biológica de várias enzimas como tripsina, α -amilase, β -glucosidase, lipase, entre outras (Coelho, 2007). Podem complexar as proteínas da dieta, que deixam de estar acessíveis às proteases reduzindo a digestibilidade da proteína bruta, inibir o crescimento microbiano do rúmen ou cólon e formar complexos insolúveis com o substrato presente (Molina et al., 2003; Beelen et al., 2008; Serrano et al., 2009). Os taninos condensados possuem maior efeito inibitório sobre a atividade das enzimas e micro-organismos do que os hidrolisáveis (Coelho, 2007). Em ruminantes altas concentrações de taninos podem causar distensão física do rúmen, resultando na diminuição da degradabilidade da matéria seca (MS) (Molina et al., 2003). Os efeitos dos taninos são dose dependente, sendo que resultados negativos ocorrem quando ingeridos em alta quantidade, acima de 6% da MS (Hoste et al., 2006; Coelho, 2007; Oliveira & Berchielli, 2007). Taninos hidrolisáveis são tóxicos para ruminantes e estão associados ao consumo de algumas espécies de carvalho e arbustos tropicais, levando a hemorragias gastrointestinais, necrose do fígado e lesão renal (Reed, 1995). Oliveira et al. (2007) observaram que os grãos de sorgo secos de alto teor de tanino não devem ser usados como principal grão energético nos concentrados para equinos, por diminuir a digestibilidade da proteína e fibra.

Efeitos positivos da presença de taninos foram observados em ruminantes, destacando-se a proteção da proteína alimentar contra a excessiva degradação ruminal, pois ao chegar ao abomaso os taninos são dissociados em condições ácidas, liberando as proteínas e aumentando a absorção de aminoácidos provenientes da dieta (Jasman, 1993; Reed, 1995). Em baixas a moderadas concentrações (3% a 6% da MS), os taninos reduzem o desperdício de amônia e previnem o timpanismo, e apresentam efeitos positivos na produção de lã e leite em pequenos ruminantes (Hoste et al., 2006). Taninos parecem ser efetivos na redução do parasitismo gastrointestinal em ruminantes, quando presentes entre 3% e 4% da MS do alimento (Hoste et al., 2006). Estudos indicam que o consumo de taninos condensados por pequenos ruminantes infectados, reduz o desenvolvimento de ovos e a motilidade das larvas de *Trichostrongylus columbiformes* (Hoste et al., 2006). De acordo com Min et al. (2003), os taninos condensados podem ter efeitos diretos sobre os parasitos ou indiretamente pelo aumento da resistência dos animais a estas infecções. Pesquisas nesse segmento têm aumentado nos últimos anos, devido à resistência apresentada pelos parasitos aos produtos antihelmínticos sintéticos comerciais e ao grande impacto negativo sobre a produção animal.

Os taninos hidrolisáveis reduzem a absorção no intestino delgado de ratos das vitaminas A, B12 e tiamina e se complexam com cálcio, fósforo e

enxofre, tornando-os indisponíveis para absorção (Jasman, 1993). Taninos condensados afetam a absorção de ferro, desse modo seu consumo excessivo pode causar anemia em pessoas que recebem suplementação com ferro inorgânico ou pessoas com deficiência de ferro. Por outro lado, eles podem ser efetivos para tratar excessos de ferro na dieta (Santos-Buelga & Scalbert, 2000).

Alguns estudos demonstram os efeitos deletérios dos taninos sobre a mucosa do trato gastrointestinal e efeitos tóxicos em demais órgãos de não-ruminantes (Jasman, 1993). Os taninos podem formar ligações com as células do epitélio intestinal e causar ulceração (Samanta et al., 2004). Os efeitos tóxicos dos taninos hidrolisáveis são atribuídos ao ácido tânico diretamente ou aos produtos de sua degradação que são absorvidos no intestino e transportados para o fígado (Oliveira & Berchielli, 2007). Ratos recebendo ácido tânico por 21 dias apresentaram redução no ganho de peso e no número de bactérias intestinais nos seis primeiros dias, e após esse período, houve aumento excessivo da microbiota (Samanta et al., 2004). Os autores sugerem que no início, o ácido tânico limitou o crescimento microbiano por formar complexos com as proteínas da superfície celular ou por inibir a ação de enzimas celulares. Posteriormente, as enterobactérias degradaram esse complexo secretando a enzima tanase, produzindo ácido gálico e glicose, que são utilizados no metabolismo microbiano, explicando o posterior crescimento das bactérias intestinais. A proliferação da microbiota pode estar relacionada ao decréscimo no peso corporal observado nos ratos. Patos em crescimento recebendo dietas comerciais com inclusão de 1,5% e 2,5% de extrato de quebracho (*Schinopsis spp*), rico em taninos condensados, não apresentaram anormalidades nas patas, depressão no crescimento e no ganho de peso, não havendo diferença entre os tratamentos (Marzoni et al., 2005). Poedeiras recebendo sorgo apresentaram má formação das patas e edema nas articulações; sendo sugerido que os taninos condensados presentes no sorgo possam aumentar a ligação entre as moléculas de colágeno, alterando a matriz óssea (Elkin et al., 1978). Ratos e aves alimentados com sorgo apresentaram depressão no crescimento e baixa conversão alimentar (Elkin & Rogler, 1990). Poedeiras alimentadas com sorgo apresentaram diferenças no peso do intestino, redução das vilosidades intestinais e redução da atividade da sucrase (Nyamambi et al., 2007). Suínos em crescimento suplementados com extrato comercial de taninos hidrolisáveis (*Castanea sativa*) na concentração de 2 g/kg de ração, não apresentaram efeitos no desempenho, rendimento da carcaça e qualidade da carne (Prevolnik et al., 2012). Os autores sugerem que a baixa concentração não foi suficiente para causar impacto nos características analisados.

O consumo de tanino também produz efeitos positivos aos animais e humanos. Esses efeitos são dependentes de fatores como tipo e quantidade de tanino ingerido, absorção, metabolismo e espécie animal (Manach et al., 2004). A ação antioxidante ocorre pela habilidade em doar hidrogênio ou elétrons e pelos radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, como os ácidos graxos e óleos (Soares et al., 2008). Acredita-se que as proantocianidinas encontradas em chás e vinhos sejam potenciais cardioprotetores e que, provavelmente ao inibirem a oxidação das

lipoproteínas de baixa densidade, reduzem o colesterol plasmático e o risco de aterosclerose (Santos-Buelga & Scalbert, 2000; Serrano et al., 2009). O consumo de cacau com alto teor de procianidinas diminui a tendência de agregação plaquetária e a formação de coágulos e reduz o risco de doenças cardiovasculares, além de apresentar propriedades antimicrobianas (Efraim et al., 2011). A romã, que contém antocianinas, delphinidina, ácido elágico e gálico, entre outros compostos fenólicos, apresenta potencial antioxidante e de modulação das respostas anti-inflamatórias (Jardini & Mancini Filho, 2007). A atividade inibidora do crescimento de micro-organismos se deve ao fato dos taninos complexarem-se com facilidade a íons metálicos, sequestrando-os do meio, impedindo que sejam utilizados como cofatores enzimáticos pelas bactérias (Scalbert, 1991). Extrato das folhas de *Camellia sinensis* (chá verde japonês), rico em taninos condensados pode prevenir periodontite em cães e controlar a microbiota oral (Isogai et al., 1992) e inibir o crescimento e aderência dos micro-organismos patogênicos à superfície do dente (Archela & Dall'Antonia, 2013). A casca do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* M. Coville) possui elevados níveis de taninos condensados e tem sido usada na medicina popular por sua ação cicatrizante, adstringente e anti-inflamatória. Rodrigues et al. (2013) observaram que a pomada a base do extrato da casca do barbatimão a 10% foi eficaz na cicatrização de feridas cutâneas de cães ao reduzir o tempo para o fechamento das bordas.

2.3. Sorgo na alimentação de cães

O sorgo é o quinto cereal mais produzido no mundo, superado pelo arroz, trigo, milho e cevada (Butolo, 2010; Corder, 2014). A produção nacional de sorgo no biênio 2012-2013 foi superior a 2 milhões de toneladas, sendo que no Rio Grande do Sul a produção atingiu 40 mil toneladas no mesmo período (Corder, 2014). O sorgo granífero (*Sorghum bicolor* L. Moench.) apresenta maior expressão econômica mundial, sendo que nos países em desenvolvimento da África e Ásia, essa variedade destina-se à alimentação humana, enquanto nos demais países a cultura é utilizada como alimento animal na forma de ração, silagem e pastejo (Rodrigues & Silva, 2011; Corder, 2014). O interesse crescente no cultivo do sorgo advém de algumas características como a alta produtividade por hectare, adaptação a regiões secas e tolerância ao estresse hídrico, resistência a pragas, bom valor nutritivo e custo de produção inferior ao do milho (Fialho et al., 2002; Molina et al., 2003). A Tabela 2 indica a composição nutricional do grão de sorgo contendo altos e baixos níveis de taninos.

O sorgo, entre os cereais, possui o maior conteúdo de compostos fenólicos e é o único capaz de produzir quantidades elevadas de taninos. Entretanto, somente as cultivares com testa pigmentada e pericarpo largo produzem taninos condensados (Dicko et al., 2006). Esses cultivares possuem os genes B1 e B2 dominantes (Awika & Rooney, 2004; Butolo, 2010). Quando o gene S também é dominante, o pericarpo é marrom e os taninos são mais facilmente extraídos, porém produzem maior efeito antinutricional nos animais (Awika & Rooney, 2004). Os taninos hidrolisáveis não estão presentes em cultivares de sorgo (Awika & Rooney, 2004; Dicko et al., 2006).

Tabela 2. Composição nutricional média dos grãos de sorgo em porcentagem (na matéria natural).

Nutriente (%)	Sorgo alto tanino	Sorgo baixo tanino
Máteria seca	85,9	88,0
Matéria orgânica	84,0	87,3
Amido	56,8	63,2
Proteína bruta	8,94	9,00
Gordura bruta	2,35	3,00
Fibra bruta	2,78	2,30
Material mineral	1,86	1,41
Extrativos não nitrogenados	70,0	72,3
Energia bruta (kcal/kg)	3860	3912

Adaptado de Rostagno (2011).

O amido é o principal componente do grão do sorgo, variando de 56 a 63% (Rostagno, 2011), sendo que o valor energético do sorgo é determinado pela digestibilidade do amido (Correia, 2010). A digestibilidade do amido está relacionada à textura do endosperma amiláceo, ao tamanho das partículas de farinha e ao conteúdo de amilose e amilopectina, sendo maior em sorgo com baixo teor de amilose (Correia, 2010). A amilose é composta por unidades de glicose unidas por ligações α 1-4 lineares enquanto a amilopectina possui ligações α 1-4 lineares e ligações α 1-6 ramificadas o que facilita sua hidrólise durante o processo digestivo (Anisom & Topping, 1994). Além disso, há estudos que demonstram a presença de amido resistente no sorgo, resultando em um ingrediente de menor índice glicêmico e capaz de aumentar a saciedade, podendo ser utilizado em dietas para pacientes diabéticos e obesos.

As principais proteínas do sorgo são as kafirinas que representam 60%-70% das proteínas totais, além de glutelinas, albuminas e globulinas (Emmambux & Taylor, 2003; Correia, 2010). Em relação à localização, as kafirinas estão mais concentradas no interior do grão e dividem-se em α , β e γ com base no peso molecular e solubilidade (Mesa-Stonestreet et al., 2010). As kafirinas β e γ apresentam elevadas quantidades de cisteína, formando frequentemente ligações dissulfeto intermoleculares (Shull et al., 1992; Mesa-Stonestreet et al., 2010). Os corpos proteicos do sorgo são compostos por kafirinas e por grânulos de amido (Taylor et al., 1985; Duodu et al., 2002). Shull et al. (1992) verificou que as kafirinas α estão localizadas predominantemente no interior do corpo proteico, enquanto as kafirinas β e γ estão no interior e na superfície.

A extrusão é o processo de cozimento baseado em alta pressão, umidade controlada e temperatura elevada, proporcionando gelatinização do amido, formatação e texturização do alimento, aumentando a digestibilidade, palatabilidade e conservação (Huack, 1994). A maioria dos alimentos secos para cães é produzido através da extrusão, um processamento que depende da presença de carboidratos (Borges, 2002). Os cães são incapazes de digerir adequadamente o amido, a menos que este seja processado por meio da cocção ou extrusão (Tardin, 2002). Assim, o amido é gelatinizado e passa a ser digerido e aproveitado pelos cães (Duarte, 2006). A moagem ou redução do tamanho das partículas proporciona uma mistura homogênea dos ingredientes,

facilita o processo de extrusão e melhora a qualidade final dos produtos (Frailha, 2005). Bazzoli (2007) observou que dietas extrusadas para cães a base de sorgo apresentaram maior digestibilidade e maior aproveitamento do amido quanto menor a granulometria. A redução do diâmetro geométrico dos ingredientes favoreceu, também, melhor gelatinização do amido durante a extrusão. Em relação às respostas pós-prandiais de glicose, não foi verificada influência da moagem nas respostas glicêmicas dos cães.

As proteínas do sorgo são as únicas entre as proteínas de plantas comestíveis, cuja digestibilidade diminui marcadamente com o cozimento (Eggum et al., 1983; Oria et al., 1995; Duodu et al., 2002; Mesa-Stonestreet et al., 2010). Alguns fatores apontados como responsáveis por essa característica são: (i) formação da matriz proteína-amido (Hamaker & Bukuso, 2003); (ii) formação de pontes dissulfeto entre as kafirinas β e γ tornando-as mais resistente ao ataque enzimático, dificultando o acesso das proteases às kafirinas α (Hamaker & Bukuso, 2003; Mesa-Stonestreet et al., 2010); (iii) presença de taninos que combinam-se com proteínas e enzimas, afetando a utilização dessas proteínas (Duoko et al., 2002; Dicko et al., 2006). Durante o cozimento, os taninos são modificados estruturalmente, sendo despolimerizados em oligômeros e monômeros, mantendo a estrutura básica estável (Lemlioglu-Austin et al., 2012).

Os cereais mais comumente utilizados em alimentos processados para cães são milho, arroz e seus derivados e, em menor proporção, o sorgo (Duarte et al., 2006). Geralmente, o sorgo participa como uma fração dos carboidratos conjuntamente com o milho em dietas classificadas como econômicas, porém alguns estudos têm verificado a possibilidade do uso de sorgo como única fonte de amido. Em experimento conduzido por Twomey et al. (2002) avaliando dietas com arroz, milho e sorgo a digestibilidade do arroz foi superior às demais, enquanto o escore fecal do sorgo foi superior, apresentando fezes mais firmes. Estudos realizados por Murray et al. (1999), Silva Júnior et al. (2005) e Carciofi et al. (2008) testando diferentes fontes de carboidratos e amido em dietas para cães, verificaram que a digestibilidade do sorgo foi similar ao milho e inferior ao arroz.

2.4. Glicemia em cães

Os carboidratos são as biomoléculas mais abundantes da natureza (Lehninger, 2006). Eles possuem uma ampla faixa de funções, incluindo o fornecimento de uma fração significativa de energia na dieta da maioria dos organismos (Champe & Harvey, 1996). A glicose é a principal fonte de energia utilizada pelas células animais, além de participar da síntese de glicogênio muscular, lipídeos e fornecer esqueletos de carbono para outras biomoléculas (Case et al., 2011). Alguns tecidos, como o cérebro, medula renal, cristalino e córnea, testículos e músculo em exercício, requerem um suprimento contínuo de glicose como combustível metabólico (Campe & Harvey, 1996). Porém, os carboidratos dietéticos não são indispensáveis na dieta de carnívoros, mas são necessário para a produção de dietas através da extrusão. Cães podem sintetizar glicose através de outras vias como a gliconeogênese desde que a dieta contenha níveis elevados de proteína e gordura (Case et al., 2011).

O valor glicêmico fisiológico de cães adultos está entre 70 e 120 mg/dl (NRC, 2006). A extensão da hiperglicemia pós-prandial depende de vários fatores: (i) fonte de carboidrato e quantidade de alimento consumido; (ii) natureza química do amido, especialmente a proporção amilose:amilopectina; (iii) grau de cozimento e de processamento do alimento; (iv) teor de lipídeos, proteínas e fibra alimentar; (v) captação de glicose nos tecidos (tecido muscular, adiposo e demais tecidos); (vi) ação de diversos hormônios; (vii) presença de fatores antinutricionais; (viii) condições fisiológicas e patológicas do animal (Wolever & Bolognesi, 1996; Nguyen et al., 1998; Wong & Jenkins, 2007; Capriles et al., 2009).

O amido é o principal polissacarídeo digerível presente em grandes quantidades em cereais, sendo o componente da dieta responsável pela variação na glicemia pós-prandial dos animais (Nguyen et al., 1998). Dessa forma, quanto mais rápida e completa sua digestão, mais rápida e intensa será a curva desencadeada (Jenkins et al., 1981). A digestão mais lenta do amido rico em amilose parece reduzir a taxa glicêmica dos animais ao liberar glicose de forma gradual para a circulação (Silva et al., 2014a). Outros nutrientes também contribuem para a manutenção dos níveis glicêmicos, como as fibras dietéticas que reduzem a taxa de passagem e a hidrólise do amido; as gorduras dietéticas reduzem a velocidade de esvaziamento gástrico e tendem a reduzir a glicose pós-prandial; dietas com altos níveis de proteínas reduzem a resposta glicêmica aumentando a secreção de insulina (Wolever & Bolognesi, 1996; Nguyen et al., 1998).

Em estudo conduzido para avaliar a absorção de glicose no intestino delgado de ratos, foi observada uma relação inversa entre o conteúdo polifenólico e a taxa de absorção de glicose (Motilva et al., 1983). Silva et al. (2014b) em experimento utilizando extrato da casca do pinhão (*Araucaria angustifolia*), concluíram que os taninos presentes inibiram a α -amilase salivar humana e α -amilase pancreática suína *in vitro* e reduziram a glicemia pós-prandial em ratos. Santidrian & Marzo (1988) mostraram a redução da absorção intestinal de D-galactose e L-leucina em frangos alimentados com dietas contendo 2 a 3% de ácido tânico.

Há indícios que o sorgo module o metabolismo glicêmico e insulinêmico de animais devido à ação dos compostos fenólicos e à qualidade das fibras alimentares. O sorgo é digerido lentamente pelo organismo contribuindo para um maior período de saciedade; ao retardar o esvaziamento gástrico permite uma lenta absorção da glicose em comparação com outros cereais (Dicko et al., 2006; Queiroz et al., 2011). O tanino condensado presente no sorgo contribui para essa resposta glicêmica. O menor ganho de peso em animais alimentados com sorgo rico em taninos resulta em parte da complexação deste composto com o amido o que ajuda a diminuir a ingestão calórica (Correia, 2010). Além disso, os taninos presentes no sorgo podem inibir a digestão do amido por meio da inibição das enzimas digestivas sacarase e amilase (Thompson et al., 1984; Mueller-Harvey, 2006). A ingestão de extratos liofilizados de compostos fenólicos presentes no sorgo reduziu a área abaixo da curva e a glicemia total, e aumentou a insulinemia em ratos diabéticos, sendo este efeito hipoglicemiante similar ao medicamento antidiabético glibenclamida (Kim & Park, 2012).

Alguns estudos sugerem que o estresse oxidativo está relacionado com desenvolvimento da diabetes mellitus. Acredita-se que a diabetes mellitus dependente de insulina resulte da destruição das células β do pâncreas por vírus, toxinas químicas e respostas autoimunes (Serrano et al., 2009). Matsuoko et al. (1997) demonstraram que espécies reativas de oxigênio lesionam as células β do pâncreas através da indução da apoptose e da supressão da biossíntese de insulina. Essas células são suscetíveis aos radicais livres pela baixa expressão dos genes que codificam enzimas antioxidantes quando comparadas a outros tecidos. Os taninos podem reduzir os níveis glicêmicos por retardar tanto a absorção intestinal de glicose e modular os efeitos da insulina sobre os tecidos sensíveis e por regular o ambiente antioxidante das células β do pâncreas (Serrano et al., 2009). Extratos de semente de uva ricos em procianidinas aumentaram a expressão dos receptores de membrana celular GLUT-4, indicando que os taninos possam modificar ou interagir com transportadores e receptores de membrana afetando a glicemia (Pinent et al., 2004). A obesidade ou excesso de adiposidade visceral também contribui para o desenvolvimento da diabetes, por alterar as vias de sinalização da insulina e reduzir a eficiência do transporte de glicose sanguínea para as células alvo (Kahn & Flier, 2000). Ensaio *in vitro*, demonstraram que o ácido tânico (galotanino) extraído da folha da *Lagerstroemia speciosa* possui ação antidiabética (estimulando o transporte de glicose) e ação antilipogênica (inibindo a diferenciação dos adipócitos) sendo potencialmente uma opção de tratamento para pacientes portadores de diabetes (Klein et al., 2007). Mediante estas constatações acredita-se que o sorgo possa ter efeito benéfico quando adicionado à alimentação de cães.

3.HIPÓTESES E OBJETIVOS

As hipóteses estabelecidas para este estudo foram as seguintes:

- 1) O sorgo contendo taninos condensados, acrescentado à dieta reduz a digestibilidade dos nutrientes e da energia e altera os características fecais (escore, pH, produção de fezes) e urinárias (MS, EB, PB, pH) em cães;
- 2) A inclusão de extrato de tanino hidrolisável altera a digestibilidade dos nutrientes e da energia e altera o características fecais (escore, pH, produção de fezes) e urinárias (MS, PB, pH) de cães;
- 3) O sorgo e o tanino hidrolisável influenciam a disponibilidade de glicose no trato gastrointestinal, reduzindo os picos pós-prandiais, aumentando o tempo de absorção de glicose em cães.

Os objetivos deste estudo foram:

- 1) Avaliar os efeitos do sorgo, contendo taninos condensados, como ingrediente na alimentação de cães;
- 2) Avaliar o efeito do sorgo e da inclusão de taninos hidrolisáveis sobre a digestibilidade dos nutrientes e da energia de dietas extrusadas para cães;
- 3) Avaliar se o sorgo e os taninos hidrolisáveis melhoram os características fecais (MS, escore, pH, produção de fezes) e urinárias (MS, EB, PB, pH) dos cães;
- 4) Determinar se o sorgo e os taninos hidrolisáveis podem modificar a curva glicêmica pós-prandial de cães adultos.

CAPÍTULO II

INFLUÊNCIA NA DIGESTIBILIDADE E GLICEMIA PÓS-PRANDIAL DA INCLUSÃO DE SORGO COMO FONTE DE TANINOS CONDENSADOS E DA ADIÇÃO DE TANINOS HIDROLISÁVEIS À DIETA DE CÃES ADULTOS

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas de publicação do **Journal of Animal Science**.

Inflência na digestibilidade e glicemia pós-prandial da inclusão de sorgo como fonte de taninos condensados e da adição de taninos hidrolisáveis à dieta de cães adultos.

L. Teixeira*, G. S. Machado*, P. G. S. Pires*, B. Schroeder*, L. M. Vilella*, A. M. Kessler* e L. Trevizan*¹

*Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, CEP: 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

¹Autor para correspondência: ltrevizan@ufrgs.br

RESUMO:

O sorgo possui semelhança nutricional ao arroz, sendo um bom substitutivo na alimentação de cães. Porém, apresenta reduzida palatabilidade e digestibilidade, além da presença de taninos em seus grãos. Taninos são compostos fenólicos com alto peso molecular e habilidade para formar complexos com proteínas e carboidratos, reduzindo o consumo e a digestibilidade de nutrientes, podendo influenciar os níveis de glicose sanguínea. Os taninos são divididos em condensados (TC) e hidrolisáveis (TH). Esse estudo buscou verificar o efeito da substituição parcial do arroz por sorgo com TC e a inclusão de um extrato comercial de TH em dietas extrusadas. Para isso, foram conduzidos dois ensaios experimentais utilizados 8 cães adultos, de ambos os sexos, hígado, divididos em quatro tratamentos e três períodos. O primeiro ensaio avaliou a digestibilidade das dietas e as características fecais (MS, EB, score, pH, produção de fezes) e urinárias (MS, PB, EB, pH). Os tratamentos foram compostos por quatro dietas

isonutritivas, como segue: dieta controle a base de arroz; dieta contendo 26% de arroz e 25% sorgo; dieta a base de arroz com adição de 0,10% de TH e dieta contendo 26% de arroz e 25% sorgo com adição de 0,10% de TH. O segundo ensaio avaliou a glicemia pós-prandial de cães utilizando as mesmas dietas acima. Os dados de ambos ensaios foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os resultados do primeiro experimento indicaram que o consumo da dieta contendo 26% de arroz e 25% sorgo foi menor que as demais dietas ($P < 0,05$). Houve influência negativa do acréscimo de sorgo na digestibilidade da MS, MO, PB, FB, ED e na EM ($P < 0,05$), sendo os menores valores correspondentes à dieta com 26% de arroz e 25% sorgo acrescida de 0,10% de TH. Porém, o TH incluído na dieta a base de arroz não apresentou esse efeito. Os cães que consumiram as dietas contendo sorgo apresentaram maior produção de fezes sem alteração do escore fecal ($P > 0,05$). A maior MS fecal resultou do consumo da dieta arroz e TH e o TH parece reduzir o conteúdo de água das fezes. O sorgo e o TH não influenciaram os características urinários analisados ($P > 0,05$), mas observou-se o escurecimento das dietas, da urina e das fezes dos cães. No segundo experimento, o sorgo e a inclusão de TH não afetou a resposta glicêmica pós-prandial ($P > 0,05$) medida a partir da área abaixo da curva. A utilização do sorgo como fonte de carboidrato em dietas para cães é uma opção viável. A utilização de TH ainda necessita maiores investigações.

Palavras-chaves: amido, carboidratos, compostos fenólicos, glicose, proteínas, sorgo

INTRODUÇÃO

O sorgo é comumente utilizado na alimentação de ruminantes, aves e suínos, sendo utilizado de forma insipiente na alimentação de cães. Apresenta alta

produtividade por hectare, tolerância ao estresse hídrico, resistência a pragas e menor custo de produção. O aspecto mais conhecido do consumo do sorgo é sua reduzida palatabilidade e digestibilidade quando comparado com o milho e o arroz. A presença de níveis variados de taninos nos grãos do sorgo pode estar relacionada a esta característica.

Taninos são compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas e podem influenciar a cor, aparência e na qualidade nutritiva do ingrediente (Kaufman et al., 2013). Os taninos possuem capacidade de inibir enzimas, formar complexos com carboidratos, proteínas e íons metálicos, reduzindo a absorção de nutrientes e a digestibilidade (Kumari e Jain, 2012). Ao reduzir a velocidade da absorção intestinal do amido, influenciam a concentração glicêmica pós-prandial (Dykes e Rooney, 2006). Os taninos são divididos em dois grupos principais: condensados (TC) e hidrolisáveis (TH). No sorgo, somente há presença de TC (Dicko et al., 2006). Os TC são polímeros de flavan-3-ols e flavan-3,4-diols unidos por ligações carbono-carbono; possuem estrutura complexa e são resistentes à hidrólise, mas solúveis em solventes orgânicos aquosos de acordo com sua estrutura química (Costa et al., 2008). Os TH são constituídos por fenóis simples, galotaninos e elagitaninos, que após hidrólise formam ácido gálico e ácido elágico. São prontamente quebrados por ácidos, bases e, em alguns casos, por hidrólise enzimática (Etuk et al., 2012). Os taninos têm sido considerados fatores antinutricionais pela precipitação de proteínas, afetando negativamente o desempenho dos animais. Suínos em crescimento apresentaram melhora na eficiência alimentar utilizando dietas suplementadas com TH (Biagi et al., 2010). Existem algumas pesquisas sobre a utilização do sorgo na alimentação de cães e seus impactos nutricionais e sistêmicos (Carciofi et al., 2008; Bazolli, 2007; Silva

Júnior et al., 2005; Towmey et al., 2003; Towney et al., 2002). Porém, estudos com a inclusão de TH em cães não foram encontrados na literatura, apenas com suínos e suínos (Biagi et al., 2010; Schiavone et al., 2008).

O objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de sorgo com TC e de TH em dietas extrusadas, buscando verificar os efeitos sobre a digestibilidade dos nutrientes e da energia, características fecais (MS, EB, pH, escore) e urinários (MS, EB, PB, pH), além de alterações na curva glicêmica pós-prandial em cães adultos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob o protocolo n° 26275, e foi executado de acordo com as normas éticas e bem-estar animal. Dois ensaios visando avaliar o efeito da inclusão dos taninos condensados e hidrolisáveis foram realizados: Experimento 1: Ensaio de digestibilidade; Experimento 2: Avaliação da resposta glicêmica pós-prandial.

Experimento 1: Ensaio de digestibilidade

Animais e instalações

Foram utilizados nove Beagles adultos, cinco machos e quatro fêmeas, saudáveis, com idade entre 2 e 3 anos, pesando $12,4 \text{ kg} \pm 0,97$ e escore de condição corporal variando entre 4,5 e 5,5 (Laflamme, 1997). Todos os cães receberam previamente vacinas, anti-helmínticos e foram submetidos a exames físicos e laboratoriais (hemograma, ALT, creatinina, urinálise e coproparasitológico) que atestaram bom estado de saúde. Durante o período experimental, os cães foram alojados

individualmente em gaiolas metabólicas de aço inoxidável (1,0 x 1,0 x 1,5 m), adaptadas com coletor de fezes e urina, comedouro e bebedouro, instaladas em sala climatizada com controle de temperatura e luminosidade. A água foi fornecida *ad libitum* ao longo de todo o experimento. Entre os períodos experimentais, cinco dias de descanso foram providos aos cães para que pudessem fazer exercícios.

Dietas experimentais

O sorgo foi utilizado como fonte de TC e sua composição nutricional está indicada na Tabela 1. Como fonte de TH foi utilizado um extrato comercial da casca da castanheira (*Castanea sativa*), fornecido pela empresa Silvaeed ENC®, Piemonte, Itália. O extrato é obtido através de aquecimento a baixa pressão, sendo apenas a fração solúvel em água retirada e desidratada. O produto final é um pó fino de coloração marrom com composição de TH, polifenóis hidrolisáveis, celulose, hemicelulose, açúcares simples, lignina, minerais, umidade 8%; fibra < 3%; densidade relativa 0,5-0,6%; pH < 4,0. Quatro dietas experimentais extrusadas foram confeccionadas para serem isonutritivas: (T1) dieta controle a base de arroz; (T2) dieta contendo 26% de arroz e 25% sorgo; (T3) dieta a base de arroz e adição de 0,10% de TH e (T4) dieta contendo 26% de arroz e 25% sorgo e adição de 0,10% de TH (Tabela 2). O alimento foi dividido em partes iguais e fornecido às 8h e às 17h, de modo a atender as necessidades energéticas e nutricionais de cães adultos, preconizadas pelo NRC (2006), sendo as sobras pesadas e descontadas para calcular o consumo.

Delimitação experimental

O delineamento escolhido foi em blocos casualizados com quatro tratamentos e três períodos experimentais, utilizado oito cães em cada período, contando com seis repetições, mínimo recomendado pela AAFCO (2008). Cada período teve duração de dez dias, divididos em cinco dias para adaptação dos cães às dietas experimentais e cinco dias para coleta total de fezes e urina e mensuração do pH fecal e urinário.

Procedimento de amostragem

Para marcar o início e o final de cada período de coleta fecal e urinária foi fornecida aos cães, por via oral, uma cápsula de gelatina contendo marcador inorgânico, óxido de ferro III (Fe_2O_3). As fezes foram coletadas em sua totalidade ao longo do dia e o escore fecal foi avaliado, conforme Clapper et al. (2001) e Spears et al. (2004), em: (1) fezes muito duras e ressequidas; (2) fezes duras, secas, firmes; (3) fezes macias, úmidas, bem formadas; (4) fezes macias, sem forma definida; (5) fezes líquidas, diarreia. Posteriormente as fezes foram pesadas e acondicionadas em sacos plásticos, armazenadas em freezer a -20°C . Uma alíquota de 2 g foi retirada diariamente para mensuração do pH. A coleta total de urina foi realizada diariamente em frascos coletores plásticos individuais em cada gaiola, contendo 1g de Timol (Synth®/Diadema-SP). O volume de urina foi mensurado e mantido em freezer a -20°C .

Análises laboratoriais

pH urinário e fecal

O pH foi determinado ao longo de cinco dias consecutivos referentes aos dias de coleta. Diariamente, pela manhã, uma alíquota de 20 ml de urina de cada cão foi

coletada e o pH foi imediatamente mensurado no pHmetro digital (Digimed DM-22; Campo Grande, Brasil). Para avaliar o pH das fezes, 20 ml de água destilada foram acrescentados a 2 g de fezes, homogeneizados e mensurado o pH.

Digestibilidade

Ao término dos períodos de coleta, as amostras de fezes foram descongeladas, homogeneizadas e uma alíquota de 200 g foi colocada em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 h, conforme recomendado pela AOAC (1995). As fezes e as dietas foram pesadas, moídas em moinho tipo Wiley com peneira de crivos de 1 mm (DeLeo Equipamentos Laboratoriais, Porto Alegre, Brasil) e analisadas para matéria seca (MS) (AOAC 934,01), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) (AOAC 954,01; modelo TE 036/2; Tecnal, Piracicaba, Brasil), fibra bruta (FB) (AOAC 962.10; modelo MA 450/8; Marconi, Piracicaba, Brasil), extrato etéreo por hidrólise ácida (EEHA) (AOAC 954.02; modelo 170/3; Fanem, São Paulo, Brasil). As urinas foram descongeladas, homogeneizadas, e reunidas por animal, sendo retirada uma alíquota de 150 ml para liofilização (Micromodulyi-Fis; Termo Fisher Scientifics INC, Maryland, Estados Unidos da América) e analisadas para MS e energia bruta (EB). Outra alíquota de 50 ml foi retirada para análise de PB. A EB das dietas, fezes e urina foi determinada usando bomba calorimétrica (modelo C2000 Basic; Ika-Werkw, Staufen, Alemanha). A determinação da fibra dietética total (FDT) das dietas foi realizada de acordo com Prosky et al. (1992). Todas as análises foram realizadas em duplicata com um coeficiente de variação menor 1% para energia e 5% para as demais análises. Os taninos foram analisados por testes gravimétrico usando o método de Freiberg-Hide (Kuntzel, 1954).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os programas estatísticos utilizados foram o “Statistical Analysis System” (SAS), versão 9.4 e o “Statistical Package For The Social Sciences” (SPSS / PASWSTAT), versão 18.

Experimento 2: Avaliação da resposta glicêmica pós-prandial

Animais, instalações e dietas experimentais

O ensaio foi realizado utilizando os mesmos animais e as mesmas dietas experimentais do Experimento 1.

Delineamento experimental

O delineamento escolhido foi o mesmo do ensaio 1, em blocos casualizados com quatro tratamentos e três períodos experimentais, utilizado oito cães em cada período, contando com seis repetições, mínimo recomendado pela AAFCO (2008). Os cães foram adaptados às dietas experimentais por 11 dias previamente ao início da curva glicêmica.

Procedimentos amostrais

Os cães foram mantidos em jejum alimentar dentro das gaiolas metabólicas por 12 horas antes do início do período de coleta. Imediatamente antes do início do experimento a veia cefálica foi canulada com cateter BD ANGIOCATH® 22” (Becton, Dickinson and Company do Brasil, Curitiba, PR) acoplado a um Bionector de pressão positiva (Vygon Ltd, Wiltshire, Inglaterra) e fixado com auxílio de esparadrapo. Após a instalação da

cânula, 1 ml de sangue foi coletado em tubo contendo 0,05 ml de fluoreto de sódio (LABTEST®, Lagoa Santa, MG), sendo esta amostra considerada a glicemia basal, no tempo zero - T0. O alimento foi oferecido aos cães, de modo a atender as necessidades energéticas e nutricionais de cães adultos, preconizadas pelo NRC (2006), sendo consumido em 5 minutos por todos os cães. Após foram iniciadas as coletas sequencias ao longo de 8 horas, nos tempos 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 e 480 min após o consumo do alimento. Após cada coleta o cateter foi lavado com solução heparinizada e antes de cada nova colheita, cerca de 0,3 ml de sangue foi descartado. Após as coletas, os tubos foram centrifugados a 1500 rpm durante 10 minutos e o plasma foi transferido para tubos tipo eppendorf de 1,5 ml devidamente identificados, resfriados entre 2 e 4°C e analisados na sequência.

Análise laboratorial

A glicose foi analisada pelo método colorimétrico enzimático conforme as indicações do fabricante (Wiener Lab Group, Rosário, Argentina). Todas as amostras foram avaliadas em duplicata em um analisador bioquímico automático (CM 200, Wiener Lab Group, Rosário, Argentina).

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Foram avaliadas as alterações na glicemia basal, glicemia média e máxima, o tempo para pico glicêmico e incremento máximo e médio de glicose calculado pela diferença entre a glicemia basal, no tempo zero, com os demais valores glicêmicos obtidos durante os 480 minutos de avaliação. As áreas das

curvas pós-prandiais de glicose de cada dieta foram comparadas pela área abaixo da curva (AAC) da dieta basal utilizando o método trapezoidal. Todos dados obtidos foram analisados utilizando-se os programas estatísticos “Statistical Analysis System” (SAS), versão 9.4 e o “Statistical Package For The Social Sciences” (SPSS / PASWSTAT), versão 18.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1: Ensaio de Digestibilidade

Os cães consumiram normalmente as dietas, sem apresentar recusa. Os pesos e os escores de condição corporal mantiveram-se estáveis durante o experimento. Não foram observadas alterações clínicas como vômito ou diarreia. Os exames laboratoriais iniciais e finais estavam dentro dos padrões normais para a espécie (Kantec, 2005). Os dados médios de consumo, coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e energia estão apresentados na Tabela 3.

O cálculo da ingestão energética dos cães foi baseado no fator de consumo conhecido previamente ($110 \text{ kcal/kg}^{0,75}$) e a EM das dietas foi estimada em 3400 kcal/kg. No final do ensaio e após as análises laboratoriais, o consumo foi recalculado com base nas energias medidas de cada dieta. Apesar da ingestão de MS ter sido igual entre os cães, algumas diferenças no consumo dos nutrientes foi percebida devido à diferença no fator de consumo. Os cães alimentados com a dieta contendo TC e TH associados apresentaram menor consumo de PB, FB e MM.

A presença de sorgo e TH não afetou o consumo das dietas, pois os cães ingeriram rapidamente todo o alimento oferecido. O mesmo foi observado por Kore et al. (2009) em experimento avaliando arroz, milho, sorgo e milheto, no qual os cães

consumiram todas as dietas da mesma forma, sem manifestar recusa ou deixar sobras. Em humanos, a inclusão de 15 a 30% de sorgo com alto teor de taninos na fabricação de pães e biscoitos não afetou a textura e o sabor desses produtos (Awika e Rooney, 2004).

Os efeitos dos taninos sobre o consumo voluntário não são consenso na literatura. A formação de complexos entre os taninos, proteínas salivares ricas em prolina (PRP) e o epitélio mucoso da cavidade oral ou a ligação direta dos taninos com os receptores gustativos contribuem para a adstringência (Araptisas, 2012). Mole et al. (1990) observaram que cães e gatos produziram pequena quantidade de PRP na saliva e que essas não apresentaram afinidade pelos taninos *in vitro*. Esse fato explicaria o consumo voluntário dos cães, pois não há precipitação do complexo tanino-PRP nem a sensação de adstringência. As PRP estão ausentes em animais que não consomem taninos regularmente, como os carnívoros, mas presentes em quantidades variadas em herbívoros, de acordo com a regularidade da exposição aos compostos (Mole et al., 1990).

O sorgo influenciou negativamente o CDA da MS, MO, PB, FB, ED e EM, sendo os menores valores correspondentes à dieta com T4. A dieta T2 apresentou menor CDA que a dieta T1 ou T3. Segundo McLeod (1974), os TC possuem maior poder inibitório sobre a atividade das enzimas do que os TH. Os TC presentes no sorgo da dieta T2 podem ter contribuído para a redução do CDA. Kore et al. (2009) encontrou resultados semelhantes em experimento avaliando diferentes cereais para cães, com o sorgo apresentando menor CDA da MS, MO, PB e FB.

Um dos fatores que afeta o CDA da MS e MO é o índice de gelatinização do amido. Os grânulos de amido absorvem água, incham, liberam parte da amilose, e tornam-se mais suscetíveis à degradação enzimática (Huack, 1994). A alta gelatinização

do amido determina uma melhor extrusão e um grânulo de melhor qualidade (Duarte et al., 2006). Neste experimento, o índice de gelatinização estava acima de 90% em todas as dietas experimentais (Tabela 2), indicando que a extrusão foi efetiva para permitir o acesso enzimático durante a digestão.

Algumas pesquisas sugerem que, durante o cozimento, os TC são modificados estruturalmente, sendo despolimerizados em oligômeros e monômeros, mantendo a estrutura básica estável (Lemlioglu-Austin et al., 2012; Silva et al., 2014). Há indícios que no intestino, os taninos se polimerizem novamente e se liguem às proteínas, formando compostos resistentes à digestão; assim chegam ao cólon e podem ou não ser degradados em fenóis mais simples (Scalbert e Williamsom, 2000; Jardini e Mancini Filho, 2007). Os taninos não digeridos permanecem no lúmen onde podem antagonizar os efeitos de substâncias pró-oxidantes produzidas durante o metabolismo da microbiota (Serrano et al., 2009). Saura-Calixto et al. (2006) observaram, *in vitro*, que as enzimas digestivas não foram capazes de liberar ou aumentar a bioacessibilidade de polímeros de TC da dieta de humanos, sugerindo que eles cheguem ao cólon inalterados. Outros achados sugerem que oligômeros de TC não são despolimerizados em monômeros em qualquer parte do trato gastrointestinal de ratos, apesar de traços de dímeros serem detectados na urina (Tsang et al., 2005). Ensaio *in vitro* utilizando TC altamente polimerizados, indicou que eles não foram afetados pela microbiota intestinal (Bravo, 1998).

A inclusão de TH na dieta T3 não afetou significativamente o CDA da PB quando comparado à dieta T1, mas foi maior que as dietas contendo sorgo, T2 e T4 ($P < 0,05$). Os TH interagem com proteínas formando ligações menos estáveis que os TC, sendo possível que a microbiota intestinal possa metabolizar os elagitaninos e

galotaninos ou que eles sejam realmente mais solúveis (Clifford e Scalbert, 2000). Dessa forma, os TH não apresentariam o mesmo impacto na digestibilidade que os TC. O intestino delgado é o principal local de absorção dos TH, sendo fermentados em menor quantidade no cólon (Bravo, 1998; Saura-Calixto et al., 2006). Segundo Hagerman et al. (1992) os TC reduziram a digestibilidade da proteína em ovelhas, enquanto os TH comerciais não apresentaram esse efeito.

Existem diferenças significativas no conteúdo e composição dos taninos presentes no sorgo em função da variabilidade genética e de condições ambientais. Essas diferenças influenciam o comportamento dos oligômeros e polímeros de tanino e seu impacto no valor nutricional do sorgo. Kaufman et al. (2013) estudando diferentes variedades de sorgo, observaram que a composição e o peso molecular dos taninos influem na capacidade de ligação com as kafirinas e na digestibilidade da proteína. Nesse estudo, as dietas contendo sorgo apresentaram menor ED e EM, estando de acordo com estudos anteriores (Towney et al., 2002). A ED e EM tendem a diminuir com o aumento do conteúdo de taninos nas dietas, através da formação de complexos com carboidratos, reduzindo a atividade das enzimas amilolíticas e o aproveitamento energético dos mesmos (Halley et al., 1986).

Schiavone et al. (2008) utilizando o mesmo produto ENC como fonte de TH, em frangos de corte, avaliaram a digestibilidade, crescimento e a qualidade da carcaça. Os níveis de inclusão de ENC nas dietas foram de 0,15%, 0,20% e 0,25%. Os resultados indicaram que os diferentes níveis de ENC não influenciaram a digestibilidade nem a qualidade da carcaça. O uso de ENC até 0,20% apresentou efeito positivo no crescimento em frangos jovens. Entretanto, houve aumento no percentual de MS das excretas, com consistência mais firme e redução da quantidade de água. Excretas mais

secas foram encontradas em patos alimentados com dietas suplementados com TC (Marzoni et al., 2005). Neste estudo, a inclusão de TH (T3) produziu o mesmo efeito nas fezes dos cães, reduzindo o conteúdo de água, característica desejada nas composições de dietas extrusadas. Porém, os TH parecem não potencializar o efeito quando acrescido à dieta T4, pois não houve diferença nas MS produzida por essa dieta em relação à T1 e T2.

Neste experimento os cães que consumiram a dieta T4 apresentaram maior produção de fezes, devido à menor digestibilidade do sorgo. Porém, o escore fecal médio não diferiu entre as dietas, resultando em fezes secas e firmes. Em experimento conduzido por Twomey et al. (2002), dietas à base de sorgo produziram fezes mais firmes que as dietas à base de arroz ($P > 0,05$), mas todas estavam dentro dos escore ideal. Towmey et al. (2003) avaliando dietas extrusadas não encontraram diferença no pH das fezes produzidas por cães alimentados com arroz e sorgo, mas foi observada diferença no escore fecal ($P < 0,05$), com o sorgo produzindo fezes mais firmes. Kore et al. (2009) não observaram diferenças no pH entre arroz e sorgo, mas sim maior produção de fezes pelos cães alimentados com sorgo. As características fecais e urinárias médias estão representadas na Tabela 4.

Não houve diferença significativa em relação às características urinárias entre as dietas. Downs et al. (2003) utilizando dietas com TC em roedores silvestres observaram a produção de urina mais alcalina, o que não ocorreu nesse estudo. Porém, as urinas e fezes das dietas contendo sorgo e TH (T2, T3 e T4) apresentaram coloração mais escura que a dieta com arroz (T1), indicando uma metabolização dos taninos e excretação de seus componentes na urina e fezes. Coelhos recebendo 50 mg de antocianinas (componente dos TC responsável pela coloração) por via oral produziram fezes

vermelhas e ratos que receberam 500 mg por via percutânea apresentaram pigmentos vermelhos na urina (Clifford, 2000). Da mesma forma, camundongos alimentados com suco de romã, rico em elagitaninos, excretaram ácido elágico na urina (Clifford & Scalbert, 2000).

Experimento 2: Avaliação da resposta glicêmica pós-prandial

A inclusão de sorgo e TH nas dietas não afetou a resposta glicêmica pós-prandial dos cães (Tabela 5). Carciofi et al. (2008), Bazolli (2007) e Silva Júnior et al. (2005) em estudos sobre a resposta glicêmica de cães, não encontraram diferenças significativas ($P > 0,05$) quanto à glicemia média e máxima entre arroz e sorgo.

O amido é o principal nutriente que modula a onda pós-prandial de glicose plasmática, sendo que a velocidade da digestão do amido influencia na intensidade da resposta glicêmica (Wolever e Bolognesi, 1996; Nguyen et al., 1998). O amido com alto conteúdo de amilose reduz a glicemia pós-prandial, pois as unidades de glicose estão unidas por ligações α 1-4 lineares dificultando sua hidrólise durante o processo digestivo. O teor de amilose no sorgo varia entre 23 e 30 % (Correia, 2010) e no arroz entre 15 e 30% (Bassinelo e Castro, 2004). Estudo recente demonstrou que os taninos presentes no sorgo podem, naturalmente, interagir fortemente com a amilose, formando o amido resistente (Barros et al., 2013). Além disso, os taninos possuem alta afinidade pelas kafirinas, que após o cozimento, formam ligações estáveis na matriz proteína-amido, reduzindo a liberação de glicose para a circulação (Duodu et al., 2002; Lemlioglu-Austin et al., 2012).

Estudos *in vitro* realizados por Tong et al. (2014) indicaram que 0,125 mg/mL de TH inibiram a α -amilase, reduzindo moderadamente a hidrólise enzimática do amido

em humanos. Essa ação é maior na ausência de proteínas, pois estas interferem na ligação dos TH com o amido devido a interações dos grupos galactose com os aminoácidos. Carciofi et al. (2008) e Silva Júnior (2005) verificaram que os picos glicêmicos ocorreram mais cedo para a dieta com arroz em relação à dieta com sorgo, pois o arroz possui alta digestibilidade. É preciso levar em consideração os demais fatores que influenciam na glicemia pós-prandial, como a natureza química do amido, especialmente a proporção amilose:amilopectina; teor de lipídeos, proteínas e fibra alimentar; captação de glicose nos tecidos e a ação de diversos hormônios.

Poquette et al. (2014) avaliaram o efeito do consumo de muffin com 50g de amido total, proveniente da farinha de sorgo integral (39,5% da preparação) sobre as respostas glicêmicas de homens adultos saudáveis. Houve redução da glicemia após 45 a 120min de ingestão e redução da área abaixo da curva de glicose. Os autores relacionam estes efeitos ao maior conteúdo de amido resistente e amido lentamente digerível no sorgo. Carciofi et al. (2008) encontraram maior incremento máximo de glicose plasmática do arroz em relação ao sorgo, mas sem diferença quanto ao incremento médio. Porém, esses autores utilizaram dietas com inclusão de 59,3% de sorgo e 45,7% de arroz, enquanto no presente experimento a inclusão de sorgo e arroz foi de 25% e 26,2% respectivamente, nas dietas T2 e T4, e 50,7% de arroz nas dietas T1 e T3, não apresentando diferenças significativas entre os incrementos de glicose plasmática ($P > 0,05$).

A inclusão de tanino não afetou a área abaixo da curva (ACC) da glicemia entre as dietas ($P > 0,05$), tanto a área total quanto a área calculada subtraindo a área de glicemia basal (Figura 1 e Figura 2). Bouchard e Sunvold (1999) trabalharam com diferentes fontes de carboidratos (milho, trigo, arroz, cevada e sorgo) para cães e

observaram que o arroz foi o ingrediente que proporcionou maior área abaixo da curva. Carciofi et al. (2008) não encontraram diferenças quanto a área total entre as dietas arroz e sorgo, mas no tempo acima de 30 minutos a área do sorgo foi maior que a do arroz, indicando a digestibilidade mais lenta e longa do sorgo (TC). Os autores utilizaram sorgo com 0,57% de taninos, não considerando seu efeito sobre a glicemia, mas sim a quantidade de fibra presente no sorgo e a interação entre proteína e amido como razões para a resposta pós-prandial.

Implicações

Os taninos, por muito tempo, estiveram associados a efeitos negativos no consumo alimentar e desempenho dos animais. Atualmente a sua presença em alguns grãos passou a ser associada à funcionalidade nutricional destes componentes, sendo atribuído efeitos benéficos em diversas espécies. A inclusão de 25% de sorgo junto a 26,2% de arroz resultou em dietas com 1,25% de TC, que apresentaram redução na digestibilidade proteica, ED e EM. O escore fecal foi mantido em bom padrão e houve escurecimento das fezes e urina dos animais que receberam sorgo e TH na dieta, evidenciando que existe excreção dos metabólitos constituintes. Os TH não alteraram a digestibilidade dos nutrientes e da energia, mas reduziram o conteúdo de água nas fezes, na dieta T3. Diante dos resultados deste estudo, o sorgo contendo tanino apresenta boa aplicabilidade na composição de dietas para cães, apesar de reduzir o conteúdo de EM. Pesquisas prévias com sorgo atribuem ao ingrediente a redução na glicemia pós-prandial. Tais efeitos não foram observados neste experimento. Estudos aprofundados para avaliar a absorção e metabolismo dos taninos e sua influência na digestibilidade dos nutrientes são importantes para elaboração de dietas específicas para cães.

LITERATURA CITADA

- AAFCO. 2008. Association of American Feed Control Officials: Official Publication. Association of American Feed Control Officials Incorporated. Oxford, IN, USA.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Offic. Anal. Chem. Arlington, VA.
- Arapitsas, P. 2012. Hidrolyzable tannin analysis in food: review. Food Chemistry. 135:1708-1717.
- Awika, J. M., L. W. Rooney. 2004. Sorghum phytochemicals e their potential impact on human health. Phytochemistry, 65:1199-1221.
- Barros, F., J. Awika, L. W. Rooney. 2013. Effect of molecular weight profile of sorghum proanthocyanidins on resistant starch formation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 94(6):1212-1217.
- Bassinello, P. Z., E. M. Castro. 2004. Arroz como alimento. Informe Agropecuário, 25(222):101-108. ok
- Bazolli, R. S. 2007. Influência do grau de moagem de ingredientes amiláceos utilizados em rações extrusadas sobre os aspectos digestibiso e respostas metabólicas em cães. PhD Diss. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP, Jaboticabal.
- Biagi, G., I. Cipollini, B. R. Paulicks, F. X. Roth. 2010. Effect of tannins on growth performance and intestinal ecosystem in weaned piglets. Archives of Animal Nutrition. 64(2):121–135.
- Bouchard, G. F., G. D. Sunvold. 1999. Improving canine glycemic response to a meal with dietary starch. Proc. Symp. North Am. Vet. Conf., Orlando, Flórida. 16–19.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews. 56(11):317-333.
- Carciofi, A. C., F. S. Takakura, L. D. Oliveira, E. Teshima, J. T. Jeremias, M. A. Brunetto, F. Prada. 2008. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 92:326–336.
- Clapper, G. M., C. M. Grieshop, N. R. Merchen, J. C. Russett, J. L. Brent Jr, G. C. Fahey Jr. 2001. Ileal and total tract nutrients digestibilities and fecal

- characteristics of dogs as affected by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. *Journal of Animal Science*. 79:1523-1532.
- Clifford, M. N. 2000. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric*. 80:1063-1072.
- Clifford, M. N., A. Scalbert. 2000. Ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden. *Sci Food Agric*. 80:1118-1125.
- Correia, A. I. L. 2010. Contribuição para a melhoria da qualidade nutricional do sorgo. PhD Diss. Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Costa, C. T. C., C. M. L. Bevilaqua, S. M. Morais, L. S. Vieira. 2008. Taninos e sua utilização em pequenos ruminantes. *Rev. Bras. Pl. Med*. 10(4):108-116.
- Dicko, M. H., H. Gruppen, A. S. Traoré, A. G. J. Voragen, W. J. H. Berkel. 2006. Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. *Afr. J. Biotechnol.*, Nairobi, v.5, n.5, p. 384-395.
- Downs, C. T., P. M. McDonad, K. Brown, D. Ward. 2003. Effects of Acacia Condensed Tannins on Urinary Parameters, Body Mass, and Diet Choice of an Acacia Specialist Rodent, *Thallomys Nigricauda*. *Journal of Chemical Ecology*. 29(4):845-858.
- Duarte, A., F. M. O. B. Saad, J. J. Corbim, J. W. Silva Júnior, D. A. R. Pereira, E. T. Fialho, P. B. Rodrigues. 2006. Nutritional evaluation of extruded cereals for dogs. *Ciênc. agrotec*. 30(6):1177-1183.
- Duodu, K.G., A. Nunes, L. Delgadillo, M. L. Parker, E. N. C. Mills, P.S. Belton, J. R. N. Taylor, 2002. Effect of grain organisational structure and cooking on sorghum and maize in vitro protein digestibility. *Journal of Cereal Science*. 35:161-174.
- Dykes, L., L. W. Rooney. 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science*. 44:236-251.
- Etuk, E. B., N. J. Okeudo, B. O. Esunu, A. B. I. Udedibie. 2012. Antinutritional factor in sorghum: chemistry, mode of action and effects on livestock and poultry. *Online J. Anim. Feed Res*. 2(2):113-119.
- Hagerman, A. E., C. T. Robbind, Y. Son, C. McArthur. 1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of range management*. 45(1):57-62.

- Halley, J. T., T. S. Nelson, L. K. Kirby, J. O. York. 1986. The effect of tannin content of sorghum grain in poultry rations on dry matter digestion and energy utilization. *Arkansas Farm Res.*35:8.
- Hauck, B. Extrusion cooking system. In: McELLINEY, R. R. Feed manufacturing technology IV. 1994. Arlington:VA, p.131-140.
- Jardini, F. A., J. Mancini Filho. 2007. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 43(1):137-147.
- Kantec, C. A. 2005. Manual de Hematologia Veterinária. 2nd ed. Varela, São Paulo, SP. 206p.
- Kaufman, R. C., T. J. Herald, S. R. Bean, J. D. Wilson, M. R. Tuinstra. 2013. Variability in tannin content, chemistry and activity in a diverse group of tannin containing sorghum cultivars. *J Sci Food Agric*, 93:1233–1241.
- Kore, K. B., A. K. Pattanaik, A. Das, K. Sharma. 2009. Evaluation of alternative cereal sources in dog diets: effect on nutrient utilisation and hindgut fermentation characteristics. *J Sci Food Agric.* 89:2174–2180.
- Kumari M., e Jain S. 2012. Tannins: An Antinutrient with Positive Effect to Manage Diabetes. *Res. J. Recent Sci.* 1(12):70-73.
- Kuntzel, A. 1954. Die quantitative Gerbstoffanalyse nach dem Filterverfahren. *Das Leder* 5:S28–S31.
- Laflamme, D. P. 1997. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Can. Prac.* 22:13-18.
- Lemlioglu-Austin, D., N. D. Turner, C. M. McDonough, L. W. Rooney. 2012. Effects of Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] Crude Extracts on Starch Digestibility, Estimated Glycemic Index (EGI), and Resistant Starch (RS) Contents of Porridges. *Molecules.* 17:11124-11138.
- Marzoni, M., A. Castillo, I. Romboli. 2005. Dietary inclusion of Quebracho (*Schopsis lorentzii*) tannins on productive performances of growing pheasant females. *Italian Journal of Animal Science.* 4(2):507-509.
- McLeod, M. N. 1974. Plant tannins - Their role in forage quality. *Nutr Abst Rev.* 44:803-812.

- Mole, S., L. G. Butler, G. Iason. 1990. Defense against dietary tannin in herbivores: a survey for proline rich salivary proteins in mammals. *Biochemical Systematics and Ecology*. 18(4):287-293.
- Nguyen, P., H. Dumon., V. Biourge, E. Pouteau. 1998. Glycemic and Insulinemic Responses after Ingestion of Commercial Foods in Healthy Dogs: Influence of Food Composition. *J. Nutr.* 128:2654S–2658S.
- NRC. 2006. Nutrient Requirements of dogs and cats. National Academy Press, Washington, DC.
- Poquette, N. M., X. Gu, S-O, Lee. 2014. Grain sorghum muffin reduces glucose and insulin responses in men. *Food & Function*. 5(5):894-899.
- Prosky, L., N. G. Asp, T. F. Schweizer, J. W. DeVries, I. Furda. 1992. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and foods products: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 75:360-367.
- Saura-Calixto, F., J. Serrano, I. Goi. 2006. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem.* 101:492–501.
- Scalbert, A., G. Williamson. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*. 130(8):2073S-2085S.
- Schiavone, A., K. Guo, S. Tassone, L. Gasco, E. Hernandez, R. Denti, I. Zoccarato. 2008. Effects of a Natural Extract of Chestnut Wood on Digestibility, Performance Traits, and Nitrogen Balance of Broiler Chicks. *Poultry Science*. 87:521–527.
- Serrano, J., R. Puupponen-Pimiã, A. Dauer, A-M. Aura, F. Saura-Calixto. 2009. Tannins: current knowledge and food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol. Nutr. Food Res.* 53:s310-s329.
- Silva, S. M., E. A. Koehnlein, A. Bracht, R. Castoldi, G. R. Morais, M. L. Baesso, R. A. Peralta, C. G. Souza, A. B. Sá-Nakanishi, R. M. Peralta. 2014. Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. *Food Research International*. 56:1–8.
- Silva Júnior, J. W., F. M. O. Borges, L. D. S. Murgas, A. G. Valério, G. C. Medeiros, R. Viana, L. M. S. Lima. 2005. Digestibility of diets with different sources of carbohydrates and your influence in the blood glucose and blood insulin in health dogs. *Ciênc. agrotec.* 29(2);436-443.

- Spears, J. K., C. M. Grieshop, G. C. Fahey. 2004. Evaluation of stabilized rice brans as an ingredient in dry extruded dog diets. *Journal of animal science*. 82:1122-1135.
- Tong, W. Y., H Wang, V. Y. Waisundara, D. Huang. 2014. Inhibiting enzymatic starch digestion by hydrolyzable tannins isolated from *Eugenia jambolana*. *LWT - Food Science and Technology*. 59 :389-395.
- Tsang, C., C. Auger, W. Mullen, A. Bornet, J. M. Rouanet, A. Crozier, P. L. Teissedre. 2005. The absorption, metabolism and excretion of flavan-3-ols and procyanidins following the ingestion of a grape seed extract by rats. *Br. J. Nutr.* 94:170-181.
- Twomey, L. N., D. W. Pethick, J. B. Rowe, M. Choct, J. R. Pluske, W. Brown, M. C. Laviste. 2002. The Use of Sorghum and Corn as Alternatives to Rice in Dog Foods. *American Society for Nutritional Sciences. J. Nutr.* 132: 1704S–1705S.
- Twomey, L. N., J. R. Pluske, J. B. Rowe, M. Choct, W. Brown, D. W. Pethick. 2003. The replacement value of sorghum and maize with or without supplemental enzymes for rice in extruded dog foods. *Animal Feed Science and Technology*. 108:61–69.
- Wolever, T. M. S., C. Bolognesi. 1996. Source and amount of carbohydrate affect postprandial glucose and insulin in normal subjects. *J. Nutr.* 126:2798-2806.

Tabela 1. Composição nutricional do grão de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench.)

Componentes (% na MS)	Sorgo
Matéria seca	86,9
Amido	63,6
Proteína bruta	7,59
Extrato etéreo	2,56
Cinzas	1,42
Fibra bruta	0,72
Energia bruta (kcal/kg)	4,446
Polifenóis taninos	4,8
Polifenóis não taninos	2,6

Tabela 2. Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais para cães

Ingredientes, g/kg	Tratamentos			
	Arroz (T1)	Arroz e sorgo (T2)	Arroz e TH ¹ (T3)	Arroz, sorgo e TH ¹ (T4)
Quirera de arroz	50,7	26,2	50,7	26,2
Sorgo	0,00	25,0	0,00	25,0
Tanino hidrolisável	0,00	0,00	0,10	0,10
Farelo de trigo	14,00	14,00	14,00	14,00
Farinha de vísceras de aves	11,1	11,4	11,1	11,4
Farinha de carne e ossos	8,00	8,00	8,00	8,00
Gordura de aves	6,00	5,81	6,00	5,81
Protenose	5,00	5,00	5,00	5,00
Palatabilizante DTECH 8L	1,50	1,50	1,50	1,50
Celulose	1,17	1,15	1,17	1,15
Linhaça grão	1,00	1,00	1,00	1,00
Óleo de soja	0,52	0,00	0,52	0,00
Premix mineral/vitamínico*	0,40	0,40	0,40	0,40
Sal comum	0,38	0,38	0,38	0,38
Cloreto de potássio	0,17	0,07	0,17	0,07
Amido	0,10	0,10	0,00	0,00
Composição química (% na MS)				
Matéria seca	91,6	87,0	88,2	90,3
Amido	39,6	38,0	39,6	37,7
Proteína bruta	19,5	20,7	21,5	18,8
Extrato etéreo hidrólise ácida	8,99	8,71	9,05	10,9
Matéria mineral	6,34	7,11	7,54	7,39
Fibra bruta	3,64	4,21	3,64	4,13
Fibra dietética total	22,5	21,2	22,5	22,7
Energia bruta (kcal/kg)	4903	4881	4799	4815
Índice de gelatinização do amido, %	92,0	91,3	90,2	92,3

¹TH=taninos hidrolisáveis.

*Enriquecimento por por quilo de produto: Vitamina A (10800 UI), Vitamina D3 (980 UI), Vitamina E (60 mg), Vitamina K3 (4,8 mg), Vitamina B1 (8,1 mg), Vitamina B2 (6 mg), Vitamina B6 (6 mg), Vitamina 12 (30 mcg), Ácido Pantotênico (12 mg), Niacina (60 mg), Ácido Fólico (0,8 mg), Biotina (0,084 mcg), Manganês (7,5 mg), Zinco (100 mg), Ferro (35 mg), Cobre (7 mg), Cobalto (10 mg), Iodo (1,5 mg), Selênio (0,36 mg), Colina (2400 mg), Taurina (100 mg), Antioxidante BHT (150 mg).

Tabela 3. Consumo diário médio, coeficiente de digestibilidade aparente médio e energia metabolizável média dos cães alimentados com as dietas experimentais.

Dietas experimentais						
Item	Arroz (T1)	Arroz e Sorgo T2)	Arroz e TH ¹ (T3)	Arroz, Sorgo e TH ¹ (T4)	P	EPM ²
Consumo diário de nutrientes, g						
Matéria seca	205	198	197	198	0,4222	4,99
Matéria orgânica	192	184	182	183	0,2664	5,00
Extrato etéreo	18,4 ^a	17,3 ^a	17,8 ^a	21,5 ^b	0,0006	0,94
Proteína bruta	39,9 ^a	41,1 ^a	42,3 ^a	36,9 ^b	0,0137	8,08
Fibra bruta	27,9 ^a	26,7 ^a	23,9 ^b	23,0 ^b	0,0041	1,54
Fibra dietética total	50,3	48,4	50,2	50,2	0,7684	1,53
Matéria mineral	13,0 ^a	14,1 ^{ab}	14,8 ^b	14,6 ^b	0,0162	17,1
Energia digestível	905	880	878	824	0,2371	17,1
Fator de consumo	139 ^a	137 ^a	132 ^a	124 ^b	0,0220	3,00
Coeficiente de digestibilidade aparente, %						
Matéria seca	81,3 ^a	78,5 ^{ab}	81,2 ^a	77,1 ^b	0,0017	1,56
Matéria orgânica	84,9 ^a	82,0 ^b	85,3 ^a	81,2 ^b	0,0009	1,45
Extrato etéreo	92,6	89,4	92,7	82,1	0,2225	0,48
Proteína bruta	84,8 ^{ab}	82,1 ^b	86,8 ^a	80,1 ^b	<0,0001	1,74
Fibra bruta	31,5 ^a	31,0 ^a	36,8 ^b	35,1 ^b	0,0011	1,39
Matéria mineral	28,9	33,0	30,9	25,9	0,2260	3,96
Energia bruta	85,0 ^a	82,2 ^b	85,1 ^a	81,0 ^b	0,0006	1,57
Valor nutricional, kcal/kg						
EM ³	4038 ^a	3864 ^b	3932 ^{ab}	3762 ^{bc}	0,0008	76,5

¹Taninos hidrolisáveis, ²Erro padrão da média; ³Energia metabolizável. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer (P < 0,05).

Tabela 4. Características fecais e urinárias médias dos cães alimentados com as dietas experimentais.

Dietas experimentais						
Item	Arroz (T1)	Arroz e Sorgo (T2)	Arroz e TH ¹ (T3)	Arroz, Sorgo e TH ¹ (T4)	<i>P</i>	EPM ²
Características fecais						
Fezes Totais MS ³ %	39,0 ^a	38,0 ^a	41,1 ^b	38,0 ^a	<0,0044	0,91
Fezes g/d (MN ⁴)	98,4 ^{ab}	112 ^{ab}	90,7 ^b	120 ^a	<0,0059	11
Fezes g/d (MS ³)	38,1 ^{ab}	42,4 ^{ab}	37,3 ^b	45,3 ^a	<0,0115	3,29
pH Fezes frescas	6,69	6,60	6,73	6,60	0,8150	0,06
Escore fecal ⁵ (1 a5)	2,10	2,10	2,10	2,05	0,2272	0,08
Características urinárias						
Urina Total MS ³ %	3,74	4,85	3,56	3,75	0,9564	0,51
PB ⁶ urina (MS ³ %)	8,08	10,15	8,57	8,23	0,6483	0,66
PB urina g/d (MN ⁴)	11,8	12,6	12,9	11,6	0,9304	1,59
EB ⁷ urina (kcal/d)	27,5	29,5	30,2	27,9	0,9516	3,82
pH urina fresca	7,41	7,22	7,42	7,43	0,3731	0,27

¹Taninos hidrolisáveis, ²Erro padrão da média. ³Matéria seca; ⁴Matéria natural; ⁵Escore fecal: (1)fezes muito duras e ressequidas; (2)fezes duras, secas, firmes; (3)fezes macias, úmidas, bem formadas; (4)fezes macias, sem forma definida, pudim; (5)fezes líquidas, diarreia; ⁶Proteína bruta; ⁷Energia bruta total da coleta em 5 dias. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 5. Áreas abaixo da curva (AAC) médias e características glicêmicas pós-prandiais médias dos cães alimentados com as dietas experimentais

Item	Dietas experimentais				<i>P</i>	EPM ²
	Arroz (T1)	Arroz e Sorgo (T2)	Arroz e TH ¹ (T3)	Arroz, Sorgo e TH ¹ (T4)		
AAC ³ total (0-480) mg/dL/min	38554	40350	41910	39615	0,37	705
AAC ³ (30-300) mg/dl/min	16209	17182	18564	15936	0,07	1303
Glicemia basal (mg/dL)	79,6	78,2	80,7	80,0	0,88	0,53
Glicemia máxima (mg/dL)	92,6	99,7	102	97,2	0,42	2,01
Glicemia média (mg/dL)	79,8	83,1	85,9	82,2	0,34	1,26
Glicemia mínima (mg/dL)	71,6	68,7	74,1	71,2	0,44	1,11
Incremento glicêmico máximo (mg/dL)	13,0	21,0	21,5	17,2	0,56	1,97

¹Taninos hidrolisáveis, ²Erro padrão da média. ³Área abaixo da curva.

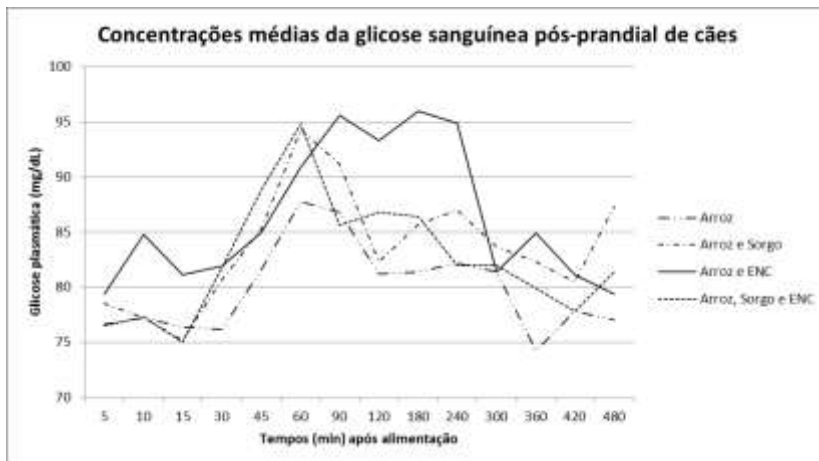


Figura 1. Curvas glicêmicas pós-prandiais médias (mg/dL) dos cães alimentados com as dietas experimentais.

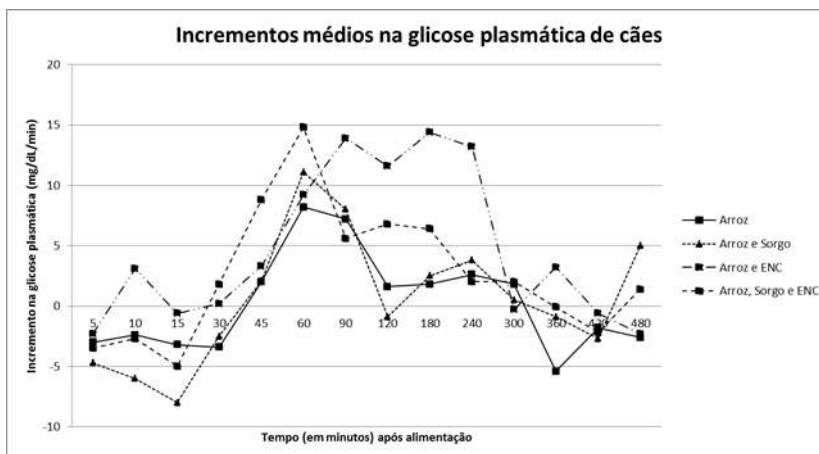


Figura 2. Incremento médio de glicose plasmática (mg/dL/min) de cada dieta experimental.

CAPÍTULO III

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de sorgo possui grande expressão econômica mundial, sendo destinada tanto à alimentação humana quanto animal. O sorgo tem alta produtividade por hectare, é adaptado a regiões com baixo índice pluviométrico, é resistente a insetos, fungos e pássaros, possui bom valor nutritivo e baixo custo de produção. Segundo a EMBRAPA, o sorgo produzido no Brasil é todo destinado à alimentação animal. Porém, a digestibilidade inferior do sorgo comparativamente a outros cereais parece ser um obstáculo para sua difusão como fonte de energia e nutrientes. A presença de taninos condensados, que protegem o grão do ataque de pássaros, insetos e herbívoros, causa sabor adstringente, reduzindo o consumo voluntário dos animais. Os taninos também reduzem a atividade de enzimas e a digestibilidade de proteínas e carboidratos. Por isso, cultivares sem taninos têm sido desenvolvidos para evitar os efeitos antinutricionais e estimular o uso desse cereal.

Pesquisas recentes têm relacionado o consumo de sorgo com benefícios à saúde, pelo seu baixo índice glicêmico e capacidade de aumentar a saciedade, podendo ser utilizado no tratamento da obesidade e diabetes. Além disso, não possui glúten sendo recomendado na elaboração de produtos alimentícios como *snacks* e pães para pessoas intolerantes ainda com pouco significado em dietas animais. O sorgo, na alimentação de cães, participa como uma fração dos carboidratos presentes em dietas secas classificadas como econômicas, como forma de reduzir os custos de produção. Poucas pesquisas têm verificado a possibilidade do uso de sorgo como única fonte de amido em dietas balanceadas para cães, e os resultados desses estudos não levam em consideração a análise específica dos taninos presentes, mas somente comparam o sorgo com outros cereais.

Estudos prévios com diferentes espécies animais indicam que dietas com sorgo apresentam menor digestibilidade quando comparadas a dietas com arroz e milho. A presença de taninos tem sido associada à redução de atividade de enzimas digestivas e à precipitação de proteínas, prejudicando o desempenho dos animais. Estudos indicam que o sorgo modula o metabolismo da glicose em animais e humanos produzindo níveis glicêmicos pós-prandiais mais estáveis e duradouros, característica importante para ingredientes destinados a alimentos funcionais de alta qualidade para cães.

Diante dessas evidências, buscou-se verificar quais alterações a associação do sorgo com o arroz apresentaria na digestibilidade e glicemia em cães alimentados com dietas extrusadas e qual o impacto dos taninos condensados presentes no sorgo nestas alterações. Os taninos hidrolisáveis foram acrescidos às dietas para observar seus efeitos e comparar com os taninos condensados. Pesquisas anteriores sugerem a redução da umidade das excretas de aves e fezes de suínos suplementados com ácido tânico. Em cães, a consistência das fezes é um importante fator para a indústria de alimentos para esses animais. Fezes firmes e secas são desejadas pelo consumidor, pela facilidade na higienização do ambiente.

Pouco se sabe sobre a absorção e metabolismo dos taninos e seus efeitos no organismo animal. Pesquisas têm indicado que entre as variantes

que podem influir nos efeitos dos taninos, estão conformação, peso e o tamanho molecular e tipo de ligações existentes entre as moléculas. A capacidade de complexar com outros compostos, também depende de fatores como a estrutura do composto em questão, a afinidade entre as partículas, o pH do meio e a presença de inibidores ou facilitadores. Além disso, as características genéticas inerentes a cada espécie animal devem ser levadas em consideração.

Alguns efeitos positivos dos taninos na saúde humana e animal já são conhecidos através de pesquisas *in vitro* e *in vivo*. Ação antiparasitária, cicatrizante, antioxidante, antimicrobiana, antiviral e antimutagênica, prevenção de doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes mellitus estão entre os mais pesquisados. A redução da energia metabolizável em dietas terapêuticas pode ser alcançada com a utilização do sorgo, sendo importante observar a necessidade da suplementação com proteínas de alta digestibilidade, uma vez que a extrusão do sorgo pode prejudicar a biodisponibilidade das mesmas.

Os resultados obtidos neste experimento, com inclusão de 25% sorgo com taninos condensados e 0,10% de tanino hidrolisável nas dietas à base de arroz, apontaram para a redução da digestibilidade dos nutrientes e da energia destas dietas em relação à dieta somente com arroz. No entanto, essa inclusão sorgo não afetou o consumo e a digestibilidade média das dietas permaneceu dentro dos limites preconizados pela ABINPET (Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação), para dietas *premium* (MS \geq 78%; PB \geq 78% e EEHA \geq 85%) e *super premium* (MS \geq 83%; PB \geq 83% e EEHA \geq 90%), demonstrando a potencialidade do uso do sorgo em dietas mais elaboradas. Não houve alteração do escore fecal dos cães, porém a dieta com sorgo produziram maior quantidade de fezes. Apesar de não ter sido realizado ensaio sobre odor das fezes, observou-se que houve redução importante no odor das fezes dos cães que ingeriram as dietas contendo sorgo. A coloração das dietas, fezes e urina, tornaram-se mais escuras, indicando que houve metabolização dos taninos e que alguns compostos simples foram excretados. Os resultados indicaram que não houve influência da inclusão de sorgo e de taninos hidrolisáveis na glicemia pós-prandial dos cães. No entanto, a real influência dos taninos na digestibilidade do sorgo precisa ser melhor pesquisada.

Outro ponto importante a considerar é a falta de padronização das técnicas utilizadas para a análise e caracterização dos taninos, não havendo consenso entre os autores. Alguns classificam conforme a solubilidade, enquanto outros levam em consideração a estrutura química, com subdivisões entre os constituintes. Por serem moléculas complexas, há reatividade cruzada entre diferentes compostos, com respostas inespecíficas. Poucos laboratórios no Brasil dispõem de equipamentos e técnicas adequadas para análises dos taninos condensados e hidrolisáveis presentes em amostras oriundas de ensaios de digestibilidade animal. Uma primeira avaliação de amostras das dietas experimentais submetidas a um laboratório privado, não apresentou resultados confiáveis. No momento, a análise dos taninos condensados das amostras das dietas deste ensaio está sendo realizada em um laboratório da Universidade de São Paulo. A análise de taninos hidrolisáveis ainda não realizada e aguarda um laboratório adequado e que aceite as amostras.

Um experimento similar a este, utilizando dietas à base de milho com os mesmo níveis de inclusão do sorgo e taninos hidrolisáveis foi executado e está em fase de análises laboratoriais. Os resultados podem produzir diferentes respostas quanto à digestibilidade e glicemia e oferecer novos dados para comparação e questionamentos.

Diante do acima exposto, novos estudos sobre possibilidade de utilização do sorgo na alimentação de cães devem ser realizados de forma mais abrangente. Para isso, é importante conhecer todas as etapas do metabolismo dos taninos *in vivo*, seus efeitos positivos e negativos, e níveis seguros de inclusão em dietas para cães. Além disso, é importante verificar a real participação dos compostos fenólicos nos resultados encontrados e a interação positiva ou negativa com demais componentes do sorgo, como qualidade das fibras, presença de amido e kafirinas.

5.REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABINPET - Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. **Manual do programa integrado de qualidade pet**. São Paulo, 2009. p. 24-25.
- ANNISOM, G.; TOPPING, D.L. Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs. physiological function. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 14, p. 297-320, 1994.
- ARAPITSAS, P. Hydrolyzable tannin analysis in food. **Food Chemistry**, London, v. 135, p. 1708-1717, 2012.
- ARCHELA, E.; DALL'ANTONIA, L. H. Determinação de compostos fenólicos em vinho: uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 193-210, 2013.
- AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Sorghum phytochemicals e their potential impact on human health. **Phytochemistry**, London, n. 65, p. 1199-1221, 2004.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.15, n.1, p. 63-72, 2004.
- BAZOLLI, R. S. **Influência do grau de moagem de ingredientes amiláceos utilizados em rações extrusadas sobre os aspectos digestivos e respostas metabólicas em cães**. 2007. 82p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,UNESP, Jaboticabal, 2007.
- BEELEN, P. M. G.; PEREIRA FILHO, J. M.; BEELEN, R.N. **Avaliação de taninos condensados em plantas forrageiras**. Brasília: Associação Brasileira de Zootecnistas, 2008. Disponível em: <<http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/palestras/4256-Avaliacao-de-Taninos-Condensados-em-Plantas-Forageiras.html>>. Acesso em: 23 fev. 2015.
- BORGES, F. M. O. Utilização do sorgo em alimentos para animais de estimação. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Uberlândia. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p. 39-48.
- BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, Washington, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.
- BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. 2. ed. Campinas:Colégio Brasileiro de Nutrição, 2010. p. 212-215.
- CAPRILES, V. D.; GUERRA-MATIAS, A.C.; ARÊAS, J. A. G. Marcador in vitro da resposta glicêmica dos alimentos como ferramenta de auxílio à prescrição e

avaliação de dietas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 22, n. 4, p. 549-557, 2009.

CARCIOFI, A. C. et al. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, n. 92, p. 326–336, 2008.

CASE, L. P. **Canine e feline nutrition: a resource for companion animal professionals**. 3 ed. Philadelphia: Mosby, 2011. p. 75-79.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R.; *Bioquímica ilustrada*. 2 ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996. p. 125-133.

CLIFFORD, M. N. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, n. 80, p. 1063-1072, 2000.

COELHO, C. P. **Desempenho de ovinos da raça Santa Inês alimentados com silagens com diferentes concentrações de tanino**. 2007. 50p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2007.

CORDER, L. M. Sorgo. IN: *PERSPECTIVAS para a agropecuária*. Safra 2014/2015. Brasília: CNAB, 2014. v.2, p.147-155.

CORREIA, A. I. L. **Contribuição para a melhoria da qualidade nutricional do sorgo**. 2010. 260p. Dissertação (Doutorado em Bioquímica) - Universidade de Aveiro, Portugal, 2010.

COSTA, G. et al. Salivary Amylase Induction by Tannin-Enriched Diets as a Possible Countermeasure Against Tannins. **Journal of Chemical Ecology**, New York, n. 34, p.376–387, 2008.

DICKO, M. H. et al. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, London, v.1, n.1, p. 21-38, 2006.

DUARTE, A. et al. Avaliação nutricional de cereal extrusado para cães. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1177-1183, 2006.

DUODU, K. G. et al. Effect of grain organisational structure and cooking on sorghum and maize in vitro protein digestibility. **Journal of Cereal Science**, London, n. 35, p. 161-174, 2002.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 181-201, 2011.

EGGUM, B. O. et al. Nutritional quality of sorghum foods from Sudan. **Journal of Cereal Science**, London, v.1, p.127-137, 1983.

ELKIN, R. G.; FEATHERSTON, W. R.; ROGLER, J. C. Investigations of Leg Abnormalities in Chicks Consuming High Tannin Sorghum Grain Diet. **Poultry Science**, Oxford, n.57, p. 757-762, 1978.

ELKIN, R. G.; ROGLER, J. C. Comparative Effects of Dietary Tannins in Ducks, Chicks, and Rats. **Poultry Science**, Oxford, n. 69, p.1685-1693, 1990.

EMMAMBUX, N. M.; TAYLOR, J. R. N. Sorghum kafirin interaction with various phenolic compounds. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, n. 83, p.402-207, 2003.

FIALHO, E.T.; BARBOSA, H.C. **Utilização de sorgo em rações para suínos e aves**. Sete Lagoas: EMBRAPA - CNPMS, 1992. 19p.

FIALHO, E.T. et al. Substituição do milho pelo sorgo sem tanino em rações de leitões: digestibilidade dos nutrientes e desempenho animal. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 105-111, 2002.

FRAILHA, M. Benefício do investimento energético na redução do tamanho de partículas na alimentação animal. In: SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 9, 2005, Bauru. **Anais...** Bauru, 2005.

FURLAN, A. C. et al. Avaliação nutricional da silagem de grãos úmidos de sorgo de baixo ou de alto conteúdo de tanino para coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 775-784, 2006.

FRUTOS, P. et al. Review: Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madri, v. 2, n. 2, p. 191-202, 2004.

HAGERMAN, A. E. et al. Tannin chemistry in relation to digestion. **Journal of Range Management Archive**, Tucson. n. 45, p. 57-62, 1992.

HAMAKER, B. R.; BUGUSU, B. A. Overview: sorghum proteins and food quality. **AFRIPRO workshop on the protein of sorghum and millets: enhancing nutritional and functional properties for Africa**. Pretoria, South Africa. Disponível em: <<http://www.afripro.org.uk/papers/paper08hamaker.pdf>>. Acesso em: 05 mai.2015.

HAUCK, B. Extrusion cooking system. In: FEED manufacturing technology IV. Arlington:VA, 1994. p.131-140

HOSTE, H. et al. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends Parasitology**, Cambridge, v. 22, n. 6, p. 253-261, 2006.

ISOGAI, E. et al. Inhibitory Effect of Japanese Green Tea Extracts on Growth of Canine Oral Bacteria. **Bifidobacteria Microflora**, Kioto, v. 11, n. 2, p. 53-59, 1992.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 137-146, 2007.

JASMAN, A. J. M. Tannins in feedstuffs for simple stomached animals. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, n. 6, p. 209-236, 1993.

JENKINS, D. J. et al. Glicemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. **Journal Clinica Nutrition**, New York, v. 34, p. 362-366, 1981.

KAHN, B. B.; FLIER, J. S. Obesity and insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, London, v.6, n. 4. p. 473-481, 2000.

KAUFMAN, R. C. et al. Variability in tannin content, chemistry and activity in a diverse group of tannin containing sorghum cultivars. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, n. 93, p. 1233–1241, 2013.

KHANBABAEE, K.; REE, T. Tannins: classification and definition. **Natural Product Reports**, London, n. 18, p. 641-649, 2001.

KIM, J.; PARK, Y. Anti-diabetic effect of sorghum extract on hepatic gluconeogenesis of streptozotocin-induced diabetic rats. **Nutrition & Metabolism**, London, v. 9, n. 106, p. 1-7, 2012.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger - Princípios de Bioquímica. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

KLEIN, G, et al. Antidiabetes and Anti-obesity Activity of Lagerstroemia speciosa. **Evid Based Complement Alternat Med**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 401–407, 2007.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, n. 79, p. 727–747, 2004.

MARZONI, A.; CASTILLO, A.; ROMBOLI, I. Performances of growing Muscovy ducks fed on diets supplemented with Quebracho tannin powder. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON THE QUALITY OF POULTRY MEAT, 17., 2005, Doorwerth, The Netherlands, 2005. **[Proceedings]**. Doorwerth, 2005. p. 23-26

MATSUOKA, T. A. et al. Glycation-dependent, reactive oxygen species-mediated suppression of the insulin gene promoter activity in HIT cells. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven n. 99, p. 144 –150. 1997.

MESA-STONESTREET, N. J.; ALAVI, S.; BEAN, S, T. Sorghum proteins: the concentration, isolation, modification, and food applications of kafirins. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 75, n. 5, p. 132-140, 2010.

MIN, B. R.; BARRY, T. N.; ATTWOOD, G. T.; McNABB, W. C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Tecnology**, Amsterdam, n. 106, p. 3-19, 2003.

MOLINA, L. R. et al. Parâmetros de degradabilidade potencial da matéria seca e da proteína bruta das silagens de seis genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor*

(L.) Moench), com e sem tanino no grão, avaliados pela técnica in situ. **Revista Brasileira de Zootec.**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 222-228, 2003.

MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOTILVA, M. J. et al. Effect of extracts from bean (*Phaseolus vulgaris*) and field bean (*Vicia faba*) varieties on intestinal D-glucose transport in rat in vivo. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 34, n. 3, p. 239–246, 1983.

MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, n. 86, p. 2010-2037, 2006.

MURRAY, S. M. et al. Evaluation of Selected High-Starch Flours as Ingredients in Canine Diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, n. 77, p. 2180–2186, 1999.

NYAMAMBI, B. et al. Intestinal growth and function of broiler chicks fed sorghum based diets differing in condensed tannin levels. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v. 37, n. 3, p. 202-214, 2007.

NGUYEN, P. et al. Glycemic and Insulinemic Responses after Ingestion of Commercial Foods in Healthy Dogs: Influence of Food Composition. **Journal of Nutrition**, Springfield, n. 128, p. 2654S–2658S, 1998.

NRC. **Nutrient Requirements of dogs and cats**. Washington, DC: National Academy Press,. 2006.

OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes-revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2007.

OLIVEIRA, K. et al. Valor nutritivo e estudo cinético do trato digestivo de dietas contendo grãos secos ou ensilados de sorgo de baixo e alto tanino para equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Lavras, v. 36, n. 6, p. 1809-1819, 2007.

ORIA, M. P.; HAMAMER, B. R.; SHULL, J. M. Resistance of sorghum alfa-, beta- and gamma- kafirins to pepsin digestion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.43, p.2148-2153, 1995.

PINENT, M. et al. Grape Seed-Derived Procyanidins Have an Antihyperglycemic Effect in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats and Insulinomimetic Activity in Insulin Sensitive Cell Lines. **Endocrinology**, New York, v. 145, n. 11, p. 4985–4990. 2004.

PREVOLNIK, M. et al. Supplementing pig diet with 0,2% sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood extract had no effect on growth, carcass or meat quality. **Acta agriculturae Slovenica**, Ljubljana, n. 3, p. 83–88, 2012.

QUEIROZ, V. A. V. et al. Potencial funcional e tecnologia de processamento do sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], para alimentação humana. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 10, n. 3, p. 180-195, 2011.

REED, J. D. Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes. **Journal of Animal Science**, Champaign, n. 73, p. 1516-1528, 1995.

RODRIGUES, L.R.; SILVA, P. R. F. **Indicações técnicas para o cultivo do milho e do sorgo no Rio Grande do Sul: Safras 2011/2012 e 2012/2013**. Porto Alegre: Fepagro, 2011. 140p.

RODRIGUES, D. F. et al. The bark extract of *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville in skin wound healing in animals. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, n. 16; p. 1583-1601, 2013.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3 ed. Viçosa, MG: UFV:DZO, 2011. 252 p.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, London, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SAMANTA, A. et al. Impact of Tannic Acid on the Gastrointestinal Microflora. **Microbial Ecology in Health and Disease**, Stockholm, n.16, p. 32-34, 2004.

SANTIDRIAN, S.; MARZO. Effect of feeding tannic acid and kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) on the intestinal absorption of D-galactose and L-leucine in chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 47, n. 4, p. 435–442, 1989.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, n. 80, p. 1094-1117, 2000.

SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet, **Food Chemistry**, Barking, n.101, p. 492–501, 2007.

SERRANO, J. et al. Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, n. 53, p. 310–329, 2009.

SHULL, J. M.; WATTERSON, J. J.; KIRLEIS, A. W. Purification and immunocytochemical localization of kafirins in *Sorghum bicolor* (L.) Moench endosperm. **Protoplasma**, New York, v.171, p.64-74, 1992.

SILVA, J. H. V. et al. Digestão e absorção de carboidratos. In: **NUTRIÇÃO de não-ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p. 47-61. 2014a.

SILVA, S. M. et al. M. Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Food Research International**, Ottawa, n. 56, p. 1–8, 2014b.

SILVA JÚNIOR, J. W. et al. Digestibilidade de dietas com diferentes fontes de carboidratos e sua influência na glicemia e insulunemia de cães. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 436-443, 2005.

SOARES, M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas niágara e isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 059-064, 2008.

TARDIN, A. C. Dietas com alta proteína e gordura na alimentação de cães e gatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E ALIMENTOS PARA CÃES E GATOS, 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: Ed. UFLA, 2002. p. 37-46.

TAYLOR, J. R. N.; SCHUSSLER, L.; LIEBENBERG, N. V. D. W. Protein body formation in the starchy endosperm of developing *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds. **South African Journal of Botany**, Pretória, v.51, n.1, p.81-86, 1995.

THOMPSON, L. U.; YOON, J. H.; JENKIS, D. J. A.; WOLEVER, T. M. S.; JENKINS, A, L. Relationship between polyphenol intake and blood glucose response of normal and diabetic individuals. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, n. 39, p. 745-751, 1984.

TWOMEY, L. N.; PETHICK, D. W.; ROWE, J. B.; CHOCT, m; PLUSKE, J. R.; BROWN,W.; LAVISTE, M. C. The Use of Sorghum and Corn as Alternatives to Rice in Dog Foods. **Journal of Nutrition**, Springfield, n. 132, p. 1704–1705, 2002.

WOLEVER, T. M. S.; BOLOGNESI, C. Source and amount of carbohydrate affect postprandial glucose and insulin in normal subjects. **Journal of Nutrition**, Springfield, n. 126, p. 2798-2806, 1996.

WONG, J. M. W.; JENKINS, D. J. A. Carbohydrate Digestibility and Metabolic Effects. **Journal of Nutrition**, Springfield, n. 137, p. 2539S–2546S, 2007.

6. APÊNDICES

Apêndice – Normas para redigir o capítulo II e III

INSTRUCTIONS TO AUTHORS *Journal of Animal Science* (REVISED 2012)

The Instructions for Authors to the *Journal of Animal Science (JAS)* is divided into 2 sections:

- I. Manuscript Preparation, which gives the Style and Form to be used by authors in the preparation of manuscripts; and
- II. Policies and Procedures of JAS, which provides details concerning the mission of JAS, contact information, care and use of animals, the types of articles accepted by JAS, submitting manuscripts to JAS (including copyright policies), the review procedures and policies, and papers in press, author proofs, and publication charges.

I. MANUSCRIPT PREPARATION (STYLE AND FORM)

The most important thing you can do as you prepare your manuscript is to consult a recent issue of *JAS* in terms of the acceptable format for headings, title page, Abstract, Key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion (or combined Results and Discussion), Literature Cited, and tables and figures (including figure captions), which are described in more detail below. **Failure to adhere to the style and form will result in immediate rejection of the manuscript.**

General. Papers must be written in English and must use the American spelling and usage as well as standard scientific usage, as given in the following online resources:

- For general style and form, authors should follow that recommended in *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*. 7th ed. Council of Science Editors, Reston, VA.
- For American English spelling and usage: *Merriam-Webster Online* (<http://www.m-w.com/>).
- For numbers usage, consult the **Policies Regarding Number Usage** later in this document.
- For SI units, the following site (National Institute of Standards and Technology) provides a comprehensive guide: <http://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>
- For capitalization and spelling of plants, consult the USDA Plants website (<http://plants.usda.gov>).
- For anatomical nomenclature, consult the current *Nomina Anatomica Veterinaria* (http://www.wava-amav.org/Downloads/nav_2005.pdf).

Manuscripts should be prepared double-spaced in Microsoft Word, with lines and pages numbered consecutively, using Times New Roman font at 12 points. Special characters (e.g., Greek and symbols) should be inserted using the symbols palette available in this font. Complex equations should be entered using Math-Type. Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscript (not placed in the text). Authors should prepare their manuscript in Microsoft Word and upload the manuscripts using the fewest files possible to facilitate the review and editing processes.

Manuscripts should contain the following sections (Appendices or Online-Only Data Supplements, described below, are optional), in this order:

Title Page. The title page includes a running head (the first word only and any proper nouns capitalized and no more than 45 characters plus spaces); the title (only the first word and any proper nouns capitalized, as brief as possible, and including the species involved); names of authors (e.g., T. E. Smith; no title, positions, or degrees) and institutions, including the department, city, state or country (all with first letters capitalized), and ZIP or postal code. Affiliations are footnoted using the symbols *, †, ‡, §, #, ||, ¶ and are placed below the author names. Footnotes on the first page (present address, and e-mail address of the corresponding author) are referenced by superscript numbers. Acknowledgments, including acknowledgements of grants, experiment station, or journal series number, are given as a footnote to the title. Authors who hold patents related to the research presented in the manuscript should include a statement in a footnote.

Abstract. The abstract consists of no more than 2,500 keystrokes (characters plus spaces) in one paragraph and summarizes the pertinent results (with statistical evidence; i.e., *P*-values) in a brief but understandable form, beginning with a clear statement of the objective and ending with the conclusions, with no references cited. Abbreviations in the abstract that are not **Standard JAS abbreviations** must be defined at first use.

Key Words. List up to 6 key words or phrases including the species, variables tested, and the major response criteria. The first letter of each key word is lowercase (unless a proper noun); key words are separated by commas and presented in alphabetical order; and no abbreviations should be used. Because major words in the title are not used for the subject index, which is published in the last issue of each volume of *JAS*, appropriate words from the title (or synonyms) should be listed as key words.

Introduction. The Introduction must not exceed 2,000 keystrokes (characters plus spaces) and briefly justifies the research, specifies the hypotheses to be tested, and gives the objective(s). Extensive discussion of relevant literature should be included in the Discussion.

Materials and Methods. A clear description or specific original reference is required for all biological, analytical, and statistical procedures. All modifications of procedures must be explained. Diets, dates of experimental activities if appropriate, animals [breed, sex, age, body weight, and weighing conditions (i.e., with or without restriction of feed and water)], surgical techniques, measurements, and statistical models should be described clearly and fully. Appropriate statistical methods should be used, although the biology should be emphasized. Statistical methods commonly used in the animal sciences need not be described in detail, but adequate references should be provided. The statistical model, classes, blocks, and experimental unit must be designated. Any restrictions used in estimating parameters should be defined. Reference to a statistical package without reporting the sources of variation (classes) and other salient features of the analysis, such as covariance or orthogonal contrasts, is not sufficient. A statement of the results of the statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. The experimental unit is the smallest unit to which an individual treatment is imposed. Measurements on the same experimental unit over time also are not independent and should not be considered as independent experimental units. Provide a validation for assays [e.g., mean and CV for repeated analysis of a sample (both between and within-assay if available) and the sensitivity (minimum amount or concentration detectable)]. Also, provide a publication reference for the methodology used in kits. Centrifugal force should be provided in $\times g$, not rpm, and duration and temperature of centrifugation must be included. Include volume of blood collected, container used, and amount of preservative or anticoagulant (e.g., heparin).

Results. The results are presented in the form of tables or figures when feasible. The text should explain or elaborate on the tabular data, but numbers should not be repeated within the text. Sufficient data, all with some index of variation attached (including significance level; i.e., P -value), should be presented to allow the reader to interpret the results of the experiment. Reporting the actual P -value is preferred to the use of the terms *significant* and *highly significant*. Thus, the observed significance level (e.g., $P = 0.027$) should be presented, thereby allowing the reader to decide what to reject. Other probability (α) levels may be discussed if properly qualified so that the reader is not misled (e.g., trends in the data).

Discussion. The discussion should interpret the results clearly and concisely in terms of biological mechanisms and significance and also should integrate the research findings with the body of previously published literature to provide the reader with a broad base on which to accept or reject the hypotheses tested. A stand-alone Discussion section should not

refer to any tables or figures, nor should it include P -values (unless citing a P -value from another work).

Results and Discussion. In *JAS*, authors have the option of combining the results and discussion into one section.

Literature Cited. To be listed in the Literature Cited section, papers must be published or accepted for publication ("in press"). Personal communications and unpublished data must not be included in the Literature Cited section. See the [Literature Cited Guidelines](#) later in this document.

Tables and Figures. Tables and figures must be prepared so they stand alone. Author-defined abbreviations must be defined (or redefined) in each table and figure. Manufacturer name and location should be provided for any proprietary product appearing in a table or figure.

Tables must be created using the table feature in MS Word (for instructions, see [Guidelines for Creating Tables in Microsoft Word](#) (<http://journalofanimalscience.org/site/misc/ifora.xhtml>)). Refer to a recent issue of *JAS* for examples of table construction. When possible, tables should be organized to fit across the page without running broadside. Each column must have a heading (e.g., Item, Ingredient, Trait, Fatty acid). Units should be separated from headings by a comma. Limit the data field to the minimum needed for meaningful comparison within the accuracy of the methods. In the body of the table, references to footnotes should be numerals. Each footnote should begin on a new line. To indicate significant differences among means within a row or column, superscript lowercase letters are used; the preferred statement in the footnotes is: "Within a row (or column), means without a common superscript differ ($P < 0.05$)."

Figures should be placed at the end of the manuscript and should follow the [Quality Guidelines for JAS Figures](#) (<http://journalofanimalscience.org/site/misc/ifora.xhtml>). Each figure should be placed on a separate page (separated by section breaks) and identified by the figure number. Figure captions should be typed double spaced on a separate page. The use of color in figures should be avoided unless it is essential to understanding the figure. There is an additional fee for color figures that are printed in the journal (see Manuscript Central for more information).

Appendices. To provide readers with numerical examples or give extensive detail of analytical procedures, an appendix or appendices can be included. However, if the supplemental material is of interest only to a limited number of *JAS* readers, it should not be included as an appendix. Instead, mention that supplemental information is available on request from the author; addresses for websites with appropriate supplemental information are acceptable. If extensive, the data may be included as an e-supplement to the manuscript (see Online-Only Data Supplements). Appendices should follow the Literature Cited section and be introduced by a major heading.

Online-Only Data Supplements. Authors can present material online that cannot physically be displayed in the print journal (e.g., Excel files, video), that might be cost-prohibitive (e.g., color figures), or

that provides data sets too detailed for publication in print. A note will appear in the print version that more material can be found online. Material posted online only must go through the review process, and consequently should be in a format easily accessible by most reviewers and readers.

Additional Usage Notes

Numbers. See *JAS Policies Regarding Number Usage* later in this document.

Abbreviations. Abbreviations in the text that are not standard *JAS* abbreviations must be defined at first use. Authors should not use standard *JAS* abbreviations (e.g., t = metric ton and cannot be used as an abbreviation for temperature). In addition, authors should not use abbreviations accepted by *JAS*, such as abbreviations for elements (e.g., S = sulfur and C = carbon and cannot be used as author-defined abbreviations). Once defined, author-identified abbreviations should always be used, except to begin a sentence. Author-identified abbreviations need to be redefined in the abstract, at first use in the body of the paper, in each table, and in each figure. Authors should avoid excessive use of author-defined abbreviations. See *Standard JAS abbreviations* later in this document, which includes standard abbreviations for physical units, units of time, statistical symbols and abbreviations, and others. Standard *JAS* abbreviations should always be used except to begin a sentence or unless otherwise contraindicated (e.g., units of time should only be abbreviated when used with a number).

Gene and Protein Names. Because there is no universally accepted style for gene and protein names that applies to all species, the *Journal of Animal Science* asks the authors to assume the responsibility of using the convention appropriate for the particular species. Some general guidelines can be found in the *CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers* (7th ed., 2006). For example, the gene that codes for the protein p53 is *TP53* in humans and *Trp53* in mice (note that, by convention, gene names are italicized; also note that protein names are generally not italicized).

Quantitative Trait Loci and DNA Markers and Microarray Data. Papers that publish quantitative trait loci (QTL) or DNA marker association results for livestock are strongly encouraged to make their data available in an electronic form to one of the publicly available livestock QTL databases *after the manuscript appears in publication* [the date on which the paper is posted to the *JAS*-Papers in Press website (<http://journalofanimalscience.org/content/early/recent>) represents the official publication date]. Current QTL databases for livestock include, but may not be limited to, the Animal QTL database (<http://www.animalgenome.org/QTLdb>) and the Bovine QTL database (<http://bovineqtl.tamu.edu/>). Similarly, for microarray data we request that all authors using microarray data analysis in their research submit a complete data set to 1 of 3 databases before submission of a manuscript: the NCBI Gene Expression Omnibus (GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/geo>), the EMBL-EBI ArrayExpress repository (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress>), or the Center for Information Biology Gene Expression (CIBEX) database (<http://cibex.nig.ac.jp/index.jsp>).

Commercial Products. The use of names of commercial products should be minimized. When a commercial product is used as part of an experiment, the manufacturer name, and location (city and state if in the United States; city and country otherwise) or a website address should be given parenthetically at first mention in text, tables, and figures. The generic name should be used subsequently. No TM or [®] symbols should be used.

General Usage.

- Note that “and/or” is allowed but not preferred; we ask that authors choose the more appropriate meaning or use “x or y or both” if possible.
- Report time using the 24-h system (e.g., 1410 h rather than 2:10 p.m.).
- Use italics to designate genus and species (*Bos taurus*) and botanical varieties (*Medicago sativa* var. *Potomac*). Designations for botanical cultivars should be preceded by “cv.” or enclosed in single quotes (e.g., *Festuca arundinacea* cv. Kentucky 31 or *Festuca arundinacea* ‘Kentucky 31’).
- Specify the basis (as-fed or dry matter) for dietary ingredient and chemical composition data listed in text or in tables. Similarly, specify the basis for tissue composition data (e.g., wet or dry basis).
- Calculations of efficiency should be expressed as output divided by input (i.e., gain:feed, not feed:gain). This avoids the spurious positive and negative infinity values when body weight gain is zero or negative. It also avoids the confusion associated with discussing an improvement as being a decrease.
- A diet is a feedstuff or a mixture of feedstuffs; a ration is the daily allotment of the diet.
- Restrict the use of “while” and “since” to meanings related to time. Appropriate substitutes include “and,” “but,” or “whereas” for “while” and “because” or “although” for “since.”
- The word “Table” is capitalized and never abbreviated. The word “Figure” should be abbreviated to “Fig.” when referred to in the text, unless it begins a sentence (then spell out as “Figure”). Experiment and equation should be abbreviated to Exp. and Eq., respectively, when preceding a numeral.
- Avoid jargon unfamiliar to scientists from other disciplines. Do not use the term “head” to refer to an animal or group of animals. Instead, use animal, sow, ewe, steer, heifer, cattle, etc.
- Avoid bi- as a prefix because of its ambiguity; biweekly means twice per week and once every 2 weeks.
- Breed and variety names should be capitalized (Landrace, Hereford). Trademarked or registered names should be capitalized, but no TM or [®] symbols should be used.

4 Instructions to Authors of *Journal of Animal Science*II. POLICIES AND PROCEDURES OF *JAS* (return to **Style and Form**)

The mission of the American Society of Animal Science (ASAS) is to foster communication and collaboration among individuals and organizations associated with animal science research, education, industry, or administration “*To discover, disseminate, and apply knowledge for sustainable use of animals for food and other human needs.*” The *Journal of Animal Science* (*JAS*), which is published monthly by ASAS, accepts manuscripts presenting information for publication with this mission in mind. The editorial policies of *JAS* are established by the editor-in-chief, managing editor, division and associate editors, and editorial board, subject to review by the publications committee, board of directors, and the membership of ASAS. The views expressed in papers published in *JAS* represent the opinions of the author(s) and do not necessarily reflect the official policy of the institution with which the author is affiliated, the ASAS, or the editor-in-chief. It is the responsibility of the authors to ensure the accuracy of collection, analysis, and interpretation of data in manuscripts and ultimately to guarantee the veracity of the contents of articles published in *JAS*.

The *JAS* is one of the most frequently cited, peer-reviewed, agriculturally oriented research journals in the world, based on statistics published by ISI Inc. (Philadelphia, PA). Its high ranking in several ISI categories, including impact factor, attests to the quality standards maintained by the *JAS* editorial board, editors, and staff and by authors who submit manuscripts for publication.

Contact Information

For information on the scientific content of the journal, contact the Editor-in-Chief, Dr. Steven A. Zinn, Department of Animal Science, University of Connecticut, Storrs, CT 06269-4040; telephone 860-486-0861; fax 860-486-4375; email: steven.zinn@uconn.edu.

For questions on submitting a paper and Manuscript Central, contact Brett Holte, Submission Services Manager, telephone 608-268-3970; email: bholte@sciencesocieties.org

For assistance with author proofs, contact Emily Mueller, Managing Editor; email: emueller@sciencesocieties.org

Care and Use of Animals

All authors submitting to *JAS* must complete the Care and Use of Animals form certifying that any research that involves animals has followed established standards for the humane care and use of animals and must specify which standards were used. Only investigations that have followed high standards for the humane care and use of animals in research will be reported in *JAS*.

The manuscript must include a statement of institutional animal care and use committee (IACUC) (or

equivalent) approval of all animal procedures. The IACUC statement should appear as the first item in the Materials and Methods. The manuscript should discuss anesthetics, analgesics, tranquilizers, and care taken to minimize pain and discomfort during preoperative, operative, and postoperative procedures. If research requires discomfort to the animals or stressful conditions, justification for these conditions must be evident in papers published in *JAS*.

Types of Articles

Articles published in *JAS* encompass a broad range of research topics in animal production and fundamental aspects of genetics, nutrition, physiology, and preparation and utilization of animal products. Articles typically report research with beef cattle, companion animals, goats, horses, pigs, and sheep; however, studies involving other farm animals, aquatic and wildlife species, and laboratory animal species that address fundamental questions related to the biology of livestock, companion animals, and other managed animals will be considered for publication. Manuscripts that report research on production issues in animals other than those constituting the main focus of the journal should be submitted to other journals.

The preceding paragraph is not meant to exclude manuscripts but, rather, is a clarification of the focus of the journal. If there are any questions concerning the appropriateness of a manuscript for the journal, please contact the editor-in-chief.

Research Articles. Results of work contained in manuscripts submitted to *JAS* must not have been published or submitted previously in a refereed scientific journal. Previous presentation at a scientific meeting or the use of data in field day reports or similar documents, including press publications or postings to personal or departmental websites, does not preclude the publication of such data in *JAS*. Articles simultaneously posted to websites and submitted to *JAS* should carry a disclaimer on the website that this version of the paper has not undergone *JAS* peer-review and is not to be considered the final published form of the article. If the article is published in *JAS*, the author should post the PDF (reprint) version of the article to the website so proper credit can be given to *JAS* as the publisher of the article. Because *JAS* holds the copyright to articles it publishes, posting altered *JAS* articles that are represented as exact duplicates of the published version constitutes copyright violation.

Review Articles. The journal publishes board-invited review articles each year; these reviews are identified by the editor-in-chief in consultation with the editors. Occasionally proposals for review articles to be published in *JAS* may be solicited by division editors, after consultation with the editor-in-chief; the authors will be responsible for publication charges for these articles. Unsolicited review articles will not be considered.

Special Topics. Papers will be considered for publication in this division that present Biographical or Historical Sketches, or that present viewpoints dealing with Contemporary Issues or Teaching in the animal sciences, or Perspectives that put a particular current

Instructions to Authors of *Journal of Animal Science*

5

topic into context in terms of its relationship or important to an entire area.

Biographies and Histories are part of the Special Topics Division but will be published on the ASAS website (<http://journalofanimalscience.org/site/misc/ifora.xhtml>) as well as in the Association News section of the journal. The frequency of publication depends on the availability of the prepared sketches. See <http://journalofanimalscience.org/site/misc/ifora.xhtml> for more information.

Contemporary Issues include topics such as environmental concerns, legislative proposals, systems analysis, and others. Teaching papers may discuss innovative pedagogical methods, philosophy of education, or solutions to teaching problems in animal science. Although Contemporary Issues or Teaching papers do not have to include original data, whenever appropriate the stated assertions should be substantiated by references to established information from credible published sources.

Special Topics papers will be subject to peer review in a manner similar to other submissions. Because of the nature of these papers, their format may vary from that of standard scientific articles.

Technical Notes. A technical note is a vehicle to report a new method, technique, or procedure of interest to *JAS* readers. When possible, a technical note should include a comparison of results from the new method with those from previous methods, using appropriate statistical tests. The advantages and disadvantages of the new procedure should be discussed. When typeset, a technical note shall not exceed 6 pages (9 typed manuscript pages), including tables and figures. The words "Technical note" shall be the first words of the title of such manuscripts. The review process for a technical note will be the same as that for other manuscripts.

Letters to the Editor. Letters judged suitable for publication will be printed in a "Letters to the Editor" section of *JAS*. The purpose of this section is to provide a forum for scientific exchange relating to matters published in *JAS*. To be acceptable for publication, letters must adhere to the following guidelines: 1) Only letters that address matters of science and relate to information published in *JAS* will be considered. In general, letters should not exceed 5,000 characters plus spaces and should contain no more than 5 citations; 2) Letters should provide supporting evidence based on published data for the points made or must develop logical scientific hypotheses; letters based on conjecture or on unsubstantiated claims will not normally be published. No new data may be presented in the letters; 3) Letters will be considered by the editor-in-chief and if deemed appropriate for publication, the author(s) of original paper(s) will be invited to write a letter of response. Normally both letters will be published together; and 4) All letters will be subject to acceptance and editing by the editor-in-chief and editing by the technical editor.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically at <http://mc.manuscriptcentral.com/jas>. Authors who

have questions about using the electronic manuscript submission system should contact Brett Holte, Submission Services Manager at bholte@sciencesocieties.org. Authors who are unable to submit electronically should contact Brett Holte (bholte@sciencesocieties.org) for assistance; include your manuscript as an attachment (saved as a Microsoft Word file). Staff at ASAS headquarters will post manuscripts by proxy, but authors should be aware that delays might occur in the review process.

Copyright Agreement

Authors shall complete the Manuscript Submission and Copyright Release form for each new manuscript submission. The form is completed during the submission process through Manuscript Central. Persons unable complete copyright agreements, such as federal employees, must indicate the reason for exemption on the form. The copyright to material published in *JAS* is held by ASAS. Persons who wish to reproduce material in *JAS* must request written permission to reprint copyrighted information from the managing editor. Likewise, authors of *JAS* manuscripts who include material (usually tables or figures) taken from other copyrighted sources must secure permission from the copyright holders and provide evidence of this permission at the time the manuscript is submitted to *JAS* for review. Tables or figures reproduced from the work of others must include an acknowledgment of the original source in a footnote or legend.

REVIEW OF MANUSCRIPTS

General Procedures. The suitability of all manuscripts for publication in *JAS* is judged by the reviewers and associate editors, division editors, and the editor-in-chief. All communications regarding a submitted manuscript should maintain confidentiality. Associate editors handle correspondence with the author and promptly advise the division editor whether a manuscript should be rejected or accepted. The division editor's decision to reject or accept is based on the associate editor's recommendation and his or her own review of the manuscript. The division editor forwards document files for accepted manuscripts to the editor-in-chief for further review and editing, after which the editor-in-chief forwards the document file(s) to the technical editors. Note that most manuscripts that are eventually published are first returned by the associate editor to the author for revision, and in addition, the division editor may ask for changes before acceptance. The editor-in-chief is the final arbiter regarding acceptance or rejection of manuscripts submitted for publication.

Rejections. There are 3 main grounds for rejection of manuscripts. First, manuscripts that are not written clearly, concisely, and coherently or that do not conform to *JAS* style and form guidelines will be rejected without review. Authors whose first language is not English are urged to have their paper reviewed by an editing service. Second, the substance of the manuscript may not meet *JAS* standards: the work

may be incomplete, the evidence may not support the conclusions, the experimental approach may be poorly conceived, or the work may repeat established fact or represent no advance of existing knowledge. Third, although the work may be sound and the results valid, the paper may be better suited for publication elsewhere.

Appeals. If a manuscript is rejected, as a first course of action the author may discuss the matter with the associate editor or division editor responsible for the manuscript. Decisions must be appealed to the editor-in-chief if the author(s) believe(s) that the judgment was erroneous or unfair. A letter presenting the reasons for the appeal should be sent to the editor-in-chief. The editor-in-chief will review the author's reasons, as well as all materials related to the manuscript and, after consulting with the editors who reviewed the manuscript, will render a decision whether to accept or deny the appeal. A rejected manuscript may be resubmitted for publication in another division of *JAS* only if this course of action has been specifically recommended by the associate editor or division editor originally assigned to the manuscript and the transfer has been approved by the editor-in-chief.

Revisions. Most manuscripts that are eventually published are returned to the author(s) for revision. Normally, the revised manuscript must be returned to the associate editor via *JAS* Manuscript Central within 6 weeks from the date of receipt by the author or the manuscript will be withdrawn. Extenuating circumstances must be communicated to the technical editing staff, who will consult with the editor-in-chief before granting an extension. A Revision Checklist (<http://journalofanimalscience.org/site/misc/ifafora.xhtml>) is sent with requests for revision to assist the authors.

PAPERS IN PRESS, AUTHOR PROOFS, AND PUBLICATION CHARGES

Papers in Press. To facilitate earlier dissemination, accepted manuscripts will be assigned a digital object identifier (DOI) and posted to the *JAS* Papers in Press site (<http://journalofanimalscience.org/content/early/recent>) in the form in which they are accepted; because this does not represent the final, published form of the manuscript, the authors bear the primary responsibility for the content of manuscripts posted to the publish-ahead-of-print site.

Author Proofs. Accepted manuscripts are forwarded by the editor-in-chief to the editorial office for technical editing and typesetting. At this point, the technical editor may contact the authors for missing information or figure revisions. The manuscript is then typeset, figures reproduced, and author proofs prepared. Correspondence concerning the accepted manuscript should be directed to the technical editor.

Proofs of all manuscripts will be provided to the corresponding author and should be read carefully and checked against the typed manuscript; accuracy of the galley proof is the author's responsibility. Corrections may be returned by fax, mail, or e-mail. For faxed or

mailed corrections, changes to the proof should be made neatly and clearly in the margins of the proof. If extensive correction is required, changes should be provided on a separate sheet of paper with a symbol indicating location on the proof. Changes sent by e-mail to the technical editor must indicate page, column, and line numbers for each correction to be made on the proof. Editor queries should be answered on the galley proofs; failure to do so may delay publication. Excessive author changes made at the proof stage may result in a \$250 surcharge.

Publication Charges and Reprints. The journal has 2 options available for publication: open access (OA) and conventional page charges. For the OA option, authors will pay the OA fee when proofs are returned to the editorial office so that their paper will become freely available upon publication in an online issue. Charges for OA publication are \$2,500 per article, if at least one author is a current professional member of ASAS; the charge is \$3,250 when no author is an ASAS member. For conventional publication, the charge is \$85 per printed page in *JAS* if at least one author is an ASAS member; the page charge is \$170 when no author is a member of ASAS. Reprints may be ordered at an additional charge. When the galley proof is sent, the author is asked to complete a reprint order form requesting the number of reprints desired and the name of the institution, agency, or individual responsible for publication charges. Authors who submit articles containing color illustrations are responsible for paying the additional charge for color printing, including the printing of any reprints they order.

STANDARD JAS ABBREVIATIONS (return to **Style and Form**)

The following abbreviations should be used without definition in *JAS*; plural abbreviations do not require a final "s". Use of 3-letter abbreviations for amino acids (e.g., Ala) and use of standard abbreviations for elements (e.g., S) are acceptable in *JAS*. For chemical units and abbreviations, refer to the *ACS Style Guide* (published by the American Chemical Society, Washington, DC).

Physical units

Item	Unit
Bq	becquerel
°C	degree Celsius
cal	calorie
Ci	curie
cM	centimorgan (spell out morgan if used without a prefix)
Da	dalton
Eq	equivalent (only can be used with a prefix)
g	gram
ha	hectare
Hz	hertz

Instructions to Authors of *Journal of Animal Science*

7

IU	international unit
J	joule
L	liter
lx	lux
m	meter
<i>M</i>	molar (concentration; preferred over mol/L)
mol	mole
<i>N</i>	normal (concentration)
Pa	pascal
rpm	revolutions/minute (not to be used to indicate centrifugal force)
t	metric ton (1,000 kg)
V	volt
W	watt

Units of time

Item	Unit
s	second(s)
min	minute(s)
h	hour(s)
d	day(s)
wk	week(s)
mo	month(s)
yr	year(s)

Statistical symbols and abbreviations

Item	Term
ANOVA	analysis of variance
CV	coefficient of variation
df	degree(s) of freedom (spell out if used without units)
<i>F</i>	<i>F</i> -distribution (variance ratio)
LSD	least significant difference
<i>n</i>	sample size (used parenthetically or in footnotes; note italics)
<i>P</i>	probability
<i>r</i>	simple correlation coefficient
<i>r</i> ²	simple coefficient of determination
<i>R</i>	multiple correlation coefficient
<i>R</i> ²	multiple coefficient of determination
<i>s</i> ²	variance (sample)
SD	standard deviation (sample)
SE	standard error
SED	standard error of the differences of means
SEM	standard error of the mean
<i>t t</i>	(or Student) distribution

α	probability of Type I error
β	probability of Type II error
μ	mean (population)
σ	standard deviation (population)
σ^2	variance (population)
χ^2	chi-squared distribution

Others

Item	Term
AA	amino acid(s)
ACTH	adrenocorticotrophic hormone
ADF	acid detergent fiber (assumed sequential unless designated otherwise)
ADFI	average daily feed intake (not to be confused with DMI)
ADG	average daily gain
ADIN	acid detergent insoluble nitrogen
ADL	acid detergent lignin
ADP	adenosine diphosphate
AI	artificial insemination
AIA	acid insoluble ash
ARS	Agricultural Research Service
ATP	adenosine triphosphate
avg	average (use only in tables, not in the text)
BCS	body condition score
BLUE	best linear unbiased estimate
BLUP	best linear unbiased prediction
bp	base pair
BSA	bovine serum albumin
BTA	<i>Bos taurus</i> chromosome
BW	body weight (used for live weight)
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
C/EBP	CAAT-enhancer binding protein
cfu	colony-forming unit
CIE	International Commission on Illumination (Commission Internationale d'Éclairage)
CLA	conjugated linoleic acid
CoA	coenzyme A
Co-EDTA	cobalt ethylenediaminetetraacetate
CP	crude protein (N × 6.25)
D	dextro-
diam.	diameter
DE	digestible energy
DEAE	(dimethylamino)ethyl (as in DEAE-cellulose)
DFD	dark, firm, and dry (meat)

DM	dry matter	MUFA	monounsaturated fatty acid
DMI	dry matter intake	NAD	nicotinamide adenine dinucleotide
DNA	deoxyribonucleic acid	NADH	reduced form of NAD
EBV	estimated breeding value(s)	NDF	neutral detergent fiber
eCG	equine chorionic gonadotropin	NDIN	neutral detergent insoluble nitrogen
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid	NE	net energy
EFA	essential fatty acid	NEg	net energy for gain
EIA	enzymeimmunoassay	NEl	net energy for lactation
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	NEm	net energy for maintenance
EPD	expected progeny difference(s)	NEFA	nonesterified fatty acid
Eq.	Equation(s)	No.	number (use only in tables, not in the text)
Exp.	experiment (always followed by a numeral)	NPN	nonprotein nitrogen
FFA	free fatty acid(s)	NRC	National Research Council
FSH	follicle-stimulating hormone	o.d.	outside diameter
<i>g</i>	gravity	OM	organic matter
GE	gross energy	PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
G:F	gain-to-feed ratio	PBS	phosphate-buffered saline
GLC	gas-liquid chromatography	PCR	polymerase chain reaction
GLM	general linear model	PG	prostaglandin
GnRH	gonadotropin-releasing hormone	PMSG	pregnant mare's serum gonadotropin
GH	growth hormone	PPAR	peroxisome proliferator-activated receptor
GHRH	growth hormone-releasing hormone	PSE	pale, soft, and exudative (meat)
hCG	human chorionic gonadotropin	PUFA	polyunsaturated fatty acid(s)
HCW	hot carcass weight	QTL	quantitative trait locus (loci)
HEPES	<i>N</i> -(2-hydroxyethyl)piperazine- <i>N'</i> -2-ethanesulfonic acid	RDP	ruminally degradable protein
HPLC	high-performance (pressure) liquid chromatography	REML	restricted maximum likelihood
i.d.	inside diameter	RFLP	restriction fragment length polymorphism
Ig	immunoglobulin (when used to identify a specific immunoglobulin)	RIA	radioimmunoassay
IGF	insulin-like growth factor	RNA	ribonucleic acid
IGFBP	insulin-like growth factor-binding protein(s)	RQ	respiratory quotient
IL	interleukin	RUP	ruminally undegradable protein
IVDMD	in vitro dry matter disappearance	rRNA	ribosomal ribonucleic acid
kb	kilobase(s)	SAS	Statistical Analysis System
KPH	kidney, pelvic, heart fat	SDS	sodium dodecyl sulfate
l	levo-	SFA	saturated fatty acid
LD50	lethal dose 50%	SNP	single nucleotide polymorphism
LH	luteinizing hormone	spp.	species
LHRH	luteinizing hormone-releasing hormone	ssp.	subspecies
LM	longissimus muscle	SSC	<i>Sus scrofa</i> chromosome
ME	metabolizable energy	ST	somatotropin
MP	metabolizable protein	TDN	total digestible nutrients
mRNA	messenger ribonucleic acid	TLC	thin layer chromatography
		Tris	tris(hydroxymethyl)aminomethane
		tRNA	transfer ribonucleic acid

Instructions to Authors of *Journal of Animal Science*

9

TSAA	total sulfur amino acids
USDA	US Department of Agriculture
UV	ultraviolet
VFA	volatile fatty acid(s)
vol	volume
vol/vol	volume/volume (used only in parentheses)
vs.	versus
wt	weight (use only in tables, not in the text)
wt/vol	weight/volume (used only in parentheses)
wt/wt	weight/weight (used only in parentheses)

LITERATURE CITED GUIDELINES FOR JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE

Citations in the Text. In the body of the manuscript, refer to authors as follows: Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). If the sentence structure requires that the authors' names be included in parentheses, the proper format is (Smith and Jones, 1982; Jones, 1988a,b; Jones et al., 1993). When there are more than 2 authors of an article, the first author's name is followed by the abbreviation et al. More than 1 article listed in the same sentence or parentheses must be in chronological order first and alphabetical order for 2 publications in the same year. Published articles, and not abstracts, should be cited whenever possible; if the work was originally described in an abstract, the author(s) should use a literature search to determine if the work has been published as a peer-reviewed article.

Work that has not been accepted for publication shall be listed in the text as "J. E. Jones (institution, city, and state or country, personal communication)." The author's own unpublished work should be listed in the text as "(J. Smith, unpublished data)." Personal communications and unpublished data must not be included in the Literature Cited section.

Literature Cited Section. To be listed in the Literature Cited section, papers must be published or accepted for publication ("in press"). In the Literature Cited section, references are listed alphabetically by the author(s)' last name(s), and then chronologically. The year of publication follows the authors' names. As with text citations, 2 or more publications by the same author or set of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date. All authors' names must appear in the Literature Cited section. Journals shall be abbreviated according to the conventional ISO abbreviations used by PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>); then, under "More Resources," find "Journals in NCBI Databases," and enter the journal title in the search box. A list of standard abbreviations for frequently cited journals and abbreviations used in citations is available at [\[malscience.org/site/misc/ifora.xhtml\]\(http://malscience.org/site/misc/ifora.xhtml\). One-word titles must be spelled out. Inclusive page numbers must be provided.](http://journalofani-</p>
</div>
<div data-bbox=)

Sample references are as follows:

- Books and articles within edited books:
AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.
NRC. 1989. Nutrient requirements of dairy cattle. 6th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
Robinson, P. H., E. K. Okine, and J. J. Kennelly. 1992. Measurement of protein digestion in ruminants. In: S. Nissen, editor, Modern methods in protein nutrition and metabolism. Academic Press, San Diego, CA. p. 121–127.
- Handbooks, technical bulletins, theses, and dissertations
Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
Sigma. 1984. Total hemoglobin: Quantitative, colorimetric determination in whole blood at 530–550 nm. Tech. Bull. No. 525. rev. ed. Sigma Chemical, St. Louis, MO.
Ward, J. D. 1995. Effects of copper deficiency on performance and immune function of cattle. PhD Diss. North Carolina State Univ., Raleigh.
- Journal articles and abstracts
Cleale, R. M., IV, R. A. Britton, T. J. Klopfenstein, M. L. Bauer, D. L. Harmon, and L. D. Satterlee. 1987a. Induced non-enzymatic browning of soybean meal. II. Ruminal escape and net portal absorption of soybean protein treated with xylose. *J. Anim. Sci.* 65:1319–1326.
Hall, J. B., R. B. Staigmiller, R. E. Short, R. A. Bellows, S. E. Bartlett, and D. A. Phelps. 1993. Body composition at puberty in beef heifers as influenced by nutrition and breed. *J. Anim. Sci.* 71(Suppl. 1):205. (Abstr.)
- Conference proceedings
NMC. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat disinfections published since 1980. In: Natl. Mastitis Counc. Reg. Meet. Proc., Harrisburg, PA. Natl. Mastitis Counc., Arlington, VA. p. 82–92.
Talmant, A., X. Fernandez, P. Sellier, and G. Monin. 1989. Glycolytic potential in longissimus dorsi muscle of Large White pigs as measured after in vivo sampling. In: Proc. 35th Int. Congr. Meat Sci. Technol., Copenhagen, Denmark. p. 1129.
Van der Werf, J. H. J. 1990. A note on the use of conditional models to estimate additive genetic variance in selected populations. Proc. 4th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Edinburgh, Scotland XIII:476–479.
- Electronic Publications
FDA. 2001. Effect of the use of antimicrobials in food-

10 Instructions to Authors of *Journal of Animal Science*

- producing animals on pathogen load: Systematic review of the published literature. <http://www.fda.gov/cvm/antimicrobial/PathRpt.PDF>. (Accessed 14 December 2001.)
- Huntington, G. B., D. L. Harmon, N. B. Kristensen, K. C. Hanson, and J. W. Spears. 2006. Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 130:225–241. doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.01.012
- Le Neindre, P., C. Terlouw, X. Boivin, A. Boissy, and J. Lensink. 2001. Behavioral research and its application to livestock transport and policy: A European perspective. *J. Anim. Sci.* 79(E-Suppl.) Accessed Oct. 7, 2001. <http://www.asas.org/jas/jas0905.pdf>.

**POLICIES REGARDING NUMBER USAGE FOR
JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE**

In 2006, *JAS* adopted the proposed changes for number style by the Council of Science Editors for the seventh edition of their *Scientific Style and Format*. The greatest change is more widespread use of numerals for single-digit numbers. A full description of the new number style is available in *Scientific Style and Format*.

A summary of the CSE number style policies is as follows:

- All cardinal numbers are written as numerals except when they begin a sentence or appear in a title, when 2 numerals are adjacent in a sentence (spell out the number most easily expressed in words; e.g., two 10-kg samples), or when a number is used as a figure of speech.
- Numbers less than 1 are written with a preceding (leading) zero (e.g., 0.75).
- A comma separator is used in numbers greater than 999.
- Numerals should be used to designate ratios and multiplication factors (e.g., 2:1, 3-fold increase).
- If a number is spelled out at the beginning of a sentence, its associated unit is also spelled out (e.g., Ten milliliters of fluid . . . , not Ten mL of fluid . . .).

- Units of measurement not associated with a number should be spelled out rather than abbreviated (e.g., lysine content was measured in milligrams per kilogram of diet) unless used parenthetically.
- Single-digit ordinals are spelled out (i.e., first through ninth); larger ordinals are expressed in numeric form. Single-digit ordinals may be expressed numerically when they form part of a series (e.g., 1st, 3rd, 10th, 20th, not first, third, 10th, 20th).

General number usage policies of *JAS* are as follows:

- Measures must be presented in the metric system (SI or Système International d'Unités; see: <http://physics.nist.gov/cuu/Units/introduction.html>, or <http://physics.nist.gov/Pubs/SP330/sp330.pdf>).
- When a term must be expressed in nonmetric units for clarity (e.g., bushel weight), give such values in parentheses after the metric value.
- Use “to” instead of a hyphen to indicate a numerical range in text.
- Avoid the use of multiplying factors (e.g., × 106) in table columns or rows, or in figure axis labels because of the uncertainty whether the data are to be, or already have been, converted by the factor.
- Avoid ambiguity by stating units (e.g., numbers of spermatozoa, millions/mL).
- Do not use more than one slant line (for “per”) in a single expression (e.g., use 5 mg/kg daily, “per” implies division; when 2 “per” occur consecutively, it is unclear precisely what is being divided by what).
- Dietary energy may be expressed in calories or in joules; the standard SI unit for energy is the joule.
- Hyphenate units of measure used as preceding adjectives (e.g., 5-kg sample). Hyphens are not used with percent or degree signs.
- Insert spaces around all signs (except slant lines) of operation (=, −, +, ×, >, or <, etc.) when these signs occur between 2 values.
- Convert “mg %” to other units, such as mg/L or mg/mL; use “mol/100 mol” rather than “molar percent.”

7. VITA

Liege Teixeira, filha de Amaury Torres Teixeira e Irene Teixeira, nasceu em 08 de outubro de 1967 na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

O ensino fundamental e médio foi todo realizado em escolas públicas municipais, estaduais e federais (1975 a 1985). Em 1987, ingressou no curso de Física na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), abandonando-o em 1991.

Em março de 1996 iniciou o curso de História na Faculdade Porto-Alegrense de Educação, Ciências e Letras (FAPA), obtendo o título de Licenciatura Plena em 2002. Durante a graduação, fez estágio no Museu Joaquim Felizardo, atuando no atendimento a escolas e na organização do acervo.

Em março de 2005 ingressou em Medicina Veterinária (UFRGS), graduando-se como Médica Veterinária em julho de 2011. Ao longo da graduação realizou monitoria acadêmica e foi bolsista de extensão em Parasitologia Veterinária e em Oncologia Veterinária. Além disso, realizou vários estágios no Hospital de Clínicas Veterinárias HCV/UFRGS, nas áreas de clínica e cirurgia de cães e gatos, atendimentos laboratoriais e plantões noturnos. Fez estágio por 15 dias no atendimento a animais marinhos no Ceclivet/HCV sediado no Centro de Estudos Costeiros e Limnológicos – CECLIMAR na cidade de Imbé, RS. Realizou estágio curricular obrigatório no Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), localizado na cidade de Jaboticabal, SP. As áreas de aprendizado foram oncologia clínica de cães e gatos (368 horas) e obstetrícia e reprodução animal (160 horas), com orientação da Profa. Dra. Mirela Tirucci.

Entre março de 2012 e julho de 2013 realizou o curso de Especialização *Latu Sensu* em Dermatologia Veterinária (713 horas) no Instituto Qualittas de Pós-Graduação em Porto Alegre, com certificação da Universidade Castelo Branco, RJ.

Em abril de 2013 ingressou no Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia (UFRGS), na área de Nutrição de Não Ruminantes, com ênfase em Nutrição de Cães e Gatos, sob orientação do Prof. Dr. Luciano Trevizan. Durante esse período, participou de projetos envolvendo cães, gatos, aves, suínos e equinos conduzidos no laboratório de ensino zootécnico (Lezo), além de projeto sobre felinos silvestres em colaboração com o Laboratório de Citogenética e Evolução da Faculdade de Biologia (UFRGS) e Laboratório de Biologia Genômica e Molecular da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Em maio de 2014, participou do projeto “Ecologia comparada de três espécies de felídeos (*Leopardus colocolo*, *L. geoffroyi* e *L. tigrinus*) no estado do Rio Grande do Sul” em parceria com o Departamento de Biodiversidade e Ecologia, Faculdade de Biociências (PUCRS), com atuação direta na captura e coleta de amostras de carnívoros selvagens no município de Alegrete, RS.