

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

**AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO IDEAL ENTRE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS EM**  
**DIETAS PARA CÃES EM CRESCIMENTO**

**LUCIANO TREVIZAN**  
**Médico Veterinário – (UFRGS)**

Dissertação apresentada como um dos  
requisitos à obtenção do grau de  
Mestre em Zootecnia,  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Área de Concentração – Nutrição Animal.

Porto Alegre (RS), Brasil  
Março de 2005

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), por me acolher durante a graduação na Faculdade de Veterinária e por me oportunizar mais dois anos de pós-graduação junto a Faculdade de Agronomia.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pela concessão da bolsa de mestrado.

À minha família (em especial minha mãe Maria e meu irmão Vilson) e minha namorada (Adriana Demoliner) que sempre me encorajaram para que eu continuasse estudando não medindo esforços para que isso fosse possível, respeitando momentos de ausência e minhas faltas.

Ao Professor Alexandre de Mello Kessler (Orientador) por aceitar o desafio de iniciar experimentação com uma nova espécie no setor de nutrição de monogástricos, pelo apôio, pela amizade e principalmente pelo respeito que me foi dedicado durante este período, exemplo de sabedoria e profissionalismo a quem atribuo boa parte do meu conhecimento.

Aos colegas do Lezo, aos meus grandes amigos, aos professores e funcionários que diversas vezes se mostraram disponíveis a contribuir de forma braçal, intelectual ou mesmo por simples expressões saudáveis do tipo “vai dar certo” “é isso aí”.

Aos alunos de pós-graduação: André Ebert, Lílian Kratz, Lisiane Menezes, Emílio Cura Castro, Ludmila Noskoski, Marson Warpeshowski, e ao bolsista de graduação Luiz Felipe e a aluna Débora Betina pelo convívio e pela ajuda que foi dada.

Ao Laboratório de Bioquímica Clínica, Professor Félix Diaz González (Co-orientador) pela amizade e orientação, às bolsistas deste laboratório em especial à Patrícia pelas análises das amostras de plasma.

Ao Laboratório de Nutrição Animal (Ângela, Débora e Mônica) pela troca de conhecimento, amizade e apôio na realização das análises laboratoriais.

À secretária do Departamento de Zootecnia (Ione Barcellos) pela competência, disciplina e prestatividade para com os alunos de Pós-Graduação, não medindo esforços para atendê-los.

Aos cães que fizeram parte deste experimento e áqueles que cresceram comigo durante toda minha infância e adolescência, que foram incondicionalmente meus melhores amigos, não dedico apenas agradecimentos, dedico esta dissertação como prova do meu amor e minha cumplicidade.

## AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO IDEAL ENTRE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS EM DIETAS PARA CÃES EM CRESCIMENTO

Autor: Luciano Trevizan

Orientador: Dr. Alexandre de Mello Kessler

Co-orientador: Dr. Felix Hilário Diaz González

### RESUMO

Foram realizadas duas séries de 4 experimentos para testar a inclusão de aminoácidos essenciais (aa) na dieta de cães em crescimento visando o estabelecimento da melhor relação entre os aa: lisina (lys), metionina+cisteína (met+cys), treonina (thr) e triptofano (trp). Foram utilizados 10 cães da raça Pit Bull, sendo 5 machos e 5 fêmeas, com idade entre 50 e 170 dias que foram submetidos a um delineamento em *crossover*. Os 4 aa foram testados individualmente em 5 níveis de inclusão, isto é, em cada experimento variou somente o nível de inclusão de um aminoácido. O parâmetro utilizado para determinar o melhor nível de inclusão de cada aa foi o pico de uréia plasmática (UP) que ocorre 3 horas após a refeição. Dessa forma, os aa foram testados em uma sequência a iniciar pela lys. O tratamento que apresentou o menor pico de uréia (independente do nível de significância) foi utilizado para a formulação dos 5 tratamentos incluindo um novo aa e assim sucessivamente até todos serem testados. Um último experimento de metabolismo foi realizado para testar a relação de aa encontrada (met+cys/lys = 0,67; thr:lys = 0,62 e trp:lys = 0,20) frente a outra dieta formulada com balanço diferente de aa (met+cys/lys = 0,57; thr:lys = 0,60 e trp:lys = 0,15). Ainda neste mesmo experimento foram dosadas UP para comparar o balanço nitrogenado a partir do pico da uréia. Notou-se no decorrer dos experimentos efeito marcante sobre o fator “dia” e sobre o fator “cão”. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos exceto quando o triptofano foi testado e permitiu traçar uma regressão expressa por:  $UP = 64,405 - 220,03*(trp:lys) + 486,61*(trp:lys)^2$  e  $P=0,03$ , que fornece a estimativa da melhor relação trp:lys em 0,22. No experimento de metabolismo não foi observada nenhuma diferença significativa sobre consumo, coeficiente de digestibilidade da matéria seca, da energia bruta, da gordura bruta, da proteína bruta, energia digestível da matéria seca, da matéria natural e tampouco nos valores de proteína retida em % ou em g e valor biológico da proteína bruta. No entanto, os animais apresentaram menor pico UP quando receberam o tratamento que possuiu o balanço de aa encontrado nestes experimentos. A metodologia empregada mostrou-se eficiente para demonstrar a melhor relação entre trp:lys, no entanto, o efeito de “dia” pode ter interferido nos resultados finais. Este efeito pode ser atribuído aos altos níveis de proteína e aa nas dietas, cujo possível excesso acumulou-se sequencialmente ao longo dos dias de coleta.

---

Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Nutrição Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (121 p.), Março de 2005

## EVALUATION OF IDEAL ESSENTIAL AMINOACIDS RATIO IN DIETS FOR GROWING DOGS

Author: Luciano Trevizan

Advisor: Dr. Alexandre de Mello Kessler

Co-Advisor: Dr. Felix Hilário Diaz González

### Abstract

Two series of four experiments were performed to test the essential amino acids (aa) supplementation in diets for growing dogs. The objective was defining the best relationship among the aa lysine (lys), methionine plus cysteine (met+cys), threonine (thr) and tryptophan (trp). Ten dogs of Pit Bull breed (five males and five females) from 50 to 170 days of age were used in a crossover experimental design. Each essential aa was tested individually in dose-response trials with five levels of supplementation. The main response parameter was the concentration of urea in plasma (UP) 3 hours after the meal. The best level of each essential aa (disregarding statistical significance) was used to formulate the diets for the next trial. The trials sequence initiate with lys followed by met+cys, thr and trp. Finally, a metabolism experiment was done in order to compare the best aa balance found in the previous trials (met+cys:lys=0.67, thr:lys=0.62 and trp:lys=0.20) with a commercial diet with different aa balance (met+cys:lys=0.57, thr:lys=0.60 and trp:lys=0.15). No significant differences were observed in any dose-response trials except for the tryptophan trial which resulted on the following equation:  $UP = 64.405 - 220.03 * (trp:lys) + 486.61 (trp:lys)^2$  (P=0,03). The best lys:trp ratio was then estimated in 0.22. In the metabolism trial there was any significative effect of diets on feed intake and digestibilities (of dry matter, fat, crude protein and gross energy), retention of protein (absolute or relative) and biological value of crude protein. However, the dogs fed the diet formulated with our aa balance had lower UP concentrations. The experimental method used was efficient to determine the best trp:lys ratio, however, the significant "day" effect in the analysis of variance could be effecting the results. this effect is possibly attributed to the high dietary basal levels of protein and amino acids, whose excess accumulated sequentially in the dogs of measuring.

---

Master of Science Dissertation in Animal Science – Animal Nutrition, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (121 p.), March 2005

## SUMÁRIO

página

### 1. CAPÍTULO I

1.1. INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
1.1.1. Proteína no organismo.....	2
1.1.2. Ingestão de aa .....	3
1.1.3. Controle hormonal da síntese e degradação .....	5
1.1.4. Necessidades protéicas dos cães.....	6
1.1.5. Relação entre aa.....	8
1.1.6. Medida de uréia no sangue como técnica para medir qualidade de proteína da dieta.....	15
1.1.7. Hipótese de trabalho .....	18

### 2. CAPÍTULO II - Avaliação da metodologia para estabelecimentoda relação entre aa essenciais em cães

2.1. INTRODUÇÃO.....	19
2.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	21
2.2.1. Experimento 1 – Padronização do consumo.....	25
2.2.2. Experimento 2 – Teste do resíduo metabólico .....	27
2.2.3. Experimento 3 – Lisina.....	29
2.2.4 Experimento 4 – Metionina .....	32
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	34
2.3.1. Experimento 1.....	34
2.3.2. Experimento 2.....	36
2.3.3. Experimento 3.....	39
2.3.4 Experimento 4.....	44
2.4. CONCLUSÃO .....	46

**3. CAPÍTULO III - Avaliação da relação ideal entre aa essenciais (met/cys, thr, trp) na dieta de cães em crescimento**

3.1. INTRODUÇÃO.....	47
3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....	49
3.2.1. Experimento 1 – Metionina .....	53
3.2.2. Experimento 2 – Treonina.....	55
3.2.3. Experimento 3 – Triptofano.....	57
3.2.4. Experimento 4 – Digestibilidade.....	59
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	63
3.3.1 Experimento 1 .....	63
3.3.2 Experimento 2.....	64
3.3.3 Experimento 3.....	67
3.3.4 Experimento 4.....	68
3.4 CONCLUSÃO .....	74

**4. CAPÍTULO IV**

4.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
-------------------------------	----

**5. CAPÍTULO V**

5.1 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS .....	78
APÊNDICES.....	83

## RELAÇÃO DE TABELAS

### CAPÍTULO I

TABELA 1. Necessidades mínimas de aminoácidos, NRC (1985)..... 14

TABELA 2. Necessidades mínimas de proteínas e aminoácidos, AAFCO (1994)15

### CAPÍTULO II

TABELA 1. Composição de ingredientes e nutrientes das dietas experimentais utilizadas no experimento 2 ..... 28

TABELA 2. Dietas correspondentes aos tratamentos com inclusão de diferentes níveis de lisina. .... 31

TABELA 3. Dietas experimentais, correspondentes aos tratamentos, com inclusão de diferentes níveis de met+cys ..... 33

TABELA 4. Valores dos coeficientes de consumo diários obtidos nos 8 dias de experimento, com média por cão, sexo e geral em kcal/kg<sup>0,75</sup> dia... 34

TABELA 5. Valores de uréias plasmática (mg/dL) em cães alimentados com dietas diferentes em concentração de PB ..... 36

TABELA 6. Valores de uréia plasmática (mg/dL) diários, em cães alimentados com diferentes dietas – alta e baixa proteína ao longo de 5 dias – animais 1,2,3,6,7,8. .... 37

TABELA 7. Valores de uréia plasmática (mg/dL) diários, em cães alimentados com diferentes dietas – alta e baixa proteína ao longo de 6 dias – Animais 4,5,9,10..... 38

TABELA 8. Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de lisina .....	42
---	----

TABELA 9. Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de met+cys. ....	45
--	----

### **CAPÍTULO III**

TABELA 1. Dieta comercial e dietas correspondentes aos tratamentos com inclusão de diferentes níveis de met+cys .....	54
---	----

TABELA 2. Dietas correspondentes aos tratamentos com inclusão de diferentes níveis de treonina .....	56
--	----

TABELA 3. Dietas correspondentes aos tratamentos com inclusão de diferentes níveis de triptofano. ....	58
--	----

TABELA 4. Dietas correspondentes aos 2 tratamentos com inclusão de diferentes níveis de aminoácido .....	62
--	----

TABELA 5. Valores da concentração plasmática de uréia de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de met+cys.....	64
---	----

TABELA 6. Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de treonina.....	66
--	----

TABELA 7. Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.....	68
--	----

TABELA 8. Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a duas dietas com diferentes níveis de inclusão de aa essenciais.....	69
--	----



TABELA 9. Médias dos valores de consumo em g por cão, tratamento, etapa e dia e suas probabilidades. ....	70
TABELA 10. Médias dos valores de PB ret (g), PB ret (%) e VBPB por cão, tratamento, etapa e dia e suas probabilidades estimadas com base na excreção urinária diária. ....	72
TABELA 11. Médias dos valores de CDMS, CDEB, EDMS, EDMN, CDGB, CDPB, por cão, tratamento, etapa e dia e suas probabilidades estimados com base no consumo e coleta de fezes durante o experimento de digestibilidade. ....	73

## RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E DE SÍMBOLOS

aa .....	Aminoácidos
CD .....	Coeficiente de Digestibilidade
EB .....	Energia Bruta
ED .....	Energia Digestível
EM.....	Energia Metabolizável
GB .....	Gordura Bruta
GP .....	Glicose Plasmática
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	Ácido Sulfúrico
LEZO.....	Laboratório de Ensino Zootécnico
Lys.....	Lisina
Met .....	Metionina
Met+cys.....	Metionina mais Cisteína
Mnat .....	Matéria Natural
MS.....	Matéria Seca
PB .....	Proteína Bruta
PM.....	Peso Metabólico em kg <sup>0,75</sup> /dia
TP.....	Triglicerídeos Plasmáticos
Thr.....	Treonina
Trp.....	Triptofano
UP .....	Uréia Plasmática

## **1. CAPÍTULO I**

### **1.1. INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

O mercado de alimentos para cães e gatos experimenta um crescimento acentuado nos últimos anos, no entanto, chama a atenção a escassez de trabalhos recentes publicados nesta área frente a um mercado tão promissor. O Brasil é líder no mercado de *pet food* na América Latina com alto potencial de expansão (Carniglia, 2003). Ainda, dentro do mesmo contexto, o autor considera o Brasil como único país com mercado organizado. O Ministério da Agricultura possui normas e padrões de qualidade nutricional para a alimentação de cães e gatos no Brasil, com vistas no estabelecimento de padrões de identidade para nossos produtos. Com a tendência de desenvolvimento deste mercado no país, surge a necessidade de pesquisas para o desenvolvimento de novos produtos e dietas mais saudáveis destinados a cães e gatos. No entanto, para fazer dietas específicas para uma dada espécie é necessário mais conhecimento a respeito das necessidades dietéticas desta, para que através dos ingredientes dietéticos se possam fornecer os nutrientes necessários para o seu ótimo desenvolvimento. Dentre os nutrientes essenciais à nutrição de cães e gatos, aquele que se dá maior importância é a proteína. De fato, cães necessitam de níveis significativos deste nutriente, são animais carnívoros. Com o advento das rações comerciais e a utilização de dietas compostas por ingredientes

vegetais e animais tem-se dado mais atenção à composição da proteína que está sendo oferecida para cães e gatos, cujo perfil de aa não é mais o mesmo daquele encontrado na alimentação natural de um carnívoro. O presente trabalho está direcionado na busca do reestabelecimento dos padrões dietéticos que atendam às necessidades alimentares e o balanço adequado de aa para cães no período de crescimento.

### **1.1.1. Proteína no organismo**

As proteínas são os principais constituintes do organismo, contribuindo entre a metade a três quartos do organismo animal em base seca (Guyton & Hall, 1996). Ao mesmo tempo, representam aproximadamente 18% do peso corporal dos animais adultos (Beitz, 1996). Têm papel fundamental nas atividades orgânicas, funcionando como reguladores do metabolismo na forma de enzimas e hormônios; são elementos estruturais compondo membranas celulares e estruturas internas das células; são constituintes da hemoglobina e citocromos responsáveis pelos processos de respiração celular; são importantes osmorreguladores como a albumina; estão envolvidas na resposta imune e no controle ácido-básico (Beitz, 1996).

As proteínas estão formadas por aminoácidos (aa), sendo que o número e a seqüência destes aa determinam diferentes proteínas. Este processo de união entre aa ocorre através de ligações peptídicas na qual a porção carboxila (COOH) de um aa se liga ao grupamento amino (NH) de outro (Guyton & Hall, 1996). São conhecidos 20 aa constituintes de proteínas orgânicas dos quais o organismo é capaz de sintetizar metade deles (aa não essenciais). Os

outros 10 são essenciais e devem ser provenientes da dieta como forma de satisfazer as necessidades dos animais. São considerados essenciais, pois o organismo produz em escala menor que a demanda ou não sintetiza naturalmente (Christensen, 1982). Existem aa que podem ser convertidos em outros, como a metionina (essencial) que pode formar cisteína (aa não essencial). Na deficiência de cisteína ocorre necessidade de aumento do aporte de metionina na dieta. Isto também ocorre com a fenilalanina (aa essencial) em relação à tirosina (aa não essencial) (Burns & Milner, 1981).

### **1.1.2. Ingestão de aa**

O alimento fornece ao organismo os nutrientes. Dessa forma as proteínas provenientes da dieta fornecem aa, di e tripeptídeos para a absorção no trato gastrintestinal (TGI). Os dipeptídios e tripeptídios, uma vez dentro das células epiteliais, são divididos em seus aa constituintes pelas peptidases celulares, chegando à circulação porta hepática apenas aa livres, que são utilizados para síntese de novas proteínas (Diamond, 1991).

Após serem absorvidos, os aa em excesso, não se acumulam em grandes quantidades no sangue, pois são rapidamente assimilados por células de todo o organismo. Quase imediatamente após a entrada nas células, os aa são conjugados às proteínas celulares, sob a influência de enzimas intracelulares, de tal modo que a concentração daqueles que estão no interior das células sempre permanece baixa. Muitas das proteínas intracelulares podem ser decompostas em aa, em caso de necessidade, por enzimas que se denominam catepsinas.

Estes aa, por sua vez, podem ser transportados novamente das células para o sangue (Guyton & Hall, 1996).

Os aa livres ou conjugados na circulação possuem rotas alternativas específicas, diferentes para cada um dos 20 aa sendo que todos podem convergir a metabólitos como o piruvato, acetil-CoA e outros compostos intermediários do Ciclo de Krebs (Doolittle, 1985).

As duas rotas metabólicas mais importantes são a transaminação e a desaminação oxidativa. Na primeira o grupamento amino ( $\text{NH}_3$ ) de um aa é transferido para um alfa-cetoácido através de uma transaminase. Um exemplo de alfa-cetoácido é o alfa-cetoglutarato que ao receber o grupamento  $\text{NH}_3$  de um aa gera um outro aa, no caso o glutamato. Este por sua vez pode perder o grupamento  $\text{NH}_3$  novamente e regenerar o alfa-cetoglutarato, neste caso o  $\text{NH}_3$  seria direcionado à formação de amônia. No entanto, nem todos os aa sofrem transaminação como é o caso da lisina (lys), treonina (thr), prolina e hidroxiprolina, contribuindo assim para sua condição de essencialidade. No caso da desaminação oxidativa o processo é catalisado por enzimas aa oxidases. Neste processo o aa é oxidado no ponto em que se situa o grupamento amino provocando a liberação deste (Guyton & Hall, 1996). Os aa desaminados podem seguir o metabolismo da glicose e dos ácidos graxos, gerando energia. Por exemplo, a alanina desaminada forma ácido pirúvico que pode seguir a via gliconeogênica ou ser reduzida a acetil-CoA e daí servir ao Ciclo de Krebs, à via cetogênica ou dos ácidos graxos (Harper, 1984).

No processo de desaminação dos aa há liberação do grupamento  $\text{NH}_3$ , altamente tóxico ao organismo. Nos cães esta amônia é quase totalmente

transformada em uréia, metabólito menos tóxico e passível de ser excretado pela urina. Este processo ocorre no fígado e consiste na união de um aa (ornitina) com uma molécula de dióxido de carbono e uma de amônia, formando a citrulina. Esta se combina com outra molécula de amônia, formando a arginina, a qual se desdobra formando ornitina e uréia (Guyton & Hall, 1996).

### **1.1.3. Controle hormonal da síntese e degradação**

O metabolismo das proteínas no organismo está submetido ao controle hormonal. Neste processo deve haver uma regulação precisa de síntese e degradação para que haja o perfeito crescimento dos tecidos. Sugere-se que este processo seja regulado nutricionalmente por mudanças nas concentrações de aa e glicose e através de hormônios secretados em resposta aos níveis de glicose e aa circulantes como insulina, IGF1 e hormônio do crescimento. Estes hormônios controlam a proporção de síntese e degradação, afetando diferentemente os tecidos do organismo e havendo variações com a idade, sendo que há interação entre as vias regulatórias do turnover protéico (Davis & Reeds, 1998). Ainda, segundo Davis & Reeds (1998), animais em crescimento têm maior turnover de nitrogênio devido a sua alta taxa de deposição protéica. Williams et al. (2001) determinaram em cães jovens que o turnover protéico da massa muscular contribui com 30% do *turnover* total da proteína, sendo que nos animais adultos este valor cai para 20%. Especula-se que a perda de massa magra em animais idosos esteja relacionada à redução dos níveis de hormônio do crescimento com a redução paralela dos níveis de IGF1 (Rudman et al., apud Williams et al. 2001).

Além destes hormônios, os glicocorticóides estão diretamente implicados no processo de degradação, favorecendo o aporte de aa mediante a degradação protéica, estimulando a gliconeogênese e a cetogênese, através de aa precursores. A testosterona favorece a deposição protéica nos tecidos por um determinado período de tempo (Dohm, 1985). Segundo Szepesi & Freedland (1969), a tiroxina aumenta a velocidade da reação do metabolismo protéico, tanto no catabolismo quanto no anabolismo e, em déficit energético é promovida a oxidação protéica. Em caso de fornecimento energético satisfatório com níveis adequados de carboidratos, gorduras e proteínas, a tiroxina promove o depósito protéico.

#### **1.1.4. Necessidades protéicas dos cães**

Não há evidência de necessidade dietética de proteína *per se*, mas apenas dos aa constituintes (Pond et al., 1995). Em função disso não se pode pensar apenas em proteína bruta para cães e gatos, mas sim nas concentrações dietéticas dos 10 aa essenciais mais um *pool* nitrogenado. Além disso, é determinante a relação entre os 10 aa essenciais, a relação dos aa essenciais com os não essenciais e as concentrações de aa potencialmente tóxicos (Rogers et al., 1998). Também a relação entre aa e a energia dietética é fundamental (Gross et al., 2000).

Cães exigem 4% a 7% da energia metabolizável (EM) oriunda das proteínas, quando ocorre adição de fontes protéicas de alta qualidade na dieta (Melnick & Cowgill, citados por Case et al., 1998). Se as fontes protéicas forem de baixa qualidade, esta percentagem pode chegar até 20% EM (Schaeffer et al.,



1989). Este valor corresponde a 21% de proteína em um alimento seco e que contenha 3500 kcal/kg de EM. Para animais em crescimento é indicado cerca de 17 a 22% da energia metabolizável na forma de proteína (Case et al., 1998). Schaeffer et al. (1989) determinaram que uma porcentagem mínima de 19,5% das calorias do cão em crescimento deveriam ser administradas como proteína de alta qualidade para maximizar a retenção de nitrogênio em filhotes de cães com idades compreendidas entre 8 e 17 semanas. Em outro estudo, Sheffy (1989), sugeriu que 16% das calorias devem ser oriundas das proteínas.

No processo de identificação da proteína ideal diversos fatores podem afetar os resultados, como o valor da digestibilidade da fonte protéica, o equilíbrio entre os aa e a biodisponibilidade dos aa contidos nestas fontes protéicas. Dessa forma, uma série de experimentos determinaram os requerimentos protéicos para cães e gatos baseados em dietas formuladas com aa purificados, resultando em valores muito baixos de requerimento para ambas as espécies. Na prática, quando são administradas dietas com fontes protéicas bem menos disponíveis e não tão balanceadas, os valores protéicos para cães e gatos são elevados (Case et al., 1998).

O NRC (1985) para cães foi baseado em dietas com aa purificados. Dessa forma, às necessidades propostas nesta edição para atender os cães ficaram reduzidas pela metade quando comparadas com a edição anterior de 1974. De fato, estes valores ficaram muito distantes daqueles encontrados em dietas mistas. A AAFCO (Association of America Feed Control Officials) publicou em 1992 os requerimentos protéicos para crescimento e reprodução baseados no NRC (National Research Council) de 1974. Foi recomendado o nível mínimo de

18% de proteína bruta na matéria seca para a alimentação de cães adultos e 22% para crescimento e reprodução em dietas contendo 3500 kcal/kg.

#### **1.1.5. Relação entre aa**

Não há relatos na literatura de grande número de estudos recentes a respeito da relação ótima entre aa na dieta de cães, fato este que desperta a atenção visto que para outras espécies como frangos e suínos estes valores estão bem documentados.

Milner (1979a) utilizando aa purificados realizou um experimento testando a essencialidade da metionina (met), treonina (thr), triptofano (trp), histidina e isoleucina na dieta de cães em crescimento, da raça Beagle. Quando a met ou a thr foram reduzidas à metade do valor total de inclusão nas dietas, os cães rapidamente reduziram o consumo, acompanhados pela perda de peso e redução da eficiência alimentar. As concentrações de uréia plasmática foram elevadas nos cães alimentados com zero ou 50% de met ou thr, valores estes que chegaram a 75% ou mais dos valores do grupo controle. Com a suplementação de met e thr os valores de uréia reduziram em 35% em relação ao controle. Num segundo experimento, Milner (1979b), testando o triptofano, histidina e isoleucina, estabeleceram que em todas as dietas deficientes em um destes aa os animais apresentaram menor consumo de ração, menor ganho de peso e balanço de nitrogênio negativo, bem como maiores níveis de uréia plasmática (UP) e menor excreção de creatinina, quando comparados com animais que consumiram a dieta controle. Os animais alimentados com a dieta com redução de 50% do trp tiveram diferenças negativas significativas no consumo de ração e no ganho de peso. O

balanço de nitrogênio foi significativamente menor quando comparado com a dieta controle. Nesta dieta o nível de uréia plasmática foi significativamente maior e a excreção de creatinina significativamente menor quando comparados a dieta controle. Os animais alimentados com a dieta de 50% de redução de histidina tiveram melhores resultados, porém não foram significativos em ganho de peso, consumo de ração e balanço de nitrogênio em relação aos animais alimentados com a dieta com redução de 50% de trp. Porém os resultados de ganho de peso e balanço nitrogenado foram significativamente piores que os resultados obtidos pelos animais que receberam a dieta padrão. Nos parâmetros bioquímicos, apenas a UP foi significativa maior em relação à dieta controle. Os resultados obtidos com a dieta com redução de 50% de isoleucina foram significativamente menores, apenas no item ganho de peso em relação à dieta controle, apresentando melhores resultados quando comparada às outras dietas testadas. Não houve diferenças significativas nos parâmetros bioquímicos em relação à dieta controle.

Estes trabalhos demonstram bem a eficiência do uso do nível da UP, seguindo a metodologia proposta por Eggum (1970), como parâmetro para a medição de qualidade de proteína, pois, comparando os diversos itens analisados neste trabalho, a UP quase sempre mostrou diferenças significativas, enquanto o experimento de metabolismo não foi eficiente para demonstrar diferenças significativas entre tratamentos

A lisina é considerada um aa essencial para numerosas espécies, conforme citado por Milner (1979a), sendo que cães jovens alimentados com dietas livres de lys apresentam redução de consumo, perda de peso corporal e

balanço nitrogenado negativo, com aumento de UP e excreção urinária. Em outro experimento, Milner (1981) buscou estabelecer o requerimento de lys para cães em crescimento. Utilizando aa purificados em diferentes níveis crescentes de inclusão na dieta, sugeriu o valor mínimo de 0,461%. Não houve benefícios no crescimento de cães alimentados com mais que 0,577% de lys, sendo que o consumo excessivo com cerca de 1,73% da dieta acarretou redução de crescimento, tanto em machos quanto em fêmeas. No entanto, com níveis elevados de lys notou-se redução na excreção de uréia. Isto pode ter ocorrido por redução no catabolismo de aa ou aumento na formação de glutamina.

Soliman & Harper (1971) demonstraram que a oxidação da lys é aumentada em ratos alimentados com elevado nível de proteína na dieta. Milner (1981) observou redução de crescimento e aumento de uréia na urina quando cães foram alimentados com 0,345% de lys em dietas com 28% de proteína bruta (PB) comparada com outra dieta com 14% de PB. De fato, sugere-se que o aumento da suplementação de lys deva ser proporcional ao aumento do nível de PB na dieta, similar ao que ocorre em frangos, suínos e ratos.

Burns & Milner (1981) utilizaram cães para determinar os requerimentos de met e sua relação com a cisteína (cys). Ainda testaram a inclusão de hidroxí-análogos como D-metionina, DL-metionina, N-acetil-L-metionina, e N-acetil-D-metionina em comparação à L-metionina. O máximo crescimento, melhor eficiência alimentar, assim como maior retenção de nitrogênio, foram observados com a utilização de 0,20% de L-metionina suplementada com no mínimo 0,15% de cys. O total de aa sulfurados foi estimado

no mínimo de 0,39%. Todos os hidróxi-análogos substituíram satisfatoriamente 50% dos requerimentos de met, exceto a N-acetil-D-metionina.

A arginina assume uma posição intermediária entre aa essenciais e aa não essenciais para mamíferos. De fato este aa pode ser sintetizado por cães, no entanto, não em níveis suficientes para permitir ótimo crescimento (Ha et al. 1978). A arginina quando deficiente na dieta é responsável pelo aumento do orotato e citrato na urina e esta pode ser uma forma de estabelecer o balanço ideal para este aa. Burns et al. (1981) realizaram três estudos para testar a essencialidade da arginina na dieta de cães. Utilizando cães adultos da raça Pointer observaram que dietas livres de arginina ocasionam perda de peso e episódios de emese em todos os experimentos. Além deste sintoma marcante, tremores musculares e salivação excessiva foram observados. Na urina foi identificado aumento do orotato e citrato e no plasma aumento da uréia e do orotato. Quando o consumo foi forçado os sintomas físicos de deficiência de arginina foram acentuados. Em dietas contendo 0,28% de arginina os sintomas não foram observados, comprovando a essencialidade da arginina em cães adultos.

Czarnecki & Baker (1984), trabalhando com cães em crescimento da raça Pointer, utilizaram suplementação de ornitina e citrulina para substituir a inclusão de arginina, no entanto o desempenho dos animais foi reduzido, sendo que a citrulina apresentou semelhante desempenho no crescimento, porém não nos parâmetros dos metabólitos plasmáticos e urinários do ciclo da uréia. Neste experimento obteve-se o melhor desempenho com suplementação de 0,40% de arginina na dieta. Os autores ainda investigaram os episódios de emese em

animais alimentados com dietas livres de arginina e correlacionaram os com o aumento da UP, sendo que em animais alimentados com níveis adequados de arginina os níveis plasmáticos de amônia permaneceram constantes no período pós-prandial.

Rogers et al. (1998) trabalharam com gatos em crescimento e testaram a inclusão de diferentes níveis de aa essenciais na dieta, estipulando uma relação de proporção entre nitrogênio dos aa essenciais e o nitrogênio total da dieta. Em prévios estudos com ratos, frangos, perus e suínos a proporção adequada entre aa essenciais e nitrogênio total ficou entre 0,4:1 e 0,65:1. Taylor et al. (1996), demonstraram que gatos alimentados com dietas contendo somente aa essenciais como fonte de nitrogênio perdem peso. Altas concentrações de met e arginina sugeriram toxicidade destes aa. Quando a met e a arginina foram limitadas na dieta a não mais que 2,25 vezes o recomendado pelo NRC (1985), melhorou o desempenho destes animais. Segundo, Rogers et al. (1998), dietas que contém somente inclusão de aa essenciais como fonte de nitrogênio total, causam intolerância a um ou mais aa essenciais, deprimindo o ganho de peso em gatos.

A histidina, outro aa essencial, foi estudada em ratos por Torres et al. (1999). Dietas com alta proteína e diferentes níveis de suplementação de histidina foram oferecidas aos ratos. De acordo com os autores, na deficiência e na falta de balanço entre aa na dieta, as concentrações de mRNA para histidinase foram elevadas no plasma, em virtude da deficiência deste aa, promovendo catabolismo protéico. Ainda observaram redução da ingesta e do ganho de peso e elevação das concentrações de histidina plasmática em ratos alimentados com dietas

deficientes neste aa. Os níveis de histidinase foram elevados no plasma de ratos que receberam dietas com alta proteína, apresentando uma relação inversa entre a concentração de proteína e os níveis plasmáticos de histidina.

Humbert et al. (2001), avaliaram a restrição de proteína e a deficiência de aa essenciais, lis e trp, através do método da leucina marcada ( $^{13}\text{C}$  – leucina) com a intenção de avaliar o método e observar os efeitos da privação protéica e da deficiência de aa essenciais no metabolismo dos cães. No período de adaptação os cães foram submetidos a três dietas (controle, restrita em proteína, e restrita em proteína sem suplementação de lys e trp). Após 24 h da última refeição os cães receberam infusão de  $^{13}\text{C}$  – bicarbonato e L – ( $^{13}\text{C}$  – C) leucina e amostras de sangue e gás expirado foram coletados para determinação de  $^{13}\text{C}$  – alfa cetoisocoprato e  $\text{CO}_2$  expirado. Dessa forma foram estimados a proporção de catabolismo protéico, oxidação e síntese. De fato, o experimento comprovou que o método pode ser utilizado em cães. Além disso, foi possível determinar que cães podem regular o *turnover* protéico de acordo com o balanço de aa que recebem. Através deste experimento foi determinado que cães possuem requerimento diário de 0,41 a 0,55 g de N/kg<sup>0,75</sup>.

Delaney et al. (2001) utilizando cães da raça Beagle relacionaram os requerimentos de leucina e o conteúdo protéico da dieta. O requerimento de leucina não foi dobrado quando a proteína suplementada passou de 140g/kg para 280g/kg da dieta. Para Beagles entre 8 e 14 semanas de idade encontrou requerimento de 11 g de leucina por kg, independente do nível de proteína da dieta. Ainda relata que após 14 semanas o requerimento cai para 7 g/kg, havendo máxima retenção de nitrogênio.

Com estes e outros estudos, a indústria de alimentos para cães baseou as tabelas de requerimentos para cães contidas no NRC (1985) (Tabela 1) e nos guias da AAFCO (2000) (Tabela 2). No entanto, os estudos que geraram estes dados foram baseados em dietas purificadas de aa, dessa forma podemos estar trabalhando com dados subestimados ou superestimados dos requerimentos dos aa limitantes.

TABELA 1. Necessidades mínimas de aminoácidos (NRC, 1985).

<b>Aminoácidos</b>	<b>Em 1000 kcal de EM (g)</b>	<b>Em peso seco (%) (3,67 kcal de EM/g)</b>
Arginina	1,37	0,50
Histidina	0,49	0,18
Isoleucina	0,98	0,36
Leucina	1,59	0,58
Lisina	1,40	0,51
Metionina-Cisteína	1,06	0,39
Fenilalanina-Tirosina	1,95	0,72
Treonina	1,27	0,47
Triptofano	0,41	0,15
Valina	1,05	0,39



TABELA 2. Necessidades mínimas (% em base seca) de proteínas e aminoácidos (AAFCO, 2000).

<b>Nutriente</b>	<b>Crescimento e reprodução</b>	<b>Manutenção do adulto</b>
Proteínas	22,0	18,0
Arginina	0,62	0,51
Histidina	0,22	0,18
Isoleucina	0,45	0,37
Leucina	0,72	0,59
Lisina	0,77	0,63
Metionina-Cisteína	0,53	0,43
Fenilalanina-Tirosina	0,89	0,73
Treonina	0,58	0,48
Triptofano	0,20	0,16
Valina	0,48	0,39

#### **1.1.6. Medida de uréia no sangue como técnica para medir qualidade de proteína da dieta**

A qualidade da proteína da dieta pode ser avaliada de várias formas em animais. De acordo com Case et al. (2000) podem ser citados alguns métodos como: pontuação química; índice de aa essencial; relação entre aa essenciais e nitrogênio total; coeficiente de eficiência protéica e valor biológico.

Em ruminantes o conteúdo de uréia no sangue reflete a qualidade da proteína da dieta. Esta medida também é usada como técnica auxiliar em suínos (Eggum, 1970). Em experimentos com ratos e suínos em crescimento (Munchow & Bergner, 1968), citados por Eggum (1970), foi encontrada uma correlação altamente negativa entre o valor biológico da proteína (VBPB) e o conteúdo de

uréia no sangue. Os coeficientes do VBPB foram de 0,99 e 0,66 para ratos e suínos respectivamente, com a proteína do ovo sendo usada como uma proteína de referência. Naquele mesmo experimento foi observado que o conteúdo de uréia no sangue aumentou com o conteúdo de proteína na dieta. O conteúdo de uréia aumentou em 2,4 unidades cada vez que foi fornecido aos ratos um adicional de 10 mg de nitrogênio por dia. Foi concluído que o conteúdo de uréia no sangue depende da qualidade e quantidade de proteína suprida na dieta. Fannesbeck & Symons (1969), citados por Eggum (1970), em experimentos com cavalos, também demonstraram que a quantidade de uréia no sangue depende primeiro da qualidade e da quantidade de proteína na dieta, mas também pode ser afetada por falha renal. Em experimentos com suínos lactentes, Pastuszewska (1967) citado na publicação de Eggum (1970), obteve os mesmos resultados. Doornembaal et al. (1983) demonstraram que o nível de UP aumenta com a idade do suíno e Kessler (1987) verificou que a UP em suínos em crescimento diminuiu à medida que diminuiu a proteína digestível da dieta.

Kornegay et al. (1964) citados por Eggum (1970) descobriram, como era esperado, que proteína em grande quantidade na dieta causa um aumento na uréia sanguínea. Por meio de aminoácidos sintéticos, Kunta & Harper (1961), em experimentos com ratos, demonstraram como o desequilíbrio de aa aumenta o conteúdo de uréia no sangue e como isto pode ser reduzido restabelecendo o equilíbrio dos aa. O conteúdo de uréia alcançou o ponto máximo 3 horas após a refeição. Esta dependência com o tempo de alimentação foi verificada por vários autores em experimentos com cães (Hazewinkel & Nap, 1993; Zentek & Mischke, 1997). Foi encontrado um aumento constante de até 3 horas e depois disto um

nível quase constante nas duas horas seguintes. A partir disso parece que pelo menos três fatores influenciam o conteúdo de uréia no sangue, a saber, a qualidade de proteína, quantidade de proteína e o tempo após a alimentação. Padronizando a técnica é possível eliminar os efeitos tempo e quantidade, desta forma a qualidade da proteína deverá ser decisiva no nível de uréia no sangue.

Com vistas nestes estudos e no trabalho desenvolvido por Eggum (1970), Maciel (2003) realizou experimentos com cães em crescimento utilizando o valor de UP para determinar a quantidade da proteína ingerida por cães em dietas mistas (compostas de ingredientes + aa sintéticos) e não em dietas purificadas como realizado em prévios estudos. A primeira fase do experimento constou da determinação do pico plasmático de uréia sangüínea, que ficou estimado na terceira hora após a refeição. Numa segunda fase experimental foi determinada a influência de diferentes níveis de proteína na dieta em relação ao pico da UP e determinaram que há um aumento proporcional da UP de acordo com o nível protéico dietético. A partir daí, utilizando uma dieta padrão e incluindo nesta, níveis crescentes de 0,58, 0,62, 0,66 e 0,70, representando as relações de met+cys / lys, foi determinado que a melhor relação foi dada pela suplementação de 0,70 de met+cys / lys. Os dados encontrados neste estudo superam as recomendações da AAFCO (2000).

### **1.1.7. Hipótese de trabalho**

As proteínas, como nutrientes, são de fundamental importância para todos os animais e adquirem maior importância para animais de origem carnívora, como os cães. A proposta do presente trabalho, baseado nos estudos de Maciel (2003) foi dar continuidade aos estudos em cães em crescimento para estimar o nível de inclusão dos aa limitantes: met, thr e trp, estabelecendo a melhor relação destes com a lys com vistas na proteína ideal tendo como parâmetro os níveis de UP. Ainda assim, observar se a glicose (GP) e os triglicerídeos plasmáticos (TP) podem estar correlacionados com a qualidade da proteína e os níveis de UP.

## **2. CAPÍTULO II**

### **AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA PARA ESTABELECIMENTO DA RELAÇÃO ENTRE AA ESSENCIAIS EM CÃES**

#### **2.1. INTRODUÇÃO**

A busca pela proteína ideal tem sido estudada em suínos e aves como forma de otimizar o crescimento e reduzir os custos para a produção de carnes. Para os cães, a busca pela melhor relação entre aa está na possibilidade de oferecer aos animais alimentos mais balanceados, cuja qualidade reverterá em benefícios para o animal.

O conceito de proteína ideal procura estabelecer a proporção ótima de aa indispensáveis em relação à lys (considerando a lys 100% com base nas necessidades dos tecidos), com o objetivo de otimizar o crescimento e a utilização da dieta (Seixas et al. 2003). De acordo com alguns estudos de Block & Mitchell (1946) a proteína ideal é caracterizada pela mistura de aa ou de proteínas com total disponibilidade na digestão e no metabolismo, cuja composição é idêntica às exigências para a manutenção e crescimento do animal. Ao encontrarmos a relação entre as proporções de aa que compõem uma dieta, as quais satisfaçam a manutenção e permitam a máxima deposição protéica, estaremos diante da proteína

ideal. Chegar à proteína ideal, portanto, é muito difícil, senão impossível, mas podemos nos aproximar muito desta proteína quando o valor biológico de uma fonte protéica é elevado. O uso desse tipo de nutriente permite a inclusão de menor percentual protéico na dieta devido ao alto valor biológico desta proteína.

A lys é o aa base para expressar o requerimento dos demais aa, desta forma deve-se estabelecer em primeiro lugar a necessidade de lys em uma dieta. A lys foi escolhida como aa de referência por uma série de motivos bem estabelecidos. Em primeiro lugar, trata-se do primeiro aa limitante em dietas para suínos, bem como possui uma função estrita de deposição protéica. Ainda assim, é o aa mais fácil de ser analisado e há na literatura muitas informações sobre ele, principalmente com relação a aves e suínos (Parsons & Baker, 1994)

O requerimento de lys para cães segundo o NRC (1985) é de 0,51% considerando alimentos com 3.670 kcal de EM/kg. A AAFCO (2000) sugere níveis um pouco mais altos, de 0,77% para alimentos com 3.500 kcal de EM/kg. Nas dietas comerciais com uso de alta proteína dietética estes níveis são alcançados com facilidade podendo chegar a valores bem elevados. Níveis acima de 1,73% podem acarretar perda de peso e redução de crescimento em cães (Milner, 1981). Com vistas ao estabelecimento da qualidade da proteína destinada à alimentação de cães, Maciel (2003) estabeleceu um protocolo para determinação da melhor relação entre aa essenciais em cães em crescimento. O delineamento experimental utilizado foi um *crossover*, ou seja, cada animal recebeu todos os tratamentos de forma aleatória em uma seqüência de dias (Apêndice 01). Neste experimento, os animais receberam a dieta experimental somente na refeição da manhã e 3 horas após foi realizada a coleta de sangue para a dosagem de UP.

Na refeição da tarde os animais consumiram dieta comercial e no próximo dia, foi oferecido um novo tratamento com posterior coleta de sangue. Em virtude deste delineamento, algumas hipóteses foram suscitadas a respeito desta metodologia. O fato dos animais receberem diferentes tratamentos em dias consecutivos poderia resultar em valores de UP pouco precisos, já que um tratamento poderia estar interferindo nos subseqüentes.

Ao iniciar a experimentação com cães, dando continuidade aos trabalhos de Maciel, foram utilizados uma série de experimentos em seqüência como forma de elucidar as questões pertinentes ao delineamento experimental, testando diferentes níveis de inclusão de lys e met, como forma de avaliação das respostas metabólicas a estes aa. Ainda assim, foram dosados GP e TP na tentativa de correlacioná-los com os valores de UP.

## **2.2. MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizados 10 cães da raça Pit Bull na fase de crescimento com idade entre 50 e 125 dias. Todos os cães foram provenientes de uma ninhada de 13 animais, dos quais serviram à experimentação apenas 5 machos e 5 fêmeas. O peso inicial dos machos foi de  $5,2 \pm 0,77$  kg e o peso final foi de  $17,2 \pm 1,33$  kg o peso inicial das fêmeas foi  $4,3 \pm 0,54$  kg e o final de  $12,9 \pm 1,09$  kg. Os animais receberam 3 doses de vacina polivalente VANGUARD®, com intervalo de 21 dias a cada dosagem. A desverminação foi realizada através de 2 dosagens com o vermífico MILBEMAX® (Apêndice 02). A primeira dose no período de adaptação, logo na chegada, a segunda dose um mês após, antes do início do período experimental com os aa.

Todas as etapas experimentais (Apêndice 2) ocorreram no Laboratório de Ensino Zootécnico “Dr. Geraldo Velloso Vieira” (LEZO), da Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os animais foram alojados durante o período experimental em uma sala climatizada com controle de temperatura e luminosidade. A temperatura variou entre 20 e 22°C e as luzes foram acesas às 8:00 e apagadas às 18:00. No período da noite os animais permaneceram alojados na sala, porém dentro de gaiolas, de 2 a 2. Durante o dia permaneceram soltos dentro da sala, convivendo em grupo. Nas demais fases experimentais, devido ao tamanho dos animais, não foram mais utilizadas as gaiolas como dormitório, então os cães passaram a dormir em grupo sobre um estrado metálico coberto por uma tela plástica, que conferiu conforto aos animais deixando-os afastados de dejetos e umidade. Cada animal foi resenhado e identificado com um número de 1 a 10, machos de 1 a 5 e fêmeas de 6 a 10. As dietas foram pesadas individualmente para cada animal e divididas em duas refeições diárias, administradas às 8:30 e 16:30, oferecidas em comedouros individuais identificados com o número do animal. Os animais permaneceram com as dietas à disposição por um período de 20 minutos em cada refeição. A água foi oferecida à vontade em bebedouros coletivos. A sala foi limpa duas vezes ao dia, antes da refeição da manhã e após a refeição da tarde. As fezes foram recolhidas com o auxílio de uma espátula e uma pá, sendo em seguida a sala limpa com água e desinfetante e seca com um pano para evitar que o piso permanecesse liso e escorregadio.

Após a chegada dos animais foi realizado um período de adaptação tanto ao ambiente quanto à alimentação e, principalmente, ao afastamento



materno que é um período crítico na vida do filhote. Neste período, os animais permaneceram soltos na sala experimental com controle de temperatura. A dieta oferecida neste período foi feita a partir da mistura de farinha de vísceras de aves, arroz, óleo de frango, premix vitamínico e mineral, contendo cerca de 30% de PB, 18% GB e 8% CZ. Foi oferecida aos animais na forma farelada com adição de água. O período de adaptação se estendeu por 8 dias, durante o qual pesagens diárias foram realizadas como forma de avaliar o desenvolvimento e sanidade e ainda estimar o consumo energético dos animais.

Todo alimento consumido, correspondente às dietas experimentais, foi produzido no LEZO. As dietas foram compostas pelos seguintes ingredientes: farinha de vísceras de aves, quirera de arroz, óleo de frango, palatabilizante (hidrolisado de carne), premix vitamínico e mineral, antioxidante, sal e aminoácidos sintéticos, variando as proporções destes ingredientes conforme os tratamentos. As dietas destinadas à manutenção, ou seja, aquelas utilizadas quando os animais não estavam em experimento também foram confeccionadas no LEZO com os mesmos ingredientes. Durante a fase de adaptação e do Experimento 1 os animais receberam dieta na forma farelada, a qual foi diluída em água antes de ser oferecida aos animais. Nas demais etapas experimentais foram utilizadas dietas na forma peletizada.

A mistura das dietas experimentais foi feita através da pesagem individual de todos os ingredientes que foram colocados dentro de um saco plástico. Dentro deste saco foi realizada uma prévia mistura manual e em seguida retirada uma porção que foi levada a um picador de silagem de 1 CV, o qual funcionou como um misturador para a adição do óleo de frango. Este

procedimento garantiu uma mistura mais homogênea do óleo impedindo prejuízos posteriores na mistura. Após a adição do óleo as duas partes da mistura passaram por um processo de peneiração para desmanchar alguns grumos formados pela farinha de vísceras e farinha de arroz com o óleo. Dessa forma, foram colocadas sobre a peneira duas porções da mistura, uma com óleo e outra mais seca, com a mistura dos demais ingredientes. Assim efetuou-se a peneiração antes da mistura ser ingressada no misturador em “Y”. Dentro do misturador em “Y”, a ração permaneceu por 15 minutos e em seguida foi removida e colocada em um saco identificado com o número do tratamento respectivo. No processo de mistura dos diferentes tratamentos o misturador foi limpo antes de receber a nova mistura. Ainda assim, durante os experimentos em que houve a inclusão de aa sintéticos, respeitou-se uma ordem de mistura iniciando pelos níveis mais baixos de inclusão para evitar a contaminação residual.

Com a mistura dos ingredientes em mãos, as dietas foram submetidas à peletização. Para este procedimento cada dieta foi pesada em múltiplas porções de 2 kg que foram misturadas manualmente com 750 mL de água, dessa forma produzindo uma massa com consistência quebradiça. Para formar os peletes foi utilizada uma máquina de moer carne com uma matriz de 100 furos, cada furo com 4 mm de diâmetro. Os peletes formados foram aparados em uma bacia e despejados sobre uma forma revestida com papel alumínio, sendo levados para a estufa com fluxo de ar forçado a 70 °C, na qual permaneceram por 20 horas para a secagem. Removidas da estufa as dietas permaneceram por 30 minutos ao ar

livre para resfriar e, em seguida, foram armazenadas em sacos plásticos identificados com o número do tratamento.

Foram realizadas 4 etapas experimentais (Apêndice 02) sendo que cada etapa foi pré-requisito para a etapa posterior. Após o término de cada etapa foram realizadas as dosagens de UP e estes resultados foram analisados estatisticamente, para que o melhor resultado obtido pudesse ser utilizado no experimento seguinte. O critério utilizado para identificar a melhor relação entre os aa foi o pico da uréia, o qual ocorre 3 horas após a refeição (Maciel, 2003) sendo que o tratamento correspondente ao menor pico de uréia foi identificado como a melhor relação entre os aa. Para tanto foram coletadas as amostras de sangue por punção da veia cefálica direita utilizando tubos de vácuo estéril (3 mL) com anticoagulante heparina. Após a coleta os tubos foram acondicionados em uma caixa de polietileno com gelo e levados ao laboratório onde foram centrifugados a 3000 rpm (rotações por minuto) durante 15 minutos para a separação do plasma. Cada amostra de plasma foi acondicionada em 3 alíquotas identificadas pelo número do animal, tratamento e dia, e congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

As análises de UP, GP e TP foram realizadas através do descongelamento de uma alíquota, que foi submetida a métodos enzimáticos de análise através de espectrofotometria (Apêndice 76).

### **2.2.1. Experimento 1 – Padronização do consumo**

Após 8 dias de adaptação, os cães participaram da primeira etapa experimental que teve o objetivo de fazer uma padronização do consumo, ou seja, medir através do consumo voluntário quanto os animais seriam capazes de

consumir e, com isso, estabelecer um índice numérico capaz de multiplicar o peso metabólico para estimar o consumo energético diário dos animais (kcal por dia). Para tanto foi utilizada uma dieta com valor estimado de 3500 kcal EM/kg. Segundo o NRC (1985), este valor deve estar entre 225 a 353 kcal/kg<sup>0,75</sup> para cães em crescimento. A busca por este valor foi importante nas demais etapas experimentais, visto que deste experimento em diante, todo o cálculo do consumo dos animais foi submetido a estes resultados, sendo que os animais deveriam consumir todo o alimento oferecido em cada refeição nas demais etapas experimentais. Foram utilizados os 10 animais, sendo 5 machos e 5 fêmeas, que receberam alimentação à vontade duas vezes ao dia. A dieta oferecida foi a dieta basal, cuja formulação é a mesma daquela com alta proteína utilizada no experimento 2 (Tabela 1). Antes de ser oferecida aos animais a ração, foi misturada com água na proporção de 1 parte de ração seca para 1,5 partes de água. A ração foi pesada e em seguida foi feita a mistura com água para imediatamente servir aos animais. Este procedimento foi feito até o animal recusar a dieta, então as sobras foram pesadas e desprezadas e o consumo de alimento, sem água adicionada, foi estimado. Paralelamente, as pesagens diárias foram feitas para estimar o coeficiente de consumo. Estas observações foram feitas por 16 dias e o cálculo de consumo foi feita chegando a um coeficiente de consumo que multiplicando o peso metabólico do animal resultou em um valor de consumo diário em kcal para o animal. Uma média destes valores foi realizada e utilizada nas demais etapas experimentais.

### **2.2.2. Experimento 2 – Teste do resíduo metabólico**

A segunda etapa experimental foi realizada para identificar a velocidade do metabolismo do nitrogênio no organismo dos cães. Este experimento foi necessário, pois o delineamento experimental utilizado foi um *cross-over*, portanto, cada animal consumiu todos os tratamentos em dias diferentes, durante a etapa experimental (Apêndice 03). De acordo com este experimento foi possível identificar quanto tempo após o consumo de um tratamento, os animais apresentariam resposta da proteína consumida, em níveis de uréia plasmática. Dessa forma, foi possível estabelecer quantas refeições com a mesma dieta seriam necessárias para produzir efeito plasmático sobre a uréia para que um tratamento não viesse a interferir no outro, posto que todos os animais durante o período experimental receberiam todos os tratamentos.

Então, utilizaram-se duas dietas, uma com alta proteína e outra com baixa proteína (Tabela 1). Os animais foram alimentados de acordo com um delineamento em que a seqüência do tratamento muda após uma seqüência de dias com o mesmo tratamento (Apêndice 03). Nesta fase, foram utilizadas dietas peletizadas para facilitar o consumo. Para mensurar a UP, amostras de sangue foram coletadas todos os dias 3 horas após o término da refeição da manhã. As amostras de sangue foram levadas ao laboratório para separação do plasma e seu congelamento. Somente quando terminou o experimento as análises de todas as amostras foram feitas em conjunto e os resultados obtidos foram utilizados para delinear o experimento 3 – Lisina.

A análise estatística foi realizada segundo o modelo linear que segue, sendo procedida análise da variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

onde  $Y_{ij}$  é a observação individual,  $\mu$  é a média geral,  $T_i$  é o efeito de tratamento (nível de PB ou dia da sequência) e  $e_{ij}$  é o erro aleatório.

TABELA 1 - Composição de ingredientes e nutrientes das dietas experimentais utilizadas no experimento 2.

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>Dieta de alta proteína</b>	<b>Dieta de baixa proteína</b>
Quirera de arroz	53,00	73,00
Farinha de vísceras	40,19	20,19
Óleo de frango	5,00	5,00
Palatabilizante*	1,00	1,00
Premix Vitamínico	0,04	0,04
Premix Mineral	0,07	0,07
Sal	0,70	0,70
<b>Nutrientes (%)</b>		
Matéria Seca	94,13	92,92
Proteína	31,55	21,41
Gordura	18,37	15,26
Cinzas	8,05	6,37

\* Hidrolizado de carne e vísceras de aves

### 2.2.3. Experimento 3 – Lisina

Nos experimentos para testar o nível de inclusão de aa foram utilizados os 10 cães separados entre machos e fêmeas. Os animais foram divididos em grupos de 2, sendo 1 macho e 1 fêmea, como forma de evidenciar diferenças sobre o sexo. Foram oferecidas 5 dietas, sendo que cada dieta variou somente no nível de inclusão de lys. O primeiro nível conteve o equivalente à inclusão total de lys de 1,11% (T1), aumentando gradativamente 0,15% em cada nível, chegando ao último com a inclusão de 1,71% (T5) (Tabela 2). Assim os níveis recomendados pela AAFCO e NRC foram superados como forma de evidenciar respostas em níveis bem mais elevados de lys na dieta, que são observados em rações industriais. O delineamento experimental foi baseado no *crossover*, sendo que o período experimental teve duração de 10 dias com 5 coletas de sangue, que foram intercaladas por um dia a mais de consumo do mesmo tratamento, ou seja, a amostra de sangue somente foi coletada após 3 refeições do mesmo tratamento. Em seguida o tratamento foi trocado e somente após mais 3 refeições do novo tratamento nova amostra de sangue foi coletada (Apêndice 05). Este delineamento é fruto dos resultados obtidos no teste do resíduo metabólico, no qual o delineamento foi baseado. Antes e após cada etapa experimental os animais foram pesados. No início do experimento o peso foi imprescindível para calcular o consumo dos animais durante o período experimental. O valor utilizado para estimar o consumo foi de  $260 \text{ kcal/kg}^{0,75}$ .

A análise estatística foi realizada segundo o modelo linear que segue, de acordo com o delineamento *crossover*, sendo procedida análise da variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + C_j + D_k + e_{ijkl}$$

onde  $Y_{ijk}$  é a observação individual,  $\mu$  é a média geral,  $T_i$  é o efeito de tratamento (nível de aa testado),  $C_j$  é o efeito de cada cão,  $D_k$  é o efeito do dia (sequência) da medida e  $e_{ijkl}$  é o erro aleatório.



TABELA 2 – Dietas correspondentes aos tratamentos com inclusão de diferentes níveis de lisina.

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>
Quirera de arroz	53,87	53,87	53,87	53,87	53,87
Farinha devísceras	26,72	26,72	26,72	26,72	26,72
Glúten de milho	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Óleo de frango	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Palatabilizante*	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix Vitamínico	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Premix Mineral	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Caulim	0,80	0,61	0,42	0,23	0,04
L-Lisina HCl	0	0,19	0,38	0,57	0,76
<b>Nutrientes (%)</b>					
Matéria Seca	88,79	88,79	88,79	88,79	88,79
Proteína	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00
Carboidrato	41,57	41,57	41,57	41,57	41,57
Fibra bruta	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Gordura	11,70	11,70	11,70	11,70	11,70
Cálcio	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fósforo total	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61
Sódio	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Lisina	1,11(1,19)**	1,26(1,34)	1,41(1,49)	1,56(1,64)	1,71(1,79)
Met+Cys	0,93(0,84)	0,93(0,84)	0,93(0,84)	0,93(0,84)	0,93(0,84)
Metionina	0,54(0,54)	0,54(0,54)	0,54(0,54)	0,54(0,54)	0,54(0,54)
Triptofano	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Treonina	0,97(0,96)	0,97(0,96)	0,97(0,96)	0,97(0,96)	0,97(0,96)
<b>Relações (%)</b>					
Met+Cys/lisina	0,84(0,71)	0,74(0,63)	0,66(0,56)	0,60(0,51)	0,54(0,47)
Treonina/lisina	0,87(0,81)	0,77(0,72)	0,69(0,64)	0,62(0,59)	0,57(0,54)
Triptofano/lisina	0,19(0,18)	0,16(0,16)	0,15(0,14)	0,13(0,13)	0,12(0,12)

(\*) Hidrolizado de carne e vísceras de aves

(\*\*) Valores em itálico e entre parênteses foram obtidos após aminograma da farinha de vísceras

#### **2.2.4 Experimento 4 - Metionina**

Foram utilizados 10 cães que foram submetidos ao mesmo delineamento experimental utilizado para o teste de inclusão de lys. As dietas experimentais foram formuladas de acordo com os resultados obtidos no experimento anterior, ou seja, foi fixado um nível de lys e variaram 5 níveis de inclusão de met para as dietas tratamento (Apêndice 05). Estas dietas respeitaram diferentes relações entre met + cys/lys: 0,60:1; 0,65:1; 0,70:1; 0,75:1 e 0,80:1 (Tabela 3). O coeficiente de consumo foi reduzido devido à dificuldade dos animais em consumir todo o alimento, muitas vezes sendo necessário forçar a alimentação. Dessa forma, o coeficiente de consumo que era de 260 foi reduzido para 250 kcal/kg<sup>0,75</sup>. As coletas de sangue foram realizadas 3 horas após a refeição da manhã, também com dias intercalados entre os tratamentos. Foram realizadas as análises de uréia, glicose e triglicerídeos nas amostras de plasma. Os dados experimentais foram submetidos à análise da variância e as médias foram analisadas pelo teste de Tukey a 0,05% de significância.

A análise estatística foi procedida conforme descrito no experimento 3.

TABELA 3– Dietas experimentais, correspondentes aos tratamentos, com inclusão de diferentes níveis de met+cys.

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>
Quirera de arroz	54,45	54,45	54,45	54,45	54,45
Farinha de vísceras	37,93	37,93	37,93	37,93	37,93
Óleo de frango	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Palatabilizante*	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix Vitaminico	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Premix Mineral	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Caulim	0,89	0,81	0,74	0,67	0,59
L-Lisina HCl	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
DL-metionina	0	0,074	0,15	0,22	0,3
<b>Nutrientes (%)</b>					
Matéria Seca	89,23	89,23	89,23	89,23	89,23
Proteína	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00
Carboidrato	39,75	39,75	39,75	39,75	39,75
Fibra bruta	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Gordura	13,49	13,49	13,49	13,49	13,49
Cálcio	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40
Fósforo total	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Sódio	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Lisina	1,44(1,56)**	1,44(1,56)	1,44(1,56)	1,44(1,56)	1,44(1,56)
Triptofano	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Treonina	1,00(0,99)	1,00(0,99)	1,00(0,99)	1,00(0,99)	1,00(0,99)
Met+Cys	0,87(0,73)	0,94(0,81)	1,01(0,88)	1,08(0,95)	1,44(1,02)
Metionina	0,51(0,51)	0,58(0,58)	0,65(0,65)	0,73(0,73)	0,80(0,80)
<b>Relações (%)</b>					
Met+Cys/lisina	0,60(0,47)	0,65(0,52)	0,70(0,56)	0,75(0,61)	0,80(0,65)
Treonina/lisina	0,70(0,63)	0,70(0,63)	0,70(0,63)	0,70(0,63)	0,70(0,63)
Triptofano/lisina	0,15(0,14)	0,15(0,14)	0,15(0,14)	0,15(0,14)	0,15(0,14)

(\*) Hidrolizado de carne e vísceras de aves

(\*\*) Valores em itálico e entre parênteses foram obtidos após aminograma da farinha de vísceras

## 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1. Experimento 1

Na Tabela 4 estão apresentados os valores obtidos no experimento para a padronização do coeficiente de consumo. Dos dados obtidos ao longo dos 8 dias foi realizada a média do coeficiente de consumo entre machos e fêmeas. Como os valores dos coeficientes foram semelhantes entre machos e fêmeas foi realizada uma média e desta forma foi estabelecido o valor de 281 kcal/kg<sup>0,75</sup>. No entanto, como o objetivo deste experimento foi o de permitir o consumo total do alimento fornecido, subestimamos em 11 unidades o coeficiente de consumo. Dessa forma, o consumo em g de alimento foi estimado para os demais experimentos através da equação 270 kcal \* PM, que resultou no total de kcal de consumo diário o qual foi dividido em duas refeições diárias.

TABELA 4 – Valores dos coeficientes de consumo diários obtidos nos 8 dias de experimento, com média por cão, sexo e geral, em kcal/kg<sup>0,75</sup>/dia.

Cães	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Média	Média Sexo
1	308	187	274	277	339	324	268	233	276	
2	340	275	248	294	334	224	204	265	273	
3	306	261	266	296	293	275	216	297	276	
4	402	273	291	317	349	309	246	239	303	
5	372	354	370	367	376	341	352	334	358	<b>297</b>
6	307	296	316	325	322	238	264	239	288	
7	327	203	238	219	230	258	268	239	248	
8	294	305	225	235	280	259	192	259	256	
9	311	256	289	256	237	232	189	273	255	
10	369	319	170	244	277	267	270	324	280	<b>266</b>
Média dos cães									<b>281</b>	

Nesta fase experimental os animais receberam dieta na forma farelada. Para permitir o consumo foi adicionada sobre o pó 1,5 partes de água para cada

parte de dieta. Isso permitiu que os animais consumissem toda a dieta. No entanto, a textura conferida a esta mistura dificultou o consumo, a consistência pastosa impediu que toda a dieta fosse ingerida rapidamente. Também, as dietas passaram a ter um volume 2,5 vezes maior que aquele da dieta em pó, e os animais apresentaram dificuldade de consumir a quantidade de energia necessária, simplesmente por uma limitação física do trato digestório. Dessa forma adotou-se um procedimento de peletização para permitir que os animais consumissem rapidamente o alimento seco. Caso isso não fosse feito, o tempo destinado à alimentação seria muito longo. O conhecimento de que o pico da UP ocorre 3 horas pós-prandial exigiu que o consumo do alimento fosse realizado de forma homogênea entre os animais e de maneira mais rápida possível, para que não fosse perdido o ponto de referência do momento da coleta de sangue. Com isso, foi estipulado o tempo máximo de 20 minutos para o consumo total da dieta.

### 2.3.2. Experimento 2

Na Tabela 5 estão dispostos os valores de UP dos cães quando diferentes dietas foram oferecidas aos mesmos animais com variação no tempo (Apêndice 03). Nota-se que os animais ao receberem dietas com níveis diferentes de proteína tem seus níveis plasmáticos de uréia variando de forma diretamente proporcional, ou seja, quando os níveis de proteína são elevados na dieta prontamente se estabelece um acréscimo nos níveis de UP.

TABELA 5 – Valores de uréias plasmática (mg/dL) em cães alimentados com dietas diferentes em concentração de PB.

<i>Tratamento</i>	<i>Uréia (mg/dL)</i>
T1 (Baixa Proteína)	30,67 <b>a</b>
T2 (Alta Proteína)	37,49 <b>b</b>
Erro Padrão	5,49
P	0,0001

Quando os cães foram submetidos à variação entre os níveis de proteína na dieta (Tabela 6) foi possível observar que nos cães 1,2,3,6,7,8, os níveis plasmáticos de uréia no primeiro dia são semelhantes àqueles encontrados no último dia. No dia 1 os animais receberam dieta com baixa proteína, porém nos dias anteriores ao experimento, os cães estavam recebendo dieta com alta proteína, então a dieta pré experimental exerceu efeito sobre a uréia do dia 1. No dia 2, quando os cães continuaram consumindo dieta com baixa proteína, os níveis de UP caíram, porém não de forma significativa. No terceiro dia, com a mudança de tratamento, ainda não se evidencia uma diferença significativa apesar do aumento numérico da UP. Porém, no dia 4 é evidenciado o momento

em que a alimentação com alta proteína muda significativamente os níveis de UP, sendo que no dia 5 estes valores permanecem estáveis.

TABELA 6 - Valores de UP (mg/dL) diários, em cães alimentados com diferentes dietas – alta e baixa proteína ao longo de 5 dias – animais 1,2,3,6,7,8.

<i><b>Dia / Tratamento</b></i>	<i><b>Uréia (mg/dL)</b></i>
<b>1</b> (baixa proteína)	32,95 <b>ab</b>
<b>2</b> (baixa proteína)	27,40 <b>a</b>
<b>3</b> (alta proteína)	31,88 <b>a</b>
<b>4</b> (alta proteína)	42,58 <b>c</b>
<b>5</b> (alta proteína)	38,82 <b>bc</b>
Erro Padrão	5,56
P	0,0007

Na Tabela 7, quando analisamos os resultados do delineamento experimental que foi utilizado para os cães 4,5,9 e 10 (Apêndice 03), o qual segue um protocolo diferente daquele utilizado para os demais animais, os resultados obtidos são tão interessantes quanto os anteriores. Observando a UP do dia 1 e 2 quando os animais receberam dietas com alta proteína e tendo em vista que os animais recebiam a mesma dieta antes do início do experimento, nota-se novamente que a UP somente se estabiliza no segundo dia do experimento, visto que a UP do dia 1 não apresenta diferença significativa ao dia 3 e 4, quando os animais receberam dieta com baixa proteína. Mas, quando os animais receberam dietas com baixa proteína não houve diferença significativa para os dias posteriores enquanto os animais receberam a mesma dieta. Isso sugere que dietas com baixa proteína não causam interferência na uréia plasmática das

dietas fornecidas no dia seguinte, diferente daquilo que ocorre em dietas com alta proteína.

TABELA 7 - Valores de UP (mg/dL) diários, em cães alimentados com diferentes dietas – alta e baixa proteína ao longo de 6 dias – Animais 4,5,9,10

<b>Dia</b>	<b>Uréia (mg/dL)</b>
<b>1</b> (alta proteína)	36,30 <b>bc</b>
<b>2</b> (alta proteína)	40,18 <b>c</b>
<b>3</b> (baixa proteína)	29,80 <b>ab</b>
<b>4</b> (baixa proteína)	29,57 <b>ab</b>
<b>5</b> (baixa proteína)	26,57 <b>a</b>
<b>6</b> (alta proteína)	29,10 <b>a</b>
Erro Padrão	4,33
P	0,0045

Os resultados obtidos nestes experimentos foram decisivos para o delineamento dos experimentos para o teste dos aa. Caso fossem utilizadas dietas com baixo nível de proteína, poderíamos utilizar delineamento em cross-over, como aquele utilizado por Maciel (2003), em que a coleta de sangue foi feita 3 horas após uma única refeição do tratamento, já que dietas com baixa proteína não interferem nos níveis de UP dos dias subsequentes. No entanto, como a tendência foi a de utilizar dietas contendo alto nível de proteína os resultados obtidos nestes experimentos nos obrigaram ao desenvolvimento de um novo protocolo experimental. Dessa forma, neste novo delineamento, cada tratamento deveria ser consumido pelo animal pelo menos por 3 refeições antes da coleta de sangue, diferente daquele utilizado pelos autores citados acima. Para que o animal recebesse 3 refeições antes da coleta de sangue foi necessário 1 dia de



intervalo entre cada coleta, sendo que um *crossover* com 5 casais de animais e 5 tratamentos durou 10 dias.

De acordo com estes resultados foi possível iniciar os protocolos experimentais para o teste da inclusão de aa. A lys e a met+cys foram os primeiros aa a serem testados baseando o delineamento experimental em dietas com alta proteína, ou seja, o uso de no mínimo 3 refeições com o mesmo tratamento

### **2.3.3. Experimento 3**

Os resultados do experimento para testar o requerimento de lys na dieta são pouco conclusivos (Tabela 8). Não foram observados efeitos em tratamento, nem para UP, nem para GP e TP, no entanto, foi observado efeito de dia sobre a UP. De fato, o efeito dia não era esperado para este modelo que foi desenvolvido baseado nos resultados do experimento 2, em que dietas com alta proteína produzem efeito estável após 3 refeições. Dessa forma, os efeitos encontrados para dia na UP são bastante duvidosos e suscitam a hipótese de um tratamento estar influenciando no outro subsequente.

O fato dos cães apresentarem no dia 1 a maior concentração plasmática de uréia e irem reduzindo até o dia 3 para depois estabilizar, poderia ser justificado pelo consumo do alimento, que foi calculado através do peso metabólico do animal no 1º dia do experimento (Consumo em kcal EM =  $260 \cdot PM$ ), sendo este consumo mantido até o último dia. No primeiro dia do experimento os animais apresentavam uma certa dificuldade em consumir todo alimento, muitas vezes tendo que ser forçados para que o animal viesse a ingerir tudo durante os

20 minutos reservados para a alimentação. A partir do 5º dia de experimento os animais passaram a consumir o alimento mais facilmente, talvez por aumentar a necessidade por conta do aumento do peso metabólico. É importante ressaltar que o escore corporal dos animais foi acompanhado diariamente – observação visual – como forma de controlar o excesso ou a carência alimentar. Na maior parte do experimento os animais tiveram acréscimo do peso e mantiveram escore corporal por volta de 3,5, numa escala de 1 a 5. Acredita-se, portanto, que as dietas não excederam em energia e que os animais tiveram dificuldade de ingerir o alimento por outro motivo. A outra hipótese bastante provável está relacionada ao conteúdo total de PB da dieta que pode ter excedido às necessidades fisiológicas dos animais. É válido lembrar que os animais foram mantidos em local com controle de temperatura e com certa limitação de movimentos. Este pode ter sido um fator de interferência muito importante, já que restrição de movimentos intensos (corridas, principalmente) pode ter interferido no *turnover* nitrogenado negativamente, tornando o metabolismo nitrogenado mais lento com menor deposição protéica.

O uso de níveis altos de lys também pode ter interferido nas respostas dos animais. Segundo Milner (1981), o requerimento de lys para cães em crescimento fica entre 0,46 e 0,58%, sendo que níveis bem mais elevados, 1,73%, causam queda de desempenho. No entanto, este autor trabalhou com dietas contendo aa purificados, ou seja, a disponibilidade da fonte chega muito próximo a 100%. Em ingredientes de origem animal e vegetal a disponibilidade da lys é muito variável, principalmente se estes ingredientes contêm amido e passam por processo térmico. Segundo Larsen et al. (2002), a caseína possui em torno de

96% de disponibilidade de lys, mas quando aquecida por 2 horas em temperatura de 121°C, essa disponibilidade cai para 56%.

De fato, todos os ingredientes de origem animal que utilizamos passam por processo térmico e na maioria das vezes, durante o processamento destes ingredientes há contaminação com ingredientes de origem vegetal, fonte de amido. Esta contaminação se dá a partir do conteúdo intestinal das vísceras, que são levadas ao digestor junto com outras partes do animal. A presença de glicídeos associados a proteínas junto com o processamento térmico é responsável, em maior ou menor escala, pelas reações de Maillard que reduzem a digestibilidade da proteína. Neste experimento utilizamos farinha de frango, que é composta por carcaças e vísceras, cujo processamento depende de alta temperatura. Portanto, apesar de termos tratamentos com altos níveis de lys, 1,73% acredita-se que eles não tenham ultrapassado os níveis de queda de desempenho propostos por Milner (1981).

O efeito observado na UP para o fator “cão” era esperado, já relatado por Maciel (2003). Normalmente, os animais respondem proporcionalmente da mesma forma, no entanto, os níveis basais de UP podem ser muito variados. Segundo Kaneko et al. (1997) os valores de referência vão de 21,4 a 59,9 mg/dL em cães.

TABELA 8 - Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de lisina.

Fonte de Variação	Concentração Plasmática (mg/dL)		
	Uréia	Glicose	Triglicerídeos
T1	45,60	125,84	106,76
T2	49,26	132,02	111,12
T3	45,55	124,17	120,98
T4	49,07	121,14	110,77
T5	50,52	131,96	120,15
Erro Padrão	1,583	5,835	10,627
Cão 1	50,47	111,92	82,8
Cão 2	53,56	124,82	123,54
Cão 3	50,91	131,84	123,86
Cão 4	49,73	116,18	124,88
Cão 5	43,49	139,68	128,40
Cão 6	44,71	145,78	147,06
Cão 7	45,01	135,42	119,40
Cão 8	50,33	119,46	123,08
Cão 9	45,82	124,52	84,98
Cão 10	45,95	120,64	81,56
Erro Padrão	2,238	8,252	15,029
Dia 1	58,35 c	134,29 b	120,51
Dia 2	51,61 b	147,81 b	117,02
Dia 3	42,56 a	101,31 a	113,36
Dia 4	43,97 a	109,98 a	100,09
Dia 5	43,50 a	141,74 b	118,80
Erro Padrão	1,583	5,835	10,627
Probabilidade			
Tratamento	0,1065	0,6066	0,8427
Cão	0,0416	0,1225	0,0438
Dia	0,0001	0,0001	0,6694

A análise de GP e TP não evidenciaram correlação com a UP. De fato, não se esperava resultados muito esclarecedores por parte da GP e TP. A GP inicia seu pico logo após a refeição, cerca de 30 minutos e em torno de 2 horas retorna aos níveis normais (Sastre, 1994). Os valores de GP relatados por Kaneko et al. (1997) estão entre 65 a 118 mg/dL. Os triglicerídeos são absorvidos no TGI e formam os quilomicrons, cuja concentração plasmática é elevada 30 minutos após a refeição e se estende até 2 horas, no entanto, a hidrólise completa dos quilomicrons para formar triglicerídeos se dá entre 6 e 10 horas após a refeição (Nelson & Couto, 2003). Tendo em vista que as coletas de sangue ocorreram 3 horas pós-prandial é possível que estes indicadores não revelem qualquer relação com a UP, nem mesmo com as dietas. Entende-se também, que esta relação pode existir, no entanto, deve se buscar o momento de coleta de sangue para dosagem destes indicadores, para que possam ser traçados delineamentos capazes de utilizar GP e TP associados a UP para determinar qualidade de proteína.

Não foram observadas diferenças significativas para sexo em nenhum dos parâmetros analisados.

O fato de não ter se chegado a uma conclusão precisa a respeito do nível de inclusão de lys, fez com que fosse fixado, para a próxima etapa experimental, o nível referente ao tratamento que produziu o menor pico de UP nos cães, correspondendo ao T3, ou seja, 1,44% de lys total.

#### 2.3.4 Experimento 4

Os resultados obtidos no experimento com a suplementação de met estão dispostos na Tabela 9. Como pode ser visto neste experimento os efeitos de dia se sobrepõem novamente aos resultados sobre tratamento. O efeito de cã não aparece para UP nem para GP, mas está presente nos TP novamente como no experimento anterior.

O fato de não ser observado efeito sobre tratamento não era esperado, já que foi identificado por Maciel (2003). Uma regressão linear entre met+cys/lys bastante clara com ponto máximo de 0,70:1. A intenção deste experimento foi saber até onde esta regressão poderia seguir de forma linear, ou seja, descobrir o ponto de inversão como forma de otimizar a relação entre estes dois aa. A utilização de um delineamento diferente daquele utilizado por estes autores não nos permitiu encontrar diferenças significativas entre os tratamentos, no entanto aparece uma interferência muito grande do fator “dia” sobre o tratamento. Caso seja feita uma observação sobre os valores de médias dos tratamentos, observe-se o menor pico de UP sobre o tratamento 2, cuja relação é de 0,70:1, muito próxima daquela já encontrada. A relação correspondente ao tratamento 3, de 0,75:1, possui pico de uréia maior que o tratamento anterior, mas a probabilidade é muito baixa para afirmarmos que realmente estamos diante do ponto de inversão.

As possibilidades para a ocorrência destes resultados estão ancoradas nos mesmos motivos já citados para o experimento do teste da inclusão de lys: restrição de movimentos e excesso de proteína na dieta, os quais interferem nos resultados dos níveis de aa sobre a UP.

Com relação à GP e TP não se estabelecem diferenças entre tratamentos e nem de correlação com a UP. Ainda assim, aparece efeito de “dia” e “cão” para TP.

TABELA 9 –Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de met+cys.

Fontes de Variação	Concentração Plasmática (mg/dL)					
	Uréia		Glicose		Triglicerídeos	
T1	38,20		142,59		139,77	
T2	35,34		151,10		143,33	
T3	36,80		142,69		140,55	
T4	37,69		145,19		140,43	
T5	40,48		146,59		136,60	
Erro Padrão	1,6205		3,4466		8,9590	
Cão 1	38,69		144,94		85,57	
Cão 2	40,81		141,22		164,50	
Cão 3	37,11		142,08		171,50	
Cão 4	35,44		136,26		124,70	
Cão 5	38,38		150,32		146,21	
Cão 6	34,42		147,48		143,44	
Cão 7	43,53		149,72		144,68	
Cão 8	36,05		150,14		140,54	
Cão 9	35,79		148,14		157,42	
Cão 10	36,82		146,02		122,80	
Erro Padrão	2,2917		4,8743		12,67	
Dia 1	33,90	a	164,21	a	128,82	a
Dia 2	33,99	a	135,87	b	119,39	a
Dia 3	35,91	ab	142,55	b	153,22	a
Dia 4	42,90	c	143,18	b	154,86	a
Dia 5	41,81	bc	142,35	b	144,39	a
Erro Padrão	1,9205		3,4466		8,9590	
Probabilidade						
Tratamento	0,2690		0,4213		0,9901	
Cão	0,2117		0,5607		0,0035	
Dia	0,0004		0,0001		0,0356	

## 2.4. CONCLUSÃO

O delineamento experimental utilizado não foi totalmente eficiente para demonstrar diferença entre tratamentos. Há uma interferência muito forte do fator “dia” que interfere nos resultados dos tratamentos. Isso pode ser associado aos altos níveis de PB utilizados. Propõe-se um novo delineamento com inclusão de níveis mais baixos de proteína com cães criados em ambiente ao ar livre com maior período de atividades físicas.

Independentemente dos resultados da análise estatística, sugere-se a inclusão de níveis de lys total próximos a 1,44% e met/cys de 0,94%, obedecendo uma relação entre met+cys/lys que fica próxima a 0,70:1.



### **3. CAPÍTULO III**

## **AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO IDEAL ENTRE AA ESSENCIAIS (MET/CYS, THR, TRP) NA DIETA DE CÃES EM CRESCIMENTO.**

### **3.1. INTRODUÇÃO**

A busca pela proteína ideal tem sido estudada em suínos e aves como forma de otimizar o crescimento e reduzir os custos para a produção de carnes. Para os cães a busca pela melhor relação entre aminoácidos está na possibilidade de oferecer a estes animais alimentos mais balanceados cuja qualidade reverterá em benefícios para saúde animal.

O conceito de proteína ideal procura estabelecer a proporção ótima de aa indispensáveis em relação à lys (considerando a lys 100% com base nas necessidades dos tecidos), com o objetivo de otimizar o crescimento e a utilização da dieta (Seixas et al. 2003). De acordo com alguns estudos de Block & Mitchell (1946) a proteína ideal é caracterizada pela mistura de aa ou de proteínas com total disponibilidade na digestão e no metabolismo, cuja composição é idêntica às exigências para a manutenção e crescimento do animal. Assim sendo, se for obtida uma relação entre as proporções de aa que compõem uma dieta, que satisfaça a manutenção e permita a máxima deposição protéica, esta proteína dietética é considerada ideal. Chegar à proteína ideal, portanto é muito difícil, se não

impossível, mas pode-se aproximar muito desta proteína quando o valor biológico de uma fonte protéica é elevado. O uso desse tipo de conceito permite a inclusão de menor percentual protéico na dieta devido ao alto valor biológico desta proteína.

A lys é o aa base para expressar o requerimento dos demais aa, desta forma deve-se estabelecer em primeiro lugar a necessidade de lys em uma dieta. A lys foi escolhida como aa de referência por uma série de motivos bem estabelecidos. Em primeiro lugar, trata-se do primeiro aa limitante em dietas para suínos, bem como possui uma função estrita de deposição protéica. Ainda assim, é o aa mais fácil de ser analisado e há na literatura muitas informações sobre ele, principalmente com relação a aves e suínos (Parsons & Baker, 1994).

A utilização dos programas de formulação e de aa sintéticos tem permitido formular dietas em que as relações entre aa ficam preservadas, de acordo com a necessidade de cada espécie em cada fase de desenvolvimento e produção. Sendo assim, precisamos identificar estas relações para atender às necessidades de cada espécie. Em cães existem poucos trabalhos na literatura sobre a relação ideal entre aa essenciais na dieta, talvez pela dificuldade em trabalhar com esta espécie. No entanto, há necessidade de definir as relações para o melhor desempenho destes animais. Segundo o NRC (1985) as relação dos aminoácidos met/cys, thr, trp, com relação à lys são as seguintes: 0,76:1; 0,92:1; 0,29:1, respectivamente. A AFFCO (2000) possui propostas diferentes para os mesmos aa e são as seguintes: 0,69; 0,75; 0,26, respectivamente. A produção de rações industriais extruzadas de alto nível de PB (~30%) tende

normalmente a produzir relações mais baixas em função dos altos níveis de lys que são alcançados.

O objetivo deste trabalho foi determinar as necessidades dos 3 aa mais limitantes para cães, com vistas à proteína ideal, ou seja, padronizar os níveis de inclusão da met/cys, thr e trp em dietas destinadas a cães em fase de crescimento, utilizando o método da análise das concentrações plasmáticas de uréia descrito por Eggum (1970), no qual há uma correlação inversa entre o nível de UP e o balanço ideal entre os aa. Também, nas mesmas amostras de plasma foram dosados GP e TP como forma de estabelecer uma relação com os níveis de UP. Para a conclusão do balanço final de aa foi realizado um ensaio de digestibilidade com duas dietas, uma contendo o balanço de aa encontrado em experimentos prévios e outra sem o acréscimo de aa sintéticos.

### **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizados 10 cães da raça Pit Bull, na fase de crescimento, com idade entre 125 e 170 dias. Todos os cães foram provenientes de uma ninhada de 13 animais, dos quais serviram à experimentação apenas 5 machos e 5 fêmeas. O peso inicial dos machos foi de  $17,2 \pm 1,33$  kg e o final de  $23,2 \pm 1,61$ , o peso inicial das fêmeas foi  $12,9 \pm 1,09$  kg e o final de  $17,7 \pm 0,81$  kg. Os animais receberam 3 doses de vacina polivalente VANGUARD®, com intervalo de 21 dias a cada dosagem. A desverminação foi realizada através de 2 dosagens com o vermífico MILBEMAX® (Apêndice 02). A primeira dose no período de adaptação, logo na chegada, a segunda dosagem ocorreu um mês após, antes do início do período experimental com os aa.

Todas as etapas experimentais ocorreram no Laboratório de Ensino Zootécnico “Dr. Geraldo Velloso Vieira” (LEZO), da Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os animais foram alojados durante o período experimental em uma sala climatizada com controle de temperatura e luminosidade. A temperatura variou entre 20 e 22 °C e as luzes foram acesas às 8:00 e apagadas às 18:00. Os cães dormiram em grupo sobre um estrado metálico coberto por uma tela plástica que conferiu conforto aos animais deixando-os afastados de dejetos e umidade. Cada animal foi resenhado e identificado com um número de 1 a 10, machos de 1 a 5 e fêmeas de 6 a 10. As dietas foram pesadas individualmente para cada animal e divididas em duas refeições diárias, administradas às 8:30 e 16:30, oferecidas em comedouros individuais identificados com o número do animal. Os animais permaneceram com as dietas à disposição por um período de 20 minutos em cada refeição. A água foi oferecida à vontade em bebedouros coletivos. A sala foi limpa 2 vezes ao dia, antes da refeição da manhã e após a refeição da tarde. As fezes foram recolhidas com o auxílio de uma espátula e uma pá, sendo em seguida a sala limpa com água e desinfetante e seca com um pano para evitar que o piso permanecesse liso e escorregadio.

Todo alimento consumido correspondente às dietas experimentais, foi produzido no LEZO. As dietas foram compostas pelos seguintes ingredientes: farinha de vísceras de aves, quirera de arroz, óleo de frango, palatabilizante (hidrolisado de carne), premix vitamínico e mineral, antioxidante, sal e aa sintéticos, variando as proporções destes ingredientes conforme os tratamentos.

A mistura das dietas experimentais foi feita através da pesagem individual de todos os ingredientes que foram colocados dentro de um saco plástico. Dentro deste saco foi realizada uma prévia mistura manual e em seguida retirada uma porção que foi levada a um picador de forragem, que serviu como misturador, para a adição do óleo de frango. Este procedimento garantiu uma mistura mais homogênea do óleo impedindo prejuízos posteriores na mistura. Após a adição do óleo as duas partes da mistura passaram por um processo de peneiração para desmanchar alguns grumos formados pela farinha de vísceras e farinha de arroz com o óleo. Dessa forma, foram colocadas sobre a peneira duas porções da mistura, uma com óleo e outra mais seca, com a mistura dos demais ingredientes. Assim efetuou-se a peneiração antes da mistura ser ingressada no misturador em “Y”. Dentro do misturador em “Y”, a ração permaneceu por 15 minutos e em seguida foi removida e colocada em um saco identificado com o número do tratamento respectivo. No processo de mistura dos diferentes tratamentos o misturador foi limpo antes de receber a nova mistura. Ainda assim, durante os experimentos em que houve a inclusão de aa sintéticos, respeitou-se uma ordem de mistura iniciando pelos níveis mais baixos de inclusão para evitar a contaminação residual.

Com a mistura dos ingredientes em mãos, as dietas foram submetidas a peletização. Para este procedimento cada dieta foi pesada em múltiplas porções de 2 kg que foram misturadas manualmente com 750 mL de água, dessa forma produzindo uma massa com consistência quebradiça. Para formar os peletes utilizamos uma máquina de moer carne com uma matriz de 100 furos, cada furo com 4 mm de diâmetro. Os peletes formados foram aparados em uma bacia e

despejados sobre uma forma revestida com papel alumínio sendo em seguida levados para a estufa com fluxo de ar forçado a 70 °C, na qual permaneceram por 20 horas para a secagem. Removidas da estufa as dietas permaneceram por 30 minutos ao ar livre para resfriar e, em seguida, foram armazenadas em sacos plásticos identificados com o número do tratamento.

Foram realizadas 4 etapas experimentais em que foram testados 5 níveis de inclusão de três aa – Met+Cys, Thr, Trp. Na última etapa experimental foi realizado um experimento de metabolismo para comparar a digestibilidade, metabolizabilidade e UP de duas dietas – uma contendo o balanço de aa encontrado, em que houve a suplementação de aa sintéticos, e outra em que o balanço de aa se deu apenas pelos ingredientes da fórmula. Dessa forma os experimentos respeitaram uma série, sendo que cada etapa foi pré-requisito para a etapa posterior.

Ao final de cada experimento foram realizadas as dosagens de uréia plasmática e estes resultados foram analisados estatisticamente para que o melhor resultado obtido pudesse ser utilizado no experimento seguinte. O critério utilizado para identificar a melhor relação entre os aminoácidos foi o pico da uréia, o qual ocorre 3 horas após a refeição (Maciel, 2003) sendo que o tratamento correspondente ao menor pico de uréia foi identificado como a melhor relação entre os aa.

As amostras de sangue foram coletadas por punção da veia cefálica direita utilizando tubos de vácuo estéril (3 mL) com anticoagulante heparina. Após a coleta os tubos foram acondicionados em uma caixa de polietileno com gelo e levados ao laboratório, onde foram centrifugados a 3.000 rpm durante 15 minutos

para a separação do plasma. Cada amostra de plasma foi acondicionada em 3 alíquotas identificadas pelo número do animal, tratamento e dia, e congelada a -80 °C.

As análises de UP, GP e TP foram feitas através do descongelamento de uma alíquota, que foi submetida a métodos enzimáticos de análise através de espectrofotometria (Apêndice 76).

### **3.2.1. Experimento 1 – Metionina**

O experimento foi desenvolvido baseado nos resultados dos experimentos 1 e 3 do Capítulo II. Para a formulação das dietas utilizou-se o nível de inclusão de lys correspondente a 1,44%. Foram utilizadas 5 dietas contendo diferentes relações entre met+cys / lys: 0,6:1, 0,65:1, 0,70:1, 0,75:1 e 0,80:1 (Tabela 1). O coeficiente de consumo foi ajustado em  $250 \text{ kcal/kg}^{0,75} \text{ d}$  devido à dificuldade dos animais consumirem todo o alimento, muitas vezes sendo necessário forçar a alimentação. Foram feitas coletas de sangue diárias para a análise das concentrações plasmáticas de uréia, sendo os resultados submetidos à análise estatística.

TABELA 1 – Dieta comercial e dietas correspondentes aos tratamentos com inclusão de diferentes níveis de met+cys.

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>Dieta Comercial</b>
Quirera de arroz	54,45	54,45	54,45	54,45	54,45	
Farinha de vísceras	37,93	37,93	37,93	37,93	37,93	
Óleo de frango	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	
Palatabilizante*	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
Premix Vitamínico	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	
Premix Mineral	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	
Caulim	0,89	0,81	0,74	0,67	0,59	
L-Lisina HCl	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	
DL-metionina	0	0,074	0,15	0,22	0,3	
<b>Nutrientes (%)</b>						
Matéria Seca	89,23	89,23	89,23	89,23	89,23	88,0
Proteína	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00	27,0
Carboidrato	39,75	39,75	39,75	39,75	39,75	40,0
Fibra bruta	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	6,0
Gordura	13,49	13,49	13,49	13,49	13,49	6,0
Cálcio	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40	2,0
Fósforo total	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	1,0
Sódio	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,4
Lisina	1,44	1,44	1,44	1,44	1,44	
	<i>(1,56)**</i>	<i>(1,56)</i>	<i>(1,56)</i>	<i>(1,56)</i>	<i>(1,56)</i>	
Triptofano	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	
Treonina	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
	<i>(0,99)</i>	<i>(0,99)</i>	<i>(0,99)</i>	<i>(0,99)</i>	<i>(0,99)</i>	
Met+Cys	0,87	0,94	1,01	1,08	1,44	
	<i>(0,73)</i>	<i>(0,81)</i>	<i>(0,88)</i>	<i>(0,95)</i>	<i>(1,02)</i>	
Metionina	0,51	0,58	0,65	0,73	0,80	
	<i>(0,51)</i>	<i>(0,58)</i>	<i>(0,65)</i>	<i>(0,73)</i>	<i>(0,80)</i>	
<b>Relações (%)</b>						
Met+Cys/lisina	0,60	0,65	0,70	0,75	0,80	
	<i>(0,47)</i>	<i>(0,52)</i>	<i>(0,56)</i>	<i>(0,61)</i>	<i>(0,65)</i>	
Treonina/lisina	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	
	<i>(0,63)</i>	<i>(0,63)</i>	<i>(0,63)</i>	<i>(0,63)</i>	<i>(0,63)</i>	
Triptofano/lisina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	
	<i>(0,14)</i>	<i>(0,14)</i>	<i>(0,14)</i>	<i>(0,14)</i>	<i>(0,14)</i>	

(\*) Hidrolizado de carne e vísceras de aves

(\*\*) Valores em itálico e entre parênteses foram obtidos após aminograma da farinha de vísceras



O delineamento experimental utilizado foi um *cross-over*, cujo protocolo experimental foi semelhante àquele utilizado por Maciel (2003) (Apêndice 08). Neste experimento os animais passaram a ser alimentados com apenas uma única refeição do tratamento pela manhã e a coleta de sangue foi realizada 3 horas após. Na dieta da tarde foi utilizado alimento comercial e no dia seguinte um novo tratamento foi fornecido com posterior coleta de sangue 3 horas após a refeição. Dessa forma, cada etapa experimental teve duração de 5 dias, sendo um tratamento testado por dia em cada animal.

A análise estatística foi realizada segundo o modelo linear que segue, de acordo com o delineamento *cross-over*, sendo procedida análise da variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + C_j + D_k + e_{ijkl}$$

onde  $Y_{ijk}$  é a observação individual,  $\mu$  é a média geral,  $T_i$  é o efeito de tratamento (nível de aa testado),  $C_j$  é o efeito de cada cão,  $D_k$  é o efeito do dia (sequência) da medida e  $e_{ijkl}$  é o erro aleatório.

### 3.2.2 Experimento 2 – Treonina

O experimento para testar o nível de thr obedeceram ao mesmo delineamento utilizado no experimento com a met/cys (Apêndice 08). No entanto, o coeficiente de consumo foi alterado para  $230 \text{ kcal/kg}^{0,75}$ , pois os animais estavam com muita dificuldade de consumir as dietas com o índice em  $250 \text{ kcal/kg}^{0,75}$ . Os 5 tratamentos utilizados correspondem às seguintes relações entre thr/lys: 0,56:1, 0,62:1, 0,68:1, 0,74:1 e 0,80:1 (Tabela 2). As análises de uréia

plasmáticas foram realizadas e o melhor nível de inclusão de thr foi utilizado para a formulação dos diferentes níveis de inclusão de trp.

A análise estatística foi procedida conforme descrito no experimento 1.

TABELA 2 – Dietas correspondentes aos tratamentos com inclusão de diferentes níveis de treonina.

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>
Quirera de arroz	54,50	54,50	54,50	54,50	54,50
Farinha de vísceras	36,96	36,96	36,96	36,96	36,96
Óleo de frango	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Palatabilizante*	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix Vitamínico	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Premix Mineral	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Caulim	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
L-Lisina HCl	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
DL-metionina	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
L-Treonina	0	0,11	0,21	0,32	0,43
L-Triptofano	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057
<b>Nutrientes (%)</b>					
Matéria Seca	89,23	89,23	89,23	89,23	89,23
Proteína	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00
Carboidrato	40,10	40,10	40,10	40,10	40,10
Fibra bruta	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
Gordura	13,30	13,30	13,30	13,30	13,30
Cálcio	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37
Fósforo total	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Sódio	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Arginina	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
Lisina	1,76(1,87)**	1,76(1,87)	1,76(1,87)	1,76(1,87)	1,76(1,87)
Met+Cis	1,18(1,04)	1,18(1,04)	1,18(1,04)	1,18(1,04)	1,18(1,04)
Metionina	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Triptofano	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
Treonina	0,98(0,97)	1,09(1,08)	1,19(1,18)	1,30(1,29)	1,40(1,39)
<b>Relações (%)</b>					
Met+Cis/lisina	0,67(0,56)	0,67(0,56)	0,67(0,56)	0,67(0,56)	0,67(0,56)
Treonina/lisina	0,56(0,52)	0,62(0,58)	0,68(0,64)	0,74(0,70)	0,80(0,76)
Triptofano/lisina	0,15(0,14)	0,15(0,14)	0,15(0,14)	0,15(0,14)	0,15(0,14)

(\*) Hidrolizado de carne e vísceras de aves

(\*\*) Valores em itálico e entre parênteses foram obtidos após aminograma da farinha de vísceras

### 3.2.3 Experimento 3 – Triptofano

O triptofano foi avaliado de acordo com o mesmo delineamento utilizado para thr, com a inclusão nas dietas de 0,62% de thr e com 5 diferentes relações entre trp/lys: 0,13:1, 0,17:1, 0,21:1, 0,25:1 e 0,29:1 (Tabela 3). Após as análises laboratoriais de uréia plasmática foi estabelecida a melhor relação entre os aa.

A análise estatística foi procedida conforme descrito no experimento 1, com a análise adicional onde o efeito de tratamento foi testado como covariável, de forma linear e quadrática, usando os valores das relações trp/lys e (relações trp/lys)<sup>2</sup> como covariáveis.

TABELA 3 – Dietas correspondentes aos tratamentos com inclusão de diferentes níveis de triptofano.

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>
Quirera de arroz	54,69	54,69	54,69	54,69	54,69
Farinha de vísceras	37,20	37,20	37,20	37,20	37,20
Óleo de frango	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Palatabilizante*	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Premix Vitamínico	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Premix Mineral	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
L-Lisina HCl	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
DL-metionina	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
L-Treonina	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045
L-Triptofano	0	0,067	0,134	0,202	0,269
<b>Nutrientes (%)</b>					
Matéria Seca	89,24	89,24	89,24	89,24	89,24
Proteína	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00
Carboidrato	39,90	39,90	39,90	39,90	39,90
Fibra bruta	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Gordura	13,35	13,35	13,35	13,35	13,35
Cálcio	1,38	1,38	1,38	1,38	1,38
Fósforo total	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Sódio	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Arginina	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
Lisina	1,66(1,78)	1,66(1,78)	1,66(1,78)	1,66(1,78)	1,66(1,78)
Met+Cys	1,11(0,98)	1,11(0,98)	1,11(0,98)	1,11(0,98)	1,11(0,98)
Metionina	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Treonina	1,03(1,01)	1,03(1,01)	1,03(1,01)	1,03(1,01)	1,03(1,01)
Triptofano	0,22	0,285	0,35	0,415	0,48
<b>Relações (%)</b>					
Met+Cys/lisina	0,67(0,55)	0,67(0,55)	0,67(0,55)	0,67(0,55)	0,67(0,55)
Treonina/lisina	0,62(0,57)	0,62(0,57)	0,62(0,57)	0,62(0,57)	0,62(0,57)
Triptofano/lisina	0,13(0,12)	0,17(0,16)	0,21(0,20)	0,25(0,24)	0,29(0,28)

(\*) Hidrolizado de carne e vísceras de aves

(\*\*) Valores em itálico e entre parênteses foram obtidos após aminograma da farinha de vísceras

### 3.2.4 Experimento 4 – Digestibilidade

Foram utilizados 8 cães, 4 machos e 4 fêmeas, que foram dispostos individualmente dentro de gaiolas metabólicas – Modelo descrito por Pekas (1968). As gaiolas metabólicas destinadas a suínos na fase de crescimento, foram adaptadas para receber os cães. Foram testadas duas dietas, uma contendo o balanço de aa encontrado nos experimentos anteriores (T1) e outra contendo uma menor inclusão de aa sintéticos cujo balanço entre eles foi proveniente das matérias-primas da fórmula (T2) (Tabela 4). O delineamento utilizado foi um *crossover* na qual todos os animais receberam os dois tratamentos com variação no tempo, desta forma o experimento se deu em duas etapas cada uma com um período de 5 dias. Os animais foram separados em grupos de 2 machos e 2 fêmeas por grupo, cada grupo recebendo um dos tratamentos por 5 dias, sendo que houve um período de adaptação de 2 dias antes do início das coletas de fezes e urina na primeira etapa. Na segunda etapa os tratamentos foram trocados e houve mais 5 dias de observações. No primeiro dia da primeira etapa da digestibilidade os cães receberam as dietas-tratamento com a inclusão de 0,25% de marcador (Xadrez® vermelho – óxido crômico –  $Fe_2O_3$ ), que foi misturado ainda na massa antes da peletização. Esta mesma dieta foi pesada e oferecida no primeiro dia da segunda etapa em 2 refeições, dessa forma foi possível identificar através das fezes marcadas quando a coleta fecal deveria iniciar e terminar. As fezes correspondentes a cada etapa experimental foram armazenadas sob congelamento ( $-10^{\circ}C$ ) em sacos plásticos individuais, identificados com o número do cão. Portanto, cada cão no final do experimento apresentava dois sacos contendo suas fezes, um correspondente à T1 e outro correspondente à T2.

A coleta de urina foi feita diariamente através de uma calha, na qual a urina escorria para dentro de um balde plástico, contendo 5 mL de ácido sulfúrico PA – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. As coletas de urina foram feitas 2 vezes ao dia – à tarde e antes da refeição da manhã – sendo que todo volume de urina foi acondicionado em uma garrafa plástica de 2 litros. O conteúdo do frasco foi agitado, filtrado e uma amostra de 100 mL foi acondicionada em um frasco a -10 °C para a análise da excreção diária de nitrogênio urinário.

Nos últimos 2 dias de cada etapa experimental foi coletada uma amostra de sangue de 4 animais, 2 machos e 2 fêmeas, para análise de uréia plasmática. As amostras foram coletadas somente de 4 animais pois estes eram os únicos que consumiam todo o alimento em tempo hábil (20 minutos).

Os animais foram pesados no início e no final de cada etapa experimental. Da mesma forma, o conteúdo fecal de cada animal em cada etapa foi pesado. A urina teve pesagem diária ao longo de todo o período experimental.

As amostras das dietas e das fezes foram submetidas à análise de Weende e energia bruta. As amostras de urina foram submetidas à análise de nitrogênio total pelo método de Micro Kjeldahl.

Os dados do experimento foram analisados para testar as diferenças entre os tratamentos, avaliando consumo, Coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS), Coeficiente de digestibilidade da energia bruta (CDEB), Coeficiente de digestibilidade da gordura bruta (CDGB), Coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (CDPB), Energia digestível da matéria seca (EDMS), Energia digestível da matéria natural (EDM<sub>Nat</sub>), Proteína bruta retida em

g (PB ret g), Proteína bruta retida em % (PB ret %), Valor biológico da proteína bruta (VBPB).

A análise estatística foi realizada segundo o modelo linear que segue, de acordo com o delineamento *crossover* e fatorial, sendo procedida análise da variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Modelo para respostas de digestibilidade:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + C_j + E_k + e_{ijkl}$$

onde  $Y_{ijk}$  é a observação individual,  $\mu$  é a média geral,  $T_i$  é o efeito de tratamento (nível de aa testado),  $C_j$  é o efeito de cada cão,  $E_k$  é o efeito da etapa da medida e  $e_{ijkl}$  é o erro aleatório.

Modelo para respostas de metabolismo do N:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + C_j + E_k + D_l + e_{ijklm}$$

onde  $Y_{ijk}$  é a observação individual,  $\mu$  é a média geral,  $T_i$  é o efeito de tratamento (nível de aa testado),  $C_j$  é o efeito de cada cão,  $E_k$  é o efeito da etapa da medida,  $D_l$  é o efeito do dia da medida e  $e_{ijklm}$  é o erro aleatório. As interações, não significativas, foram retiradas do modelo.

TABELA 4 – Dietas correspondentes aos 2 tratamentos com inclusão de diferentes níveis de aminoácidos.

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Quirera de arroz	59,34	59,34
Farinha de vísceras	32,55	32,55
Óleo de frango	5,00	5,00
Palatabilizante*	1,00	1,00
Premix Vitamínico	0,04	0,04
Premix Mineral	0,07	0,07
Sal	0,50	0,50
Caulim	0,72	0,97
L-Lisina HCl	0,53	0,53
DL-metionina	0,157	0
L-Treonina	0,025	0
L- Triptofano	0,076	0
<b>Nutrientes (%)</b>		
Matéria Seca	88,87	88,87
Proteína	26,00	26,00
Carboidrato	43,32	43,32
Fibra bruta	0,49	0,49
Gordura	10,85	10,85
Cálcio	1,22	1,22
Fósforo total	0,80	0,80
Sódio	0,38	0,38
Arginina	1,68	1,68
Lisina	1,60 (1,67)**	1,60 (1,67)
Met+Cys	1,07 (0,88)	0,92 (0,73)
Metionina	0,60 (0,64)	0,44 (0,48)
Triptofano	0,32	0,24
Treonina	0,99 (0,97)	0,98 (0,94)
<b>Relações (%)</b>		
Met+Cys/lisina	0,67 (0,53)	0,57 (0,44)
Treonina/lisina	0,62 (0,58)	0,60 (0,56)
Triptofano/lisina	0,20 (0,19)	0,15 (0,15)

(\*) Hidrolizado de carne e vísceras de aves

(\*\*) Valores em itálico e entre parênteses foram obtidos após aminograma da farinha de vísceras



### **3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.3.1 Experimento 1**

Conforme os resultados obtidos com o teste da met no Capítulo II, decidiu-se utilizar outro delineamento experimental, mesmo utilizado por Maciel (2003), cujos resultados experimentais foram mais evidentes. Ao observar os resultados dispostos na Tabela 5, nota-se que eles não reproduzem os valores encontrados no experimento anterior, nem tampouco próximos àquele encontrados pelos autor citado acima.

Os efeitos pertencentes ao fator “cão” eram esperados, no entanto, o fator “dia” significativo ainda indica ineficiência do modelo experimental. Sendo assim, a dieta de um tratamento pode estar interferindo no subsequente. Dessa forma, os dados deste experimento foram desprezados e foi utilizada a relação entre met+cys/lys de 0,70:1 para o teste de inclusão de 5 diferentes níveis de treonina, valor este encontrado no experimento de Maciel (2003) e muito próximo daquele encontrado no experimento descrito no Capítulo II.

TABELA 5 – Valores da concentração plasmática de uréia de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de met+cys.

<b>Fontes de Variação</b>	<b>Concentração Plasmática (mg/dL)</b>
T1	32,66
T2	36,11
T3	34,48
T4	33,97
T5	33,21
Erro Padrão	1,2075
Cão 1	28,61
Cão 2	36,25
Cão 3	28,07
Cão 4	35,09
Cão 5	31,34
Cão 6	38,56
Cão 7	38,29
Cão 8	40,10
Cão 9	34,32
Cão 10	30,3
Erro Padrão	1,1076
Dia 1	34,36 b
Dia 2	29,38 a
Dia 3	33,19 ab
Dia 4	32,93 ab
Dia 5	40,59 c
Erro Padrão	1,2075
Probabilidade	
Tratamento	0,3285
Cão	0,0001
Dia	0,0001

### 3.3.2 Experimento 2

Os resultados dispostos na Tabela 6, referentes à UP medida na inclusão de 5 níveis diferentes de treonina evidenciaram novamente efeito sobre “dia” e “cão”. Quanto aos tratamentos, não foram observadas diferenças significativas, no entanto, os valores de UP sugerem que relações próximas a T2 sejam as melhores para o balanço de aa.

Não foram observadas diferenças significativas para sexo nem correlação entre UP, GP e TP. Com isso, o parâmetro utilizado para escolher a relação de thr/lys mais próxima às necessidades dos cães foi a observação do menor valor numérico referente à UP dentre os tratamentos, correspondente à relação de 0,70:1.

TABELA 6 – Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de treonina.

<b>Concentração Plasmática (mg/dL)</b>	<b>Uréia</b>	<b>Glicose</b>	<b>Triglicerídeos</b>
T1	41,99	140,97	93,56
T2	39,72	130,79	108,16
T3	41,975	134,85	103,47
T4	45,11	128,29	108,73
T5	40,24	152,56	100,47
Erro Padrão	1,447	7,584	9,159
Cão 1	40,32	138,14	80,06
Cão 2	43,48	126,89	106,87
Cão 3	32,35	145,72	104,33
Cão 4	41,61	132,80	121,65
Cão 5	38,97	158,96	125,17
Cão 6	44,96	122,71	111,98
Cão 7	42,59	131,60	95,98
Cão 8	49,74	146,36	91,96
Cão 9	37,62	140,36	96,08
Cão 10	46,43	131,40	94,70
Erro Padrão	2,047	10,726	12,952
Dia 1	39,54	151,01	83,43
Dia 2	43,465	140,07	110,65
Dia 3	39,02	137,85	100,00
Dia 4	44,49	131,71	94,83
Dia 5	42,52	126,82	125,47
Erro Padrão	1,447	7,584	9,159
<b>Probabilidade</b>			
P (Tratamento)	0,1009	0,1926	0,7885
P (Cão)	0,0001	0,4764	0,3555
P (Dia)	0,0429	0,2383	0,0326

### 3.3.3 Experimento 3

Os resultados obtidos no experimento com a inclusão do trp (Tabela 7) parecem ser os mais conclusivos entre todos os resultados referentes aos aa utilizados no balanço. Apesar do fator “dia” ter apresentado efeito, o nível de significância obtido entre os tratamentos parece evidenciar a melhor relação entre trp/lys, a qual fica próxima à relação proposta no tratamento 3, de 0,20:1.

O nível de trp proposto pelo NRC 1985 é de 0,15 % e sua relação com a lys é de 0,29:1. A AAFCO sugere níveis de 0,20 % de trp e relação com lys de 0,26:1. Os resultados desse experimento atestam como sendo a melhor relação trp/lys em torno de 0,21:1(T3) e a inclusão de 0,35 % de trp. Pela análise de covariância foi evidenciado efeito quadrático significativo ( $P = 0,03$ ) das relações trp:lys. Pelos coeficientes da equação obtida ( $UP = 64,405 - 220,03*(trp:lys) + 486,61*(trp:lys)^2$ ) pode ser estimada a melhor relação (menor valor calculado de UP) trp:lys em 0,226:1.

TABELA 7 – Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.

Fontes de Variação	Concentração Plasmática (mg/dL)		
	Uréia	Glicose	Triglicerídeos
T1	44,625	120,35	97,66
T2	39,925	108,22	77,13
T3	39,475	105,17	97,96
T4	41,195	99,66	89,16
T5	40,86	111,27	109,58
Erro Padrão	1,2768	5,0371	11,2703
Cão 1	34,32	114,70	50,63
Cão 2	39,37	107,72	106,35
Cão 3	33,95	99,61	92,29
Cão 4	43,36	102,51	99,50
Cão 5	40,18	116,67	97,86
Cão 6	43,73	111,25	91,91
Cão 7	49,43	107,80	126,55
Cão 8	49,06	94,27	96,50
Cão 9	36,68	129,06	90,50
Cão 10	42,08	105,76	90,87
Erro Padrão	1,8057	7,1235	15,9386
Dia 1	44,355	106,26	101,63
Dia 2	42,86	107,28	84,07
Dia 3	39,57	100,66	91,66
Dia 4	41,19	113,68	108,05
Dia 5	38,105	116,79	86,07
Erro Padrão	1,2768	5,0370	91,6645
Probabilidade			
Tratamento	0,0603	0,1009	0,3936
Cão	0,0001	0,0952	0,4681
Dia	0,0119	0,2460	0,5383

### 3.3.4 Experimento 4

Na tabela 8 estão representados os valores de UP, GP e TP obtidos durante o experimento de digestibilidade. Nota-se que entre os tratamentos, a UP responde diferentemente, comprovando que a dieta formulada com o balanço encontrado nos experimentos mostra melhor desempenho diante deste

parâmetro. Ao mesmo tempo observou-se, ainda, efeito de “dia”, o que não era esperado.

TABELA 8 – Valores da concentração plasmática de uréia, glicose e triglicerídeos de cães submetidos a duas dietas com diferentes níveis de inclusão de aa essenciais.

	<b>Concentração Plasmática (mg/dL)</b>		
	<b>Uréia</b>	<b>Glicose</b>	<b>Triglicerídeos</b>
T1	45,54	131,30	78,10
T2	50,61	145,56	64,76
Erro Padrão	1,717	10,998	5,360
Cão 2	47,14	139,22	74,19
Cão 5	47,84	143,72	71,69
Cão 7	52,72	144,12	71,98
Cão 10	44,59	126,66	67,85
Erro Padrão	2,429	14,199	7,581
Dia 4	44,54	134,02	69,56
Dia 5	51,60	142,84	73,30
Erro Padrão	1,717	10,998	5,360
<b>Probabilidade</b>			
Tratamento	0,0635	0,3634	0,1542
Cão	0,1838	0,8528	0,9592
Dia	0,0157	0,5684	0,6707

Quando o consumo foi avaliado (Tabela 9), observou-se que os cães possuem consumo diferenciado devido ao peso dos animais. O consumo foi baseado no PM de cada animal no início de cada etapa experimental ( $230 \text{ kcal} \cdot \text{PM} = \text{Consumo em kcal/dia}$ ). Não houve diferença significativa referente a consumo entre tratamentos, o que é muito importante quando se comparam duas dietas. A presença do efeito “dia” é muito importante dentro deste contexto. De fato, os animais no início do experimento apresentaram comportamento de consumo normal, ou seja, os animais comiam toda dieta fornecida em 20 minutos. Já no quarto e no quinto dia o consumo caiu. Este efeito foi atribuído ao estresse

sofrido pelos animais devido ao período longo de reclusão. Mesmo não sendo considerado o 5 dia do experimento não são obtidas melhoras significativas nos resultados (Apêndices 58-63). Quando foram retirados os dias 4 e 5 os significância piorou ainda mais.

TABELA 9 – Médias dos valores de consumo em g por cão, tratamento, etapa e dia e suas probabilidades.

Ítem	Consumo(g)	Erro Padrão
Cão 1	552,4	29,50
Cão 2	635,3	29,50
Cão 3	634,4	29,50
Cão 5	665,6	27,85
Cão 6	511,6	29,50
Cão 7	480,0	29,50
Cão 9	378,1	27,85
Cão 10	553,2	27,85
T1	555,5	14,60
T2	547,2	13,93
Etapa 1	540,9	13,93
Etapa 2	561,8	14,60
Dia 1	616,1	22,02
Dia 2	611,4	23,78
Dia 3	552,1	22,02
Dia 4	554,2	22,02
Dia 5	422,8	22,80
	Probabilidade	
Cão	0,0001	
Tratamento	0,6818	
Etapa	0,3051	
Dia	0,0001	

Nos parâmetros urinários (Tabela 10) pode se perceber que as diferenças significativas estão restritas a parâmetros referentes ao modelo experimental: “etapa” e “dia”. Este fato suscita a hipótese da necessidade de atuar



sobre o delineamento experimental, para evitar que estes efeitos venham a interferir nos resultados dos tratamentos. Talvez se fosse reduzido o conteúdo de proteína da dieta estes efeitos desapareceriam, ainda assim, permitir maior atividade física por parte dos animais, principalmente nas primeiras etapas de padronização do nível de inclusão dos aa, possa ser uma solução plausível para reduzir o efeito de dia.

TABELA 10 – Médias dos valores de PB ret (g), PB ret (%) e VBPB por cão, tratamento, etapa e dia e suas probabilidades estimadas com base na excreção urinária diária.

	PB ret (g)	PB ret (%)	VBPB
Cão 1	48,05	25,86	0,34
Cão 2	54,03	31,52	0,43
Cão 3	59,29	32,59	0,41
Cão 5	50,49	28,37	0,37
Cão 6	32,73	21,85	0,29
Cão 7	30,48	21,60	0,28
Cão 9	28,70	21,11	0,27
Cão 10	33,29	22,43	0,29
Erro Padrão	4,68	3,54	0,047
T1	43,56	26,28	0,34
T2	40,71	25,05	0,33
Erro Padrão	2,50	1,89	0,025
Etapa 1	36,69	22,75	0,30
Etapa 2	47,58	28,58	0,37
Erro Padrão	2,34	1,77	0,023
Dia 1	56,61 a	33,96 a	0,44 a
Dia 2	56,50 a	33,91 a	0,44 a
Dia 3	40,58 b	25,31 a	0,33 a
Dia 4	40,57 b	26,12 a	0,34 a
Dia 5	16,40 c	9,02 b	0,12 b
Erro Padrão	3,70	2,80	0,037
Cão	0,0001	0,1390	0,1434
Tratamento	0,4093	0,6395	0,7235
Etapa	0,0023	0,0285	0,0268
Dia	0,0001	0,0001	0,0001

As dietas se mostraram similares em relação às medidas de digestibilidade (Tabela 11), nas duas etapas experimentais e diferentes animais. De fato, as dietas eram, do ponto de vista quantitativo, muito semelhantes (exceto pela suplementação de DL-Met, L-Thr e L-Trp) de forma que a similaridade dos resultados mostra que houve precisão nas medidas experimentais. A ED medida da dieta de 3.851 kcal/kg, equivalente à 3.654 kcal/kg de EM, dá um coeficiente

de consumo médio em torno de 240 kcal/PM. O valor mais baixo para o CDPB em relação aos demais coeficientes de digestibilidade, indica problemas de qualidade de processamento da farinha de vísceras utilizada.

TABELA 11 – Médias dos valores de CDMS, CDEB, EDMS, EDMN, CDGB, CDPB, por cão, tratamento, etapa e dia e suas probabilidades estimados com base no consumo e coleta de fezes durante o experimento de digestibilidade.

	CDMS	CDEB	EDMS	EDMnat	CDGB	CDPB
Cão 1	85,3	87,3	4295,1	3817,5	94,4	74,7
Cão 2	85,1	87,2	4293,9	3816,4	93,7	74,3
Cão 3	87,6	89,4	4403,1	3913,4	94,2	79,1
Cão 5	85,7	87,8	4321,9	3841,3	93,6	76,1
Cão 6	85,4	87,9	4326,6	3845,4	94,2	76,1
Cão 7	86,7	88,7	4367,7	3882,0	94,1	78,1
Cão 9	86,2	87,9	4327,2	3846,0	94,0	76,6
Cão 10	85,8	87,9	4327,6	3846,3	93,3	76,7
Erro Padrão	0,7685	0,6589	32,5528	28,9129	0,3530	1,0891
Etapa 1	86,1	88,2	4344,6	3861,4	93,9	76,8
Etapa 2	85,8	87,8	4321,2	3840,7	94,0	76,2
Erro Padrão	0,3842	0,3294	16,276	14,457	0,1765	0,5445
T1	86,3	88,1	4305,7	3832,5	93,9	76,7
T2	85,6	87,9	4360,0	3869,5	94,0	76,2
Erro Padrão	0,3843	0,3295	16,276	14,457	0,1765	0,5445
Probabilidade						
Cão	0,4285	0,3987	0,3989	0,3989	0,5039	0,1822
Etapa	0,6165	0,3507	0,3488	0,3492	0,5912	0,4562
Tratamento	0,2515	0,6793	0,0564	0,1205	0,4964	0,4976

### 3.4 CONCLUSÃO

O balanço entre aminoácidos met+cys, thr e trp em relação à lys, encontrados a partir da mensuração de níveis de UP, mostrou-se eficiente de acordo como visto no experimento de digestibilidade, quando as duas dietas foram contrastadas. No entanto, acredita-se que a utilização de animais experimentais em ambiente que permita a atividade física mais intensa e a redução de níveis de PB na dieta possa ser a chave para o teste de aminoácidos de acordo com qualquer uma das metodologias utilizadas. É possível afirmar, no entanto, que as relações de met+cys/lys de 0,67:1, thr/lys de 0,62:1 e trp/lys de 0,21:1 são as melhores relações encontradas dentro das condições experimentais avaliadas.

## **4. CAPÍTULO IV**

### **4.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados obtidos nas duas séries experimentais sugerem a inclusão de níveis próximos a 1,44% de lys, para estabelecer relações de 0,70:1 de met+cys/lys, 0,62:1 de thr/lys e 0,21:1 de trp:lys. No entanto, deve ser ressaltado que não houve efeito significativo para a maioria dos tratamentos e os níveis altos de lys são condicionados pelo nível (moderadamente alto) de proteína bruta das dietas, onde, em comparação com as exigências publicadas, existe excesso de todos os aa essenciais. De qualquer forma, é notável que mesmo nestas condições existiu melhora significativa com a aproximação dos níveis de trp com os de lys. Apesar das interferências observadas devido ao fator “dia” durante as séries experimentais, os resultados encontrados mostraram-se eficientes quando foram submetidos ao experimento de metabolismo, no qual, foram observadas diferenças significativas entre 2 dietas: uma contendo o balanço de aa ajustado e a outra com balanço proveniente apenas dos ingredientes da fórmula. Este efeito, provavelmente, se deve essencialmente ao ajuste nos níveis de trp. No entanto, as diferenças foram significativas apenas quando o parâmetro analisado foi a UP. Os resultados de digestibilidade entre as duas dietas não apresentaram diferença significativa. Segundo Milner, a UP

parece ser um parâmetro com maior sensibilidade em relação ao experimento de metabolismo para revelar diferenças significativas entre tratamentos em experimentos de balanço de aa. Aparentemente, em situações como a do presente experimento, em que não são bem conhecidas deficiências absolutas e/ou relativas de aa, medidas de curto prazo (associadas a uma refeição), parecem ser mais eficientes em mostrar diferenças entre diferentes níveis dietéticos de aa.

Os efeitos do fator “dia” podem estar associados ao conteúdo de aa presente na dieta. De forma geral, as dietas experimentais possuíam excessos de todos os aa e relações entre eles distantes da ideal. Além disto, o único efeito significativo, o ajuste na relação  $\text{trp}:\text{lys}$ , só ocorreu nos últimos dois experimentos, os da thr e do trp. Houve, ao longo dos dias, redução na UP nos experimentos da para teste de inclusão da lys e do trp, e aumento na UP nos dois experimentos realizados para testar a inclusão de met. Assim sendo, com o início do fornecimento de dietas-experimentais, o *pool* fisiológico de aa pode ter aumentado a quantidade de aa disponíveis para o *turnover* nitrogenado, dessa forma, dia após dia pode ter ocorrido acúmulo ou redução de aa circulantes para degradação e conseqüente efeito nos níveis de UP. Em outras palavras, se a média das dietas experimentais possuía melhor relação entre os aa do que as pré-experimentais, a UP tenderia a diminuir ao longo dos dias, e, ao contrário, se a média das dietas experimentais possuiu pior relação entre os aa do que as pré-experimentais, a UP tenderia a aumentar ao longo do experimento. Pode-se dizer ainda que o *turnover* foi influenciado pela indução enzimática, ou seja, com o aporte de mais aa essenciais pode ter havido aumento da expressão de RNAm

que codifica para a síntese de enzimas responsáveis pela incorporação destes aa em proteínas como demonstrado por Torres et al. (1999).

É importante ressaltar que os valores referentes à composição de aa utilizada para a formulação das dietas foi retirado de tabelas de composição de nutrientes (Rostagno, 2000). Devido a variação na concentração de nutrientes nos ingredientes de origem animal as farinhas de vísceras de aves utilizadas no experimento foram submetidas a técnica de análise de aa por HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Os resultados destas análises apesar de não serem exatamente iguais àqueles que foram utilizados interferem somente nos valores de inclusão final de aa e suas relações com a lys. De fato, pode ser notado que a maior diferença entre os dados de tabela e analisados estão no percentual de lys e cys, que foram respectivamente maiores e menores quando as amostras foram submetidas à análise.

## 5. CAPÍTULO V

### 5.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. **Official Publication**. [Washington], 2000.

BEITZ, D. C. Metabolismo de proteínas e aminoácidos. In: SWENSON, M. V.; REECE, W. O.; DUKES. (Ed.). **Dukes**: – Fisiologia dos animais domésticos. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.430-446

BLOCK, R. J.; MITCHELL, H. H. The correlation of the amino acid composition of proteins with their nutritive value. **Nutr. Abstr. Rev.**, Wallingford, v. 16, 249-278, 1947.

BURNS R. A.; MILNER, J. A. Sulfur amino acids requirements of the immature beagle dog. **J. Nutr.** , London, v.111, p. 2117-2122, 1981.

BURNS R.A.; MILNER, J.A.; CORBIN J.E. Arginine an indispensable amino acid for mature dogs. **J. Nutr.**, London, 111, p. 1020-1024, 1981.

CARNIGLIA, G. Situação atual do Mercado Sul Americano de alimentos para *pet* e perspectivas exploradoras do Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 3., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas, São Paulo: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p.5-10

CASE. L. P.; CAREY, D.; HIRAKAWA, D. **Nutrição canina e felina**: Manual para profissionais. [Philadelphia] : H. Brace, 1998. 389p.

CASE. L. P.; CAREY, D.; HIRAKAWA, D.; DARISTOTLE, L. **Canine and feline nutrition**: A resource for companion animal professionals. 2 e.d. [Philadelphia] : Mosby, 2000. p.592.

CHRISTENSEN, H. N. Interorgan amino acid nutrition. **Physiol. Rev.**, Bethesda, v.62, p.1193, 1982.

CZARNECKI, G. L.; BAKER, D. H., Urea cycle function in the dog emphasis on role of arginine. **J. Nutr.** , London, v. 114, p. 581-590, 1984.



- DELANEY, S. J.; HILL, A. S.; BACKUS, R. C.; CZARNECKI-MAULDEN, G. L.; ROGERS, Q. R. Dietary crude protein concentration does not affect the leucine requirement of growing dogs. **J. Anim. Physiol. And Anim. Nutr**, Berlin, n.85, p.88-100, 2001.
- DEVIS, T. A.; REEDS, P. J. The roles of nutrition, development and hormone sensitivity in the regulation of protein metabolism: an overview. **J. Nutr.**, London, v.128, p. 340S-341S, 1998.
- DIAMOND, J. D. Evolutionary design of intestinal nutrient absorption: enough but not too much. **News. Physiol. Sci.**, Budapest, v. 6, p.92-96, 1991.
- DOHM, G. L. Protein metabolism during endurance exercise. **Fed. Proc.**, Pittsburg, v.44, p.348, 1985.
- DOOLITTLE, R. F. Proteins. **Sci.Am.**, New York, 253, p. 88-99, 1985.
- DOORNENBAL, H.; TONG, A.K.W.; MARTIN, A.H. Studies on the performance, development and carcass composition of the growing pig: effects of sex, feeding regime and age on blood serum parameter. **Can. J. Anim. Sci.**, Ottawa, v. 63, p.977-984, 1983.
- EGGUM, B. O. Blood urea measurement as a technique for assessing protein quality. **Br. J. Nutr.**, Wallington, v.24, p.983, 1970.
- GROSS, K. L.; WEDEKING, K. J.; COWELL, C. S.; SCHOENHERR, W. D.; JEWELL, D. E.; ZICKER, S. C.; DEBRAEKELEER, J.; FREY, R. A. Nutrientes. In: HAND, M. S.; THATCHER, D. D.; REMILLARD, R. L.; ROUDEBUSH, P. (Ed.) **Small Animal Clinical Nutrition**. 4<sup>th</sup> edition. Marceline: Walsworth, 2000. 1192p.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of Medical Physiology**. 9. ed. [Philadelphia]: H. Brace, 1996. p.877-882.
- HA, Y. H.; MILNER, J. A.; CORBIN, J. Arginine requirements in immature dogs. **J. Nutr.** 108: 203-210, 1978.
- HARPER, A. E. et al. Branched-chain amino acid metabolism. **Annu. Rev. Nutr.**, Palo Alto, v.4, p.409, 1984.
- HAZEWINKEL, H. A. W.; NAP, R. C. The influence of the dietary protein content on Growth in giant breed dogs. **Vet. Comp. Orth. Traum.**, Stuttgart, v.6, p. 1-8, 1993.
- HUMBERT, B.; BLEIS, P.; MARTIN, L.; DUMON, H.; DARMAUN, D.; NGUYEN, P. Effects of dietary protein restriction and amino acids deficiency on protein

- metabolism in dogs. **J. Anim. Physiol. And Anim. Nutr**, Berlin, n.85, p.255-262, 2001.
- KESSLER, A. M. **Níveis de feno de alfafa em rações para suínos com relações energia**: proteínas similares. 1987. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1987.
- KUNTA, U. S.; HARPER, A. E. Effects of dietary additions of amino acids on food intake and blood urea concentrations of rats feed low protein diets containing fibrin. **J. Nutr.**, London, v.74, p.139, 1961.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. Academic press, US, 932p., 1997.
- LARSEN, J. A.; CALVERT, C. C.; ROGERS, Q. R. Processing of dietary casein decreases bioavailability of lysine in growing kittens. **J. Nutr.**, London, v.132, p.123S-1748S, 2002
- MACIEL, J. E S. **Determinação da uréia plasmática como medida de valor biológico de proteína para cães**. 2003. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.
- MILNER, J. A (b). Assessment of indispensable and dispensable amino acids for the immature dogs. **J. Nutr.**, London, v. 109, p. 1161-1167, 1979.
- MILNER, J. A (a). Assessment of the essentiality of metionine, threonine, tryptophan, histidine and isoleucine in immature dogs. **J. Nutr.**, London, v. 109, p.1351-1357, 1979.
- MILNER, J. A., Lisine requirements of the immature dog. **J. Nutr.**, London, v.111, p.40-45, 1981.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs**. Washington, DC, National Academy of Sciences, 1974.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs**. Washington, DC, National Academy of Sciences, 1985.
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Small animal internal medicine**. 3.ed. St. Louis : Mosby, 2003. 1362p.
- PEKAS, J. C. Versaible swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **J. An. Sci.**, Albany, v.27, p.1303-1306, 1968.

- PARSONS, C.M., BAKER, D.H. The concept and use of ideal proteins in the feeding of nonruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE NÃO RUMINANTES, 1994, Maringá. **Anais ...** Maringá, 1994. p.119-128.
- POND, W. G.; CHURCH, D. C.; POND, K. R. **Basic animal nutrition and feeding**. 4.ed. New York : [s.n.], 1995.
- ROGERS, Q. R.; TAYLOR, T. P.; MORRIS, J. G. Optimizing dietary amino acid patterns at various levels of crude protein for cats. **J. Nutr.** , London, v. 128, p. 2577S-2580S, 1998.
- ROSTAGNO, H.S., **Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais: Tabelas Brasileiras para aves e suínos**. 2.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. p. 21-34.
- SASTRE, F. G. **Bioquímica Clínica: Semiologia y diagnóstico interpretación de los datos de laboratorio**. Barcelona : Barcanova, 1994. 719p.
- SCHAEFFER, M. C.; ROGERS, Q. R.; MORRIS, J. G. **Protein in the nutrition of dogs and cats**. New York: Cambridge University Press, 1989. p.159-205: Nutrition of the dog and cat.
- SEIXAS, J. R. C.; ARAÚJO, W. A.; FELTRIN, C. A.; MUCIO, C. R. Fontes protéicas para nutrição pet. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 3., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas, São Paulo: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p.97-116.
- SHEFFY, B. E. **The 1985 revision of the National Research Council nutrient requirements of dogs and its impact on the pet food industry**. New York : Cambridge University Press, 1989. p.11-26: Nutrition of the dog and cat.
- SOLIMAN, A. G.; HARPER, A. E. Effect of protein content of diet on lysine oxidation by the rats. **Biochem. Biophys. ACTA**: 244, 146-154, 1971.
- SZEPESI, B.; FREEDLAND, R. A. Effect of thyroid hormones on metabolism. IV. Comparative aspects of enzyme responses. **Amer. J. Physiol.**, Bethesda, v.216, p.1054, 1969.
- TAYLOR, T. P.; MORRIS, J. G.; WILLITS, N. H.; ROGERS, Q. R. Optimizing the pattern of essential amino acids as the sole source of dietary nitrogen supports near-maximal growth in kittens. **J. Nutr.**, London, v.126, p. 2243-2252, 1996.
- TORRES, N.; BERISTAIN, L.; BOURGES, H.; TOVAR, A. R. Histidine – imbalanced diets stimulate hepatic histidinase gene expression in rats. **J. Nutr.**, London, v.129, p. 1979-1983, 1999.

WILLIAMS, C. C.; CUMMINS, K. A.; HAYEK, M. G.; DAVENPORT, G. M. Effects of dietary protein on whole-body protein turnover and endocrine function in young-adult and aging dogs. **J. An. Sci.**, Champaign, n.79, p.3128-3136, 2001.

ZENTEC, J.; MISCHKE, R. Soya and casein as dietary proteins for dog. **J. Anim. Physiol. And Anim. Nutr** , Berlin, v.77, p.139-148, 1997.

## APÊNDICES

APÊNDICE 01: Delineamento experimental utilizado por Maciel (2003).

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 4</b>
<b>Cão 1</b> ♂	<b>T 1</b>	<b>T 4</b>	<b>T 3</b>	<b>T 2</b>
<b>Cão 2</b> ♂	<b>T 4</b>	<b>T 3</b>	<b>T 2</b>	<b>T 1</b>
<b>Cão 3</b> ♂	<b>T 2</b>	<b>T 1</b>	<b>T 4</b>	<b>T 3</b>
<b>Cão 4</b> ♂	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>	<b>T 1</b>	<b>T 4</b>
<b>Cão 5</b> ♂	<b>T 3</b>	<b>T 1</b>	<b>T 4</b>	<b>T 2</b>
<b>Cão 6</b> ♀	<b>T 1</b>	<b>T 4</b>	<b>T 3</b>	<b>T 2</b>
<b>Cão 7</b> ♀	<b>T 3</b>	<b>T 2</b>	<b>T 1</b>	<b>T 4</b>

APÊNDICE 02: Cronograma experimental, vacinações e desverminação.

<b>CRONOGRAMA</b>	
<b>2003</b>	<b>CRONOGRAMA CAPÍTULO II</b>
31/mai	CHEGADA DOS ANIMAIS
31/05 - 04/06	ADAPTAÇÃO
4/jun	Vermicida Milbemax
07/06 - 22/06	<b>EXPERIMENTO 1 - PADRONIZAÇÃO DO CONSUMO</b>
13/jun	2ª DOSE VACINA POLI
24/06 - 28/06	<b>EXPERIMENTO 2 - TESTE DO RESIDUO METABOLICO</b>
29/06 - 02/07	REPOUSO - DOSAGEM URÉIA, ANÁLISE ESTATÍSTICA
5/jul	3ª DOSE VACINA POLI + EXAME DE FEZES
07/07 - 16/07	<b>EXPERIMENTO 3 - LISINA</b>
17/07 - 25/07	REPOUSO - DOSAGEM URÉIA, ANÁLISE ESTATÍSTICA + DIETA
26/07 - 05/07	<b>EXPERIMENTO 4 - METIONINA</b>
06/07 - 11/08	REPOUSO - DOSAGEM URÉIA, ANÁLISE ESTATÍSTICA + DIETA
<b>CRONOGRAMA CAPÍTULO III</b>	
12/08 - 16/08	<b>EXPERIMENTO 1 - METIONINA - 2</b>
17/08 - 19/08	REPOUSO - DOSAGEM URÉIA, ANÁLISE ESTATÍSTICA + DIETA
20/08 - 24/08	<b>EXPERIMENTO 2 - TREONINA</b>
25/08 - 31/08	REPOUSO - DOSAGEM URÉIA, ANÁLISE ESTATÍSTICA + DIETA
01/09 - 05/09	<b>EXPERIMENTO 3 - TRIPTOFANO</b>
06/09 - 09/09	REPOUSO - DOSAGEM URÉIA, ANÁLISE ESTATÍSTICA + DIETA
14/09 - 24/09	<b>EXPERIMENTO 4 - DIGESTIBILIDADE</b>

APÊNDICE 03: Delineamento experimental utilizado no experimento 2 – Teste do resíduo metabólico.

	Data					
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6
Cão 1 ♂	Baix pro *	Baix pro	Alta prot**	Alta prot	Alta prot	-----
Cão 2 ♂	Baix pro	Baix pro	Alta prot	Alta prot	Alta prot	-----
Cão 3 ♂	Baix pro	Baix pro	Alta prot	Alta prot	Alta prot	-----
Cão 4 ♂	Alta prot	Alta prot	Baix pro	Baix pro	Baix pro	Alta prot
Cão 5 ♂	Alta prot	Alta prot	Baix pro	Baix pro	Baix pro	Alta prot
Cão 6 ♀	Baix pro	Baix pro	Alta prot	Alta prot	Alta prot	-----
Cão 7 ♀	Baix pro	Baix pro	Alta prot	Alta prot	Alta prot	-----
Cão 8 ♀	Baix pro	Baix pro	Alta prot	Alta prot	Alta prot	-----
Cão 9 ♀	Alta prot	Alta prot	Baix pro	Baix pro	Baix pro	Alta prot
Cão 10 ♀	Alta prot	Alta prot	Baix pro	Baix pro	Baix pro	Alta prot

\* Baixa proteína (T1)      \*\* Alta Ptroteína (T2)

APENDICE 04: Cálculo do consumo diário utilizado no experimento 2 – Resíduo metabólico.

Animal	Peso (kg)	PM	Cons EM	g/dia	g/ref
1	8,12	4,81	1250,66	357	<b>179</b>
2	7,74	4,64	1206,50	345	<b>172</b>
3	8,54	5,00	1298,87	371	<b>186</b>
4	8,00	4,76	1236,78	353	<b>177</b>
5	7,40	4,49	1166,53	333	<b>167</b>
6	6,26	3,96	1028,97	294	<b>147</b>
7	5,70	3,69	959,13	274	<b>137</b>
8	5,58	3,63	943,95	270	<b>135</b>
9	6,94	4,28	1111,71	318	<b>159</b>
10	6,32	3,99	1036,36	296	<b>148</b>



APÊNDICE 05: Delineamento experimental utilizado no teste de diferentes níveis de inclusão de lisina e metionina do primeiro capítulo.

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10
<b>Cão 1</b> ♂	T 1	T 1	T 2	T 2	T 3	T 3	T 4	T 4	T 5	T 5
<b>Cão 2</b> ♂	T 5	T 5	T 1	T 1	T 2	T 2	T 3	T 3	T 4	T 4
<b>Cão 3</b> ♂	T 4	T 4	T 5	T 5	T 1	T 1	T 2	T 2	T 3	T 3
<b>Cão 4</b> ♂	T 3	T 3	T 4	T 4	T 5	T 5	T 1	T 1	T 2	T 2
<b>Cão 5</b> ♂	T 2	T 2	T 3	T 3	T 4	T 4	T 5	T 5	T 1	T 1
<b>Cão 6</b> ♀	T 1	T 1	T 2	T 2	T 3	T 3	T 4	T 4	T 5	T 5
<b>Cão 7</b> ♀	T 5	T 5	T 1	T 1	T 2	T 2	T 3	T 3	T 4	T 4
<b>Cão 8</b> ♀	T 4	T 4	T 5	T 5	T 1	T 1	T 2	T 2	T 3	T 3
<b>Cão 9</b> ♀	T 3	T 3	T 4	T 4	T 5	T 5	T 1	T 1	T 2	T 2
<b>Cão 10</b> ♀	T 2	T 2	T 3	T 3	T 4	T 4	T 5	T 5	T 1	T 1

APENDICE 06: Cálculo do consumo diário utilizado no experimento 3 – Lisina.

Animal	Peso (kg)	PM	Cons EM	g/dia	g/ref
1	10,36	5,77	1501,39	429	214
2	10,08	5,66	1470,85	420	210
3	11,34	6,18	1606,69	459	230
4	10,56	5,86	1523,07	435	218
5	9,98	5,61	1459,89	417	209
6	8,16	4,83	1255,28	359	179
7	7,66	4,60	1197,14	342	171
8	7,38	4,48	1164,17	333	166
9	9,16	5,27	1368,97	391	196
10	8,30	4,89	1271,40	363	182

APENDICE 07: Cálculo do consumo diário utilizado no experimento 4 do Capítulo I – Metinina.

Animal	Peso (kg)	PM	Cons EM	g/dia	g/ref
1	13,40	7,00	1750,93	500	250
2	12,84	6,78	1695,76	485	242
3	15,06	7,64	1911,21	546	273
4	13,56	7,07	1766,59	505	252
5	13,44	7,02	1754,85	501	251
6	10,44	5,81	1452,00	415	207
7	10,34	5,77	1441,55	412	206
8	9,36	5,35	1337,82	382	191
9	11,70	6,33	1581,54	452	226
10	10,90	6,00	1499,72	428	214

APÊNDICE 08: Delineamento experimental utilizado no segundo teste dos níveis de inclusão de metionina, treonina e triptofano.

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 5</b>
<b>Cão 1</b> ♂	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>
<b>Cão 2</b> ♂	<b>T 5</b>	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>
<b>Cão 3</b> ♂	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>
<b>Cão 4</b> ♂	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>
<b>Cão 5</b> ♂	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>	<b>T 1</b>
<b>Cão 6</b> ♀	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>
<b>Cão 7</b> ♀	<b>T 5</b>	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>
<b>Cão 8</b> ♀	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>
<b>Cão 9</b> ♀	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>	<b>T 1</b>	<b>T 2</b>
<b>Cão 10</b> ♀	<b>T 2</b>	<b>T 3</b>	<b>T 4</b>	<b>T 5</b>	<b>T 1</b>

APENDICE 09: Cálculo do consumo diário utilizado no experimento 1 do Capítulo II – Metionina.

<b>Animal</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>PM</b>	<b>Cons EM</b>	<b>g/dia</b>	<b>g/ref</b>
1	16,06	8,02	1845,17	527	<b>264</b>
2	15,86	7,95	1827,91	522	<b>261</b>
3	18,52	8,93	2053,33	587	<b>293</b>
4	16,14	8,05	1852,06	529	<b>265</b>
5	16,32	8,12	1867,53	534	<b>267</b>
6	12,38	6,60	1517,99	434	<b>217</b>
7	12,46	6,63	1525,34	436	<b>218</b>
8	11,76	6,35	1460,61	417	<b>209</b>
9	13,94	7,21	1659,30	474	<b>237</b>
10	13,24	6,94	1596,41	456	<b>228</b>

APENDICE 10: Cálculo do consumo diário utilizado no experimento 2 do Capítulo II – Treonina.

<b>Animal</b>	<b>Peso</b>	<b>PM</b>	<b>Cons EM</b>	<b>g/dia</b>	<b>g/ref</b>
1	17,26	8,47	1947,64	556	<b>278</b>
2	16,80	8,30	1908,58	545	<b>273</b>
3	19,48	9,27	2132,65	609	<b>305</b>
4	17,12	8,42	1935,78	553	<b>277</b>
5	17,22	8,45	1944,25	556	<b>278</b>
6	13,14	6,90	1587,36	454	<b>227</b>
7	13,32	6,97	1603,64	458	<b>229</b>
8	12,48	6,64	1527,17	436	<b>218</b>
9	15,06	7,64	1758,31	502	<b>251</b>
10	13,76	7,14	1643,20	469	<b>235</b>

APENDICE 11: Cálculo do consumo diário utilizado no experimento 3 do Capítulo II – Triptofano.

<b>Animal</b>	<b>Peso</b>	<b>PM</b>	<b>Cons EM</b>	<b>g/dia</b>	<b>g/ref</b>
<b>1</b>	19,00	9,10	2093,11	598	<b>299</b>
<b>2</b>	18,70	8,99	2068,28	591	<b>295</b>
<b>3</b>	21,74	10,07	2315,65	662	<b>331</b>
<b>4</b>	19,34	9,22	2121,14	606	<b>303</b>
<b>5</b>	20,08	9,49	2181,73	623	<b>312</b>
<b>6</b>	15,08	7,65	1760,07	503	<b>251</b>
<b>7</b>	14,96	7,61	1749,55	500	<b>250</b>
<b>8</b>	14,22	7,32	1684,23	481	<b>241</b>
<b>9</b>	16,60	8,22	1891,51	540	<b>270</b>
<b>10</b>	15,48	7,80	1794,97	513	<b>256</b>

APÊNDICE 12: Delineamento experimental utilizada para digestibilidade.

	Adaptação	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10	
CÃES		EXPERIMENTO 1					EXPERIMENTO 2					
1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T2	T2	T2	T2	T2
6	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T2	T2	T2	T2	T2
2	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T2	T2	T2	T2	T2
7	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T2	T2	T2	T2	T2
3	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T1	T1	T1	T1	T1
9	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T1	T1	T1	T1	T1
5	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T1	T1	T1	T1	T1
10	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T1	T1	T1	T1	T1

Dietas em negrito foram acrescidas de marcador fecal.

APENDICE 13: Análise da variância para os valores de UP em cães submetidos ao teste do resíduo metabólico.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	15	1831,11	122,07	4,04	0,0002
Residuo	38	1146,93	30,18		
Total	53	2978,04			

APENDICE 14: Análise da variância para os valores de UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de PB.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao		772,50	85,83	0,16	0,9661
Tratamento		535,85	535,85	17,75	0,0001
Dia		400,99	80,20	2,66	0,0373
Residuo		1146,93	30,18		
Total		2978,04			

APENDICE 15: Análise da variância para os valores de UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de PB – efeito dia: cães 1,2,3,6,7,8.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Dia	4	860,26	215,07	6,96	0,0007
Residuo	25	772,02	30,88		
Total	29	1632,28			

APENDICE 16: Análise da variância para os valores de UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de PB – efeito dia: cães 4,5,9,10.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Dia	5	499,03	99,81	5,33	0,0045
Residuo	16	299,80	18,74		
Total	21	798,83			

APENDICE 17: Análise da variância para os valores de UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	2585,76	152,10	6,07	0,0001
Residuo	32	801,76	25,06		
Total	49	3387,53			

APENDICE 18: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	514,62	57,18	2,28	0,0416
Dia	4	1862,62	465,66	18,59	0,0001
Tratamento	4	208,52	52,13	2,08	0,1065
Residuo	32	801,77	25,06		
Total	49	3387,53			

APENDICE 19: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	22768,50	1339,32	3,93	0,0004
Residuo	32	10894,60	340,46		
Total	49	33663,10			

APENDICE 20: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	5302,34	589,15	1,73	0,1225
Dia	4	16531,20	4132,80	12,14	0,0001
Tratamento	4	934,93	233,73	0,69	0,6066
Residuo	32	10894,60	340,46		
Total	49	33663,10			

APENDICE 21: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	27193,40	1599,61	1,42	0,1928
Residuo	32	36141,30	1129,42		
Total	49	63334,80			

APENDICE 22: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	22932,40	2548,04	2,26	0,0438
Dia	4	2684,29	671,071	0,59	0,6694
Tratamento	4	1576,78	394,195	0,35	0,8427
Residuo	32	36141,30	1129,42		
Total	49	63334,80			

APENDICE 23: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de metionina – Experimento 4, Capítulo I.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	1223,24	71,95	2,74	0,0072
Residuo	31	814,05	26,26		
Total	48	2037,28			

APENDICE 24: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de metionina – Experimento 4, Capítulo I.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	341,88	37,99	1,45	0,2117
Dia	4	732,73	183,18	6,98	0,0004
Tratamento	4	143,28	35,82	1,36	0,2690
Residuo	31	814,05	26,26		
Total	48	2037,28			

APENDICE 25: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de metionina – Experimento 4, Capítulo I.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	5956,58	350,39	2,95	0,0043
Residuo	31	3682,52	118,79		
Total	48	9639,15			

APENDICE 26: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de metionina – Experimento 4, Capítulo I.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	930,79	103,42	0,87	0,5607
Dia	4	4188,67	1047,17	8,82	0,0001
Tratamento	4	476,22	119,06	1,00	0,4213
Residuo	31	3682,57	118,79		
Total	48				

APENDICE 27: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de metionina – Experimento 4, Capítulo I.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	36782,9	2163,7	2,70	0,0080
Residuo	31	24882,0	802,6		
Total	38	61664,9			

APENDICE 28: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de metionina – Experimento 4, Capítulo I.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	26104,1	2900,46	3,61	0,0035
Dia	4	9466,1	2366,52	2,95	0,0356
Tratamento	4	230,4	57,60	0,07	0,9901
Residuo	31	24882,0	802,64		
Total	48	61664,9			

APENDICE 29: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de metionina – Experimento 1, Capítulo II.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	1574,91	92,64	6,35	0,0001
Residuo	32	466,57	14,58		
Total	49				

APENDICE 30: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de metionina – Experimento 1, Capítulo II.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	838,28	93,14	6,39	0,0001
Dia	4	666,45	166,61	11,43	0,0001
Tratamento	4	70,18	17,54	1,20	0,3285
Residuo	32	466,57	14,58		
Total	49				

APENDICE 31: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de treonina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	1486,1	87,415	4,17	0,0002
Residuo	32	670,32	20,948		
Total	49	2156,4			



APENDICE 32: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de treonina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	1074,6	119,4	5,70	0,0001
Dia	4	233,63	58,406	2,79	0,0429
Tratamento	4	117,83	44,457	2,12	0,1009
Residuo	32	670,32	20,948		
Total	49	2156,4			

APENDICE 33: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de treonina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	12309,0	724,06	1,26	0,2808
Residuo	31	17832,8	575,25		
Total	48	30141,8			

APENDICE 34: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de treonina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	5066,47	562,94	0,98	0,4764
Dia	4	3358,72	839,68	1,46	0,2383
Tratamento	4	3741,59	935,40	1,63	0,1926
Residuo	31	17832,8	575,25		
Total	48	30141,8			

APENDICE 35: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de treonina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	20516,4	1206,85	1,44	0,1847
Residuo	31	26004,5	838,85		
Total	48	46520,9			

APENDICE 36: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de treonina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	8733,11	970,35	1,16	0,3555
Dia	4	10135,4	2533,85	3,02	0,0326
Tratamento	4	1430,22	357,55	0,43	0,7885
Residuo	31	26004,5	838,85		
Total	48	46520,9			

APENDICE 37: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	1744,2	102,6	6,29	0,0001
Residuo	32	521,67	16,302		
Total	49	2265,9			

APENDICE 38: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	1330,3	147,82	9,07	0,0001
Dia	4	249,44	62,361	3,83	0,0119
Tratamento	4	164,46	41,116	2,52	0,0603
Residuo	32	521,67	16,302		
Total	49	2265,9			

APENDICE 39: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	7857,34	462,20	1,82	0,0735
Residuo	30	7611,58	253,72		
Total	47	15468,9			

APENDICE 40: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	4281,21	475,69	1,87	0,0952
Dia	4	1458,67	364,67	1,44	0,2460
Tratamento	4	2166,69	541,67	2,13	0,1009
Residuo	30	7611,58	253,72		
Total	47	15468,9			

APENDICE 41: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	18741,8	1102,46	0,87	0,6119
Residuo	30	38105,6	1270,19		
Total	47	56847,4			

APENDICE 42: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	11324,7	1258,3	0,99	0,4681
Dia	4	4035,5	1008,9	0,79	0,5383
Tratamento	4	5383,2	1345,8	1,06	0,3936
Residuo	30	38105,6	1270,2		
Total	47	56847,4			

APENDICE 43: Análise da variância da regressão dos dados relativos a UP de cães submetidos ao consumo de dietas com diferentes níveis de inclusão de triptofano.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	9	1330,34	147,82	8,94	0,0001
Dia	4	249,44	62,36	3,77	0,0121
Tratamento	1	97,13	97,13	5,88	0,0208
Tratamento <sup>2</sup>	1	84,86	84,86	5,13	0,0300
Residuo	34	562,08	16,53		
Total	49				

APENDICE 44: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas contendo diferente relação entre aminoácidos: essências, met+cis, treonina e triptofano, em relação a lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	5	440,81	88,163	3,74	0,0362
Residuo	10	235,96	23,596		
Total	15	676,78			

APENDICE 45: Análise da variância dos dados relativos a UP em cães submetidos ao consumo de dietas contendo diferente relação entre aminoácidos: essências, met+cis, treonina e triptofano, em relação a lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	3	138,88	46,294	1,96	0,1838
Tratamento	1	102,77	102,77	4,36	0,0635
Dia	1	199,16	199,16	8,44	0,0157
Residuo	10	235,96	23,596		
Total	15	676,78			

APENDICE 46: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas contendo diferente relação entre aminoácidos: essências, met+cis, treonina e triptofano, em relação a lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	5	1698,56	339,71	0,42	0,8230
Residuo	9	7257,98	806,44		
Total	14	8956,54			

APENDICE 47: Análise da variância dos dados relativos a GP em cães submetidos ao consumo de dietas contendo diferente relação entre aminoácidos: essências, met+cis, treonina e triptofano, em relação a lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	3	627,93	209,31	0,26	0,8528
Dia	1	282,72	282,72	0,35	0,5684
Tratamento	1	739,19	739,19	0,92	0,3634
Residuo	9	7257,98			
Total	14	8956,54			

APENDICE 48: Análise da variância dos dados relativos a TP em cães submetidos ao consumo de dietas contendo diferente relação entre aminoácidos: essências, met+cis, treonina e triptofano, em relação a lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	5	729,24	145,85	0,63	0,6802
Residuo	8	1839,01	229,88		
Total	13	2568,24			

APENDICE 49: Análise da variância dos dados relativos a dosagem de TP em cães submetidos ao consumo de dietas contendo diferente relação entre aminoácidos: essências, met+cis, treonina e triptofano, em relação a lisina.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	3	67,25	22,42	0,10	0,9592
Dia	1	44,76	44,76	0,10	0,6707
Tratamento	1	569,24	569,24	2,48	0,1542
Residuo	8	1839,01	229,88		
Total		2568,24			

APENDICE 50: Análise da variância dos dados relativos ao Consumo alimentar (g) de cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	13	912569	70197,6	9,05	0,0001
Residuo	63	488629	7756,0		
Total	76	676,775			

APENDICE 51: Análise da variância dos dados relativos ao Consumo alimentar (g) de cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	590813	84401,8	10,88	0,0001
Tratamento	1	1315,66	1315,66	0,17	0,6818
Dia	4	363241	90810,1	11,71	0,0001
Etapa	1	8291,42	8291,42	1,07	0,3051
Residuo	63	488629	7756,02		
Total	76				

APENDICE 52: Análise da variância dos dados relativos a PB retida (g) em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	13	27963	2151,0	9,81	0,0001
Residuo	62	13600	219,4		
Total	75	41563			

APENDICE 53: Análise da variância dos dados relativos a PB retida (g) em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	9679,7	1382,8	6,30	0,0001
Tratamento	1	151,4	151,4	0,69	0,4093
Dia	4	16113,2	4028,3	18,36	0,0001
Etapa	1	2215,7	2215,7	10,10	0,0023
Residuo	62	13599,9	219,4		
Total	75				

APENDICE 54: Análise da variância dos dados relativos a PB retida (%) em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	13	8259,3	635,3	5,04	0,0001
Residuo	62	7813,3	126,0		
Total	75	16073			

APENDICE 55: Análise da variância dos dados relativos a PB retida (%) em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	1453,1	207,6	1,65	0,1390
Tratamento	1	27,9	27,9	0,22	0,6395
Dia	4	6164,4	1541,1	12,23	0,0001
Etapa	1	634,0	634,0	5,03	0,0285
Residuo	62	7813,3	126,0		
Total	75				

APENDICE 56: Análise da variância dos dados relativos a VBPB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre as essenciais durante o experimento de digestibilidade..

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	13	1,4389	0,11	4,92	0,0001
Residuo	62	1,3936	0,02		
Total	75	2,8326			

APENDICE 57: Análise da variância dos dados relativos a VBPB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre as essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	0,257	0,037	1,63	0,1434
Tratamento	1	0,003	0,003	0,13	0,7235
Dia	4	1,067	0,267	11,87	0,0001
Etapa	1	0,116	0,116	5,14	0,0268
Residuo	62	1,394	0,022		
Total	75				

APENDICE 58: Análise da variância dos dados relativos a PB retida (g) em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre as essenciais durante o experimento de digestibilidade, com exclusão dos valores referentes ao 5° dia de cada etapa.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	12	16171,5	1347,6	9,83	0,0001
Residuo	48	6581,59	137,1		
Total	60	22753,1			

APENDICE 59: Análise da variância dos dados relativos a PB retida (g) em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre as essenciais durante o experimento de digestibilidade, com exclusão dos valores referentes ao 5° dia de cada etapa.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	11008,6	1572,7	11,47	0,0001
Tratamento	1	220,4	220,4	1,61	0,2109
Dia	3	3725,3	1241,8	9,06	0,0001
Etapa	1	1060,2	1060,2	7,73	0,0077
Residuo	48	6581,6	137,1		
Total	60				

APENDICE 60: Análise da variância dos dados relativos a PB retida (%) em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade, com exclusão dos valores referentes ao 5° dia de cada etapa.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	12	3099,7	258,3	6,33	0,0001
Residuo	48	1958,19	40,8		
Total	60	16072,6			

APENDICE 61: Análise da variância dos dados relativos a PB retida (%) em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade, com exclusão dos valores referentes ao 5° dia de cada etapa.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	1702,2	243,2	5,96	0,0001
Tratamento	1	32,5	32,5	0,80	0,3766
Dia	3	965,2	321,7	7,89	0,0002
Etapa	1	316,6	316,6	7,76	0,0076
Residuo	48	1958,2	40,8		
Total	60				

APENDICE 62: Análise da variância dos dados relativos a VBPB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade, com exclusão dos valores referentes ao 5° dia de cada etapa.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	12	0,55	0,046	6,73	0,0001
Residuo	48	0,33	0,007		
Total	60	0,87			



APENDICE 63: Análise da variância dos dados relativos a VBPB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade, com exclusão dos valores referentes ao 5° dia de cada etapa.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	0,308	0,044	6,48	0,0001
Tratamento	1	0,003	0,003	0,42	0,5176
Dia	3	0,162	0,054	7,94	0,0002
Etapa	1	0,061	0,061	9,01	0,0043
Residuo	48	0,326	0,007		
Total	60				

APENDICE 64: Análise da variância dos dados relativos a CDMS em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	9	11,98	1,33	1,13	0,4587
Residuo	6	7,09	1,18		
Total	15	19,07			

APENDICE 65: Análise da variância dos dados relativos a CDMS em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	9,75	1,39	1,18	0,4285
Etapa	1	0,33	0,33	0,28	0,6165
Tratamento	1	1,90	1,90	1,61	0,2515
Residuo	6	7,09	1,18		
Total	15	19,07			

APENDICE 66: Análise da variância dos dados relativos a CDEB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	9	8,68	0,96	1,11	0,4658
Residuo	6	5,21	0,87		
Total	15	13,89			

APENDICE 67: Análise da variância dos dados relativos a CDEB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	7,63	1,09	1,26	0,3987
Etapa	1	0,89	0,89	1,02	0,3507
Tratamento	1	0,16	0,16	0,19	0,6793
Residuo	6	5,21	0,87		
Total	15	13,89			

APENDICE 68: Análise da variância dos dados relativos a EDMS em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

#### EDMS

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	9	32592	3621,33	1,71	0,2647
Residuo	6	12716,20	2119,37		
Total	15	45308,20			

APENDICE 69: Análise da variância dos dados relativos a EDMS em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

#### EDMS

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	18618,40	2659,77	1,25	0,3989
Etapa	1	2187,72	2187,72	1,03	0,3488
Tratamento	1	11785,80	11785,80	5,56	0,0564
Residuo	6	12716,20	2119,37		
Total	15	45308,12			

APENDICE 70: Análise da variância dos dados relativos a EDMnat em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	9	21881,90	2431,32	1,45	0,3343
Residuo	6	10031,50	1671,92		
Total	15	31913,40			

APENDICE 71: Análise da variância dos dados relativos a EDMnat em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	14688,80	2098,40	1,26	0,3989
Etapa	1	1723,01	1723,01	1,03	0,3492
Tratamento	1	5470,01	5470,01	3,27	0,1205
Residuo	6	10031,50	1671,92		
Total	15	31913,32			

APENDICE 72: Análise da variância dos dados relativos a CDGB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	9	1,97	0,22	0,88	0,5867
Residuo	6	1,50	0,25		
Total	15	3,47			

APENDICE 73: Análise da variância dos dados relativos a CDGB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	1,76	0,25	1,01	0,5039
Etapa	1	0,08	0,08	0,32	0,5912
Tratamento	1	0,13	0,13	0,52	0,4964
Residuo	6	1,50	0,25		
Total	15	3,47			

APENDICE 74: Análise da variância dos dados relativos a CDPB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	9	38,76	4,31	1,82	0,2409
Residuo	6	14,23	2,37		
Total	15	53,00			

APENDICE 75: Análise da variância dos dados relativos a CDPB em cães submetidos a 2 dietas contendo relação diferente entre aa essenciais durante o experimento de digestibilidade.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	F	P
Cao	7	36,02	5,15	2,17	0,1822
Etapa	1	1,50	1,50	0,63	0,4562
Tratamento	1	1,24	1,24	0,52	0,4976
Residuo	6	14,23	2,37		
Total	15	53,00			

APENDICE 76: Princípios dos métodos para análise de UP, GP, TP

**Método de determinação da UP:** existem vários métodos para a determinação da uréia, mas os que utilizam acoplamento de enzimas são os mais convenientes e extensivamente usados em laboratórios clínicos (Bergmeyer, 1985). Neste método a uréia é hidrolisada pela urease, gerando amônia e dióxido de carbono. A amônia reage com o 2 cetoglutarato e NADH, em uma reação catalisada pela glutamato desidrogenase, ocorrendo oxidação do NADH a NAD. A conseqüente redução da absorbância, medida em 340 nm, é proporcional à concentração de uréia na amostra. Estas medidas são feitas em fotômetro, capaz de medir com exatidão a absorbância em 340 nm. O resultado final é expresso em miligramas de uréia por decilitro de soro sanguíneo. A dosagem foi realizada mediante a utilização do kit comercial LABTEST DIAGNÓSTICA (Montes Claros, Mg, Brasil) – Uréia UV Liqueform. O aparelho utilizado para a leitura da absorbância foi um espectrofotômetro da marca Metrolab, Modelo 1600 plus.

**Método de determinação da GP:** trata-se de um sistema enzimático na qual a glicose oxidase catalisa a oxidação da glicose. A glicose oxidada, por sua vez,

produz ácido glucônico e peróxido. O peróxido de hidrogênio formado reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade de cor é proporcional à concentração da glicose na amostra. A Dosagem foi realizada mediante a utilização do kit comercial LABTEST DIAGNÓSTICA (Montes Claros, Mg, Brasil) – Glicose PAP Liqueform. As leituras de absorvância foram feitas em um espectofotômetro da marca Metrolab, Modelo 1600 plus com absorvância de 520 nm.

**Método de determinação da TP:** através de uma lipase de uma lipoproteína os triglicerídeos da amostra são decompostos em glicerol e ácidos graxos. O glicerol liberado pela hidrólise é convertido a glicerol-3-fosfato através da ação da enzima glicerolquinase. Da mesma forma o glicerol-3-fosfato é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença da enzima glicerolfosfato oxidase. A reação de acoplamento que ocorre entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e ESPAS é catalisada pela peroxidase produzindo a quinoneimina que tem máximo de absorvância em 540 nm. A intensidade da cor violeta formada é diretamente proporcional à concentração dos triglicerídeos na amostra. O kit utilizado o LABTEST DIAGNÓSTICA (Montes Claros, Mg, Brasil) – Triglicérides GPO-ANA. As leituras foram no espectofotômetro da marca Metrolab, Modelo 1600 plus com absorvância de 540 nm.

APENDICE 77: Resultado do aminograma (HPLC) das farinhas de vísceras utilizadas durante o período experimental.

Aminoácido	Farinha de vísceras 1 *	Farinha de vísceras 2 **
Ác. Aspártico	4,60	4,27
Ác glutâmico	7,73	7,70
Serina	2,72	3,56
Glicina	5,48	6,16
Histidina	1,24	1,18
Arginina	4,24	4,57
Treonina	2,21	2,41
Alanina	3,50	3,84
Prolina	4,46	4,04
Tirosina	1,93	1,71
Valina	2,62	2,78
Metionina	1,05	1,12
Met+cis	1,44	1,64
Isoleucina	2,15	2,22
Leucina	3,92	4,21
Fenilalanina	2,18	2,27
Lisina	3,49	3,37
Proteína Bruta	58,19	61,87

\* Farinha de vísceras 1 - utilizadas em todos os experimentos exceto digestibilidade

\*\* Farinha de vísceras 2 - utilizada somente no experimento de digestibilidade

APÊNDICE 78: Resultados das análises laboratoriais correspondentes ao experimento do teste do resíduo metabólico.

Dia e nível de proteína	Cão	Uréia (mg/dL)
1baixa	1	31,2
2baixa	1	25,7
3alta	1	37,4
4alta	1	49,1
5alta	1	49,4
1baixa	2	44,5
2baixa	2	33,3
3alta	2	39,0
4alta	2	44,6
5alta	2	39,9
1baixa	3	25,0
2baixa	3	22,7
3alta	3	30,1
4alta	3	43,6
5alta	3	33,7
1baixa	6	39,6
2baixa	6	28,8
3alta	6	29,4
4alta	6	39,3
5alta	6	40,0
1baixa	7	25,0
2baixa	7	27,0
3alta	7	29,0
4alta	7	41,9
5alta	7	37,5
1baixa	8	32,4
2baixa	8	26,9
3alta	8	26,4
4alta	8	37,0
5alta	8	32,4

Dia e nível de proteína	Cão	Uréia (mg/dL)
1alta	4	42,2
2alta	4	46,9
3baixa	4	30,4
4baixa	4	35,2
5baixa	4	28,7
6baixa	4	26,3
1alta	5	34,8
2alta	5	34,7
3baixa	5	29,9
4baixa	5	30,5
5baixa	5	29,2
6baixa	5	31,5
1alta	9	33,3
2alta	9	39,4
3baixa	9	31,1
4baixa	9	23,0
5baixa	9	21,8
6baixa	9	24,5
1alta	10	34,9
2alta	10	39,7
3baixa	10	27,8
4baixa	10	49,9
5baixa	10	48,7
6baixa	10	34,1

APENDICE 79: Resultados das análises laboratoriais correspondentes ao experimento do teste da Lisina.

Cão	Tratamento	Dia	Uréia (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	Triblicerídeos (mg/dL)
1	1	1	60,8	120,7	95,8
1	2	2	50,8	123,8	77,6
1	3	3	37,97	80,3	82,7
1	4	4	42,22	85,9	73,8
1	5	5	49,57	148,9	84,1
2	5	1	60,27	139,2	86,2
2	1	2	45,89	166,6	127,9
2	2	3	43,51	105,8	118,2
2	3	4	50,26	84,5	108,8
2	4	5	47,32	128,0	176,6
3	4	1	48,10	131,5	120,7
3	5	2	44,23	187,0	105,9
3	1	3	35,46	101,8	127,7
3	2	4	46,85	111,5	114,5
3	3	5	42,92	127,4	150,5
4	3	1	52,99	123,3	125,9
4	4	2	54,04	121,2	102,1
4	5	3	48,22	92,8	133,2
4	1	4	44,01	104,0	92,9
4	2	5	55,65	139,6	170,3
5	2	1	43,68	147,1	138,2
5	3	2	48,96	198,6	133,5
5	4	3	38,25	86,5	123,3
5	5	4	42,61	136,7	107,1
5	1	5	40,97	129,5	139,9
6	1	1	53,63	142,3	145,8
6	2	2	51,36	181,5	158,2
6	3	3	43,29	104,2	131,8
6	4	4	41,97	128,7	85,9
6	5	5	42,71	172,2	213,6
7	5	1	51,42	140,8	139,4
7	1	2	48,61	140,6	114,5
7	2	3	40,94	121,0	89,3
7	3	4	42,58	128,9	132,2
7	4	5	41,75	145,8	121,6
8	4	1	40,91	126,9	108,8
8	5	2	58,7	107,5	140,3
8	1	3	42,38	94,3	125,6
8	2	4	52,0	121,1	109,3
8	3	5	38,44	147,5	131,4
9	3	1	48,1	133,8	108,7
9	4	2	57,35	138,1	105,9
9	5	3	46,39	107,6	112,8
9	1	4	37,87	111,6	97,5
9	2	5	38,96	131,5	0
10	2	1	47,0	137,3	135,6
10	3	2	58,05	113,2	104,3
10	4	3	49,14	118,8	89,0
10	5	4	39,37	86,9	78,9
10	1	5	36,71	147,0	0



APENDICE 80: Resultados das análises laboratoriais correspondentes ao experimento do primeiro teste da metionina.

Cão	Tratament o	Dia	Uréia (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	Triblicerídeos (mg/dL)
1	3	1	35,8	163,5	82,3
1	4	2	28,5	119,2	50,57
1	5	3	39,35	151,2	105,8
1	1	4	50,45	139,1	83,2
1	2	5	39,35	151,7	106,0
2	2	1	37,35	153,8	129,9
2	3	2	28,2	123,9	126,4
2	4	3	44,0	150,0	179,6
2	5	4	53,45	140,3	174,5
2	1	5	41,05	138,1	212,1
3	1	1	26,2	159,4	122,0
3	2	2	29,2	134,6	105,0
3	3	3	37,8	150,1	149,6
3	4	4	41,8	130,4	258,3
3	5	5	42,95	137,7	184,8
4	5	1	30,2	139,1	108,0
4	1	2	39,15	126,7	146,9
4	2	3	34,8	139,4	127,3
4	3	4	43,15	148,2	126,5
4	4	5	29,9	127,9	114,8
5	4	1	32,8	175,8	140,4
5	5	2	35,8	145,6	107,15
5	1	3	31,95	132,2	167,4
5	2	4	46,7	155,2	159,3
5	3	5	44,65	142,8	156,8
6	3	1	32,45	146,6	154,4
6	4	2	36,15	146,3	123,5
6	5	3	32,8	149,7	139,3
6	1	4	33,55	146,1	151,2
6	2	5	37,15	148,7	148,8
7	2	1	33,7	199,5	153,8
7	3	2	38,95	136	127,1
7	4	3	44,85	141,5	184,2
7	5	4	46,95	140,7	139,4
7	1	5	53,2	130,9	118,9
8	1	1	33,35	175,1	100,1
8	2	2	27,2	140,9	163,2
8	3	3	32,2	138,7	161,1
8	4	4	38,8	142,1	132,8
8	5	5	48,7	153,9	145,5
9	5	1	32,8	166,4	155,2
9	1	2	34,95	144,2	137,7
9	2	3	30,85	136,8	197,5
9	3	4	37,0	139,3	180,9
9	4	5	43,35	154,0	115,8
10	4	1	36,75	164,7	104,3
10	5	2	41,85	141,3	106,4
10	1	3	30,55	135,9	120,4
10	2	4	37,15	150,4	142,5
10	3	5	37,8	137,8	140,4

APENDICE 81: Resultados das análises laboratoriais correspondentes ao experimento do segundo teste da metionina.

Cão	Tratamento	Dia	Uréia (mg/dL)
1	1	1	24,15
1	2	2	32,25
1	3	3	26,75
1	4	4	24,6
1	5	5	35,3
2	5	1	37,55
2	1	2	28,75
2	2	3	38,8
2	3	4	35,2
2	4	5	40,95
3	4	1	24,15
3	5	2	21,65
3	1	3	27,3
3	2	4	31,85
3	3	5	35,4
4	3	1	39,9
4	4	2	31,15
4	5	3	32,7
4	1	4	32,4
4	2	5	39,3
5	2	1	36,45
5	3	2	28,95
5	4	3	32,0
5	5	4	28,2
5	1	5	31,1
6	1	1	45,9
6	2	2	27,35
6	3	3	35,75
6	4	4	39,3
6	5	5	44,5
7	5	1	39,95
7	1	2	31,5
7	2	3	37,6
7	3	4	35,4
7	4	5	47,0
8	4	1	36,3
8	5	2	34,65
8	1	3	37,55
8	2	4	43,8
8	3	5	48,2
9	3	1	32,65
9	4	2	30,9
9	5	3	30,15
9	1	4	30,85
9	2	5	47,05
10	2	1	26,65
10	3	2	26,65
10	4	3	33,35
10	5	4	27,75
10	1	5	37,1

APENDICE 82: Resultados das análises laboratoriais correspondentes ao experimento do teste da treonina.

Cão	Tratamento	Dia	Uréia (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
1	1	1	32,8	148,7	65,95
2	1	2	49,75		
3	1	3	32,15	175,6	104,0
4	1	4	48,15	140,4	103,3
5	1	5	31,95	110,3	124,4
6	1	1	39,6	171,1	82,45
7	1	2	42,55	102,9	93,06
8	1	3	48,8	151,9	52,77
9	1	4	46,05	160	108,3
10	1	5	48,1	115,9	96,07
1	2	2	40,65	135,9	108,5
2	2	3	36,4	124,3	89,36
3	2	4	32,75	100,3	100,04
4	2	5	37,55	146,0	205,5
5	2	1	34,45	198,5	76,74
6	2	2	48,6	104,3	173,3
7	2	3	36,9	123,8	75,43
8	2	4	50,35	114,1	83,65
9	2	5	31,7	127,0	80,7
10	2	1	47,85	133,7	88,41
1	3	3	40,75	133,2	70,03
2	3	4	39,35	121,7	103,2
3	3	5	32,95	131,4	96,89
4	3	1	38,65	125,6	122,1
5	3	2	43,8	147,6	127,6
6	3	3	40,7	110,5	106,9
7	3	4	45,7	137,5	93,69
8	3	5	54,05	156,3	162,3
9	3	1	35,8	125,2	63,5
10	3	2	48,0	159,5	88,48
1	4	4	46,0	109,8	63,25
2	4	5	51,6	106,8	160,3
3	4	1	33,75	126,1	105,7
4	4	2	50,3	138,7	82,39
5	4	3	46,65	170,2	182,1
6	4	4	47,8	129,1	86,34
7	4	5	47,8	112,9	125,1
8	4	1	52,2	151,6	60,68
9	4	2	37,55	125,8	112,4
10	4	3	37,45	111,9	109,2
1	5	5	41,4	163,1	92,56
2	5	1	40,3	148,7	76,18
3	5	2	30,15	195,2	115,0
4	5	3	33,4	113,3	94,94
5	5	4	38,0	168,2	115,0
6	5	5	48,1	98,53	110,9
7	5	1	40,0	180,9	92,62
8	5	2	43,3	157,9	100,4
9	5	3	37,0	163,8	115,5
10	5	4	50,75	136,0	91,36

APENDICE 83: Resultados das análises laboratoriais correspondentes ao experimento do teste do triptofano.

Cão	Tratamento	Dia	Uréia (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
1	1	1	44,8	131,6	46,87
1	2	2	31,65	111,2	328,2
1	3	3	28,25	88,4	299,9
1	4	4	34,95	129,1	76,3
1	5	5	31,95	113,2	55,09
2	5	1	35,95	102,8	156,7
2	1	2	48,25	118,5	84,21
2	2	3	39,75	117,6	138,1
2	3	4	37,3	96,88	62,31
2	4	5	35,6	102,8	90,42
3	4	1	39,55	106,9	118,8
3	5	2	38,15	123,3	98,14
3	1	3	31,4	92,17	73,29
3	2	4	33,1	82,57	66,64
3	3	5	27,55	93,12	104,6
4	3	1	51,05	61,37	116,4
4	4	2	42,95	90,47	55,03
4	5	3	34,5	119,3	113,6
4	1	4	46,9	136,4	152,0
4	2	5	41,4	105,0	60,49
5	2	1	38,85	113,4	97,07
5	3	2	40,6	129,7	124,4
5	4	3	39,35	96,25	79,5
5	5	4	43,4	111,3	100,5
5	1	5	38,7	132,7	87,85
6	1	1	45,4	123,9	83,52
6	2	2	46,85	92,09	37,02
6	3	3	39,4	112,0	146,5
6	4	4	46,25	106,8	98,58
6	5	5	40,75	189,1	93,94
7	5	1	60,0	108,3	176,1
7	1	2	50,3	104,8	128,1
7	2	3	45,15	103,7	69,21
7	3	4	44,4	116,1	179,6
7	4	5	47,3	106,1	79,76
8	4	1	48,05	72,9	89,92
8	5	2	47,8	85,17	117,6
8	1	3	57,55	93,23	68,21
8	2	4	47,05	97,23	151,4
8	3	5	44,85	122,8	55,35
9	3	1	35,7	127,7	79,44
9	4	2	36,4	114,0	113,6
9	5	3	38,8	112,7	83,9
9	1	4	41,25	145,2	95,94
9	2	5	31,25	145,7	76,62
10	2	1	44,2	113,7	51,52
10	3	2	45,65	103,6	59,36
10	4	3	41,55	71,26	89,67
10	5	4	37,3	115,2	97,2
10	1	5	41,7	44,25	156,6

APENDICE 84: Resultados das análises laboratoriais correspondentes a análise plasmática do experimento de metabolismo

<i>Cão</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Dia</i>	<i>Uréia (mg/dL)</i>	<i>Glicose (mg/dL)</i>	<i>Triglicerídeos (mg/dL)</i>
2	1	4	44,7	138,2	86,03
2	1	5	46,2	158,9	75,49
2	2	4	41,5	103,7	70,28
2	2	5	56,15	156,1	64,95
5	1	4	43,9	118,8	86,91
5	1	5	42,75	113,0	59,68
5	2	4	51,05	181,2	59,68
5	2	5	53,65	161,9	80,51
7	1	4	42,7	168,0	92,12
7	1	5	57,45	112,0	148,3
7	2	4	50,15	126,7	45,56
7	2	5	60,6	169,8	69,72
10	1	4	35,2	117,6	67,64
10	1	5	51,4	209,9	126,7
10	2	4	47,15	118,0	48,25
10	2	5	44,6	147,1	79,13

APENDICE 85: Valores brutos das análises de urina diária e cálculos de parâmetros urinários para retenção de nitrogênio.

cao	trat	per	dia	%PB Urin	Vol Total (ml)	Prot (g)	Cons (g)	Cons MS (g)	Cons PB (g)
1	1	1	1	21,36	294	62,80	647	576	174
1	1	1	2	23,13	289	66,85	647	576	174
1	1	1	3	22,06	354	78,09	647	576	174
1	1	1	4	21,29	275	58,55	508	452	137
1	1	1	5	20,24	297	60,11	334	297	90
1	2	2	1	16,31	305	49,75	647	574	172
1	2	2	2	20,13	309	62,20	647	574	172
1	2	2	3	18,66	330	61,58	647	574	172
1	2	2	4	19,92	337	67,13	617	548	164
1	2	2	5	15,48	370	57,28	183	162	49
2	1	1	1	20,83	394	82,07	644	573	173
2	1	1	2	19,21	391	75,11	644	573	173
2	1	1	3	18,76	343	64,35	644	573	173
2	1	1	4	19,47	415	80,80	644	573	173
2	1	1	5	13,84	697	96,46	557	496	150
2	2	2	1	11,96	425	50,83	644	572	171
2	2	2	2	15,49	400	61,96	644	572	171
2	2	2	3	16,23	514	83,42	644	572	171
2	2	2	4	17,41	327	56,93	644	572	171
2	2	2	5	22,00	320	70,40	644	572	171
3	1	2	1	10,48	648	67,91	727	647	196
3	1	2	2	12,97	451	58,49	727	647	196
3	1	2	3	15,26	543	82,86	727	647	196
3	1	2	4	10,02	876	87,78	727	647	196
3	1	2	5	12,09	629	76,05	456	406	123
3	2	1	1	15,80	522	82,48	727	645	193
3	2	1	2	13,23	564	74,62	727	645	193
3	2	1	3	12,87	624	80,31	525	466	140
3	2	1	4	10,62	694	73,70	638	566	170
3	2	1	5	10,30	651	67,05	363	322	97
5	1	2	1	12,86	651	83,72	678	603	183
5	1	2	2	16,74		88,12	678	603	183
5	1	2	3	19,64	533	104,68	678	603	183
5	1	2	4	14,73	522	76,89	678	603	183
5	1	2	5	16,42	531	87,19	678	603	183
5	2	1	1	15,88	495	78,61	678	602	180
5	2	1	2	19,45	403	78,38	678	602	180
5	2	1	3	19,83	437	86,66	678	602	180
5	2	1	4	22,24	439	97,63	678	602	180
5	2	1	5	18,76	414	77,67	492	437	131
6	1	1	1	18,25	445	81,21	542	482	146
6	1	1	2	18,13	442	80,13	542	482	146
6	1	1	3	18,60	415	77,19	542	482	146
6	1	1	4	18,24	376	68,58	542	482	146
6	1	1	5	17,40	403	70,12	276	246	74
6	2	2	1	15,78	374	59,02	542	481	144
6	2	2	2	18,68	333	62,20	542	481	144
6	2	2	3	20,26	339	68,68	542	481	144

## APENDICE 85: Continuação ...

cao	trat	per	dia	%PB Urin	Vol Total (ml)	Prot (g)	Cons (g)	Cons MS (g)	Cons PB (g)
6	2	2	4	17,98	453	81,45	542	481	144
6	2	2	5	16,86	397	66,93	504	447	134
7	1	1	1	7,97	845	67,35	549	489	148
7	1	1	2	8,23	864	71,11	549	489	148
7	1	1	3	10,69	792	84,66	549	489	148
7	1	1	4	9,81	784	76,91	484	431	130
7	1	1	5	7,88	838	66,03	280	249	75
7	2	2	1	6,79	938	63,69	549	487	146
7	2	2	2	8,04	705	56,68	549	487	146
7	2	2	3	7,13	1028	73,30	429	381	114
7	2	2	4	8,78	864	75,86	449	398	119
7	2	2	5	10,30	613	63,14	413	367	110
9	1	2	1	9,41	691	65,02	587	522	158
9	1	2	2	5,24	975	51,09	587	522	158
9	1	2	3	5,69	1314	74,77	34	30	9
9	1	2	4	7,98	551	43,97	312	278	84
9	2	1	1	12,01	536	64,37	587	521	156
9	2	1	2	11,61	556	64,55	377	335	100
9	2	1	3	10,83	609	65,95	438	389	117
9	2	1	4	9,73	544	52,93	294	261	78
9	2	1	5	9,94	620	61,63	301	267	80
10	1	2	1	10,19	722	73,57	555	494	149
10	1	2	2	11,57		80,99	555	494	149
10	1	2	3	10,62	837	88,89	555	494	149
10	1	2	4	11,47	713	81,78	555	494	149
10	1	2	5	14,06	567	79,72	555	494	149
10	2	1	1	13,92	572	79,62	555	493	148
10	2	1	2	10,64	776	82,57	555	493	148
10	2	1	3	10,72	766	82,12	555	493	148
10	2	1	4	10,95	764	83,66	555	493	148
10	2	1	5	9,37	813	76,18	464	412	123

## APENDICE 85: Continuação ...

cao	CDPB (%)	Fezes PB (g)	PB urin (g)	PB ret (g)	PB ret (%)	VBPB
1	76,97	40,13	62,80	71,34	40,94	0,53
1	76,97	40,13	66,85	67,29	38,61	0,50
1	76,97	40,13	78,09	56,05	32,16	0,42
1	76,97	31,51	58,55	46,77	34,18	0,44
1	76,97	20,71	60,11	9,13	10,15	0,13
1	72,40	47,50	49,75	74,85	43,49	0,60
1	72,40	47,50	62,20	62,39	36,26	0,50
1	72,40	47,50	61,58	63,02	36,62	0,51
1	72,40	45,29	67,13	51,69	31,50	0,44
1	72,40	13,43	57,28	-22,03	-45,27	-0,63
2	75,34	42,77	82,07	48,62	28,03	0,37
2	75,34	42,77	75,11	55,58	32,04	0,43
2	75,34	42,77	64,35	66,34	38,25	0,51
2	75,34	42,77	80,80	49,89	28,76	0,38
2	75,34	36,99	96,46	16,57	11,04	0,15
2	73,19	45,93	50,83	74,54	43,51	0,59
2	73,19	45,93	61,96	63,41	37,02	0,51
2	73,19	45,93	83,42	41,94	24,49	0,33
2	73,19	45,93	56,93	68,43	39,95	0,55
2	73,19	45,93	70,40	54,97	32,09	0,44
3	79,37	40,39	67,91	87,51	44,69	0,56
3	79,37	40,39	58,49	96,93	49,50	0,62
3	79,37	40,39	82,86	72,56	37,06	0,47
3	79,37	40,39	87,78	67,65	34,55	0,44
3	79,37	25,33	76,05	21,44	17,46	0,22
3	78,85	40,90	82,48	69,99	36,20	0,46
3	78,85	40,90	74,62	77,85	40,26	0,51
3	78,85	29,54	80,31	29,80	21,34	0,27
3	78,85	35,89	73,70	60,10	35,42	0,45
3	78,85	20,42	67,05	9,08	9,40	0,12
5	75,73	44,33	83,72	54,57	29,88	0,39
5	75,73	44,33	0,00	138,29	75,73	0,36
5	75,73	44,33	104,68	33,60	18,40	0,24
5	75,73	44,33	76,89	61,40	33,62	0,44
5	75,73	44,33	87,19	51,10	27,98	0,37
5	76,45	42,48	78,61	59,25	32,86	0,43
5	76,45	42,48	78,38	59,48	32,98	0,43
5	76,45	42,48	86,66	51,20	28,39	0,37
5	76,45	42,48	97,63	40,23	22,31	0,29
5	76,45	30,82	77,67	22,37	17,10	0,22
6	75,29	36,08	81,21	28,69	19,66	0,26
6	75,29	36,08	80,13	29,77	20,39	0,27
6	75,29	36,08	77,19	32,72	22,41	0,30
6	75,29	36,08	68,58	41,32	28,31	0,38
6	75,29	18,37	70,12	-14,15	-19,04	-0,25
6	76,99	33,17	59,02	51,98	36,05	0,47
6	76,99	33,17	62,20	48,79	33,84	0,44
6	76,99	33,17	68,68	42,31	29,35	0,38
6	76,99	33,17	81,45	29,55	20,49	0,27



## APENDICE 85: Continuação ...

<b>cao</b>	<b>CDPB (%)</b>	<b>Fezes PB (g)</b>	<b>PB urin (g)</b>	<b>PB ret (g)</b>	<b>PB ret (%)</b>	<b>VBPB</b>
6	76,99	30,84	66,93	36,28	27,06	0,35
7	77,93	32,63	67,35	47,90	32,39	0,42
7	77,93	32,63	71,11	44,13	29,85	0,38
7	77,93	32,63	84,66	30,58	20,68	0,27
7	77,93	28,76	76,91	24,69	18,94	0,24
7	77,93	16,64	66,03	-7,26	-9,62	-0,12
7	78,28	31,72	63,69	50,62	34,66	0,44
7	78,28	31,72	56,68	57,63	39,46	0,50
7	78,28	24,78	73,30	16,03	14,04	0,18
7	78,28	25,94	75,86	17,63	14,76	0,19
7	78,28	23,86	63,14	22,85	20,80	0,27
9	77,37	35,78	65,02	57,30	36,24	0,47
9	77,37	35,78	51,09	71,23	45,05	0,58
9	77,37	2,07	74,77	-67,68	-739,07	-9,55
9	77,37	19,02	43,97	21,05	25,04	0,32
9	75,87	37,67	64,37	54,09	34,64	0,46
9	75,87	24,19	64,55	11,53	11,50	0,15
9	75,87	28,11	65,95	22,44	19,26	0,25
9	75,87	18,87	52,93	6,40	8,19	0,11
9	75,87	19,32	61,63	-0,88	-1,10	-0,01
10	75,89	36,04	73,57	39,88	26,68	0,35
10	75,89	36,04	0,00	113,45	75,89	0,29
10	75,89	36,04	88,89	24,56	16,43	0,22
10	75,89	36,04	81,78	31,67	21,18	0,28
10	75,89	36,04	79,72	33,73	22,56	0,30
10	77,42	33,33	79,62	34,67	23,48	0,30
10	77,42	33,33	82,57	31,72	21,49	0,28
10	77,42	33,33	82,12	32,17	21,80	0,28
10	77,42	33,33	83,66	30,63	20,75	0,27
10	77,42	27,87	76,18	19,37	15,70	0,20

APENDICE 86: Valores brutos das análises laboratoriais do experimento de metabolismo – dietas, fezes e urina

Animal	Período	MS								Fezes Total (g)	Fezes MS (g)	Cons Total (g)	Cons MS (g)
		60 C	105 C	Total	CZ	GB	FB	PB	EB				
1	1	36,32	88,51	32,15	26,56	4,53	5,62	54,18	4269,46	991	318,58	2783	2477
2	1	37,32	89,40	33,36	27,35	4,80	6,50	52,32	4209,45	1192	397,70	3133	2789
3	2	38,24	88,64	33,90	27,80	4,71	5,77	49,86	4091,63	992	336,25	2980	2645
5	2	37,40	88,48	33,09	28,08	4,65	6,08	48,84	4113,18	1242	411,00	3204	2844
6	1	37,64	89,14	33,55	27,89	4,42	5,56	49,73	4097,22	975	327,13	2444	2175
7	1	38,64	88,63	34,25	27,81	5,05	5,62	49,81	4184,96	840	287,67	2411	2146
9	2	33,48	88,23	29,54	27,09	4,64	6,40	50,04	4234,87	867	256,11	1997	1772
10	2	36,60	88,98	32,57	28,27	5,69	6,67	48,62	4154,90	1018	331,53	2684	2382
1	2	33,72	87,46	29,49	26,13	3,93	5,51	49,94	4273,39	1366	402,91	2741	2433
2	2	36,32	86,95	31,58	27,14	4,36	5,28	51,43	4216,47	1414	446,51	3220	2858
3	1	36,56	87,28	31,91	25,87	5,47	6,09	51,58	4302,51	1136	362,33	3364	2994
5	1	35,60	86,68	30,86	27,12	5,06	6,51	51,85	4296,63	1385	427,48	3390	3017
6	2	44,08	86,49	38,12	29,26	4,20	6,54	48,95	4101,41	876	334,05	2672	2371
7	2	40,24	86,75	34,91	29,38	4,57	5,60	49,33	4172,34	802	279,79	2389	2120
9	1	35,80	85,61	30,65	26,63	4,86	5,52	51,67	4381,59	585	179,32	1520	1353
10	1	36,92	87,63	32,35	27,94	4,62	7,21	50,65	4259,67	1100	355,75	2775	2470
Dieta 1			89,01		6,02	10,79	1,64	30,26	4886,72				
Dieta 2			88,75		6,06	11,04	4,48	29,97	4960,21				

APENDICE 86: Continuação ...

<b>Cons MS (g)</b>	<b>CDMS</b>	<b>CDEB</b>	<b>EDMS</b>	<b>EDMnat</b>	<b>Cons GB (g)</b>	<b>Fezes GB (g)</b>	<b>CDGB</b>	<b>Cons PB (g)</b>	<b>Fezes PB (g)</b>	<b>CDPB</b>
2477	87,14	88,76	4337,92	3861,19	267,28	14,43	94,60	749,59	172,60	76,97
2789	85,74	87,71	4286,68	3815,58	300,90	19,09	93,66	843,86	208,08	75,34
2645	87,29	89,51	4439,80	3940,32	291,98	15,84	94,58	792,63	167,65	78,85
2844	85,55	88,01	4365,50	3874,38	313,93	19,11	93,91	852,21	200,73	76,45
2175	84,96	87,39	4270,86	3801,50	234,73	14,46	93,84	658,28	162,68	75,29
2146	86,60	88,52	4326,01	3850,58	231,56	14,53	93,73	649,39	143,29	77,93
1772	85,55	87,66	4348,05	3858,90	195,67	11,88	93,93	531,17	128,16	75,87
2382	86,08	88,34	4381,73	3888,79	262,98	18,86	92,83	713,90	161,19	77,42
2433	83,44	85,73	4252,21	3773,83	268,56	15,83	94,10	729,06	201,21	72,40
2858	84,38	86,72	4301,19	3817,31	315,50	19,47	93,83	856,47	229,64	73,19
2994	87,90	89,35	4366,36	3886,50	323,08	19,82	93,87	906,07	186,89	79,37
3017	85,83	87,54	4278,30	3808,12	325,58	21,63	93,36	913,08	221,65	75,73
2371	85,91	88,35	4382,25	3889,25	261,80	14,03	94,64	710,71	163,52	76,99
2120	86,80	88,89	4409,41	3913,35	234,07	12,79	94,54	635,44	138,02	78,28
1353	86,75	88,12	4306,25	3833,00	145,98	8,72	94,03	409,40	92,66	77,37
2470	85,60	87,45	4273,49	3803,83	266,52	16,44	93,83	747,43	180,19	75,89

## VITA

Luciano Trevizan, filho de Odorico Trevizan (*in memorian*) e de Maria Tittoni Trevizan, nasceu em 02 de junho de 1976, Capão da Canoa, RS.

Estudou na Escola Estadual “Lourenço Leon von Langendonk”, em Maquiné, na qual completou seu estudo de primeiro grau. Na Escola Estadual Ilderfonso Simões Lopes, em Osório/RS, cursou o segundo grau. Em agosto de 1997, ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), RS, graduando-se como Médico Veterinário em janeiro de 2003.

Em março de 2003, iniciou seu Curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Faculdade de Agronomia, da UFRGS, na área de concentração de Nutrição de Não-Ruminantes, tendo trabalhado com Nutrição de Cães.

Em dezembro de 2004, foi aprovado no processo seletivo para o Doutorado, no mesmo Programa de Pós-Graduação.