

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

OXIDAÇÃO LÍPIDICA NO PROCESSO DE EXTRUSÃO  
EM *PET FOOD*

Autora: Priscila Martins Ribeiro  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril - 2018

# OXIDAÇÃO LIPÍDICA NO PROCESSO DE EXTRUSÃO EM *PET FOOD*

Autora: Priscila Martins Ribeiro  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

“Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração: Produção Animal.”

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril - 2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR, Brasil)

R484o Ribeiro, Priscila Martins  
Oxidação lípidica no processo de extrusão em pet  
food / Priscila Martins Ribeiro. -- Maringá, PR,  
2018.  
71 f.: il. color.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, 2018.

1. Nutrição animal. 2. *Pet food*. 3. Gordura de  
frango - Nutrição animal. 4. Oxidação - Nutrição  
animal. 5. Oxidação - Nutrição animal. 6.  
Antioxidante - Nutrição animal. I. Vasconcellos,  
Ricardo Souza, orient. II. Universidade Estadual de  
Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 636.085

Márcia Regina Paiva de Brito – CRB-9/1267



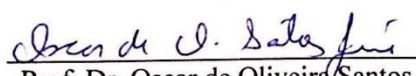
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

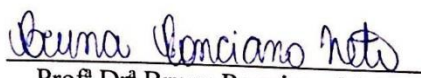
OXIDAÇÃO LIPÍDICA NO PROCESSO DE  
EXTRUSÃO EM *PET FOOD*

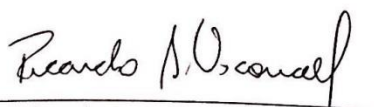
Autora: Priscila Martins Ribeiro  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 22 de fevereiro de 2018.

  
Prof. Dr. Oscar de Oliveira Santos  
Junior

  
Profª Drª Bruna Ponciano Neto

  
Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos  
(Orientador)

“Não deseje que fosse mais fácil, deseje que você seja melhor. Não deseje menos problemas, deseje mais habilidades. Não deseje por menos desafios, deseje mais sabedoria.”

(Jim Rohn)

Aos meus pais,

Natanael Luciano Ribeiro e Dalva Sueli Martins

A quem amo e serei eternamente grata!

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo o que Ele me concedeu, contemplou com o melhor presente, a vida, e permitiu que eu concluísse mais esta etapa.

Aos meus pais, por tudo o que fizeram e fazem por mim. Aos meus irmãos, William e Matheus Ribeiro, pela força, brincadeiras e incentivos.

Ao Professor Doutor Ricardo Souza Vasconcellos e sua família (Ana, Davi e Clara), pela oportunidade concedida, orientação e suporte, disposição em me passar seus conhecimentos e pela paciência.

Aos Doutores Oscar, Jesuí, Thaila e Aulus, sempre dispostos a ajudar e pela colaboração para a realização deste trabalho.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Zootecnia e do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

A todos os integrantes e ex-integrantes do Centro de Estudos Nutricionais em Felinos, em especial aos pós-graduandos, Mayara Uana, Leonir Bueno, Mônica Merenda e Tânia Miltenburg, pelas conversas compartilhadas, por todo empenho e contribuição. Ao Laboratório de Nutrição de Cães e Gatos Professor Doutor Flávio Prada – UNESP Jaboticabal e a todos integrantes que me ajudaram na fase experimental.

E a todos que estiveram ao meu lado e me apoiaram durante esta etapa.

Muito obrigada!

## BIOGRAFIA

Priscila Martins Ribeiro, filha de Natanael Luciano Ribeiro e Dalva Sueli Martins Ribeiro, nasceu em Maringá– PR, no dia 3 de março de 1992.

Em fevereiro de 2011 iniciou a graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá – PR, concluindo-a em janeiro de 2016.

Em março de 2016, iniciou no mestrado na Universidade Estadual de Maringá – PR, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, com especialidade em Animais de Companhia.

Em fevereiro de 2018, submeteu-se à banca examinadora para a defesa da dissertação.



## ÍNDICE

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>7</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>9</b>
<b>CONSIDERAÇÕES INICIAIS</b> .....	<b>9</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>12</b>
1.1. FONTES DE GORDURA EM <i>PETFOOD</i> .....	12
1.2. EFEITOS DO PROCESSO SOBRE A QUALIDADE DA GORDURA .....	13
1.3. BALANÇO DE ENERGIA NO PROCESSO DE EXTRUSÃO .....	14
3.1. OXIDAÇÃO LIPÍDICA .....	15
3.2. ÁCIDO LINOLEICO .....	17
3.3. ANTIOXIDANTES .....	18
<b>4. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>19</b>
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>24</b>
<b>OXIDAÇÃO LIPÍDICA NO PROCESSO DE EXTRUSÃO EM <i>PET FOOD</i>*</b> .....	<b>24</b>
RESUMO.....	25
ABSTRACT .....	26
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>29</b>
<i>Experimento 1: Efeito da energia mecânica específica (EME) sobre a qualidade da gordura em rações extrusadas para gatos</i> .....	32
<i>Experimento 2: Avaliação de diferentes fontes de antioxidantes sobre o shelf-life da gordura de frango e de alimentos extrusados para gatos</i> .....	53
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	<b>63</b>
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>68</b>
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>68</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dieta basal de gatos formulada como base para os dois experimentos. ....	32
Tabela 2. Parâmetros de processamento de alimentos para gatos extrusados com aplicações de energia mecânica específica (EME) baixa (9 kWh/ton), média (21 kWh/ton) ou alta (35 kWh/ton). ....	34
Tabela 3. Média de temperaturas do ambiente para o <i>shelf life</i> em tempo real da gordura de aves. ....	42
Tabela 4. Desafios experimentais para o teste de preferência alimentar em gatos utilizando de rações extrusadas com diferentes fontes de antioxidante. ....	45
Tabela 5. Teor de extrato etéreo analisados por três diferentes métodos em rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9, 21 e 35 kWh/t). ....	46
Tabela 6. Porcentagem de gordura complexada de rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9, 21 e 35 kWh/t). ....	47
Tabela 7. Força de corte e densidade aparente de rações processadas com diferentes energias mecânicas específicas (9, 21 e 35 kWh/t). ....	47
Tabela 8. Perfil de ácidos graxos (mg/g de gordura) de rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9,21 e 35 kWh/t) nas diferentes fases do processo. ....	49
Tabela 9. Relação do ácido linoleico (mg/g de gordura) em rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9,21 e 35 kWh/t) nas diferentes fases do processo de extrusão. ....	50
Tabela 10. Porcentagem de perda do ácido linoleico (18:2, n-6) durante o processo de extrusão de rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9,21 e 35 kWh/t). ....	50
Tabela 11. Hexanal (mg/kg de MS) nas rações processadas com diferentes energias mecânicas específicas (9,21 e 35 kWh/t) nas diferentes fases do processo. ....	51
Tabela 12. Concentrações de ácido linoleico e hexanal e suas correlações em cada etapa do processo de extrusão de rações com diferentes energias mecânicas específicas (9,21 e 35 kWh/t). ....	51
Tabela 13. Índice de peróxido (mEq/kg) dos alimentos processados por diferentes Energias Mecânicas Específicas (9,21 e 35 kWh/t) e mantidos em estufa a 60°C por 20 dias (Teste de Schaal). ....	53
Tabela 14. Índice de peróxido (mEq/kg) nas amostras de óleo de frango estabilizadas com diferentes antioxidantes e mantidas em temperatura ambiente. ....	55
Tabela 15. Residual de antioxidante em óleo de frango e rações experimentais para gatos com diferentes fontes de antioxidantes. ....	56
Tabela 16. Período de indução (P.I.; min) das amostras de óleo de frango estabilizadas com diferentes antioxidantes. ....	56
Tabela 17. <i>Shelf life</i> em tempo de acelerado de rações para gatos processadas com diferentes fontes de antioxidantes. ....	57

Tabela 18. Concentração de Ácido Linoleico (mg/g de gordura) e Hexnal (mg/kg de amostra na MS) em alimentos extrusados para gatos em diferentes energias mecânicas específicas com ou sem aditivo antioxidante. ....	60
Tabela 19. Teste de preferência alimentar em gatos utilizando rações extrusadas com diferentes fontes de antioxidantes.....	62

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Rações experimentais para gatos, produzidas com diferentes EME.....	48
Figura 2: Modelos matemáticos ajustados para as curvas de IP das rações processadas por diferentes EMEs e submetidas ao teste de estufa de Schaal. ....	53
Figura 3: Índice de peróxido da gordura de aves estabilizado com diferentes antioxidantes e mantido a temperatura ambiente por 105 dias.....	55
Figura 4: Curvas de oxidação pelo teste de estufa de Schaal (20 dias a 60°C) das amostras rações processadas por extrusão com diferentes antioxidantes.....	58

# CAPÍTULO 1

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A extrusão é uma tecnologia muito eficiente, amplamente utilizada no processamento de alimentos para humanos e animais. 95% dos alimentos secos para cães e gatos são produzidos através do processamento por extrusão (Brennan et al., 2011; Sharma et al., 2014), sendo um processo no qual são aliadas elevadas temperatura, umidade e pressão, promovendo importantes efeitos como esterilização do alimento, redução dos fatores antinutricionais e melhora a digestibilidade.

Embora hoje os alimentos sejam formulados de maneira geral por meio da composição química analisada dos ingredientes pelas indústrias, sabe-se que a condição extrema do processo dos alimentos por extrusão modifica quimicamente muitos nutrientes, promovendo a modificação na estrutura de alguns e até mesmo a perda completa de outros, sendo estes efeitos ainda pouco conhecidos pelos formuladores de alimentos. Exemplo disto são as perdas vitamínicas e até mesmo de minerais (selênio e iodo) durante o processamento (Coelho, 2003).

O controle de qualidade durante o processo de fabricação é importante fator para previsão da qualidade de conservação futura da ração produzida, além de garantir que as características sejam mantidas depois do produto aberto. Durante a extrusão, para o cozimento do alimento, são empregados dois tipos de energia, térmica e mecânica. A energia térmica na extrusão é oriunda do vapor d'água e a energia mecânica do consumo elétrico, principalmente pelo cisalhamento (Couto, 2008). O controle das energias dentro do processo de extrusão é importante para a qualidade final do produto, pois, o mesmo estabelece os devidos parâmetros do processo de extrusão, tornando possível manter a qualidade nutricional do alimento (Sá, 2015).

A aferição ou cálculo da energia mecânica específica (EME) torna possível controle do processo de fabricação dos produtos (Riaz, 2007). Do ponto de vista científico, no entanto, não se estudou, ainda, a EME mais adequada para a extrusão de alimentos para animais de companhia, acredita-se que a média de 15 a 25 kWh/ton de EME seja adequada ao processamento (Strathman, 2007, Moscicki, 2011).

Os lipídios, presentes em gorduras e óleos, apresentam propriedades organolépticas que conferem sabor, cor e textura para os alimentos (Silva et al., 1999; Tian et al., 2013). Além de conferir estas propriedades para os alimentos, os ácidos graxos presentes nas fontes de lipídeos apresentam propriedades fisiológicas

fundamentais para o organismo, tais como a constituição de membranas, produção de mediadores inflamatórios, composição de neurônios, entre outros. Para isto, diferentes fontes de gordura são usadas na alimentação visando promover a saúde dos animais. As principais fontes lipídicas usadas em *pet food* são: gordura de frango, sebo bovino, banha suína e o óleo de peixe. (ABINPET, 2016).

Pouco se conhece sobre as modificações que ocorrem nos ácidos graxos durante o processamento de alimentos. Apesar do uso dos antioxidantes para preservar os alimentos, sendo estes em geral eficientes, pouco se conhece sobre as interações e perdas que ocorrem durante este processo. Conhecer as modificações no processo de oxidação durante a extrusão se faz importante para o uso racional de aditivos antioxidantes e também para definir pontos de inclusão de gordura no processo.

Os ácidos graxos presentes nas fontes de gordura apresentam funções primordiais na saúde dos animais. No entanto, uma vez oxidados, os ácidos graxos se tornam moléculas nocivas ao organismo e seu consumo deve ser evitado. O processo de oxidação ocorre mais facilmente nas duplas ligações dos ácidos graxos e, neste sentido, as fontes de gordura mais insaturadas. Os radicais livres que resultam dessa oxidação podem reagir com proteínas, vitaminas ou outros constituintes e reduzindo a qualidade nutricional do alimento (Lillard, 1983).

Tendo em vista os possíveis efeitos do processo de extrusão sobre a oxidação lipídica e valor nutricional de ingredientes lipídicos, neste estudo foram verificadas as modificações oxidativas ocorridas em alimentos extrusados para gatos, contendo gordura de aves como fonte de lipídeos e submetidos a diferentes aplicações de EME e os impactos destas modificações sobre o *shelf-life*, valor nutricional e as propriedades organolépticas de alimentos para gatos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

### 1.1. Fontes de Gordura em *petfood*

A escolha da fonte lipídica influencia a palatabilidade, a digestibilidade e o perfil de ácidos graxos de alimentos para cães e gatos. As principais fontes lipídicas usadas em *pet food* são: óleo de frango, sebo bovino, a banha suína e o óleo de peixe, além dos óleos de origem vegetal (ABINPET, 2016).

O óleo de frango é um ingrediente bastante utilizado nos alimentos industrializados para cães e gatos. É o produto obtido a partir do processamento de vísceras de aves (ABINPET, 2016). O óleo de vísceras de frango possui em torno de 20% de ácido linoleico (NRC, 2006) considerado boa fonte de energia e de ácidos graxos. O óleo de frango contém ácidos graxos como o ômega 9 (37,3% - ác. Oleico), ômega 6 (ác.linoleico 19,5% e aracdônio 1%), além de possuir ômega 3 (linolênico 1%) (Pontieri, 2008).

O sebo bovino é considerada uma fonte de energia rica em ácidos graxos saturados, apresentando em sua composição 12% de ômega 6 (ác.linoleico) e 49% ômega 9 (ác. Oleico) (Borges, 2004). O alto teor de saturação faz com que as dietas elaboradas com este ingrediente tenham menor digestibilidade do extrato etéreo quando comparado a dietas com outras fontes de gorduras e óleos (kane et al., 1981; Peachey et al., 1999).

O óleo de peixe oriundo do processamento da farinha de peixe varia sua fonte de ômega 3, ômega 6 e ômega 9 de acordo com a espécie do peixe e a alimentação que o mesmo foi submetido (ABINPET, 2016). Como exemplo de composição pode-se citar o óleo de salmão (ác.linoleico 0,6%, EPA 12% e DHA 13,8) uma opção excelente para formulação de dietas para gatos (Pontieri, 2008).

## 1.2. Efeitos do processo sobre a qualidade da gordura

Lipídios são muito estáveis durante o tratamento térmico, e por causa do conteúdo lipídico relativamente baixo na maioria dos grãos de cereais, sua transformação durante a extrusão não tem sido muito investigada (Ascheri et al, 2014). Como na maioria dos outros componentes, existem possíveis interações entre lipídios e proteínas, e as interações definidas entre lipídios e amidos.

Temperaturas raramente são altas o suficiente durante o curto período de tempo do processo de extrusão para destruição térmica de lipídios, entretanto quando há temperaturas de extrusão excessivas, ocorre aumento nos valores de peróxido e outros produtos de oxidação. Com isso a rancidez oxidativa pode ser um problema quando as temperaturas extremamente altas e as baixas umidades são empregadas durante a extrusão (Rao et al.,1989).

As gorduras fornecem lubrificidade e plasticidade, Plattner e colaboradores (2016) verificaram que as inclusões acima de 7 % reduzem a expansão e desenvolvimento da textura. A densidade pode aumentar com o aumento dos níveis de gordura e o kibbles

apresenta pequena expansão, porém maior durabilidade. Já acima de 17% há perda da durabilidade. Não apenas o nível de gordura, mas também a fonte de gordura e localização de incorporação ao processo tem um efeito sobre a taxa de expansão durante a extrusão.

### 1.3. Balanço de energia no processo de extrusão

Extrusão é um procedimento tecnológico que permite elaborar uma série de produtos, utilizando diversas matérias-primas. Por definição extrusão é um processo de tratamento térmico do tipo HTST (*High Temperatura Short Time*) que por uma combinação de calor, umidade e trabalho mecânico, modifica profundamente as matérias-primas, proporcionando novos formatos e estruturas com diferentes características funcionais e nutricionais (Riaz, 2007).

O processo de extrusão causa diferentes modificações físicas e químicas nos ingredientes que estão ligadas ao balanço de energia do processo (Sá, 2015). Então como parâmetro industrial é importante a realização o balanço de energético para o processo, através da energia mecânica específica (EME) e energia térmica específica (ETE).

A ETE é dada pela injeção de vapor que ocorre principalmente no condicionador, mas também no interior do canhão extrusor. A EME é definida como a quantidade de energia necessária para processar o material dentro do canhão da extrusora para fora. A EME depende diretamente da potência do motor e da quantidade total de material processado por um determinado período de tempo ( $\mu$ ). A potência do motor é o produto entre o torque (T), o qual é proporcional à distância de aplicação da força e a velocidade do parafuso ( $\omega$ ) (Jamin e Flores, 1998). O ETE (kWh / ton) pode ser obtido por equações de massa e equilíbrio energético no condicionador e extrusora. A Energia TOTAL (kWh / tonelada) é a soma de EME e ETE.

Os parâmetros do sistema que correspondem às variáveis operacionais que levam a introdução de energia são: temperatura do produto, pressão do sistema, taxa de cisalhamento e tempo de residência. De acordo com Riaz (2007), durante o procedimento se registrado continuamente a produção horária, carga do motor, velocidade da rosca, adição de água e vapor. Com os dados obtidos consegue-se calcular a implementação de EME pela seguinte formula:



$$\text{EME (kJ/kg)} = \frac{\text{Qme(kJ/h)}}{\text{FR(kg/h)}}$$

Em que:

Qme é a entrada de energia mecânica total;

FR é a taxa da alimentação da dieta seca.

$$\text{Qme ( kJ/h )} = \frac{\text{kWe} \times \text{Le} \times \text{rpm}_a}{\text{rpm}_f \times 36}$$

Em que:

kWe é a potência nominal do motor da extrusora em kW;

Le é a carga do motor da extrusora, expressa em porcentagem;

rpm<sub>a</sub> é a rotação por minuto (RPM) do eixo da extrusora;

rpm<sub>f</sub> é o RPM máximo do eixo da extrusora.

#### 1.4. Oxidação Lipídica

A oxidação é uma das principais causas de deterioração da qualidade durante o processamento e armazenamento de produtos alimentares. Os alimentos oxidam através de vários caminhos: por reações hidrolíticas, oxidação enzimática, por fotoxidação e também por autooxidação, que é o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras (Berger e Hamilton, 1995), elas se dão de acordo com o meio e agente oxidante. A autooxidação é uma reação em cadeia, que consiste em três fases distintas: iniciação, propagação e terminação, sendo que nas duas primeiras, ocorre a presença decisiva de radicais livres (Oliveira et al., 2012).

A reação inicial envolve a geração de um radical livre (L.) a partir de um ácido graxo insaturado (LH). Essa fase é muito lenta e depende de um iniciador (I), representado pelo calor, metais traços e certas enzimas catalisadoras (Fogaça et al., 2009). Na propagação, o radical lipídico (L) reage muito rapidamente com o oxigênio atmosférico produzindo um radical peróxido (LOO) que novamente pode abstrair um hidrogênio de outra cadeia acil, resultando em um hidroperóxido lipídico (LOOH) e um três novos radicais L. Esta propagação continua até que um dos radicais seja removido por reação com outro radical ou com um antioxidante (AH) cujo radical resultante (A) seja muito menos reativo. Essa propagação continua até que o radical peróxido seja

removido por uma reação com outro radical, formando produtos inativos ou não radicais (FAO, 2003). Na ausência de antioxidantes, o radical peróxido formado, retira mais um átomo de hidrogênio de outra molécula lipídica formando um hidroperóxido (LOOH), e outro radical livre (L).

A velocidade desta reação é afetada pelo grau de insaturação do ácido graxo, pela presença de pró e antioxidantes, pelas condições de armazenamento, como temperatura, umidade, oxigênio e luz (Reis, 2013). O mecanismo de fotoxidação de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação UV em presença de fotossensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros) que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio triplete ( $3O_2$ ), gerando o estado singlete ( $1O_2$ ). O oxigênio Iniciação:  $I + LH \rightarrow L + IH$  Propagação:  $L + O_2 \rightarrow LOO.$   $LOO. + LH \rightarrow LOOH + L$ . Terminação:  $LOO. + LOO. \rightarrow$  produtos inativos (Figura 1). O oxigênio singlete reage diretamente com as ligações duplas por adição formando hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, e que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (Ramalho et al., 2006).

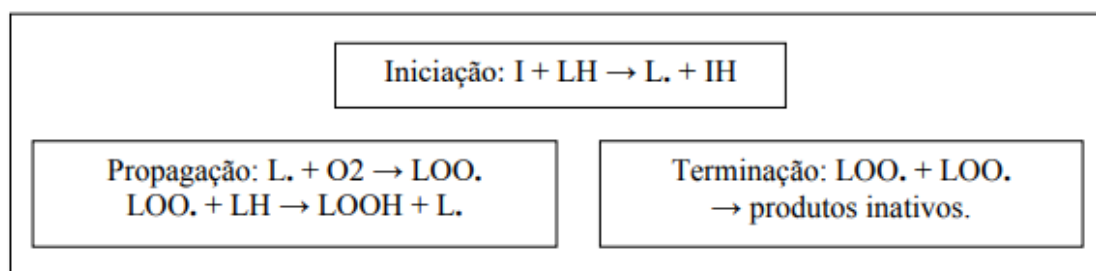


Figura 1: Esquema das fases da autoxidação (FAO, 2003).

As lipoxigenases são isoenzimas que catalisam a incorporação de moléculas de oxigênio em ácidos graxos poli-insaturados (substratos) que possuem a estrutura cis,cis-1,4- pentadieno. Os ácidos graxos vegetais mais comuns que possuem essa estrutura são os ácidos linoleicos e linolênicos. Os grãos de soja constituem a fonte mais rica de lipoxigenases, sendo que quatro isoenzimas foram isoladas, as lipoxigenases L-1, L-2, L3a e L-3b. Estas isoenzimas diferem entre si em vários aspectos da ação catalítica tais como pH ótimo de ação, especificidade para substrato, regio-especificidade, produtos primários e secundários formados (Reis, 2013).

## 1.5. Ácido Linoleico

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

Dentre os ácidos graxos poli-insaturados, existem três famílias importantes: a do ômega ( $\omega$ ) - 3, representada pelo ácido alfa-linolênico (18: 3  $\omega$ -3); ômega ( $\omega$ ) - 6, que inclui derivados do ácido linoleico (18: 2  $\omega$ -6) e a do ômega ( $\omega$ ) - 9, proveniente do ácido oleico (18:1  $\omega$ -9), porém, quando contidos na alimentação, os  $\omega$ -3 e 6 podem formar ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa como o EPA, DHA e Araquidônico (Casanova e Medeiros, 2011).

Os ácidos graxos essenciais como o ácido linoleico ( $\omega$ -6) não podem ser sintetizados pelo organismo do gato doméstico, por isso devem ser ingeridos na dieta, através de fontes específicas, como a gordura de aves, razão pela qual é chamado de ácido graxo essencial para essa espécie. Além disso, esses animais não conseguem sintetizar o ácido araquidônico, quando outros mamíferos normalmente o fariam, depois de receber ácido linoleico na dieta. Este fato ocorre, pois, os gatos têm baixa atividade de enzimas hepáticas  $\Delta$ -6 dessaturase e  $\Delta$ -5 dessaturase, responsável pela síntese de ácido araquidônico, a partir do ácido linoleico (Trevizan, 2009).

O ácido linoleico presente nas fontes de gordura, principalmente na gordura de aves apresentam funções primordiais na saúde dos animais, como já citado. No entanto, uma vez oxidados, os ácidos graxos se tornam moléculas nocivas ao organismo e seu consumo deve ser evitado. O processo de oxidação ocorre mais facilmente nas duplas ligações dos ácidos graxos e, neste sentido, as fontes de gordura mais insaturadas. Os radicais livres que resultam dessa oxidação podem reagir com proteínas, vitaminas ou outros constituintes e reduzindo a qualidade nutricional do alimento (Lillard, 1983). Na tabela 1, são apresentados os principais aldeídos formados na oxidação do ácido linoleico.

Tabela1. Valores limiares de aldeídos voláteis formados na oxidação do ácido linoleico.

Composto	Valores (%)
Hexanal	0,08-0,6
Heptanal	0,04-0,05
Octanal	0,04-0,06
trans-2-Nonenal	0,04-0,04
cis-2-Decenal	0,1
trans,trans-2,4-Nonadienal	0,46
trans,cis-2,4 – Decadienal	0,02

Adaptado da Revista Food Ingredients Brasil N° 29 – 2014.

Acredita-se que os aldeídos não sejam palatáveis para animais de companhia como não o são para humanos (Case, 2001). O processo oxidativo também pode levar a formação de compostos tóxicos (Calligares et al., 2015).

#### 1.6. Antioxidantes

Os antioxidantes são as substâncias responsáveis por retardar o aparecimento de alterações oxidativas no alimento (ANVISA, 1999). O BHA, BHT e TBHQ são os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria de alimentos. Quanto aos antioxidantes naturais mais utilizados estão os tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos de plantas. A estrutura fenólica destes compostos permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando, assim, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres (Ramalho, 2006).

O BHA é um antioxidante mais efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais do que em óleos vegetais (Bailey, 1996). O BHT possui propriedades similares ao BHA e são sinérgicas entre si. O BHA age como sequestrante de radicais peróxidos, enquanto o BHT age como sinérgico, ou regenerador de radicais BHA. O TBHQ é um pó cristalino branco e brilhoso, moderadamente solúvel em óleos e gorduras e não se complexa com íons de cobre e ferro (Madhavi, 1995). É considerado em relação à gordura animal tão efetivo quanto o BHA e mais efetivo do que o BHT (Chahine, 1974). O TBHQ é considerado também o melhor antioxidante para óleos de fritura, pois resiste ao calor e proporciona uma excelente estabilidade para os produtos acabados (Mariutti e Bragagnolo, 2007).

Os tocoferóis que, por ser um dos melhores antioxidantes naturais são amplamente aplicados como meio para inibir a oxidação dos óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados (Jorge et al., 2008).

### 1.7. Palatabilidade em alimentos para cães e gatos

A palatabilidade ou preferência alimentar do animal é de extrema importância para indústria *pet food*. A mesma é determinada pela de características de macroestruturas juntamente com a composição química e tipo de ingredientes do alimento determinarão parâmetros do processo como expansão do produto, densidade específica, estrutura celular e dureza e crocância (Trivedi e Benning, 2003).

Entre as maneiras de se melhorar a palatabilidade de um alimento, a adição de óleo ou gordura é comumente empregada na indústria *pet food* (Zaghini et al., 2005), porém quando não controlada pode levar o alimento a sofrer processo oxidativo. Os gatos são mais exigentes em relação à palatabilidade de seus alimentos, apresentando maior sensibilidade se comparando com cães (Saad, 2004). Infelizmente, quase não existem estudos publicados sobre a influência do processamento por extrusão ou a influência da fonte antioxidante sobre a palatabilidade de alimentos para gatos.

## 2. REFERÊNCIAS

- ABINPET. 2016. Associação brasileira de indústria de produtos para animais de estimação.
- ANVISA. 1999. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasil. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Diário Oficial da União.
- Ascheri, José Luís Ramírez, Carvalho, C. W. P. Tecnologia de extrusão: uma ferramenta para o desenvolvimento de produtos In: Tendências e Inovações em Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos.1 ed.São Paulo: Atheneu, 2014, v.1, p. 123-146.
- Bailey, A. E.; Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 5th ed., John Wiley: New York, 1996, vol. 3.
- Berger, K. G.; Hamilton, R. J. Em Developments in Oils and Fats; Hamilton, R. J., ed.; Chapman & Hall: London, 1995, cap. 7

- Borges, F.M.O; Ferreira, W.M; Principios Nutritivos e Exigencias Nutricionais de Cães e Gatos, Lavras:UFLA/FAEPE, 2004.
- Brennan, C., Brennan, M., Derbyshire, E., Tiwari, K. B., 2011. Effects of extrusion on the polyphenols vitamins and antioxidants activity of foods. *Food Sci. Technol.* 22, 570-575.
- Calligares, S.; Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, M. C. 2015. Shelf life assessment of food undergoing oxidation – a review. *Food Science and Nutrition.* 56, 1903-1912.
- Casanova, M. A. e F. Medeiros. 2011. Recentes evidências sobre os ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 na doença cardiovascular. *Rev. Hosp. Univ. Ped. Ern. UERJ.* 10:74-80.
- Case, L. P. 2001. Canine and feline nutrition: a resource for companion animal professionals, 3th ed. Evaluation of pet foods. Mosby Elsevier, Maryland Heights, USA.
- Chahine, M. H.; Macneill, R. F.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1974, 51, 37.
- Coelho, Michael .Vitamins and carotenoids in pet care – Coelho in *Petfood technology/* editors, Jennifer L.Kvamme, Timothy D.Phillips. 1st ed. 2003.
- Couto, H. P. Fabricação de rações e suplementos para animais - Gerenciamento E Tecnologias. Viçosa:CPT, 2008. 226p.
- FAO. Quality and quality changes in fresh fish: post mortem changes in fish. Roma: FAO, 2003. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/v7180e/v7180e06.htm>. Acesso em 01 de janeiro de 2018.
- Fogaça, F.H.S.; Sant'ana, L.S. Oxidação lipídica em peixes: mecanismo de ação e prevenção. *Archives of Veterinary Science*, v.14, n.2, p.117-127, 2009.
- Jamin, F. F.; Flores, R. A. Effect of separation and grinding of corn dry-milled streams on physical properties of single-screw low-speed extruded products. *Cereal Chemistry*, v. 75, p. 775-779, 1998.
- Jorge, N.; Malacrida, c. R. Extratos de sementes de mamão (*Carica papaya L.*) como fonte de antioxidantes naturais. *Alim. Nutri. Araraquara*, v.19, n.3. p.337-340, 2008.
- Kane, E.; Morris, J.G.; Rogers, Q.R. Acceptability and digestibility by adults cats of diets made with various sources and levels of fats. *Journal of Animal Science*, v. 53, n. 6; p. 1516-1523, 1981.
- Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M. Princípios de Bioquímica. 6. ed. São Paulo: Sarvier, 2014. 839p.

- Lillard, D.A. Effect of processing on chemical and nutrition changes in food lipids. *Journal of Food Protection*, v. 46, n. 1, p. 61-67, 1983.
- Madhavi, D. L.; Salunkhe, D. K. Em *Antioxidants*; Maga, J.; Tu, A. T., eds.; Marcel Dekker: New York, 1995, p. 89
- Mariutti, L. R. B.; Bragagnolo, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. *Braz. J. Food Technol.*, v.10n.2, p.96-103, 2007.
- Moscicki, L., Wojtowicz A., 2011. Raw Materials in the Production of Extrudates. In: Moscicki L. *Extrusion-Cooking Techniques*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, NRC. Natl. Acad. Press, Washington, DC, 2006.
- Oliveira, R. R. Utilização do ácido fólico como antioxidante natural em produtos cárneos. 2012. n. f. 32 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – 19 Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2012.
- Peachey, S.E.;Dowson,J.M.;Harper,E.J. The effect of aging on nutrient digestibility by cats fed beef tallow, sunflower oil or olive oil – enriched diets. *Growth, Development and Aging*, v.63,n.1-2,p.61-70,1999.
- Plattner Brian, PE. XXIII- Curso. Processo de Extrusão de Alimentos: Aspectos tecnológicos para o desenvolvimento e produção de alimentos para consumo humano e animal, 2016.
- Pontieri, C.F.F; Carciofi, A.C; Formulação de Ácidos Graxos em Alimentos Para Caes e Gatos, *Anais do VII Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação CBNA 2008*, Campinas, SP, 2008. pp. 45-64.
- Ramalho, V. C.; Jorge, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova* vol.29 no.4 São Paulo Jul/Ago. 2006.
- Rao, S.K. and Artz, W.E. 1989. Effect of Extrusion on Lipid Oxidation. *Journal of Food Science*, Vol. 54, No. 6, pg. 1580-1583
- Reis, R. C. Influência da dieta, do uso de antioxidantes e da conservação por congelamento na oxidação lipídica da carne bovina. 2013. n. f. 38 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2013. [Orientador: Prof. Dr. Moacir Evandro Lage].
- Revista Food Ingredients Brasil Nº 29 – 2014. Artigo especial: os tipos e os efeitos da rancidez oxidativa em alimentos, pág. 38-45.
- Riaz, M. N., 2000. Extruders in food applications, In: RIAZ M. N. Introduction to extruders and their principles. CRC Press, p.1-23.
- Riaz, M.N. Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds. *Agrimedia*, Clenze, p. 400, 2007.

- Sá, Fabiano Cesar. Energia Mecânica, Energia Térmica E Moagem Na Extrusão De Alimentos Para Cães E Gatos / Jaboticabal, 2015 Vii, 94 P. : Il. ; 28 Cm. Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, 2015.
- Saad, F. M. O. B., Saad, C. E. P. 2004. História evolutiva na alimentação e controle de consumo dos cães e gatos. In: Apostila. Curso de Pós-Graduação “Latu Sensu” (Especialização) a Distância em Nutrição e Alimentação de Cães e Gato. Universidade Federal de Lavras - UFLA, FAEPE - Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão. Lavras – MG, p. 44.
- Sharma, S., Kaur, S., Dar, B., Singh, B., 2014. Storage stability and quality assessment of processed cereal brans. *Journal of Food Science and Technology* 51, 583–588.
- Silva et al, 1999. F.A.M. Silva, M.F.M. Borges, M.A. Ferreira. Métodos Para Avaliação Do Grau De Oxidação Lipídica E Da Capacidade Antioxidante. *Quim. Nova*, 22 (1999), Pp. 94-103.
- Strathman, R., 2007. Universal Pellet/Cooker ®. In: Riaz, M.N. *Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds*. Agrimedia, Clenze, GE, pp. 135-156.
- Tian et al., 2013 F. Tian, E.A. Decker, J.M. Goddard. Controlling Lipid Oxidation Of Food By Active Packaging Technologies. *Food. Funct.*, 4 (2013), Pp. 669-680.
- Trevizan, L. Metabolismo de lipídeos em gatos : estudo da aceitação de ácidos graxos de cadeia média e dos efeitos da inclusão de ácido  $\gamma$ -linolênico na formação de ácido araquidônico. Tese de Doutorado, 2009. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
- Trivedi, N.; Benning, J. Palatability Keys. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. *Petfood technology*. Illinois Mt Morris, p. 178-179, 2003.
- Zaghini, G., Biagi, G. 2005. Nutritional peculiarities and diet palatability in the cat. *Veterinary Research Communications*. 29, 39-44.



## OBJETIVOS

### Objetivos gerais:

Neste projeto, foram estudadas as modificações oxidativas ocorridas em alimentos extrusados para gatos contendo gordura de aves como fonte de lipídeos e submetidos a diferentes condições de processamento (aplicação de energia mecânica específica) e os impactos destas modificações sobre o *shelf-life* e as propriedades organolépticas de alimentos para gatos.

### Objetivos específicos:

Determinar o *shelf-life* de alimentos para gatos contendo óleo de frango, submetidos a diferentes condições de processamento, pela aplicação de diferentes níveis de energia mecânica (9, 21 e 35 kWh/ton);

Determinar as modificações nas concentrações de ácidos graxos, perdas de antioxidantes sintéticos e formação de produtos de oxidação em alimentos para gatos contendo óleo de frango submetido a diferentes condições de extrusão, pela aplicação de diferentes níveis de energia mecânica;

Determinar as características organolépticas em laboratório (compostos voláteis por cromatografia gasosa, textura do kibble) e a palatabilidade de alimentos para gatos de alimentos contendo diferentes fontes de antioxidante.

## CAPÍTULO 2

### OXIDAÇÃO LÍPIDICA NO PROCESSO DE EXTRUSÃO EM *PET* *FOOD*\*

\*Artigo escrito de acordo com as normas da Revista *Animal Feed Science and Technology* (exceto tabelas)

## Oxidação lipídica no processo de extrusão em *pet food*

### Resumo

A extrusão é uma tecnologia amplamente utilizada no processamento de alimentos para humanos e animais. Ainda hoje, pouco se conhece sobre as modificações que ocorrem nos lipídeos durante o processamento de alimentos. Tendo isto em vista, neste projeto de pesquisa, foram estudadas as modificações oxidativas ocorridas em alimentos extrusados para gatos contendo gordura de aves como fonte de lipídeos submetidos a diferentes EME (energia mecânica específica) e os impactos destas modificações sobre o *shelf-life* e as propriedades organolépticas, para isso foram realizados dois experimentos. No experimento um, foi avaliado o efeito da EME sobre a qualidade da gordura em rações extrusadas para gatos e no experimento dois, foram avaliadas diferentes fontes de antioxidantes sobre o *shelf-life* da gordura de frango e sobre um alimento extrusados para gatos. Houve diferença significativa também entre as EMEs, com os maiores valores obtida para baixa EME e os menores para a alta EME ( $P < 0,001$ ). Foi observada diferença significativa entre os três métodos utilizados para a extração lipídica ( $P > 0,001$ ) e as três EME usadas no processo. Verificou-se relação entre a força de ruptura e a aplicação de EME no processo para análise do extrusado, foi significativa a diferença na densidade do *kibble* seco entre as diferentes EMEs empregadas, sendo a maior densidade verificada no tratamento com baixa EME (460 g/L), seguida pelos de média (390 g/L) e alta (200 g/L), respectivamente ( $P < 0,001$ ). Esta mesma sequência de resultados estatísticos foi verificada para a força de ruptura do *kibble* ( $P < 0,001$ ). Foi possível observar que todos os ácidos graxos sofreram degradação conforme o avanço do processo de extrusão ( $P > 0,001$ ), em especial o ácido linoleico. Dentre os quatro tratamentos o antioxidante TBHQ se mostrou o mais efetivo para estabilizar o óleo de frango e as rações durante o processamento, chegando ao máximo de 1,93 Meq/kg. Ao teste de palatabilidade gatos demonstraram preferência por alimentos com baixo IP ( $P > 0,0195$ ) mostrando que prevenção da oxidação lipídica no processo é importante. Observou-se que a perda oxidativa do ácido linoleico foi mais de 50% independente da EME aplicada. Os antioxidantes parecem ser fundamentais na proteção dos ácidos graxos em alimentos extrusados.

**Palavras-chave:** Energia mecânica específica, *pet food*, gordura de frango, ácido linoleico, oxidação e antioxidante.

## Lipid oxidation during extrusion process in pet food

### Abstract

Extrusion is a technology widely used in food processing for humans and animals. Even today, little is known about the changes that occur in lipids during food processing. In this research two experiments were carried out to evaluate the oxidative modifications occurred in extruded foods for cats containing poultry fat as lipids source submitted to different SME (specific mechanical energy) and the impacts of these modifications on the shelf-life and its properties. In the experiment one was evaluated the effect of SME fat quality of fat in extruded rations for cats and in experiment two were evaluated different sources of antioxidants on the shelf-life of chicken fat as well as on a extruded food for cats. There was also a significant difference between SME, with the highest values obtained for low SME and the lowest for high SME ( $P < 0.001$ ). A significant difference was observed between the three methods used for lipid extraction ( $P > 0.001$ ) and the three SME used in the process. There was a relationship between the rupture force and the SME application in the process for the extrudate analysis. The difference in the dry kibble density between the different SME was significant, being the highest density verified in the treatment with low SME ( $460 \text{ g.L}^{-1}$ ), followed by medium ( $390 \text{ g.L}^{-1}$ ) and high ( $200 \text{ g.L}^{-1}$ ), respectively ( $P < 0.001$ ). This same sequence of statistical results was verified for the force of kibble rupture ( $P < 0.001$ ). It was possible to observe that all fatty acids were degraded as the extrusion process progressed ( $P > 0.001$ ), in particular linoleic acid. Among the four treatments, the antioxidant TBHQ proved to be the most effective for stabilizing chicken oil and rations during processing, reaching a maximum of  $1.93 \text{ Meq.kg}^{-1}$ . In the palatability test cats showed preference for foods with low IP ( $P > 0.0195$ ) showing that prevention of lipid oxidation in the process is important. It was observed that the oxidative loss of linoleic acid was more than 50% independent of the SME applied. Antioxidants appear to be fundamental in the protection of fatty acids in extruded foods.

Key words: Specific mechanical energy, pet food, poultry fat, linoleic acid, oxidation and antioxidant.

## 1. Introdução

A extrusão termoplástica é uma tecnologia eficiente, que associa alta temperatura, pressão e umidade, a qual é amplamente utilizada no processamento de alimentos para humanos e animais. Alimentos que passam pelo processo de extrusão, além de seguros do ponto de vista de contaminação microbiológica, apresentam características organolépticas (sabor, odor e textura) e nutricionais que favorecem seu uso pela indústria. Apesar de ser uma técnica antiga (usada desde a década de 1950 em *pet food*), a extrusão ainda é a técnica mais empregada no processamento de alimentos para cães e gatos até os dias atuais, de forma que 95% dos alimentos para cães e gatos ainda são processados por extrusão (Brennan et al., 2011; Sharma et al., 2012).

Os animais de estimação apresentam necessidades nutricionais específicas que devem ser supridas com alimentos bem formulados, contendo todos os nutrientes essenciais em equilíbrio com a densidade energética da ração. Embora os alimentos sejam formulados de uma maneira geral por meio da composição química analisada dos ingredientes pelas indústrias, sabe-se que a condição do processo dos alimentos por extrusão modifica quimicamente muitos nutrientes, promovendo a modificação na estrutura de alguns e até mesmo a perda completa de outros, sendo estes efeitos ainda pouco conhecidos pelos formuladores de alimentos (Alonso et al., 2000).

Dois diferentes tipos de energia são aplicados no processamento dos alimentos por extrusão, energia térmica específica (ETE) e energia mecânica específica (EME), as quais são principalmente geradas pelo vapor aplicado no condicionador e pelo cisalhamento da rosca contra o canhão extrusor, respectivamente. O balanço entre a EME e ETE é responsável pelo cozimento e transformações físico-químicas do alimento no processo (Riaz, 2007). O controle das energias dentro do processo de extrusão é

importante para a qualidade final do produto, pois, as interações entre os diferentes nutrientes e perdas nutricionais podem ocorrer em função disto (Tran, 2008). Sobre a EME, não existe recomendação da quantidade a ser aplicada, mas, acredita-se que em geral de 15 a 25 kWh/ton de EME devem ser empregados para o adequado processamento (Strathman, 2007, Moscicki, 2011).

Os lipídios, presentes em gorduras e óleos, apresentam propriedades organolépticas que conferem sabor, odor e textura para os alimentos (Silva et al., 1999; Tian et al., 2013). Nos alimentos dos animais de companhia, a principal fonte de lipídeos é o óleo de frango, o qual apresenta predominância de ácidos graxos da série  $\omega$ -6, como o ácido linoleico, ácido graxo considerado essencial em todas as fases da vida de cães e gatos (NRC, 2006).

Este ácido graxo possui papel importante como constituinte de membranas, de mediadores inflamatórios, além de fonte energética (Martinet al., 2007; Ledoux et al., 2007). Pouco se conhece sobre as modificações que ocorrem nos ácidos graxos durante o processamento de alimentos. É possível que o processamento promova complexação com outros nutrientes ou alterações químicas como hidrogenação, isomerização, polimerização e oxidação de lipídios (Rokey, 1995), induzindo modificações na estabilidade oxidativa ou no valor nutricional do produto acabado.

Apesar de nutricionalmente essenciais, os ácidos graxos oxidados se tornam moléculas nocivas ao organismo e seu consumo deve ser evitado. O processo de oxidação ocorre mais facilmente nas duplas ligações dos ácidos graxos e, neste sentido, as fontes de gordura mais insaturadas. Os radicais livres que resultam dessa oxidação podem reagir com proteínas, vitaminas ou outros constituintes, reduzindo a qualidade

nutricional do alimento e induzindo o *stress* oxidativo no organismo (Kanner, 2007; Marqu ez-Ruiz et al., 2008; Lillard, 1983).

Conhecer as modifica es no processo de oxida o durante a extrusão se faz importante para o uso racional de aditivos antioxidantes e também para definir pontos de inclusão de gordura no processo. Embora os efeitos das variáveis de processo durante a extrusão têm sido amplamente reconhecidos, os efeitos precisos do cozimento de extrusão para a sua aplica o aos alimentos de animais de companhia não estão bem documentados, em particular, os efeitos interativos entre variáveis de processo e lipídeos e efeitos sobre complexa o de lipídios durante a extrusão ainda não são conhecidos.

Tendo em vista os possíveis efeitos do processo de extrusão sobre a oxida o lipídica e valor nutricional de ingredientes lipídicos, neste estudo foram verificadas as modifica es oxidativas ocorridas em alimentos extrusados para gatos contendo gordura de aves como fonte de lipídeos e submetidos a diferentes aplica es de EME e os impactos destas modifica es sobre o *shelf-life*, valor nutricional e as propriedades organolépticas de alimentos para gatos.

## **2. Materiais e métodos**

Os experimentos foram conduzidos na Fábrica de ra es da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, campus Jaboticabal (FCAV/UNESP). As análises foram conduzidas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutri o Animais (LANA) e Laboratório de Análise Físico Químicas em águas e alimentos da UEM (CCQ/UEM).

Foram conduzidos dois experimentos. No experimento 1, comparou-se o efeito da aplicação de três diferentes EME (9, 21 e 35 kWh/ton) na extrusora sobre a estabilidade oxidativa das dietas e modificações no ácido linoleico durante as etapas do processamento. No experimento 2, comparou-se a estabilidade oxidativa das dietas e modificações no ácido linoleico na extrusão em função da utilização de diferentes antioxidantes (BHA+BHT, TBHQ e um mix de tocoferóis, chá verde e alecrim).

### 2.1. *Gordura de Aves*

A gordura de aves usada neste estudo foi proveniente de empresa local (Faricon Agrícola S/A, Paranacity, Brasil), a qual foi produzida após o cozimento de vísceras de frango frescas seguido pela prensagem para a obtenção do óleo. Para se obter uma amostra livre de antioxidante, antes da amostra de óleo para o estudo ser coletada, o sistema de aplicação de antioxidante foi desligado e foram produzidas três bateladas de farinha de vísceras sem antioxidante antes da coleta da amostra a ser empregada no estudo. As amostras foram armazenadas em galões de 20L, posteriormente congeladas em freezer a -20°C e descongeladas apenas no momento da fabricação das rações.

Antes do processamento das rações, a amostra de gordura de aves sem antioxidante foi subdividida em quatro subamostras, das quais uma delas permaneceu sem adição de antioxidante (Tratamento Controle Negativo) e as demais foram estabilizadas com três diferentes antioxidantes sendo a dose determinada através da equivalência pelo oxitest. Os antioxidantes empregados foram: uma mistura comercial de BHT e BHA na dose de 500 mg/kg (PET-OX *Premium Liquid*, Kemin do Brasil); TBHQ na dose de 750 mg/kg (RENDOX QCA *Liquid*, Kemin do Brasil) ou um concentrado de tocoferóis, extrato de alecrim e extrato de chá verde na dose de 1200



mg/kg (VERDILOX IP GT *Liquid*, Kemin do Brasil). Os antioxidantes foram adicionados diretamente na gordura, imediatamente antes do processamento.

## 2.2. *Dietas experimentais*

Uma única dieta basal para gatos foi formulada, de acordo com as recomendações nutricionais para a manutenção de gatos da *European Pet Food Industry Federation* (FEDIAF, 2014). Esta dieta foi formulada apenas com ingredientes de origem vegetal e com baixo teor de lipídeos, para que a gordura de aves pudesse ser aplicada durante o processo diretamente no condicionador (Tabela 1). Apenas um único lote de ingrediente foi utilizado para a confecção da dieta basal, a qual foi subdividida entre os tratamentos para os experimentos 1 e 2 posteriormente. A moagem dos ingredientes foi realizada em moinho de Martelos, equipado com peneira com furos de 0,8 mm. Após a moagem, para os experimentos 1 e 2, a gordura de aves foi bombeada para o condicionador através de uma bomba Seepex (Range, MO, USA) para atingir 4% de inclusão em cada tratamento. As dietas experimentais foram processadas em extrusora de rosca simples com capacidade para 250 kg/h (MEX-250, Manzoni Industrial SA, Campinas, Brasil).

Tabela 1. Dieta basal de gatos formulada como base para os dois experimentos.

INGREDIENTES	g/kg
Milho grão	368,7
Farelo de soja 45%	185
Concentrado proteico de soja	101
Quebrado de arroz	100
Proteína isolada de soja	59
Gordura de aves	40
Levedura seca de cervejaria	60
Glúten de milho 60%	35
Calcário	24
Fibra de cana	10
Sal comum	5
Premix gatos	4
Cloreto de colina 60%	3,5
DL-metionina	2,7
L-aurina	1
Antifúngico	1
Cloreto de potássio	0,1
Composição Química <sup>1</sup>	g/kg
Proteína bruta	348,91
Extrato etéreo	60,44
Fibra bruta	24,72
Cálcio	10,00
Fosforo	6,80
Cinzas	57,36

<sup>1</sup> Dados na matéria seca

*Experimento 1: Efeito da energia mecânica específica (EME) sobre a qualidade da gordura em rações extrusadas para gatos*

Com intuito de estudar a EME sobre a qualidade da gordura o tratamento controle foi desdobrado em três energias mecânicas específicas (EME) do processo, sendo estas de respectivamente 9, 21 e 35 kWh/t. Foram realizadas modificações na aplicação de EME controlando a área aberta de saída no final do canhão extrusor. Durante o procedimento, foi registrada continuamente a produção horária, carga do motor, velocidade da rosca, adição de água e vapor. Com os dados obtidos foi calculado a implementação de EME de cada um dos tratamentos, de acordo com Riaz (2007).

$$\text{EME (kJ/kg)} = \frac{\text{Qme(kJ/h)}}{\text{FR(kg/h)}}$$

Em que:

Qme é a entrada de energia mecânica total;

FR é a taxa da alimentação da dieta seca.

$$\text{Qme ( kJ/h )} = \frac{\text{kWe} \times \text{Le} \times \text{rpma}}{\text{rpmf} \times 36}$$

Em que:

kWe é a potência nominal do motor da extrusora em kW;

Le é a carga do motor da extrusora, expressa em porcentagem;

rpma é a rotação por minuto (RPM) do eixo da extrusora;

rpmf é o RPM máximo do eixo da extrusora.

Os dados de processamento das dietas nas três diferentes EMEs encontram-se na Tabela 3. Para se obter repetições de cada tratamento, a cada 15 minutos depois da estabilização do processo, uma amostra foi coletada do alimento farelado, na saída do condicionador, na saída da extrusora e na saída do secador, durante 1 hora, totalizando quatro amostras por tratamento e período. Durante o processamento, amostras foram coletadas para determinação da umidade, densidade específica e taxa de expansão do *kibble*. Dados relativos à temperatura do condicionador, temperatura da extrusora, pressão interna no canhão da extrusora, temperatura do secador e umidade do alimento em cada uma destas etapas também foram analisados (tabela 3). Após a coleta, cada amostra foi congelada a -20°C até o momento das análises laboratoriais.

Tabela 2. Parâmetros de processamento de alimentos para gatos extrusados com aplicações de energia mecânica específica (EME) baixa (9 kWh/ton), média (21 kWh/ton) ou alta (35 kWh/ton).

Item	EME		
	9	21	35
<b>Condicionador</b>			
Temperatura (°C)	84,3	79,4	81,2
Matéria seca (%)	74,8	73,2	71,6
<b>Extrusora</b>			
Amperagem (A)	35,7	41,7	47,3
Pressão (bar)	21,3	21,9	34,8
Temp. da Massa (°C)	117,7	126,8	146,3
Matéria seca (°C)	74,4	80,5	77,6
Velocidade da Faca	15	23,1	35
Anel de Retenção <sup>1</sup>	25	15	8
Nº de Furos da matriz	3	2	1
Diâmetro do furo da matriz	4,5	4,5	3,0
Área Aberta (mm <sup>2</sup> )	47,7	31,8	7,1
<b>Extrusado</b>			
Produtividade	140,0	142,2	130,5
Densidade Úmido	502,9	359,4	227,1
<b>Energia Mecânica</b>			
EME (kwh/t)	9,4	21,0	35,3
Área vazão (mm <sup>2</sup> /TON/h)	341,7	224,3	54,2
Densidade Seco	459,8	389,8	200,0

<sup>1</sup> Diâmetro do furo (mm)

### 2.3. Análises laboratoriais

#### 2.3.1. Avaliação da Gordura Complexada

O percentual de gordura complexada foi calculado pela diferença da concentração EEHA (lipídeos totais) pelo EE (lipídeos livres). Foram escolhidos três métodos para a avaliação da gordura complexada: EEHA, EE e EEBD.

##### 2.3.1.1. EEHA- Método Hidrolise Ácida

O método utilizado foi segundo a AOAC, e foram pesados 2 g de amostra, em seguida transferidos para um tubo falcon de 50 mL. Foram adicionados 2 mL de álcool etílico, 10mL de ácido clorídrico 70%, depois levados a banho-maria a temperatura de

70°C – 80°C por 40 minutos, agitando a cada 10 minutos. Em seguida foram adicionados 10mL de álcool etílico e 25mL de solução de éter de petróleo-éter etílico, e agitado durante 60 segundos.

Os tubos foram deixados em repouso até que o sobrenadante estivesse praticamente límpido, o mesmo foi filtrado em papel filtro adaptado em funil para béquer de 250 mL previamente seco em estufa 105°C e tarado. Foram repetidas no mínimo três vezes as lavagens. Por fim, evaporou-se a mistura de éteres em banho-maria na temperatura máxima de 60°C e levou-se o béquer na estufa a 105°C por 1 noite ou até peso constante. As porcentagens de gordura foram calculadas pela seguinte fórmula:

$$\text{EEHA \% (m/m)} = \frac{A - B}{P * 100}$$

Em que:

A peso do béquer com gordura, em (g);

B peso do béquer vazio, em (g);

P peso da amostra inicial, em (g).

#### 2.3.1.2. *EE - Método Soxhlet*

Foram pesados de 3g de amostra em cartucho de fibra de celulose. A extração foi feita em extrator automático (extrator de solvente VELP, SER 158). Foram adicionados 100 mL de éter de petróleo e utilizou-se da metodologia a quente descrita pela AOAC. O teor de lipídeos se dava pela diferença do peso dos copos extratores.

### 2.3.1.3. *EEDD - Método De Bligh-Dyer*

Bligh & Dyer (1959) sugeriram um método para extrair gordura a frio que utiliza uma mistura de três solventes: Clorofórmio, Metanol e Água. Para isso foram pesados 3 g de amostra homogeneizada em béquer de 250 mL, adicionados 12 mL de água destilada e misturar até formar uma pasta, 30 mL de metanol e 15 mL de clorofórmio e agitados em agitador magnético. Após completa homogeneização, uma única fase foi obtida, procedeu-se com a adição de 15 mL de clorofórmio, agitando por 2 minutos e 15 mL de água seguidos de 5 minutos de agitação.

A mistura foi filtrada a vácuo em funil de Büchner e transferida para um funil de separação de 250 mL, após completa separação das fases a fase contendo o clorofórmio e os lipídeos eram separadas em um balão de fundo chato previamente pesado e evaporadas em evaporador rotativo. O teor de lipídeos se dava pela diferença do peso do balão.

### 2.3.2. *Análise de Crocância – Textura*

As rações experimentais foram submetidos ao teste de ruptura para avaliação da crocância do kibble, realizado com texturômetro universal (TA-XT2) definido para a operação no modo de força/compressão, retorno para começar a opção ativada, na velocidade pré-teste de 2 mm/s, velocidade durante o ensaio de 0,5 mm/s e a velocidade antes do teste de 10 mm/s.

O teste foi realizado em 20 unidades para cada dieta, utilizando sonda com conjunto de lâminas com faca, com distância de corte de 10 mm. Os dados foram analisados com o software Texture Expert versão 1.11 (Texture Profile Analysis).

### 2.3.3. Determinação do perfil de ácido graxo - Ácido linoleico

O perfil de ácidos graxos da gordura de frangos sem adição de antioxidantes foi traçado utilizando o método de Figueiredo et al., (2016). Foram utilizados 100 mg de amostra, que passou por catálise básica com soda cáustica, na concentração de 1,5mol/L e metanol e catálise ácida com ácido sulfúrico e metanol, cada uma com tempo de reação por cinco minutos, em lavadora ultrassônica (Eco Sonics - Ultronique) Logo após, isooctano foi adicionado à amostra e pipetou-se a fase superior, que foi guardada em vial.

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos (EMAG) foram separados em cromatografia a gás (Thermo, trace ultra 3300), equipado com detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida CP – 7420 (Select Fame, 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de cianopropil). As vazões dos gases foram de 1,2 ml/min para o gás auxiliar (N<sub>2</sub>) e 35 e 350/min para o H e para o ar sintético, respectivamente, para a chama do detector. O volume injetado foi de 2,0 µL, utilizando divisão da amostra (Split) de 1:80. As temperaturas do injetor e do detector foram de 240°C. A temperatura da coluna foi programada a 165°C durante 7,00 min, seguido por rampa de aquecimento de 4°C/min até atingir 185°C, permanecendo assim por 4,67 min, seguido por nova rampa de aquecimento de 6°C/min até que a coluna atingisse 235°C, mantidos por 5,00 min, totalizando assim 30,00 min de análise. Os tempos de retenção e as áreas dos picos dos EMAG foram determinados utilizando o software Chromquest 5.0.

Os ácidos graxos foram identificados a partir da comparação de seus tempos de retenção com padrões de composição conhecida (SIGMA, USA). A quantificação

absoluta dos EMAG foi realizada por padronização interna, utilizando como padrão o metil éster do ácido tricosanoico (23:0) (SIGMA, USA). Fatores de correção teóricos foram empregados para a determinação dos valores de concentrações. A quantidade de ácidos graxos nas amostras foi calculada em mg de ácido graxo/100 g de amostra utilizando a Equação 1.

$$M_x = \frac{A_x M_p F_{ct}}{A_p M_a F_{cea}} \times 100$$

Em que:

$M_x$  é a concentração do ácido graxo X em mg de ácido graxo/100 g de amostra;

$A_x$  é a área do pico do ácido graxo X;

$A_p$  é a área do pico do padrão interno (23:0);

$M_p$  é a massa de padrão interno adicionada à amostra em mg;

$M_a$  é a massa da amostra em g;

$F_{CT}$  é o fator de correção teórico do detector de ionização em chama (DIC);

$F_{CEA}$  é o fator de conversão de éster metílico para ácido graxo;

#### 2.3.4. Determinação dos compostos voláteis - Head Space (SPME).

As modificações nos compostos voláteis durante o processamento de alimentos também foram determinadas por cromatografia gasosa (CG), por SPME (*Solid Phase Micro Extration*) que consiste em uma técnica de extração especialmente adequada para metodologias de análise química em que GC serão empregadas para a posterior



separação, detecção, identificação e quantificação dos analitos presentes na amostra. Para isto foi empregada a técnica de Head Space adaptada, conforme descrito por Sghaier et al. (2016), na qual a 5 gramas de amostra foi mantida em um vial de 30mL, a amostra foi primeiramente ambientada durante 10 minutos a 60°C, após já utilizando um SPME holder com a fibra exposta à amostra foi mantida em banho-maria durante período de 40 minutos a 60°C, então a fibra era recolhida e a mesma exposta no CG. Por meio desta técnica foi quantificado o principal composto de oxidação do ácido linoleico, o hexanal. A temperatura da coluna foi mantida a 40°C por 5 minutos e aumentado para 200°C, sendo 5°C por minuto e mantida constante. O gás de arraste foi o Hélio e a pressão mantida constante a 275 kPa. A temperatura do injetor foi de 240°C.

Para realização da curva padrão foi utilizado o padrão comercial do Hexanal (18109 SIGMA-ALDRICH). Foi realizada uma curva com cinco pontos do padrão; 0, 20, 40, 60 e 90 ppm. Após a realizações de todas as diluições, 0,5 ml de cada foi adicionado a 1g de amostra padrão (farelada- massa de ingredientes moídos) e depois quantificadas por SPME.

### 2.3.5. *Shelf – life*

#### 2.3.5.1. Teste de Estufa de Schaal

Para avaliar o *shel-life* das rações com diferentes aplicações de EME realizou-se o Teste de Estufa de Schaal (Antolovich et al., 2002), e todas as amostras foram armazenadas em potes plásticos transparentes fechados com tampas rosqueáveis e colocados em estufa de ventilação forçada a 60°C, ao abrigo de luz, e permaneceram por 20 dias, totalizando 480 horas. As embalagens foram dispostas na estufa de maneira que não houvesse influência do local dentro da estufa.

#### 2.3.5.2. Índice de Peróxido – IP

Para as análises do Índice de Peróxido nas rações foi utilizado de forma adaptada o método oficial do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2009.

Primeiramente era pesado 30g da amostra em Erlenmeyer de 250 ml, quantidade suficiente para que contenha no mínimo 2g de óleo. Junto à amostra era adicionado 50 ml de metanol, 25 ml de clorofórmio e 17 ml de água, agitado no agitador magnético, após foi adicionado mais 25 ml de clorofórmio e 25 ml de solução de sulfato de sódio 1,5%, tampava novamente e agitava por mais 2 minutos. Posteriormente a solução com a amostra era transferida para um funil de separação, em que se separava as camadas de forma natural. Deixava-se verter a camada inferior (clorofórmio + lipídeo) para um funil menor que continha papel filtro e um pouco de sulfato de sódio anidro, para remover os traços de água que invariavelmente eram arrastados, recolhendo o filtrado em Erlenmeyer de 125 ml.

Então eram adicionados 20 ml de ácido acético e 0,5 ml de solução fresca e saturada de iodeto de potássio. Por fim, eram adicionados 30 mL de água destilada e 1 mL de solução 1% de amido, se ao acrescentar o amido fosse notado alguma alteração, mesmo que pequena, de coloração, passando de amarelo para roxo, a solução era titulada com solução de Tiossulfato de Sódio 0,1N, até que a coloração roxa desaparecesse. Com o volume de Tiossulfato de Sódio gasto na titulação de cada amostra era anotado e então eram feitos os cálculos do índice de peróxido através da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Peróxido} = \frac{((A - B) \times M \times F \times 1000)}{P \times 4}$$

Em que:

A: Volume de Tiossulfato de sódio 0,1M gasto na titulação da amostra, em ml;

B: Volume de Tiosulfato de sódio 0,1 M gasto na titulação da prova branco, em ml;

M: Molaridade da solução de Tiosulfato de sódio;

F: Fator de correção da solução de Tiosulfato de sódio;

P: Peso da gordura extraída na alíquota x 4 (peso da placa com gordura – peso da placa vazia), em gramas;

1000: Conversão para miliequivalentes.

*Experimento 2: Avaliação de diferentes fontes de antioxidantes sobre o shelf-life da gordura de frango e de alimentos extrusados para gatos*

#### 2.3.6. Determinação dos ácidos Graxos – Ácidos Linoleico

O perfil de ácidos graxos da gordura de frangos com diferentes estabilizações de antioxidantes foi traçado utilizando o método de Figueiredo et al., 2016, já descrito no experimento 1.

#### 2.3.7. Determinação dos compostos voláteis – Head Space (SPME)

As modificações nos compostos voláteis durante o processamento de alimentos também foram determinadas por cromatografia gasosa (CG), por SPME (*Solid Phase Micro Extration*) utilizando do método adaptado de *head space* descrito por Sghaier et al. (2016) e já citado nesse artigo no experimento 1.

#### 2.3.8. *Shelf-life*

A gordura de aves foi avaliada quanto ao seu tempo real de conservação, todas as amostras foram armazenadas em potes plásticos leitosos fechados com tampas rosqueáveis e colocados em ao abrigo de luz, e permaneceram por 105 dias, totalizando

2520 horas. As embalagens foram dispostas sob a bancada de maneira que não houvesse influência do local. Foram registradas as temperaturas e umidade através de termo higrômetros de máxima e mínima (tabela 4). As amostras foram testadas inicialmente quando sua estabilidade oxidativa (Oxitest) e quanto ao IP a cada 15 dias.

Tabela 3. Média de temperaturas do ambiente para o *shelf life* em tempo real da gordura de aves.

Média		Temperatura		Umidade	
Temperatura	Umidade	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
26,37	46,82	29,29	25,47	56,18	40,91

#### 2.3.8.1. Teste de Estufa de Schaal

Para realizar o Teste de Estufa de Schaal (Antolovich et al., 2002), todas as amostras foram armazenadas em potes plásticos transparentes fechados com tampas rosqueáveis e colocados em Estufa de Ventilação Forçada a 60°C, ao abrigo de luz, e permaneceram por 20 dias, totalizando 480 horas. As embalagens foram dispostas na estufa de maneira que não houvesse influência do local dentro da estufa.

#### 2.3.8.2. Índice de Peróxido – IP

- Ração

Para as análises do Índice de Peróxido nas rações foi utilizado o método já descrito no experimento1, uma forma adaptada o método oficial do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2009.

- Gordura de Aves

Para as análises do IP em todas as repetições foi utilizado o método oficial Cd8-53 da The American Oil Chemists' Society (AOCS). Foram pesados 5 gramas de amostra em frasco Erlenmeyer de 125ml. Com o auxílio de proveta graduada, foram

adicionados 30 ml de uma solução 3:2 de ácido acético e clorofórmio à gordura, que foi colocada em agitador magnético por 10 minutos. Passado o tempo de agitação, foram adicionados 0,5 ml de uma solução de iodeto de potássio à solução, que foi imediatamente colocada no escuro por 1 minuto. Por fim, foram adicionados 30 ml de água destilada e 1 ml de solução 1 % de amido, e a solução titulada com solução de Tiossulfato de Sódio 0,01 N, até que a coloração azul desaparecesse.

O volume de Tiossulfato de Sódio gasto na titulação de cada amostra foi anotado e posteriormente realizados os cálculos do índice de peróxido através da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Peroxido} = \frac{(V - Vb) \times N \times F \times 1000}{P}$$

Em que:

V: Volume de tiossulfato de sódio gasto na titulação da amostra;

Vb: Volume de tiossulfato de sódio gasto na titulação do branco;

N: Normalidade da solução de Tiossulfato de sódio = 0,01;

F: Fator de correção do Tiossulfato de Sódio = 1,26;

P: Peso da amostra de gordura de aves.

### 2.3.9. *Oxitest*

Para o teste de *shelf-life* foi utilizado o equipamento denominado Oxitest (Velp Scientifica, Usmate, Alemanha). O método escolhido foi o descrito por Claus et. al (2015), utilizando-se 5 gramas de cada amostra.

### 2.3.10. *Residual de Antioxidante*

O residual de antioxidantes sintéticos, BHA, BHT e TBHQ foram determinados por HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). A extração dos antioxidantes na gordura foi realizada de acordo com o método 983.15 da AOAC. A análise cromatográfica foi realizada em laboratório terceirizado, utilizando um módulo de separação, bomba quaternária e detector de fotodiodo. Foi empregada uma coluna Thermo Scientific TG-5MS – 30Mx0,25mmx0,25µm. Estas análises foram realizadas pela empresa *Kemin Nutrisurance*. A Temperatura do injetor foi de 270°C, a da coluna foi de 150 a 270°C e detector a 280°C. A rampa de aquecimento da coluna foi de 150°C-2min, 30°C/min, 270-2min. O método de extração dos analitos e derivatização utilizou do solvente acetonitrila.

### *2.3.11. Teste de Preferência Alimentar*

Para se verificar o efeito da fonte de antioxidante sobre as características organolépticas dos alimentos, os alimentos foram submetidos ao teste de preferência alimentar em gatos. O protocolo para a determinação da preferência de alimento foi efetuado segundo Griffin (2003). O período experimental foi de 48 horas/desafio e a alimentação realizada duas vezes ao dia, sendo os lados dos comedouros alternados em cada refeição.

Foram utilizados 20 gatos adultos, com peso médio  $3,82 \pm 0,71$ , sendo estes machos e fêmeas. Os animais foram alojados em gaiolas de 40 x 40 x 60 cm e alimentados para atender as necessidades energéticas para gatos em manutenção segundo o FEDIAF (2014). Para cada animal foram apresentados simultaneamente dois comedouros contendo as dietas avaliadas, sendo observada a dieta que foi a primeira opção para o olfato e paladar de consumo do animal e comparados o consumo de ambas as rações. Os alimentos foram oferecidos em quantidade que excedia a capacidade de

ingestão, permitindo o consumo de apenas um dos alimentos, ou certa quantidade de cada um. O tempo de permanência na gaiola era de 20 minutos por horário de alimentação, que eram realizadas quatro vezes ao dia (8, 10, 14 e às 16), sendo que os comedouros eram invertidos na mudança de período da manhã para tarde, retirando o efeito de lateralidade.

O experimento foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Metabolismo de Felinos Domésticos (Centro de Ensino e Estudos Nutricionais em Felinos – CEENUFEL) pertencentes à Universidade Estadual de Maringá. Foram aplicados seis desafios experimentais (Tabela 3) e a avaliação da preferência alimentar foi feita pela razão de ingestão (RI), conforme a fórmula:

$$RI = \frac{\text{Ingestão do alimento A}}{(\text{Ingestão do alimento A} + \text{Ingestão do alimento B})}$$

Tabela 4. Desafios experimentais para o teste de preferência alimentar em gatos utilizando de rações extrusadas com diferentes fontes de antioxidante.

Desafios
CONTROLE x BHT+BHA
CONTROLE x NATURAL
TBHQ x CONTROLE
TBHQ x BHT+BHA
BHT+BHA x NATURAL
NATURAL x TBHQ

#### 2.4. Análises Estatística

Para as análises estatísticas, os experimentos 1 (três EMEs diferentes) e 2 (quatro tratamentos com antioxidantes) apresentaram um delineamento inteiramente ao acaso, com medidas repetidas no tempo (etapas do processo ou tempo de estufa na análise de *shelf-life*). Os dados foram submetidos à Análise de variância, considerando

os tratamentos, etapas ou períodos e suas interações e as médias comparadas pelo teste Tukey, considerando 5% de probabilidade utilizando do Minitab® Statistical Software.

Para o teste de preferência alimentar, foi empregado o teste T Student, considerando 5% de probabilidade. Para avaliação da primeira escolha (AxB) utilizou-se o teste de proporções (Perform Exact Sign Test).

Em ambos os experimentos, verificou-se a distribuição Normal dos dados pelos testes Anderson-Darling e Shapiro-Wilk. Em caso de dados fora da normalidade foi aplicado o teste Wilcoxon Rank Sum.

### 3. Resultados

#### *Experimento 1: Efeito da energia mecânica específica (EME) sobre a qualidade da gordura em rações extrusadas para gatos*

Na tabela 5, encontram-se os resultados de extrato etéreo determinado pelas metodologias de Soxhlet, Bligh Dyer e por hidrólise ácida. Os maiores valores analisados de gordura foram para o método de hidrólise ácida, seguidos pelo método de Bligh Dyer e pelo método de Soxhlet, respectivamente ( $P < 0,0001$ ). Houve diferença significativa também entre as EMEs, com os maiores valores obtida para baixa EME e os menores para a alta EME ( $P < 0,0001$ ).

Tabela 5. Teor de extrato etéreo analisados por três diferentes métodos em rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9, 21 e 35 kWh/t).

Método	EME			Média	EPM <sup>1</sup>	Efeitos		
	9	21	35			EME	Método	Interação
Extrato etéreo hidrólise ácida (g/kg)	66,72	62,95	60,38	63,35 <sup>A</sup>	0,15	0,0000	0,0000	0,064
Extrato etéreo Bligh e Dyer (g/kg)	47,38	42,43	36,03	41,95 <sup>B</sup>	0,14			
Extrato etéreo Soxhlet (g/kg)	26,18	15,23	13,07	18,16 <sup>C</sup>	0,17			
Média	46,76 <sup>a</sup>	40,20 <sup>b</sup>	36,49 <sup>c</sup>					

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=9).

<sup>a,b,c</sup> - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

<sup>A,B,C</sup> - Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).



A complexação da gordura foi determinada pela diferença percentual do extrato etéreo por hidrólise ácida para os dois demais métodos, sendo o primeiro considerado 100% da gordura (tabela 6). Houve maior complexação de lipídeos na alta EME (35 KWh/t), intermediária na média EME (21 KWh/t) e menor na baixa EME (KWh/t), demonstrando que a complexação aumenta conforme o aumento da EME ( $P < 0,0001$ ).

Tabela 6. Porcentagem de gordura complexada de rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9, 21 e 35 kWh/t).

Complexação	EME			Média	EPM <sup>1</sup>	Efeitos		
	9	21	35			EME	Compl.	Interação
Hidrólise ácida - Bligh e Dyer (%)	29,02	32,16	40,25	33,81 <sup>B</sup>	0,12	0,0000	0,0000	0,148
Hidrólise ácida - Soxhlet (%)	60,75	75,7	78,32	71,59 <sup>A</sup>	0,25			
Média	44,89 <sup>c</sup>	53,93 <sup>b</sup>	59,28 <sup>a</sup>					

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=9).

<sup>a,b,c</sup> - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

<sup>A,B,C</sup> - Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

Na análise do extrusado (Tabela 7), foi significativa a diferença na densidade do *kibble* seco entre as diferentes EMEs empregadas, sendo a maior densidade verificada no tratamento com baixa EME, seguida pelos de média e alta, respectivamente ( $P < 0,0001$ ). Esta mesma sequência de resultados estatísticos foi verificada para a força de ruptura do *kibble* ( $P < 0,0001$ ).

Tabela 7. Força de corte e densidade aparente de rações processadas com diferentes energias mecânicas específicas (9, 21 e 35 kWh/t).

Item	EME			EPM <sup>1</sup>	Efeitos	
	9	21	35		EME	Interação
Força de ruptura (kgf)	5,92 <sup>a</sup>	3,97 <sup>b</sup>	2,36 <sup>c</sup>	0,24	0,0000	-
Densidade (g/L, seco)	460 <sup>a</sup>	390 <sup>b</sup>	200 <sup>c</sup>	-		

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=20 kibbles).

<sup>a,b,c</sup> - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

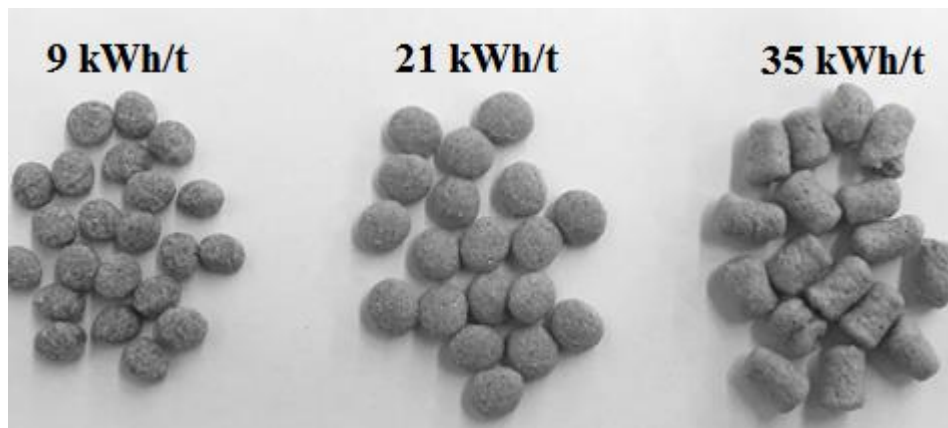


Figura 1: Rações experimentais para gatos, produzidas com diferentes EME.

Na composição dos ácidos graxos dos alimentos processados é possível observar que todos os ácidos graxos sofreram redução nas etapas do processo de extrusão (tabela 8). O ácido linoleico foi escolhido para se estudar o impacto das diferentes aplicações de EME na retenção do perfil de ácidos graxos durante e após a extrusão, por sua alta concentração na gordura de frango e seus benefícios à alimentação animal.

A análise isolada para o ácido linoleico se encontra na tabela 9. Os teores desse ácido graxo foram avaliados quando a sua quantidade nas três etapas do processo (condicionador, extrusora e secador) e depois comparados quanto seu percentual de redução por etapa (tabela 10). A quantidade de ácido linoleico não diferiu estatisticamente no condicionador entre as EME. Por outro lado, importante redução do ácido linoleico ocorreu na extrusora ( $P < 0,0001$ ). Na saída da extrusora, o teor de ácido linoleico foi maior na baixa EME quando comparada as demais ( $P < 0,009$ ). Na última etapa do processo, a concentração do ácido linoleico diminuiu de acordo com o aumento da implementação de EME ( $P < 0,0163$ ).

Tabela 8. Perfil de ácidos graxos (mg/g de gordura) de rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9,21 e 35 kWh/t) nas diferentes fases do processo.

Ácido Graxo	EME								
	Baixa			Média			Alta		
	Condicionador <sup>1</sup>	Extrusora <sup>2</sup>	Secador <sup>3</sup>	Condicionador	Extrusora	Secador	Condicionador	Extrusora	Secador
16:00	125,68	86	51,29	109,64	47,94	38,21	80,5	37,51	29,2
16:1n-9	18,54	11,83	8,09	13,61	6,55	7,38	11,07	4,38	3,99
18:00	31,53	20,18	13,46	27,86	11,99	9,63	19,75	8,18	8,06
18:1n-9	207,54	140,73	87,75	179,47	81,27	63,24	133,14	58,96	49,19
18:1n-7	8,57	6,13	4	7,76	3,36	2,37	5,57	1,63	2,04
18:2n-6	184,05	141,27	87,98	177,51	81,44	68,51	129,19	62,82	48,36
18:3n-3	9,73	8,14	4,8	9,13	4,44	3,7	6,91	3,06	2,61
23:00	85,69	105,03	95,25	98,75	113,13	99,08	80,93	80,25	77,86

1- Saída do condicionador

2- Saída da extrusora

3- Final da secadora

Tabela 9. Relação do ácido linoleico (mg/g de gordura) em rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9,21 e 35 kWh/t) nas diferentes fases do processo de extrusão.

Etapa	EME			EPM <sup>1</sup>	Efeitos		
	9	21	35		EME	Etapa	Interação
Condicionador	184,06 <sup>Aa</sup>	177,51 <sup>Aa</sup>	129,19 <sup>Aa</sup>	15,85	0,0000	0,0000	0,013
Extrusora	141,27 <sup>Aba</sup>	81,45 <sup>Bb</sup>	62,82 <sup>Bb</sup>	10,05			
Secador	87,98 <sup>Ba</sup>	68,51 <sup>Bab</sup>	48,36 <sup>Cb</sup>	6,00			

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=6).

<sup>a,b,c</sup> - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

<sup>A,B,C</sup> - Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05).

Na tabela 10, está apresentada a porcentagem de perda do ácido linoleico por etapa do processo. Houve efeito de EME no percentual de perda do ácido linoleico. A redução na concentração de ácido linoleico foi significativamente maior nos tratamentos com alta e média EME (P<0,0001) em relação à baixa EME.

Tabela 10. Porcentagem de perda do ácido linoleico (18:2, n-6) durante o processo de extrusão de rações processadas com diferentes energias mecânicas específica (9,21 e 35 kWh/t).

Etapa	EME			EPM <sup>1</sup>	Efeitos		
	9	21	35		EME	Etapa	Interação
Extrusora (%)	23,25	54,12	51,37	5,61	0,0000	0,151	0,165
Secador (%)	52,20	61,40	62,37	3,33			
Média	37,72 <sup>b</sup>	57,76 <sup>a</sup>	56,97 <sup>a</sup>				

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=12).

<sup>a,b,c</sup> - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

Na tabela 11, encontra-se a quantidade de hexanal formada por etapa de processo. A maior quantidade desse aldeído foi encontrada na primeira etapa do processo. Porém, após a segunda etapa, a quantidade de hexanal não diferiu entre as energias nem entre os dois últimos processos.

Tabela 11. Hexanal (mg/kg de MS) nas rações processadas com diferentes energias mecânicas específicas (9,21 e 35 kWh/t) nas diferentes fases do processo.

Etapa	EME (kWh/ton)			EPM <sup>1</sup>
	9	21	35	
Condicionador	35,06	47,21	47,05	3,79
Extrusora	28,76	29,05	31,39	1,10
Secadora	24,03	23,47	15,18	2,69

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=2).

Na tabela 12, são mostradas as correlações entre as concentrações do ácido linoleico e hexanal em função da EME aplicada ou da etapa do processo. Foi observada alta correlação entre a quantidade de hexanal formada e quantidade de ácido linoleico nas diferentes EME, sendo a maior na média, baixa e alta respectivamente. Na correlação dentro de cada etapa o condicionador e a extrusora apresentou correlação negativa, já a secadora positiva.

Tabela 12. Concentrações de ácido linoleico e hexanal e suas correlações em cada etapa do processo de extrusão de rações com diferentes energias mecânicas específicas (9,21 e 35 kWh/t).

Tratamento	Etapa	Hexanal (mg/kg)	Ácido Linoleico (mg/g)
9	Condicionador	35,06	184,05
	Extrusora	28,76	141,27
	Secador	24,03	87,98
21	Condicionador	47,21	177,51
	Extrusora	29,05	81,44
	Secador	23,47	68,51
35	Condicionador	47,05	129,19
	Extrusora	31,39	62,82
	Secador	15,18	48,36
Correlação			
Hexanal x Ácido Linoleico			0,72
Baixa EME			0,98
Média EME			0,99
Alta EME			0,93
Condicionador			-0,58
Extrusora			-0,75
Secador			0,89

A estabilidade oxidativa dos alimentos processados por diferentes EMEs foi avaliada pelo acompanhamento do índice de peróxido (IP) das rações ao longo do tempo em estufa (tabela 13). O IP teve valores elevados no início, em todos os tratamentos, mas significativamente maiores no tratamento com EME intermediária ( $P < 0,0001$ ). Em função da interação existente entre tratamento e período de estufa, os dados foram comparados ao longo do tempo em cada EME e entre os tratamentos apenas dentro de cada período. Todos os tempos diferiram quando comparados entre as EME ( $P < 0,0001$  mostrando que houve influência da EME sobre a estabilidade oxidativa das rações. Os maiores valores foram para a EME intermediária até o dia 16 de estufa, em relação aos demais tratamentos ( $P < 0,0001$ ), no entanto, entre os dias 16 e 20 de estufa, o tratamento com baixa EME teve aumento significativo nos IP tornando-se mais elevado em relação as maiores EMEs ( $P < 0,0001$ ). Para entender o comportamento do IP de cada ração ao longo do teste de estufa de Schaal, foram aplicados ajustes de modelos matemáticos a aos alimentos processado em cada EME (Figura 2). Pode-se verificar que para as rações processadas com EME maior (21 e 35 kWh/ton), houve ajuste de modelos quadráticos, com pico estimado em 46,35 aos 12,63 dias de estufa e 32,53 aos 15,96 dias de estufa, respectivamente. Por outro lado, para a baixa EME, o modelo exponencial foi o que melhor se ajustou. Podendo destacar que o contato com o oxigênio destes alimentos foi muito superior ao normal pela baixa inclusão de óleo no processo (4%) e o não recobrimento final das rações.

Tabela 13. Índice de peróxido (mEq/kg) dos alimentos processados por diferentes Energias Mecânicas Específicas (9,21 e 35 kWh/t) e mantidos em estufa a 60°C por 20 dias (Teste de Schaal).

Período (dias)	EME			EPM <sup>1</sup>	Efeitos		
	Baixa	Média	Alta		EME	Período	Interação
0	5,99 <sup>Cb</sup>	13,29 <sup>Ea</sup>	6,62 <sup>Eb</sup>	7,75	0,0000	0,0000	0,0000
4	9,03 <sup>Cb</sup>	32,20 <sup>Da</sup>	14,75 <sup>Db</sup>	6,88			
8	14,82 <sup>Bc</sup>	39,03 <sup>Ca</sup>	29,31 <sup>Bb</sup>	6,32			
12	16,11 <sup>Bc</sup>	48,82 <sup>Aa</sup>	33,77 <sup>Ab</sup>	5,96			
16	18,11 <sup>Bc</sup>	43,34 <sup>BCa</sup>	26,16 <sup>CBb</sup>	5,03			
20	47,29 <sup>Aa</sup>	35,06 <sup>CDB</sup>	33,46 <sup>Ab</sup>	1,82			

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=3).

<sup>a,b,c</sup> - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

<sup>A,B,C</sup> - Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05).

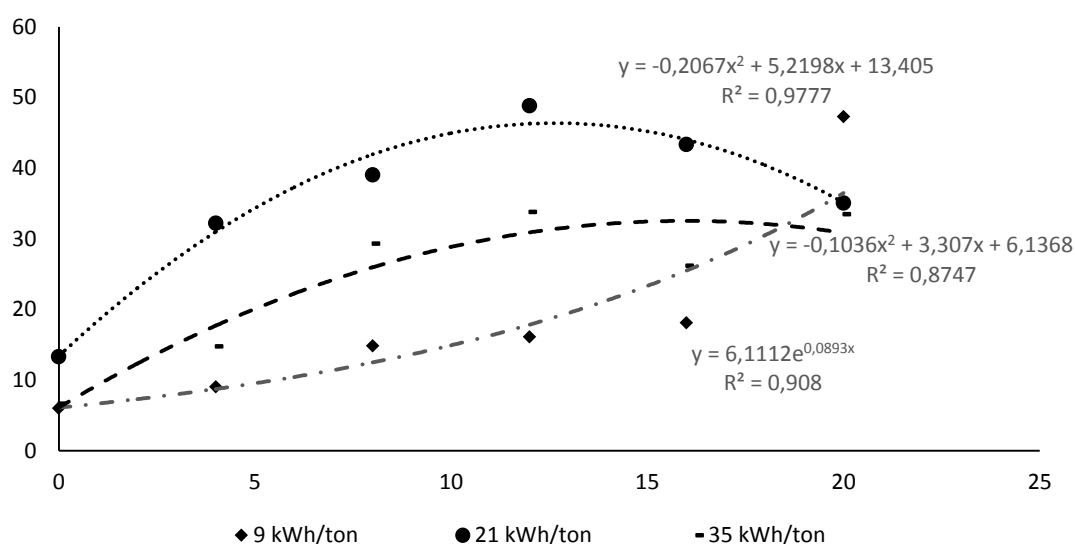


Figura 2: Modelos matemáticos ajustados para as curvas de IP das rações processadas por diferentes EMEs e submetidas ao teste de estufa de Schaal.

### Experimento 2: Avaliação de diferentes fontes de antioxidantes sobre o shelf-life da gordura de frango e de alimentos extrusados para gatos

As análises de estabilidade oxidativa foram realizadas no óleo por duas metodologias: determinação do IP nas amostras por 105 dias a temperatura ambiente e também pelo Oxitest. Nas amostras de rações, adotou-se o método de estufa de Schaal.

Os IP foram iguais entre os tratamentos no início do estudo ( $P>0,05$ ). Houve interação entre tratamento e período e por esta razão os antioxidantes foram comparados apenas dentro de cada período e o comportamento oxidativo das amostras analisado dentro de cada tratamento com antioxidante. O TBHQ estabilizou melhor a gordura de frango em temperatura ambiente durante o período de avaliação (Figura 3). Enquanto os tratamentos com BHA+BHT e antioxidante natural apresentaram aumento linear ao longo do tempo de estocagem, com ajustes ( $R^2$ ) dos modelos de 0,908 e 0,913 respectivamente, este ajuste não foi possível no tratamento com TBHQ em função da manutenção sem elevação do IP ao longo do período de estocagem ( $R^2=0,05$ ). Apesar destes resultados, todos os tratamentos, incluindo o Controle mostraram-se estáveis durante o período de avaliação, com IP que não ultrapassaram 6 mEq/kg. Os resultados de residuais de antioxidante das amostras de óleo encontram-se na Tabela 16. Foi detectado uma quantidade residual de BHT e BHA respectivamente de 6,14 e 9,95 mg/kg de óleo. Apesar de serem tomadas medidas preventivas para se eliminar qualquer efeito residual dos antioxidantes na linha de produção, estas quantidades foram detectadas no Controle e podem ter favorecido sua estabilidade durante a vida de prateleira em tempo real.



Tabela 14. Índice de peróxido (mEq/kg) nas amostras de óleo de frango estabilizadas com diferentes antioxidantes e mantidas em temperatura ambiente.

Período	Antioxidantes				EMP <sup>1</sup>	Efeitos		
	Controle	BHA+BHT	Natural	TBHQ		EME	Período	Interação
0	0,93 <sup>Fa</sup>	0,93 <sup>Fa</sup>	0,93 <sup>Fa</sup>	1,00 <sup>Da</sup>	0,03	0,0000	0,0000	0,0000
15	1,73 <sup>Ea</sup>	1,13 <sup>Fb</sup>	1,06 <sup>Fb</sup>	0,99 <sup>Db</sup>	0,09			
30	2,05 <sup>Ea</sup>	1,66 <sup>Ea</sup>	1,65 <sup>Ea</sup>	1,06 <sup>BCDb</sup>	0,12			
45	2,84 <sup>Da</sup>	2,31 <sup>Dab</sup>	2,26 <sup>Cb</sup>	1,39 <sup>BCDc</sup>	0,17			
60	3,38 <sup>Ca</sup>	3,52 <sup>Ca</sup>	3,58 <sup>Da</sup>	1,93 <sup>Ab</sup>	0,2			
75	3,29 <sup>CDa</sup>	2,97 <sup>Ba</sup>	2,72 <sup>Cb</sup>	1,05 <sup>BDc</sup>	0,26			
90	4,10 <sup>Ba</sup>	3,26 <sup>BCb</sup>	4,55 <sup>Ba</sup>	1,57 <sup>ABc</sup>	0,35			
105	5,78 <sup>Aa</sup>	4,43 <sup>Ac</sup>	5,13 <sup>Ab</sup>	0,91 <sup>CDd</sup>	0,57			

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=3).

a,b,c - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

A,B,C - Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05).

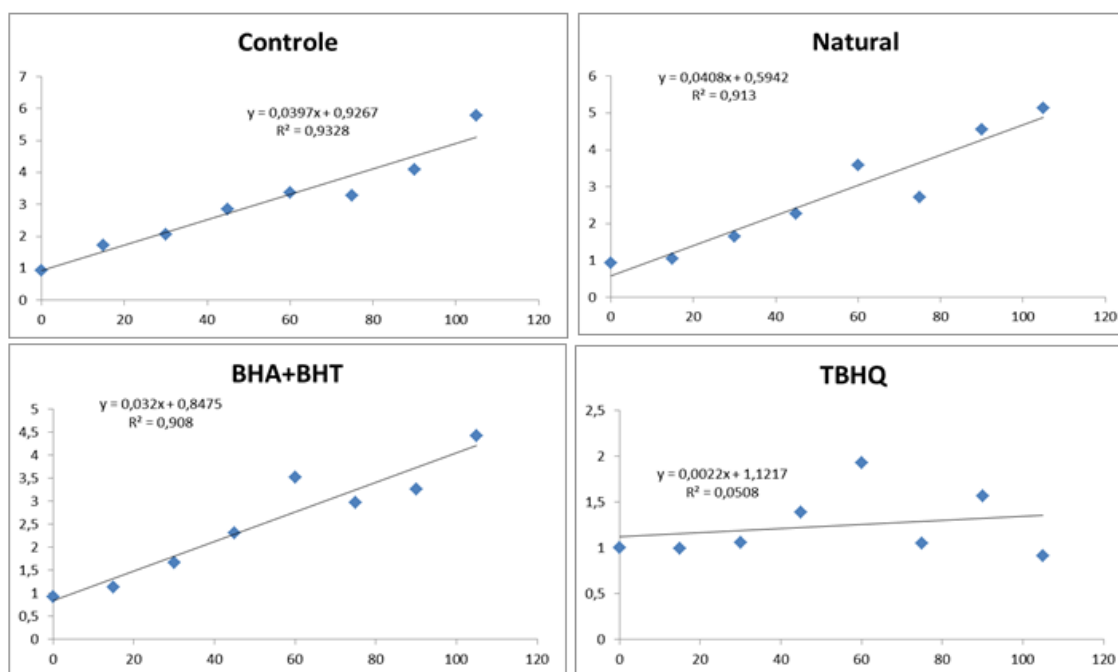


Figura 3: Índice de peróxido da gordura de aves estabilizado com diferentes antioxidantes e mantido a temperatura ambiente por 105 dias.

Tabela 15. Residual de antioxidante em óleo de frango e rações experimentais para gatos com diferentes fontes de antioxidantes.

Item	Antioxidante	BHT	BHA	TBHQ
Óleo	BHA+BHT	66,10	95,41	-
Óleo	TBHQ	6,11	46,83	96,23
Óleo	Natural	6,72	9,12	-
Óleo	Controle	6,14	9,95	-
Ração	BHA+BHT	-	-	-
Ração	TBHQ	-	-	9,56
Ração	Natural	-	-	-
Ração	Controle	-	-	-

Pela análise de Oxitest, pode-se verificar a menor estabilidade para as amostras de óleo contendo antioxidante Natural, a qual foi de 51 minutos (Tabela 16). As amostras mais estáveis foram às estabilizadas com TBHQ seguidas pelas estabilizadas com BHA+BHT, as quais tiveram o período de indução 2,23 e 1,92 vezes mais longos do que aquele da amostra Controle, que foi de 787 minutos. Este teste é realizado em condições extremas de temperatura (90°C) e pressão de oxigênio (6 bar) e os resultados se relacionam a estabilidade do antioxidante e amostra em função destes fatores.

Tabela 16. Período de indução (P.I.; min) das amostras de óleo de frango estabilizadas com diferentes antioxidantes.

Amostra	Oxitest (P.I. <sup>1</sup> -min.)
Controle	787
TBHQ	1514
BHA+BHT	1804
Natural	51

<sup>1</sup> - Período de Indução.

Houve interação significativa entre tratamento com antioxidante e período, para a análise de estabilidade oxidativa das amostras de rações em estufa pelo método de Schaal (Tabela 17). Para tanto, os tratamentos foram comparados dentro de um mesmo período e procedeu-se pela realização de curvas de oxidação com determinação de ponto de máximo para cada tratamento ao longo do tempo, por meio da análise de

regressão quadrática (Figura 3). Pode-se verificar que o tratamento Controle e com Antioxidante natural foi introduzido neste teste com IP mais elevado que os demais, possivelmente proveniente do processamento. As amostras do Tratamento Controle apresentaram maiores valores de IP a partir do 8º dia de teste e apresentaram o pico estimado de 46,36 aos 12,63 dias. Todos os tratamentos apresentaram pico de IP durante o período de realização deste teste. Os pontos de máximo estimados para os tratamentos com BHA+BHT, Antioxidante Natural e TBHQ foram 42,80 aos 14,84 dias, 41,15 aos 20,79 dias e 42,44 aos 14,33 dias respectivamente.

Tabela 17. *Shelf life* em tempo de acelerado de rações para gatos processadas com diferentes fontes de antioxidantes.

Período	Antioxidantes				EMP <sup>1</sup>	Efeitos		
	Controle	BHA+BHT	Natural	TBHQ		EME	Período	Interação
0	13,29 <sup>Da</sup>	7,19 <sup>Cb</sup>	13,54 <sup>Ea</sup>	6,57 <sup>Db</sup>	0,99	0,0000	0,0000	0,0000
4	32,20 <sup>Ca</sup>	28,19 <sup>Ba</sup>	16,45 <sup>Eb</sup>	28,3 <sup>Ca</sup>	1,84			
8	39,03 <sup>Ba</sup>	31,87 <sup>Bb</sup>	33,21 <sup>Dab</sup>	28,85 <sup>Cc</sup>	1,2			
12	48,82 <sup>Aa</sup>	41,76 <sup>Ab</sup>	31,75 <sup>CDc</sup>	40,47 <sup>Bb</sup>	1,88			
16	43,34 <sup>ABb</sup>	43,98 <sup>Ab</sup>	45,46 <sup>Ab</sup>	49,26 <sup>Aa</sup>	1,07			
20	35,06 <sup>BCa</sup>	38,13 <sup>Aa</sup>	38,38 <sup>BDa</sup>	33,48 <sup>Ca</sup>	0,66			

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=3 amostras por EME).

<sup>a,b,c</sup> - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05).

<sup>A,B,C</sup> - Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05).

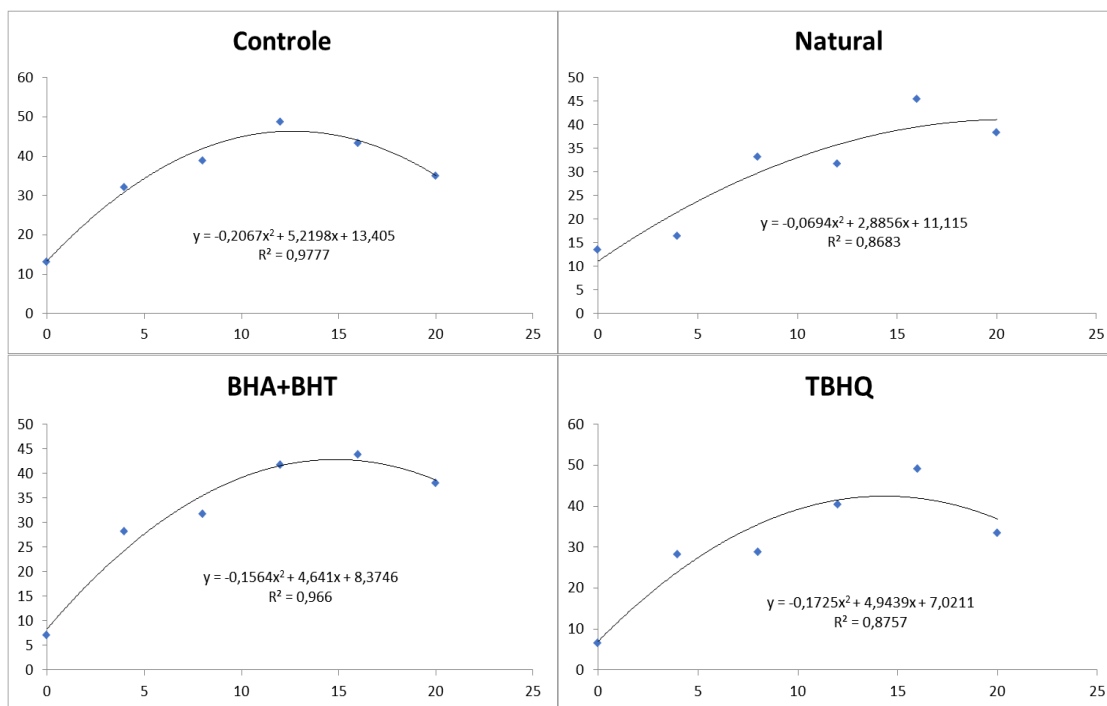


Figura 4: Curvas de oxidação pelo teste de estufa de Schaal (20 dias a 60°C) das amostras rações processadas por extrusão com diferentes antioxidantes.

Os teores de ácido linoleico e hexanal, como já demonstrado, foram avaliados quando a sua quantidade nas três etapas do processo (condicionador, extrusora e secador), nas diferentes EME. Com intuito de se observar o que acontece na presença ou não de aditivo antioxidante, foi comparado os tratamentos controle e BHA+BHT (Tabela 18). Apesar da interação observada, verificou-se que o uso de BHA+BHT foi capaz de manter maiores concentrações de ácido linoleico na saída do Condicionador ( $P < 0,0001$ ) em relação ao Controle negativo. Na etapa da extrusão, houve efeito significativo ( $p < 0,0001$ ) da EME sobre as concentrações do ácido graxo, as quais foram mais preservadas na EME de 9 kWh/t. A extrusão se mostrou um processo muito agressivo para o ácido linoleico, que reduziu mais de 50% independente da EME aplicada, mostrando a importância da utilização de antioxidantes para o processo. A dose empregada de BHA+BHT neste estudo foi de 500 mg/kg de óleo, correspondendo a aproximadamente 20 mg/kg de ração. Esta parece ter sido baixa, uma vez que após a

saída do condicionador as perdas de ácido linoleico neste tratamento, foram semelhantes ao Controle, indicando que maiores doses são fundamentais para se proteger sua perda, que foi de 68,9%, 76,5% e 77,4% respectivamente para as EMEs 9, 21 e 35 kWh/t. A extensa perda de ácido linoleico no processo refletiu na elevada produção de Hexanal observada em todas as etapas. Também de maneira semelhante, parece que os antioxidantes foram capazes de proteger a gordura da produção de Hexanal apenas na etapa do condicionador, sendo depois inativados e então a produção deste composto passou a ser elevada.

Tabela 18. Concentração de Ácido Linoleico (mg/g de gordura) e Hexanal (mg/kg de amostra na MS) em alimentos extrusados para gatos em diferentes energias mecânicas específicas com ou sem aditivo antioxidante.

Etapa	Antioxidante	EME (kWh/t)			Média	EPM <sup>1</sup>	EFEITO		
		9	21	35			Antioxidante	EME	Antioxidante*EME
Ácido linoleico (mg/kg de gordura)									
CONDICIONADOR	BHA+BHT	13,35 <sup>Aa</sup>	13,23 <sup>Aa</sup>	12,02 <sup>Ab</sup>	12,86				
	Controle	8,55 <sup>Ba</sup>	6,39 <sup>Bc</sup>	7,31 <sup>Bb</sup>	7,41	0,16	0,000	0,000	0,000
	Média	10,95	9,81	9,66					
EXTRUSORA	BHA+BHT	6,71	3,48	2,98	4,39 <sup>A</sup>				
	Controle	5,12	2,31	2,14	3,19 <sup>B</sup>	0,20	0,000	0,000	0,110
	Média	5,92 <sup>a</sup>	2,91 <sup>b</sup>	2,56 <sup>b</sup>					
SECADOR	BHA+BHT	3,7	2,63	2,6	2,97 <sup>B</sup>				
	Controle	3,33	1,99	1,77	7,09 <sup>A</sup>	0,12	0,000	0,000	0,101
	Média	3,52 <sup>a</sup>	2,31 <sup>b</sup>	2,19 <sup>b</sup>					
Hexanal (mg/kg de amostra na MS)									
Etapa	Antioxidante	EME (kWh/t)			Média	EPM <sup>1</sup>	EFEITO		
		9	21	35			Antioxidante	EME	Antioxidante*EME
CONDICIONADOR	BHA+BHT	20,99 <sup>Bb</sup>	20,92 <sup>Bb</sup>	31,84 <sup>Ba</sup>	24,58				
	Controle	35,32 <sup>Ab</sup>	47,39 <sup>Aa</sup>	47,61 <sup>Aa</sup>	43,44	0,27	0,000	0,000	0,000
	Média	28,16	34,16	39,73					
EXTRUSORA	BHA+BHT	49,58 <sup>Aa</sup>	36,18 <sup>Ab</sup>	31,74 <sup>Ac</sup>	39,17				
	Controle	28,65 <sup>Bb</sup>	28,09 <sup>Bb</sup>	30,93 <sup>Aa</sup>	29,23	0,45	0,000	0,000	0,000
	Média	39,12	32,14	31,34					
SECADOR	BHA+BHT	41,63 <sup>Aa</sup>	15,69 <sup>Bc</sup>	27,10 <sup>Ab</sup>	28,14				
	Controle	23,53 <sup>Ba</sup>	23,62 <sup>Aa</sup>	15,88 <sup>Bb</sup>	21,01	0,51	0,000	0,000	0,000
	Média	32,58	39,31	21,49					

<sup>1</sup> - Erro padrão da média (n=6). <sup>a,b,c</sup> - Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha diferem estatisticamente (P<0,05). <sup>A,B,C</sup> - Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05).

Pelo teste de preferência, pode-se verificar que houve efeito de tratamento para Razão de Ingestão (RI). Na comparação entre a dieta Controle e contendo *blend* de BHA+BHT, pode-se verificar que as dietas com estes antioxidantes foram preferidas ( $p=0,0456$ ). Verificou-se ainda que as dietas com BHA+BHT também foram preferidas quando comparadas com aquelas contendo antioxidantes Naturais (Tabela 19).

Tabela 19. Teste de preferência alimentar em gatos utilizando rações extrusadas com diferentes fontes de antioxidantes.

Dieta <sup>1</sup>	Primeira Escolha (Olfato) <sup>2</sup>			Primeira Escolha			Razão de Ingestão <sup>3</sup>		
	A	B	Valor de p	A	B	Valor de p	RI-A	Mediana	Valor de p
CONTROLE x BHT/BHA	0,35	0,65	0,2636	0,40	0,60	0,5023	0,42	0,43	0,0456
CONTROLE x NATURAL	0,40	0,60	0,5023	0,30	0,70	0,1175	0,47	0,44	0,6273
TBHQ x CONTROLE	0,35	0,65	0,2636	0,45	0,55	0,8231	0,57	0,54	0,0728
TBHQ x BHT/BHA	0,40	0,60	0,5023	0,40	0,60	0,5023	0,44	0,43	0,1451
BHT/BHA x NATURAL	0,55	0,45	0,8231	0,55	0,45	0,8231	0,61	0,65	0,0195
NATURAL x TBHQ	0,20	0,80	0,0139	0,45	0,55	0,8231	0,44	0,46	0,2047

<sup>1</sup> A versus B

<sup>2</sup> 40 observações em 20 gatos em 2 dias.

<sup>3</sup> Razão de ingestão A= ingestão (g) dieta A / ingestão total das duas dietas (g)



#### 4. Discussão

O nível de energia mecânica específica (EME) influenciou a densidade do produto, absorção de gordura, textura e *shelf-life* de alimentos extrusados para gatos. Para um processo como a extrusão há uma temperatura ideal para a complexação que depende do comprimento da cadeia do ácido graxo e sua alteração influencia no tipo de ligação que esse lipídeo vai formar (Bhatnagar e Hanna, 1994). Como efeito da gordura dentro da extrusora pode-se primeiro citar a redução do atrito entre massa e o parafuso e consecutivamente uma diminuição da temperatura da massa (Hu, 1992).

Neste experimento, verificou-se diferença significativa entre os três métodos utilizados para a extração lipídica e as três EME usados no processo. Houve aumento linear na complexação lipídica a medida que se aumentou a EME. Resultado semelhante foi encontrado por Sá (2015) que foi pioneiro no estudo de diferentes relações de ETE e EME. Este autor concluiu que os níveis de complexação amido-lipídeo na análise de EE para as rações de cães e gatos, são afetados pela EME, quanto maior a quantidade de EME maior é a sua complexação. A diferença encontrada na complexação da gordura pelo processo também pode ser explicada pelo fato que, os valores mais altos da temperatura no canhão da extrusora favorecem a migração da gordura para fora da massa extrusada (De Pilli, Carbone, Derossi, Fiore, & Severini, 2008; De Pilli, Jouppila, et al., 2008).

A formação de complexos de amido-lipídeo dá ao extrusado uma estrutura específica que pode justificar a diferença encontrada no teste de ruptura. Foi observado que com diferentes EME as rações diferiram entre a resistência à quebra, estes resultados estão de acordo com os obtidos por Bhatnagar e Hanna (1997). Existe correlação muito forte entre a EME e densidade (Plattner, 2007), e pode explicar os

resultados obtidos nesse experimento. Em um estudo que avaliou o efeito da temperatura de extrusão no sorgo, foi observado que os valores de resistência à ruptura aumentaram com o aumento dos perfis de temperatura (Al-Rabadi et. al 2011).

Segundo Siger e Michalak (2016), investigando a estabilidade oxidativa do óleo de colza a temperaturas de até 180 °C verificaram que o principal fator que pode afetar o ácido graxo é a temperatura de processamento e o tipo de óleo, fato que justifica e foi observado neste estudo, em que a maior perda do ácido linoleico ocorreu após a segunda etapa, que possui temperatura mais alta e consecutivamente ocorreu a implementação da EME.

Lampi et al. (2015) verificaram o efeito da temperatura de extrusão sobre a produção de compostos voláteis da oxidação lipídica em aveia e verificaram que temperaturas elevadas como 130°C, não são recomendadas em função de promover alta degradação lipídica no processo e também após o mesmo. Os aldeídos são os principais compostos formados durante a oxidação de ácidos linoleico, gama-linolênico e araquidônico (Shahidi, 2005). Em estudo sobre a rancidez oxidativa de cereais, foi verificado que o início da formação de odor a ranço ocorreu quando a concentração de n-hexanal aumenta entre 5 e 10 mg/kg (Fritsch e Gale, 1977). No atual estudo, foi verificado que a concentração de hexanal aumenta em função da EME implementada no processo e no condicionador estas concentrações atingiram valores próximos a 50 mg/kg, valor que indica extensiva oxidação lipídica da gordura quando esta está desprovida de antioxidante. Ao se adicionar os antioxidantes (Experimento 2), estas concentrações foram significativamente reduzidas (Figura 5).

Fritsch & Gale (1977) observaram ainda que nos cereais com quantidades baixas de ácido linoleico, a concentração de n-hexanal está abaixo de 1 mg/kg, porém, durante o armazenamento, esses valores aumentam para 5 mg/kg de n-hexanal, indicando perdas

significativas na estabilidade causada pela oxidação lipídica. Segundo os autores, a deterioração é afetada não só pela composição química, mas também pelo conteúdo de umidade dos produtos, condições de processamento, área superficial e outros fatores ainda não determinados.

Quanto maior o grau de insaturação, mais propenso está o produto de desenvolver um odor mais forte como resultado da exposição ao oxigênio para formar peróxidos. A decomposição de peróxidos resulta em uma mistura complexa de aldeídos, cetonas e outros produtos voláteis. Sharma et al. (2014) exploraram diferentes processos de pré-tratamento, incluindo a extrusão e avaliaram ácidos graxos livres, atividade da água e qualidade física do farelo mensalmente durante seis meses. Os autores descobriram que o teor livre de ácidos graxos, a umidade e a atividade da água eram estáveis durante todo o período para os produtos que foram obtidos no processamento da extrusão. Porém neste experimento, observou-se que quando avaliado o teor de ácido graxo durante as etapas do processo de extrusão há perda significativa, e pode ser explicado pela diferença de EME aplicada.

Usos de menores taxas de compressão e maiores velocidades de rosca durante o processo interferem favoravelmente no aumento da estabilidade no armazenamento dos produtos extrusados (Fritsch & Gale, 1977). Porém, não foram encontrados estudos controlados que avaliaram como a EME afeta a estabilidade oxidativa de rações. Neste estudo, foi observado que o IP variou entre as EME. Lin et.al 1997, estudando diferentes velocidades da rosca sobre o shelf-life de alimentos para cães e gatos, observou que os alimentos extrusados a 300 rpm apresentaram taxa de oxidação de lipídeos significativamente maior que as produzidas a 200 e 400 rpm. Observaram também que a oxidação lipídica dos extrusados pareceu ser afetada principalmente pelo grau de expansão, mostrando que os produtos com maior grau de expansão, são mais

susceptíveis à oxidação, justificando o fato de que dentre as três energias aqui avaliadas, a alta (35 kWh/t) foi a que mais influenciou o IP.

Em um estudo avaliando compostos voláteis em rações para cães e gatos utilizando de três relações de EME e ETE, Koppel et al (2014) verificaram que a concentração total de voláteis foi maior nas amostras extrusadas com a alta relação de EME e ETE, porém, quando avaliou o composto de maior quantidade, o hexanal verificaram as concentrações de 54, 50 e 39 mg/kg para as energias alta, média e baixa consecutivamente, e vai de acordo com os resultados encontrados neste experimento, em que encontraram 24, 23 e 15 mg/kg para as três energias: alta, média e baixa respectivamente, no final da extrusora. A diferença da concentração encontrada pode ser explicada pela diferença de formulação utilizada nos dois experimentos.

A rancidez oxidativa pode ser evitada utilizando antioxidantes ou evitando a flutuação da temperatura durante o armazenamento, assim no experimento dois estudou-se a estabilidade da gordura de frango e de rações para gatos com diferentes antioxidantes. Em um estudo avaliando a estabilidade oxidativa do biodiesel com origem em gordura animal, verificou que dentre os antioxidantes utilizados a ordem de eficácia ficou BHA, BHT e TBHQ consecutivamente, contradizendo com o encontrado neste experimento, em que o tempo real, o TBHQ se mostrou o mais eficaz na conservação da gordura de frango. O TBHQ neste estudo, também se mostrou mais eficiente na proteção da oxidação lipídica durante o processo, visto pelas concentrações de hexanal e ácido linoleico no condicionador. No entanto, estas análises ainda estão em andamento.

Silva et al 2017, avaliando a estabilidade oxidativa de bifeinhos para cães, utilizaram-se de antioxidante natural, à base de tocoferol, alecrim e ácido cítrico e sintético, BHA e BHT, verificaram que a estabilidade oxidativa dos bifeinhos formulados

com antioxidante natural foi menor, em comparação com as demais. Neste experimento, pode-se observar também que o antioxidante natural utilizado foi o que menos preservou a gordura pelo teste de *shelf-life* e tempo real e também, quando submetido ao processo térmico, é possível que este antioxidante possa ter sofrido oxidação rápida e se tornou um agente pro oxidante. Esta hipótese se deve ao fato de que na análise de Oxitest, as amostras são submetidas à temperatura de 100°C e alta pressão de oxigênio. Pelos resultados obtidos, as amostras de óleo com antioxidante natural oxidaram cerca de 15 vezes mais rápido do que as amostras da gordura do tratamento Controle e 30 vezes mais rápido do que as amostras com antioxidantes sintéticos. Outro fato que chama a atenção é que o IP das rações estabilizadas com antioxidante Natural foi elevado e semelhante ao das rações sem adição de antioxidante no início da análise de *shelf-life* em estufa, indicando extensiva oxidação lipídica ainda no processamento em relação aos tratamentos com antioxidantes sintéticos, justificado pela sua menor resistência ao calor que os demais.

A preferência alimentar de animais de estimação está ligada a palatabilidade dos alimentos processados, assim, a palatabilidade é uma preocupação (Griffin, 2003). Observou-se que como já é sabido, os gatos possuem olfato e paladar apurados e conseguem diferir pequenas alterações na formulação ou processo, assim neste experimento se verificou que os animais apresentaram preferência para os alimentos com menor IP, que foram aqueles preservados com BHA+BHT e TBHQ, os quais apresentavam IP inferior em relação ao antioxidante natural e Controle. Não foi possível concluir sobre o efeito dos antioxidantes sobre a palatabilidade, uma vez que as dietas tiveram IP diferentes e as doses utilizadas de antioxidante nas dietas foram calculadas sobre o teor de lipídeos, sendo baixa e provavelmente estes antioxidantes foram consumidos no processo.

## 5. Conclusão

Conclui-se que a EME implementada no processo de extrusão afeta as perdas de ácidos graxos, sua complexação com outros nutrientes e a estabilidade oxidativa dos lipídeos. O uso de antioxidantes pode prevenir o processo oxidativo e, dentre os antioxidantes, o TBHQ apresentou-se como um bom antioxidante para prevenir a oxidação que ocorre no processo e também para garantir a estabilidade de gordura de frango durante sua vida útil.

## 6. Referências

- AAFCO. 2010. Official Publication. In: A. o. A. F. C. O. Inc (ed.), West Lafayette.
- Alonso, R.; Aguirre, A.; Marzo, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on anti-nutrients and in-vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chemistry*, v. 68, p. 159-165, 2000.
- Al-Rabadi, Ghaid J. Peter J. Torley, Barbara A. Williamsa, Wayne L. Bryden, Michael J. Gidleya, 2011. Effect of extrusion temperature and pre-extrusion particle size on starch digestion kinetics in barley and sorghum grain extrudates. *Animal Feed Science and Technology* 168 (2011) 267– 279.
- Antolovich, M.; Prenzler, P.D.; Patsalides, E.; Mcdonald, S.; Robards, K. 2002. Methods for Testing Antioxidant Activity. *Analyst*, 127:183-198.
- Bhatnagar, S., & Hanna, M. A. (1994). Extrusion processing conditions for amylose lipid complexing. *Cereal Chemistry*, 71(6), 587–593.
- Bhatnagar, s., hanna, m. A. 1994. Amylose-lipid complex formation during single screw extrusion of various corn starches. *Cereal Chem.* 71:582-587.
- Blich E. G. And Dyer W. J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. &o&m. Physiol.* 37, 911-917. CARR T. (1977)
- Brennan, C., Brennan, M., Derbyshire, E., Tiwari, K. B., 2011. Effects of extrusion on the polyphenols vitamins and antioxidants activity of foods. *Food Sci. Technol.* 22, 570-575.
- Claus Et Al, 2015 T. Claus, S.A. Maruyama, S.V. Palmobini, P.F. Montanher, E.G. Bonafé, O.O. Santos Junior, M. Matsushita, J.V. Visentainer. Chemical Caracterization And Use Of Artichoke Parts For Protection From Oxidative Stress In Canola Oil. *Food Science And Technology*, 61 (2015), Pp. 346-351.

- De Pilli, T., Carbone, B. F., Derossi, A., Fiore, A. G., & Severini, C. (2008). Effects of operating conditions on oil loss and structure of almond snacks. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(3), 430–439.
- De Pilli, T., Jouppila, K., Ikonen, J., Kansikas, J., Derossi, A., & Severini, C. (2008). Study on formation of starch-lipid complexes during extrusion-cooking of almond flour. *Journal Food Engineering*, 87, 495–504.
- FEDIAF. 2014. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. In: E. P. F. I. Federation (ed.), *Bélgica*.
- Figueiredo, I. L., Claus, T., Junior, O. Almeida, V. Magnon, T., Visentainer, J. V. 2016. Fast derivatization of fatty acids in different meat samples for gas chromatography analysis, *Journal of Chromatography*.
- Fritsch, C.W.; Gale, J.A. Hexanal as a measure of rancidity in low fat foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Champaign, v.54, n.3, p.225--228, 1977.
- Griffin, R.W., 2003. Palatability testing: Parameters and analyses that influence test conclusions. In: Kvamme, J. L.; Phillips, T. D. *Petfood technology*. Illinois Mt Morris., Chicago, USA, pp. 187-193.
- Hu, L. (1992). Food emulsifier effects on corn meal extrusion with dietary fiber. Ph.D. Dissertation, Department of Agricultural Engineering, University of Missouri, Columbia.
- Kanner, J., 2007. Dietary advanced lipid oxidation end products are risk factors to human health. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007, 51, 1094 – 1101.
- Koppel K., Michael Gibson, Sajid Alavi, Greg Aldrich, 2014. The Effects of Cooking Process and Meat Inclusion on Pet Food Flavor and Texture Characteristics. Published online 2014 May 23.
- Koppel, K., Mariana Monti, Michael Gibson, Sajid Alavi, Brizio Di Donfrancesco, Aulus Cavalieri Carciofi. 2015 . The Effects of Fiber Inclusion on Pet Food Sensory Characteristics and Palatability. *Animals (Basel)* 2015 Mar; 5(1): 110–125. Published online 2015 Feb 16.
- Lampi, Anna-Maija, Annelie Damerou, Jia Li, Timo Moisio, Riitta Partanen, Pirkko Forssell, Vieno Piironen. 2015. Changes in lipids and volatile compounds of oatflours and extrudates during processing and storage. *Journal of Cereal Science* 62 (2015) 102e109.
- Ledoux, M.; Juanéda, P.; Sébédio, J. L. Trans fatty acids: Definition and occurrence in foods. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 109, n. 9, p. 891-900, 2007.
- Lillard, D.A. Effect of processing on chemical and nutrition changes in food lipids. *Journal of Food Protection*, v. 46, n. 1, p. 61-67, 1983.
- Lin.S., F. Hsieh, H.E. Huff. 1997. Effects of lipids and processing conditions on lipid oxidation of extruded dry pet food during storage. *Animal Feed Science and Technology* 71 1998 283–294.

- Márquez-Ruiz G., M.C. García-Martínez and F. Holgado, 2008. Changes and Effects of Dietary Oxidized Lipids in the Gastrointestinal Tract Instituto del Frío (CSIC), José Antonio Novais 10, 28040 Madrid. *Lipids Insights* 2008:2 11–19.
- Martin, C. A. et al. Trans fatty acid forming processes in foods: a review. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. v. 79, n. 2, p. 343-350, 2007.
- Minitab (2014). N.A: Minitab Inc.
- Moscicki, L., Wojtowicz A., 2011. Raw Materials in the Production of Extrudates. In: Moscicki L. *Extrusion-Cooking Techniques*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany,
- NRC. 2006. Nutrient requirements of dogs and cats. In: N. R. Council (ed.). p 398. The National Academy, Washington, DC
- Plattner, B., 2007. Density Management and control. In: Riaz, M.N. *Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds*. Agrimedia, Clenze, GE, pp. 277-294. pp. 45-64.
- Riaz, M.N. *Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds*. Agrimedia, Clenze, p. 400, 2007.
- Rokey G and Plattner B, Process description: pet food production. Wenger Mfg, Inc., Sabetha, KS USA, pp. 1–18 (1995).
- Sá, Fabiano Cesar. *Energia Mecânica, Energia Térmica E Moagem Na Extrusão De Alimentos Para Cães E Gatos / Jaboticabal, 2015* VII, 94 P. : II. ; 28 Cm. Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, 2015.
- Sghaier Lilia, Cordell Christophe B. Y., Rutledge Douglas N., Watiez Mickael, Breton Sylvie, Sassi Patrick, Thiebaut Didier, Vial Jerome. Validation of a headspace trap gas chromatography and mass spectrometry method for the quantitative analysis of volatile compounds from degraded rapeseed oil *J. Sep. Sci.* 2016, 39, 1675–16.
- Sharidi, F. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Volume 2, 6th Edition*. John Wiley & Sons, 2005.
- Sharma, S., Kaur, S., Dar, B., Singh, B., 2014. Storage stability and quality assessment of processed cereal brans. *Journal of Food Science and Technology* 51, 583–588.
- Siger, A., Michalak, M., 2016. The long-term storage of cold-pressed oil from roasted rapeseed: effects on antioxidant activity and levels of canolol and tocopherols. *European Journal of Lipid Science and Technology* 118, 1030–1041.
- Silva et al, 1999 F.A.M. Silva, M.F.M. Borges, M.A. Ferreira. Métodos Para Avaliação Do Grau De Oxidação Lipídica E Da Capacidade Antioxidante. *Quim. Nova*, 22 (1999), Pp. 94-103.
- Silva, A.A.; Pena, S.A.; Assis, F.G.; Castilha, L.D.; Nascimento, S.T.; Vasconcellos, R.S.; 2017. Estabilidade oxidativa e qualidade de bifeinhos para cães formulados com antioxidante natural v. 11 No. 02 p. 103-206 (2017)



- Spears, J.K., Fahey JR., G.C., 2004. Resistant Starch As Related To Companion Animal Nutrition. J. AOAC. 87, 787-791.
- Strathman, R., 2007. Universal Pellet/Cooker ®. In: Riaz, M.N. Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds. Agrimedia, Clenze, GE, pp. 135-156.
- Tian Et Al., 2013 F. Tian, E.A. Decker, J.M. Goddard. Controlling Lipid Oxidation Of Food By Active Packaging Technologies. Food. Funct., 4 (2013), Pp. 669-680.
- Tran, Q.D.; Hendriks, W.H.; Van Der POEL, A.F. Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 88, n. 9, p. 1487-1493, 2008.