

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ZOOTECNIA**

PAMELA CABRAL VIEIRA MARQUES

**ANÁLISE BROMATOLÓGICA DE RAÇÕES DESTINADAS A RATOS E
CAMUNDONGOS PROVENIENTES DE BIOTÉRIO**

Uberlândia - MG

2024

PAMELA CABRAL VIEIRA MARQUES

**ANÁLISE BROMATOLÓGICA DE RAÇÕES DESTINADAS A RATOS E
CAMUNDONGOS PROVENIENTES DE BIOTERIO**

Trabalho de conclusão de curso apresentada a coordenação do curso graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial a obtenção do título de Zootecnista

Orientador: Lúcio Vilela Carneiro Girão

Uberlândia - MG

2024

PAMELA CABRAL VIEIRA MARQUES

**ANÁLISE BROMATOLÓGICA DE RAÇÕES DESTINADAS A RATOS E
CAMUNDONGOS PROVENIENTES DE BIOTÉRIO**

Trabalho de conclusão de curso
aprovada como requisito parcial a
obtenção do título de Zootecnista no
curso de graduação em Zootecnia da
Universidade Federal de Uberlândia.

APROVADO EM 19 DE NOVEMBRO DE 2024.

Lúcio Vilela Carneiro Girão
(FMVZ/UFU)

Eliane Pereira Mendonça
(FMVZ/UFU)

Onacir Jorge da Costa
(FMVZ/UFU)

**Uberlândia - MG
2024**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por guiar os meus passos, e pela sua infinita misericórdia me permitir chegar até aqui.

À minha mãe Ivanilda "*in memoriam*" por ser a minha base, mulher forte, honesta e batalhadora que mesmo sem instrução me ensinou o certo e o errado na vida e sempre me incentivou a estudar. Sinto muito a sua falta mãezinha.

Ao meu esposo Dirceu, pelo apoio e compreensão durante a graduação, por ser meu companheiro e por acreditar em mim quando nem eu mesma acreditei que conseguiria. Muito obrigada meu amor!

À minha amiga Julia Elize, pela amizade e companheirismo. Você tornou esses anos de faculdade muito mais leves, da UFU para a vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão por dividir um pouco do seu conhecimento comigo, pela paciência, atenção e orientação. Sou eternamente grata.

Ao Onacir, técnico do laboratório LABAN por todo auxílio durante as minhas análises. Obrigada por sempre estar disposto a ajudar mesmo em meio a correria.

Agradeço a Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade de estudar nessa instituição e obter a formação acadêmica que sempre sonhei e agradeço aos professores que contribuíram para a minha formação, grandes profissionais em suas respectivas áreas. Foi uma honra ter sido aluna de vocês.

RESUMO

As espécies animais de pequeno porte como camundongos e ratos são amplamente utilizadas em pesquisas médicas científicas em todo mundo. É de extrema importância que as demandas nutricionais desses animais sejam adequadamente supridas, a fim de evitar qualquer tipo de interferência nos resultados das pesquisas. O objetivo deste trabalho é analisar rações destinadas a esses animais e verificar se os valores nutricionais estão de acordo com o especificado nos rótulos. Para isso, foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal (LABAN), da Universidade Federal de Uberlândia, análises bromatológicas para a determinação dos teores de umidade, matéria mineral, proteína bruta, fibra bruta e extrato etéreo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos (Ração 1 e Ração 2), e foram realizadas sete repetições de cada tratamento. Os resultados apresentados mostraram valores de fibra bruta e matéria mineral das rações 1 e 2 acima do indicado, enquanto o extrato etéreo da ração 2 estava abaixo do especificado. De forma direta ou indireta essas variações poderiam ser prejudiciais ao desenvolvimento dos animais e como consequência poderiam prejudicar resultados científicos de pesquisas. Conclui-se que alguns dos teores de nutrientes apresentados nos rótulos não correspondem aos resultados encontrados neste estudo, contudo seria necessário ampliar a amostragem das rações para concluirmos de forma confiável.

Palavras-chave: níveis de garantia, bromatologia, valores nutricionais, animais de laboratório.

ABSTRACT

Small-sized animal species such as mice and rats are widely used in medical and scientific research worldwide. It is of utmost importance that the nutritional demands of these animals are adequately met to avoid any interference with research results. The objective of this study was to analyze diets designed for these animals and verify if the nutritional values are in accordance with those specified on the labels. For this purpose, bromatological analyses were carried out at the Laboratory of Bromatology and Animal Nutrition (LABAN) of the Federal University of Uberlândia, to determine the moisture, mineral matter, crude protein, crude fiber, and ether extract contents. The experimental design was completely randomized, with two treatments (Diet 1 and Diet 2), and seven replicates of each treatment were performed. The results presented showed values of crude fiber and mineral matter of diets 1 and 2 above the indicated, while the ether extract of diet 2 was below the specified. Directly or indirectly, these variations could be detrimental to the development of the animals and, as a consequence, could harm scientific research results. It is concluded that some of the nutrient contents presented on the labels do not correspond to the results found in this study, however, it would be necessary to increase the sample size of the diets to conclude reliably.

Keywords: guaranteed analysis, bromatological analysis, nutritional values, laboratory animals.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores de exigência nutricional de ratos e camundongos	11
TABELA 2 – Níveis de garantia e valores nutricionais médios determinados das rações comerciais para ratos e camundongos	18

SUMÁRIO

1 - Introdução	7
2 - Referencial Teórico	8
2.1 - Camundongos e Ratos	8
2.2 - Exigência nutricional	9
2.3 - Peletização	11
3 - Material e Métodos	13
4 - Resultados e Discussão	18
5 - Conclusão	21
Referências	22

1. INTRODUÇÃO

Os animais têm sido utilizados no avanço da ciência há centenas de anos, sendo imprescindíveis no desenvolvimento de vacinas, soros e tratamentos para diversas doenças. Segundo o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, 2024), órgão vinculado ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, atualmente existem no Brasil 986 instituições de ensino e pesquisa credenciadas ou em processo de credenciamento para o uso de animais de diversas espécies em experimentos. Esses dados são atualizados diariamente.

Entre as espécies mais utilizadas, destacam-se os ratos do gênero *Rattus* e os camundongos do gênero *Mus*, ambos pertencentes à ordem Rodentia. Uma característica marcante desses roedores é o crescimento contínuo dos dentes incisivos (Moura, 2014), característica essa que exige com que eles recebam alimentos com um grau de dureza suficiente para desgastar esses dentes.

Para minimizar a influência de fatores externos nas pesquisas realizadas com esses animais, é essencial controlar ao máximo aspectos como linhagem, sanidade e nutrição. A nutrição desses roedores é feita principalmente com rações extrusadas ou peletizadas, que sejam autoclaváveis ou que possam passar pelo processo de ionização. Esses métodos são fundamentais para minimizar o risco de contaminação dos alimentos por microrganismos, o que poderia afetar os resultados dos experimentos. As rações devem seguir rigorosamente os níveis nutricionais máximos ou mínimos estabelecidos. Entre os parâmetros nutricionais avaliados no presente trabalho estão umidade, proteína bruta, matéria mineral, extrato etéreo e fibra bruta.

Dada a grande relevância das pesquisas realizadas com esses animais, torna-se evidente a importância de avaliar os níveis de garantia das rações destinadas a ratos e camundongos utilizados em estudos científicos. Este trabalho teve como objetivo realizar análises bromatológicas de duas marcas de ração ionizada e autoclavável destinadas a ratos e camundongos de biotério, verificando se os valores obtidos de umidade, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral e fibra bruta correspondem com os especificados nos rótulos das rações.

2. REFERENCIAL TEORICO

2.1. CAMUNDONGOS E RATOS

Nos EUA, estima-se que 95 a 98% dos animais utilizados em pesquisas sejam ratos ou camundongos (Harkness *et al.*, 2010). No Canadá, acredita-se que 1 milhão de camundongos sejam usados anualmente em pesquisas e estudos (Harkness *et al.*, 2010). No Brasil, não temos números oficiais, no entanto, no período de 2020 a 2023, foi autorizado o uso de 16 milhões de animais de diversas espécies em instituições de pesquisa, sendo utilizados 1.966.748 roedores apenas no ano de 2021 (Quintilio; Troi, 2023). Esses dados foram fornecidos pelo CONCEA por meio da Lei de Acesso à Informação.

Muitos animais são usados para fins de pesquisa todos os anos, e algumas das espécies mais utilizadas são ratos e camundongos. O uso dessas espécies se deve ao seu tamanho reduzido, que leva a um menor custo e maior facilidade em manter muitos animais em um espaço menor (Harkness *et al.*, 2010).

Os camundongos são os mamíferos mais utilizados em pesquisas (Andrade; Pinto; Oliveira, 2002). Eles são extremamente prolíferos, pequenos e fáceis de manter e domesticar (Andrade; Pinto; Oliveira, 2002; Chorilli; Michelin; Salgado, 2007). São animais sociais, embora territorialistas, não precisando de grandes quantidades de alimento para sua manutenção e podendo ser alojados em gaiolas pequenas (Harkness *et al.*, 2010). Com hábitos noturnos, ingerem seu alimento durante a fase escura do dia (Harkness *et al.*, 2010).

Acredita-se que os ratos foram a primeira espécie de mamíferos utilizada em pesquisas científicas. Já no início do século XX, havia relatos de estudos realizados com eles (Andrade; Pinto; Oliveira, 2002). Esses animais são de fácil manuseio e resistentes (Harkness *et al.*, 2010). Não possuem vesícula biliar e como outros roedores não possuem glândulas sudoríparas (Andrade; Pinto; Oliveira, 2002). Ratos são extremamente sociáveis e podem ser alojados em grupos grandes, com vários machos e fêmeas em uma única gaiola (Harkness *et al.*, 2010).

Ambas as espécies possuem incisivos em erupção contínua, denominados hipsodônticos (Moura, 2014), e molares pouco desenvolvidos, chamados braquiodontes (Harkness *et al.*, 2010). A mastigação fragmenta o alimento, permitindo que ele entre em contato com a saliva (Araújo; Zanetti, 2019). Os incisivos roem o alimento enquanto os molares o moem (Harkness *et al.*, 2010). Esses animais podem

ser alimentados exclusivamente com ração, sem necessidade de suplementação adicional para suprir suas necessidades nutricionais (Harkness *et al.*, 2010).

Ratos são neofóbicos em relação à alimentação, uma característica que remonta à vida selvagem e é crucial para a sobrevivência da espécie, pois evita envenenamento por substâncias tóxicas. No entanto, em cativeiro, é importante que eles sejam expostos a diversos alimentos ainda jovens. Isso evita que, ao atingir a idade adulta e haver necessidade de trocar a alimentação, os animais recusem novos alimentos (Harkness *et al.*, 2010).

2.2 EXIGENCIA NUTRICIONAL

A exigência nutricional pode ser definida como a quantidade de cada nutriente necessária para que determinada categoria animal apresente uma produção e reprodução adequadas (Araújo; Zanetti, 2019). A nutrição é extremamente importante para os animais de laboratório, pois um animal adequadamente nutrido conseguirá demonstrar seu potencial para crescimento, reprodução e, principalmente, terá uma resposta adequada aos estímulos recebidos (Andrade; Pinto; Oliveira, 2002). Ratos e camundongos são animais onívoros, que consomem alimentos de origem vegetal e animal (Moura, 2014). Por apresentar os nutrientes adequados, facilitar o manejo e proporcionar o desgaste dos dentes, a ração peletizada se torna uma opção viável para ser utilizada em biotérios (Andrade; Pinto; Oliveira, 2002).

No entanto, o sexo, a espécie, o *status* fisiológico e o tamanho do animal são fatores que influenciam na exigência nutricional. Outro fator que deve ser considerado é que os camundongos também possuem dois padrões genéticos distintos: os heterogênicos e os isogênicos. Dentro de cada um desses padrões, há diversas linhagens (Moreira, 2011). Deve-se, ainda, levar em consideração a influência da flora intestinal, pois há animais com flora intestinal indefinida, definida e até mesmo ausente, o que acarreta diferenças no ganho de peso, na reprodução e na síntese e absorção de diversos nutrientes (NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1995). Além disso, os estudos voltados para as exigências nutricionais desses animais são escassos (Moura, 2014), sendo que o último relatório do National Research Council voltado para animais de biotério foi publicado há quase três décadas (NRC, 1995).

Ratos e camundongos não possuem exigências específicas em fibra. No entanto, dependendo do nível de inclusão, o seu uso pode trazer benefícios, como

diminuição do tempo de trânsito intestinal e aumento do volume fecal (NRC, 1995). Para ratos, a inclusão de 5% de fibra traz os benefícios citados sem prejudicar o consumo ou o desenvolvimento dos animais. Já os camundongos podem receber alimentos com até 7% de fibra, não sendo recomendado valores maiores, pois, mesmo não havendo alterações no consumo, podem ocorrer oscilações na produção de enzimas hepáticas (NRC, 1995).

A exigência de proteína para ratos em manutenção é baixa, sendo de 5%. No entanto, para animais em crescimento ou lactação, essa exigência chega a 15%. Os camundongos apresentam maior variação de exigência devido às centenas de linhagens distintas, necessitando de 18% a 24% (NRC, 1995). Os lipídios são utilizados na dieta por fornecerem ácidos graxos essenciais (AGE), serem uma importante fonte de energia e melhorarem a palatabilidade da ração (NRC, 1995). Para ratos e camundongos, o valor de 5% de inclusão conseguiu suprir as carências de ácidos graxos essenciais das duas espécies nas diversas categorias. Quanto à matéria mineral, as exigências dessas espécies envolvem macro e micro minerais, mas no presente trabalho os minerais não serão abordados individualmente (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de exigência nutricional de ratos e camundongos em fibra bruta (FB), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE).

Nutriente (%)	Rato	Camundongo
FB	5	7
PB	15	18 – 24
EE	5	5

Fonte: Adaptada do *National Research Council* com base na matéria seca (NRC, 1995).

2.3 PELETIZAÇÃO

Segundo Couto (2012), a peletização é um processo que envolve diversas operações para aglutinar as partículas da ração previamente farelada, submetendo-as a determinada pressão, umidade e temperatura. Em resumo, é o processo pelo qual uma ração farelada é transformada em péletes por meio do uso de vapor e prensagem (Chiroli *et al.*, 2018; Dalcin, 2018). Para que esse processo ocorra, é fundamental que a ração farelada seja exposta a umidade, temperatura e pressão específicas para a formação dos péletes.

O objetivo da peletização é garantir que cada pélete seja uma representação fiel da formulação realizada pelo profissional, atendendo à exigência nutricional do animal, além de apresentar boa durabilidade e tamanho adequado para cada espécie (Couto, 2012). Esse processamento melhora a disponibilidade de nutrientes, devido ao processo mecânico, a umidade e a temperatura que são utilizados durante o processo (Leite, 2006) pois o aumento da temperatura e da umidade provoca a dissolução da amilose e da amilopectina, levando à gelatinização do amido, principal carboidrato de reserva nos vegetais (Massuquetto, 2014). Isso permite que as enzimas aumentem a absorção da glicose. Além disso, a peletização libera mais proteínas ligadas ao amido do endosperma do grão, resultando em maior digestibilidade dos aminoácidos do alimento (Couto, 2012).

Os animais, influenciados pelos sentidos sensoriais, tendem a selecionar o alimento (Araújo; Zanetti, 2019). Essa seletividade pode ocorrer em diversas espécies, dependendo do processamento do alimento. No entanto, a peletização permite uma maior homogeneidade dos ingredientes e uma melhor distribuição dos nutrientes em todo o pélete, impedindo que o animal selecione o alimento e garantindo que ele consuma adequadamente os nutrientes da ração (Couto, 2012). A forma de péletes também reduz o desperdício durante a alimentação (Chorilli; Michelin; Salgado, 2007; Silva, 2019).

As rações destinadas a ratos e camundongos de biotério devem estar livres de patógenos, podendo ser submetidas a processos de esterilização, como autoclavagem ou ionização. Devido à temperatura utilizada no processamento de peletização, a contaminação por fungos e bactérias presentes na matéria-prima é reduzida (Dalcin, 2018). Por outro lado, deve-se considerar algumas desvantagens, como a perda de vitaminas e aditivos mais voláteis, ou até mesmo alguns micro ingredientes, sendo recomendado que esses sejam pulverizados na ração após a peletização (Couto, 2012).

A temperatura e a umidade são fatores determinantes na formação dos péletes. Se forem excessivamente altas, podem levar à retrogradação do amido, prejudicando sua digestibilidade (Massuquetto, 2014). Esses fatores devem variar de acordo com as características nutricionais da ração. Rações com alto teor de fibra não absorvem muita umidade (Biagi, 1998). Sendo assim o nível, a adição e a estabilidade da umidade presente no pélete são fatores que estão diretamente relacionados com a qualidade, a diminuição das perdas do mesmo e até com a eficiência do processo de peletização (Biagi, 1998). Se a ração apresentar entre 12-16% de umidade, não deve ser submetida a muito vapor, pois a fibra absorve apenas 2-3% da umidade. Nesses casos, pode-se utilizar maior compressão para aumentar a temperatura (Couto, 2012). Já em rações com alto teor de amido (50-80%), ocorre alta gelatinização, não sendo adequado utilizar alta pressão, pois o vapor percorre mais facilmente o pélete, adicionando pouca umidade (Couto, 2012). Portanto, os parâmetros de temperatura, umidade e pressão devem ser ajustados conforme a formulação da ração, garantindo que o pélete tenha boa durabilidade até ser consumido pelo animal.

3. MATERIAL E METÓDOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal (LABAN), pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), MG.

Foram utilizadas duas amostras de rações distintas, denominadas neste trabalho de Ração 1 e Ração 2, fornecidas pela Rede de Biotérios de Roedores (REBIR) da Universidade Federal de Uberlândia. As amostras foram congeladas em freezer horizontal a -15°C para a devida conservação dos nutrientes. Posteriormente, foram realizadas as análises de Umidade (UM%), Matéria Mineral (MM%) Proteína Bruta (PB%), Fibra Bruta (FB%) e Extrato Etéreo (EE%) seguindo a metodologia descrita por Detmann *et al.* (2021).

As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e moídas em moinho de facas do tipo Willey, em partículas de um milímetro. Foram realizadas sete repetições das análises propostas para cada ração avaliada (1 e 2). Para a obtenção dos nutrientes em relação à matéria seca, amostras de 2 gramas foram acondicionadas em 14 cadinhos devidamente numerados e pesados em balança analítica, sendo posteriormente alocadas na estufa a 105°C por 16 horas. Após esse período, as amostras juntamente com os cadinhos foram pesadas novamente para verificação do peso sem a influência da água presente na amostra.

Em amostras com baixo teor de umidade, como as utilizadas no presente estudo, a umidade é estimada com base apenas na amostra seca em estufa (ASE). Portanto, o teor de matéria seca corresponde ao valor encontrado na ASE (Detmann *et al.*, 2021). Para a obtenção do percentual da ASE, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\%ASE = \frac{(\text{Peso do cadinho} + \text{amostra seca}) - \text{peso do cadinho}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$$

A matéria seca é formada pela parte orgânica em conjunto com a parte inorgânica; deste modo, a estimativa do valor de matéria mineral é uma forma indireta de se obter os componentes orgânicos (Detmann *et al.*, 2021). Para os valores de matéria mineral, os cadinhos de porcelana foram pesados e, posteriormente, adicionados aproximadamente 2 gramas de amostra seca ao ar em cada cadinho, sendo então acondicionados na mufla, ajustada para a temperatura de 600°C por um

período de 4 horas. Após esse período, a mufla foi desligada e, após seu resfriamento, os cadinhos foram colocados no dessecador para serem pesados novamente. Para obtenção do percentual de matéria mineral (MM), foi utilizada a seguinte fórmula:0

$$\%MM_{ASA} = \frac{MM}{ASA} \times 100$$

Onde: %MM_{ASA}: Porcentagem de matéria mineral com base na amostra seca ao ar.

A principal característica que diferencia os compostos proteicos dos lipídios ou carboidratos é o fato de eles possuírem um grupamento amino que se liga ao carbono α dos aminoácidos (Detmann *et al.*, 2021). Sendo assim, há uma relação entre o teor de proteína e a concentração de nitrogênio presente no alimento (Detmann *et al.*, 2021). Deve-se mensurar o teor de nitrogênio da amostra e, por meio de um fator de conversão, transformar esse valor de nitrogênio (N) em teor de proteína bruta (Silva; Queiroz, 2005). Essa análise possui três etapas distintas: digestão, destilação e titulação. No entanto, segundo Detmann *et al.* (2021), é importante levar em consideração que 'embora todas as proteínas possuam N em sua composição, nem todo N presente na amostra se origina de compostos proteicos', pois alguns compostos, tanto orgânicos quanto inorgânicos, possuem N em sua constituição.

Para a etapa de digestão, foram utilizados quinze tubos de ensaio previamente limpos, secos e identificados; um tubo foi utilizado como branco, e em cada um dos outros catorze foram acondicionados aproximadamente 150 mg de amostra. Posteriormente, foram adicionados 2 gramas da mistura digestora e 5 mL de ácido sulfúrico. Os tubos foram colocados no bloco digestor dentro da capela, e a temperatura do bloco foi aumentada gradativamente até atingir 400°C. Quando a amostra mudou de coloração, o bloco e a capela foram desligados.

Na etapa de destilação, foram adicionados 10 mL de água destilada em cada amostra, e estas foram submetidas ao agitador do tipo vórtex para que os cristais fossem dissolvidos. Os tubos foram acondicionados no destilador, onde foram adicionados 25 mL de hidróxido de sódio. Um *erlenmeyer* com 10 mL de ácido bórico foi colocado de modo que ele recebesse a amônia que saía do destilador.

Na etapa de titulação, o líquido presente no *erlenmeyer* foi titulado com ácido clorídrico até que a coloração mudasse de verde para rosa claro. Para a obtenção do teor de PB, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\%N_{ASA} = \frac{(V - B) \times Ne \times f \times 14 \times 100}{ASA}$$

Onde: $\%N_{ASA}$ = Percentual de nitrogênio com base na amostra seca ao ar; V= Volume da solução de ácido clorídrico utilizado na titulação (mL); B= Volume de ácido clorídrico utilizado na titulação do branco (mL); Ne= Normalidade esperada da solução de ácido clorídrico; ASA= Massa de amostra seca ao ar.

Para a correção e a conversão do teor de nitrogênio obtido em níveis de proteína, foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$\%N_{MS} = \frac{\%N_{ASA}}{\%ASE} \times 100$$

$$\%PB_{MS} = \%N_{MS} \times 6,25$$

Onde: $\%N_{MS}$ = Percentual de nitrogênio com base na matéria seca; $\%ASE$ = Percentual de amostra seca em estufa; $\%PB_{MS}$ = Percentual de proteína bruta com base na matéria seca.

A gordura bruta possui substâncias apolares que são insolúveis em água, no entanto, solúveis em solventes (Detmann *et al.*, 2021). Alguns dos solventes mais utilizados são os éteres; devido a isso, o nome dado ao resíduo resultante do processo é extrato etéreo (Detmann *et al.*, 2021). Conhecer o teor de gordura na nutrição animal é extremamente importante, pois ela é a fração com maior nível de energia do alimento, podendo oferecer 2,25 vezes mais energia quando comparada ao carboidrato (Silva; Queiroz, 2005). Para a obtenção do valor de extrato etéreo (EE%), catorze amostras com aproximadamente 2 gramas foram acondicionadas em papel filtro devidamente identificados, sendo então levadas à estufa a 105 °C por 16 horas. Após o resfriamento, foram pesadas novamente.

Cada cartucho foi colocado em um tubo extrator, e aproximadamente 100 ml de éter de petróleo foram adicionados. Depois de montado, o Soxhlet permaneceu ligado por 4 horas após a ebulição do éter, para que a amostra fosse lavada até que toda a gordura presente fosse retirada. Após a extração, os cartuchos foram colocados

na estufa a 105 °C e posteriormente pesados. Para a obtenção do valor de extrato etéreo, foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$\%EE_{ASA} = \frac{EE}{ASA} \times 100$$

$$\%EE_{MS} = \frac{\%EE_{ASA}}{\%ASE} \times 100$$

Onde: %EE_{ASA}= Percentual de extrato etéreo com base na amostra seca ao ar; ASA= Massa de amostra seca ao ar (g); %EE_{MS}= Percentual de extrato etéreo com base na matéria seca; %ASE= Percentual de amostra seca em estufa.

A fibra bruta é o que resiste à digestão ácida e básica, sendo formada por frações de celulose e lignina (Silva; Queiroz, 2005). Para realizar a análise com o uso do saquinho filtrante, foi utilizado o tecido não tecido (TNT) com a gramatura de 100g/m² para confeccionar os saquinhos. Foram cortados retângulos com tamanho de 11 cm de comprimento e 6 cm de largura, sendo lavados em solução com detergente neutro em ebulição por 15 minutos e enxaguados três vezes em água destilada fervente. Após isso, foram lavados em acetona para que a goma do tecido fosse retirada, sendo então colocados em estufa ventilada a 60°C por 24 horas para secar. Os tecidos foram então selados em seladora, de modo a formar saquinhos com dimensões de 5 x 5 cm, que foram posteriormente identificados e colocados em estufa a 105°C por duas horas. Em seguida, foram colocados no dessecador por 40 minutos para esfriar e pesados para registrar o peso dos saquinhos. A quantidade de amostra por saquinho seguiu a relação de 20 mg de matéria seca por centímetro quadrado de superfície. Pela matéria seca das rações testadas, foram pesados aproximadamente 0,50 gramas, sendo anotadas as quatro casas decimais.

Os saquinhos foram acondicionados em um saco de tule e foi utilizado um peso no interior do saco para que as amostras não flutuassem no béquer (Deschamps, 1999). O saco foi colocado em um béquer de plástico com capacidade de 2 litros e adicionada uma solução de ácido sulfúrico a 1,25%, de modo que as amostras ficassem submersas, mantendo uma relação de 50 ml de solução por 0,5 g de amostra. O béquer foi tampado com papel alumínio e elástico para que não entrasse vapor. Em seguida, o béquer com as amostras foi colocado na autoclave, que, após ser fechada e ligada, foi programada para o ciclo de 30 minutos a uma temperatura

de 121°C, o que equivale a 1,1 Kgf/cm². Após esse período, o béquer foi retirado da autoclave, a solução ácida foi descartada e os saquinhos lavados três vezes com água destilada para que a solução ácida fosse completamente removida, sem coloração residual na água.

Logo após, os saquinhos utilizados na digestão ácida foram colocados dentro do saco de tule com o peso, e o mesmo foi colocado no béquer de plástico, sendo adicionada uma solução de hidróxido de sódio a 1,25%, de modo que as amostras ficassem submersas, mantendo uma relação de 50 ml de solução por 0,5 g de amostra. O béquer foi tampado com papel alumínio e elástico para evitar a entrada de vapor, e levado à autoclave, que foi programada para um ciclo de 30 minutos a 121°C, o que equivale a 1,1 Kgf/cm². Após esse período, a solução básica foi descartada e os saquinhos lavados três vezes com água destilada até que a solução básica fosse completamente removida, sem coloração residual na água.

Então, os saquinhos foram colocados em um béquer de 500 ml e foi adicionado álcool etílico absoluto, de modo que as amostras ficassem submersas. Após 5 minutos, o álcool foi descartado. Em seguida, foi adicionada acetona ao béquer, de modo que as amostras ficassem submersas. Após 5 minutos, a acetona foi descartada. Os saquinhos foram espremidos para a retirada do excesso de acetona e levados à estufa ventilada a 60°C durante 24 horas. Logo após esse período, os saquinhos foram levados à estufa a 105°C, onde permaneceram por 2 horas, sendo então colocados no dessecador por 40 minutos para esfriar. Após esse período, os saquinhos foram pesados em balança analítica para obtenção do peso do resíduo insolúvel da fibra bruta mais o saquinho.

Os saquinhos contendo o resíduo insolúvel da fibra bruta foram colocados em um cadinho de porcelana previamente seco, limpo e identificado. Foram levados à mufla, onde ocorreu a queima a uma temperatura de 600°C durante 4 horas. Ao fim desse período, a mufla foi desligada e, após a diminuição da temperatura, os cadinhos com as cinzas foram levados ao dessecador para posterior pesagem na balança analítica.

Para obtenção dos teores de fibra bruta (FB), foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\%FB = \frac{\{[(\text{peso do cadinho+saco+residuo FB})-(\text{peso do cadinho+cinzas})]-\text{peso do sacco}\}}{\text{peso da amostra (g)}} \times 100$$

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com dois tratamentos (Ração 1 e Ração 2) e sete repetições em cada tratamento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de garantia e os valores nutricionais médios determinados de umidade, matéria mineral, proteína bruta, fibra bruta e extrato etéreo das rações 1 e 2 estão descritos na Tabela 2.

Nos valores especificados nos rótulos, aqueles parâmetros que, quando em excesso, podem prejudicar a qualidade da ração possuem limites máximos, como a umidade, a matéria mineral e a fibra bruta. Já os componentes cuja carência pode causar prejuízo ao animal possuem limites mínimos, como o extrato etéreo e a proteína bruta (Carpim, 2008).

Tabela 2 - Níveis de garantia e valores nutricionais médios determinados das rações comerciais para ratos e camundongos.

*	Ração 1 ^D	Ração 1 (N.G.) ^d	Ração 2 ^E	Ração 2 (N.G.) ^e	Des. Pad.1 ^a	C. V.1 (%) ^b	Des. Pad.2 ^A	C.V.2 (%) ^B
Umid. (%)	7,96	12,00	9,94	12,50	2,02	20,65	1,28	11,48
M.M.(%)	6,62	5,60	7,28	9,00	0,51	8,38	0,86	10,59
P.B.(%)	21,44	18,00	22,01	22,00	1,72	8,75	0,00	0,02
F.B. (%)	9,18	5,00	10,22	7,00	2,09	30,87	1,61	19,02
E.E. (%)	5,75	5,00	4,93	5,00	0,37	6,96	0,03	0,68

*Níveis determinados: Umidade (Umid.), Matéria Mineral (M.M.), Proteína Bruta (P.B.), Fibra Bruta (F.B.) e Extrato Etéreo (E.E.) em porcentagem; ^D Ração comercial 1 média determinada em laboratório; ^d Ração comercial 1 níveis de garantia fabricante (N.G.); ^E Ração comercial 2 média determinada em laboratório; ^e Ração comercial 2 níveis de garantia fabricante (N.G.); ^a Desvio padrão médio ração comercial 1; ^b Coeficiente de variação ração comercial 1; ^A Desvio padrão médio ração comercial 2; ^B Coeficiente de variação ração comercial 2;

Na ração 1, o teor médio de umidade encontrado foi de 7,96% já o valor especificado no rotulo é de 12% gerando assim um coeficiente de variação de 20,65% entre o valor determinado e os níveis de garantia especificados pelo fabricante. Na

ração 2 o valor médio de umidade determinado foi 9,94% enquanto os níveis de garantia indicam 12,50% levando a um coeficiente de variação entre o rótulo e o determinado em laboratório de 11,48%. Durante o processo de peletização, a secagem tem o objetivo de diminuir a umidade para 12 a 14%, evitando assim fratura dos péletes ou problemas sanitários (Francisco, 2007).

O alto teor de umidade após esse processo pode degradar a própria estrutura do pélete, além de favorecer o desenvolvimento de fungos e a produção de micotoxinas fúngicas, levando à deterioração da ração (Custódio *et al.*, 2005).

O valor médio de M.M. encontrado na Ração 1 foi 6,62% já o especificado pelo fabricante é de no máximo 5,60% gerando um coeficiente de variação entre o rotulo e o determinado em laboratório de 8,38% acima do indicado no rótulo do fabricante. O alto teor de M.M. na ração pode ser causado por diversos fatores, estando associado ao uso de farinha de carne e ossos, que possui um elevado teor de M.M. devido à proporção entre ossos e carne. A farinha de vísceras de frango também é um ingrediente utilizado na alimentação de monogástricos, cuja qualidade pode ser avaliada por meio de alguns parâmetros. A F.B. indica a presença de alimento no trato gastrointestinal no momento do abate e tem correlação com o período de jejum. Já a M.M. e a P.B. possuem uma correlação antagônica (Silva *et al.*, 2011). Assim, o excesso de M.M. na ração pode indicar a qualidade da proteína dos ingredientes de origem animal (Parsons; Castanon; Han, 1997). Na Ração 2, o teor de M.M. encontrado foi de 7,28% e o determinado pelo fabricante como teor máximo foi 9,0% gerando uma variação de 10,59% de coeficiente de variação entre o rótulo e o determinado em laboratório, abaixo do especificado.

O teor de P.B. determinado da Ração 1 foi 21,44% já o valor máximo especificado no rotulo é de 18% obtendo como coeficiente de variação entre o rotulo e o determinado em laboratório o valor de 8,75%, acima do especificado. A exigência nutricional dos animais varia de acordo com a idade ou estado fisiológico. Com base nessa premissa, em determinadas fases como crescimento, reprodução ou lactação, ratos e camundongos necessitam de maior aporte de aminoácidos, enquanto na fase de manutenção ou gestação essa necessidade diminui. A redução da P.B. na dieta, com o uso de aminoácidos, pode diminuir o custo de produção, especialmente quando os ingredientes proteicos estão com o valor elevado. O próprio metabolismo envolvido na eliminação do nitrogênio advindo do excesso de proteína leva a um gasto calórico

que poderia ser evitado (Neto *et al.*, 2009). Em estudo realizado por Almeida *et al.* (2011) com suínos, ao fornecerem lisina em níveis acima do recomendado, observou-se o aumento nos níveis de ureia no sangue dos animais, mecanismo pelo qual o organismo elimina o excesso de nitrogênio. Na Ração 2 o valor determinado foi de 22,01% e o valor especificado no rótulo é de 22% apresentando assim um coeficiente de variação entre o valor do rótulo e o determinado em laboratório de 0,02% maior do que o indicado.

O teor de F.B. encontrado na Ração 1 foi de 9,18% e o teor indicado pelo fabricante é de 5% gerando um coeficiente de variação entre o rótulo e o determinado em laboratório de 30,87% acima do indicado no rótulo do fabricante, já na Ração 2 o valor encontrado foi de 10,22% e o especificado pelo fabricante era de 7% obtendo um coeficiente de variação entre o rótulo e o determinado de 19,02% acima do especificado. Os valores encontrados estão consideravelmente acima do recomendado para as espécies às quais as rações são destinadas. A fibra bruta é de suma importância para a manutenção da saúde intestinal, porém a alta inclusão de farelos vegetais pode elevar o teor de fibra além do recomendado, comprometendo a digestão e a absorção de nutrientes e energia (Earle *et al.*, 1998). Dietas com alto teor de fibra se tornam diluídas, exigindo que o animal aumente o consumo de alimento para compensar o menor aporte de energia (Lee; Gulliver; Morris, 1971). Warpechowski e Ciocca (2002), em estudo com frangos de corte, concluíram que esse aumento no consumo está relacionado ao aumento da taxa de passagem devido ao maior teor de fibra insolúvel. Essa redução no tempo de trânsito faz com que a digesta tenha menor contato com as enzimas, o que diminui a digestibilidade do alimento (Oliveira, 2019).

O valor de E.E. encontrado na Ração 1 foi de 5,57% já o valor mínimo indicado no rótulo é de 5% levando a um coeficiente de variação entre o rótulo e o determinado de 6,96% acima do indicado, enquanto na Ração 2 o valor encontrado foi de 4,93% já o especificado pelo fabricante é de 5% gerando um coeficiente de variação entre o valor determinado e o especificado no rótulo de 0,68% abaixo do especificado pelo fabricante. Pimenta *et al.* (2003), em estudo com leitões submetidos a dietas com diferentes níveis de inclusão de gordura, observaram que os animais que receberam dieta com menor teor de gordura tiveram maior consumo diário de ração e menor ganho de peso. Isso ocorre porque a energia da ração é um regulador de consumo;

portanto, rações com maiores teores de energia exigem que o animal consuma uma menor quantidade para atingir sua demanda energética diária.

É importante salientar que de acordo com o Art. 4 da Instrução Normativa 22/2009, de 2 de junho de 2009:

Art. 4 A embalagem, a rotulagem e a propaganda dos produtos destinados a alimentação animal devem assegurar informações corretas, claras, precisas, ostensivas e em português sobre suas características, qualidades, quantidade, composição, garantia, prazo de validade e origem, e sobre possíveis danos à saúde humana. (BRASIL, 2009)

Sabendo que a qualidade nutricional influencia a escolha de cada instituição de pesquisa sobre qual ração fornecer aos animais, as informações, como os níveis nutricionais contidos no rótulo, devem estar corretas. Como as amostras utilizadas para o presente trabalho foram coletadas de apenas um saco das respectivas fabricantes, seriam necessários novos estudos com amostras de sacos e lotes diversos para que, assim, as amostras sejam mais representativas.

5. CONCLUSÃO

Os valores determinados das amostras de rações dos lotes analisados neste trabalho destinadas a ratos e camundongos de biotério não estão em conformidade com os níveis de garantia estabelecidos pelos fabricantes.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E. C.; ZANGERONIMO, M. G.; FIALHO, E. T.; CANTARELLI, V. S.; WOLP, R. C.; RODRIGUES, V. V. Desempenho e balanço de nitrogênio de suínos em terminação que receberam dieta restrita ou à vontade, com diferentes teores de lisina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1519–1525, 2011.
- ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: FIOCRUZ, 2002.
- ARAÚJO, L. F.; ZANETTI, M. A. **Nutrição animal**. 1. ed. [s.l.] Manole, 2019.
- CARPIM, W. G. Qualidade nutricional de rações secas para cães adultos comercializadas em Rio Verde-GO. **PUBVET**, v. 2, n. 36, 2 set. 2008.
- CHIROLI, D. M. G.; PUGLER, M. M.; CALLEFI, M. H. B. M.; DZULINSKI, A. C. Implantação do gerenciamento da rotina em uma fábrica de ração para aves. **Revista Gestão Industrial**, v. 14, n. 2, p. 23–42, abr. 2018.
- CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 11–23, 17 jul. 2007.
- COUTO, H. P. **Fabricação de rações e suplementos para animais: gerenciamento e tecnologias**. 2. ed. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2012.
- CUSTÓDIO, D. P.; BRANDSTETTER, E. V.; OLIVEIRA, I. P.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, K. J. G.; MACHADO, O. F.; ARAUJO, A. A. Ração: alimento animal perecível. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n. 2, p. 131–147, nov. 2005.
- DALCIN, G. **Quantificação e análise das emissões de gases de efeito estufa em processos da cadeia avícola**. Dissertação (Mestrado)—Lajeado, RS: Universidade do vale do taquari - UNIVATES, dez. 2018.
- DESCHAMPS, F. C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 6, p. 1358–1369, 1999.
- DETMANN, E.; SILVA, L. F. C.; ROCHA, G. C.; PALMA, M. N. N.; RODRIGUES, J. P. P. **Métodos para análise de alimentos**. 2. ed. [s.l.] Produção independente, 2021.
- EARLE, K. E.; KIENZLE, E.; OPITZ, B.; SMITH, P. M.; MASKELL, I. E. Fiber affects digestibility of organic matter and energy in pet foods. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 12, p. 2798S-2800S, 1998.
- HARKNESS, J. E.; TURNER, P. V.; VANDEWOUDE, S.; WHELER, C. L. **Biology and Medicine of Rabbits and Rodents**. 5. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.

LEE, P. J. W.; GULLIVER, A. L.; MORRIS, T. R. A quantitative analysis of the literature concerning the restricted feeding of growing pullets. **British Poultry Science**, v. 12, n. 4, p. 413–437, 8 out. 1971.

LEITE, J. L. B. **Influência da peletização sobre a adição de enzimas e vitaminas em rações para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade**. Dissertação—Lavras - MG: Universidade Federal de Lavras, jul. 2006.

MASSUQUETTO, A. **Avaliação da forma física da dieta e do tempo de condicionamento no processo de peletização de dietas para frangos de corte**. Dissertação (Mestrado)—Curitiba, PR: Universidade Federal do Paraná, 2014.

MOREIRA, V. B. **Eficiência reprodutiva de camundongos endogâmicos balb/c em diferentes idades de acasalamento, com ou sem enriquecimento ambiental**. Mestrado—Botucatu, SP: Universidade Estadual Paulista, 2011.

MOURA, A. M. A. Nutrição de roedores de laboratório: Paradigmas e desafios. **RESBCAL**, v. 2, n. 4, p. 288–296, ago. 2014.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL; SUBCOMMITTEE ON LABORATORY ANIMAL NUTRITION; COMMITTEE ON ANIMAL NUTRITION; BOARD ON AGRICULTURE. **Nutrient Requirements of Laboratory Animals**. 4. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, 1995.

NETO, M. A. T.; BERTO, D. A.; ALBUQUERQUE, R.; SCHAMMASS, E. A.; MIGUEL, W. C.; Níveis de proteína em dietas de suínos em fase de crescimento e terminação. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 6, p. 474–483, 2009.

OLIVEIRA, N. R. **Níveis de fibra solúvel e insolúvel para aves de crescimento lento na fase inicial de criação**. Dissertação—Rio Verde: Instituto Federal Goiano, 2019.

PARSONS, C. M.; CASTANON, F.; HAN, Y. Protein and amino acid quality of meat and bone meal. **Poultry Science**, v. 76, n. 2, p. 361–368, fev. 1997.

PIMENTA, M. E. S. G.; LIMA, J. A. F.; FIALHO, E. T.; LOGATO, P. V. R.; MURGAS, L. D. S.; BERTECHINI, A. G. Diferentes fontes e níveis de lipídeos no desempenho de leitões pós-desmame. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1130–1137, out. 2003.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. v. 2

SILVA, E. I. C. **Formulação e fabricação de rações para ruminantes: Bovinos, caprinos e ovinos**. Belo jardim, PE: [s.n.]. v. 1

SILVA, E. P.; LIMA, M. B.; RABELLO, C. B. V.; LUDKE, J. V.; ALBINO, L. F. T.; SAKOMURA, N. K. Aspectos nutricionais de farinhas de vísceras de aves e sua

utilização em rações de frangos de corte. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 5, n. 2, p. 108–118, 2011.

WARPECHOWSKI, M. B.; CIOCCA, M. L. S. Effect of dietary insoluble fiber on retention of solid and liquid phases of digest of intact, cecectomized and ileum fistulated broiler. In: **POULTRY SCIENCE ASSOCIATION MEETING**. 2002. p. 76.