

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

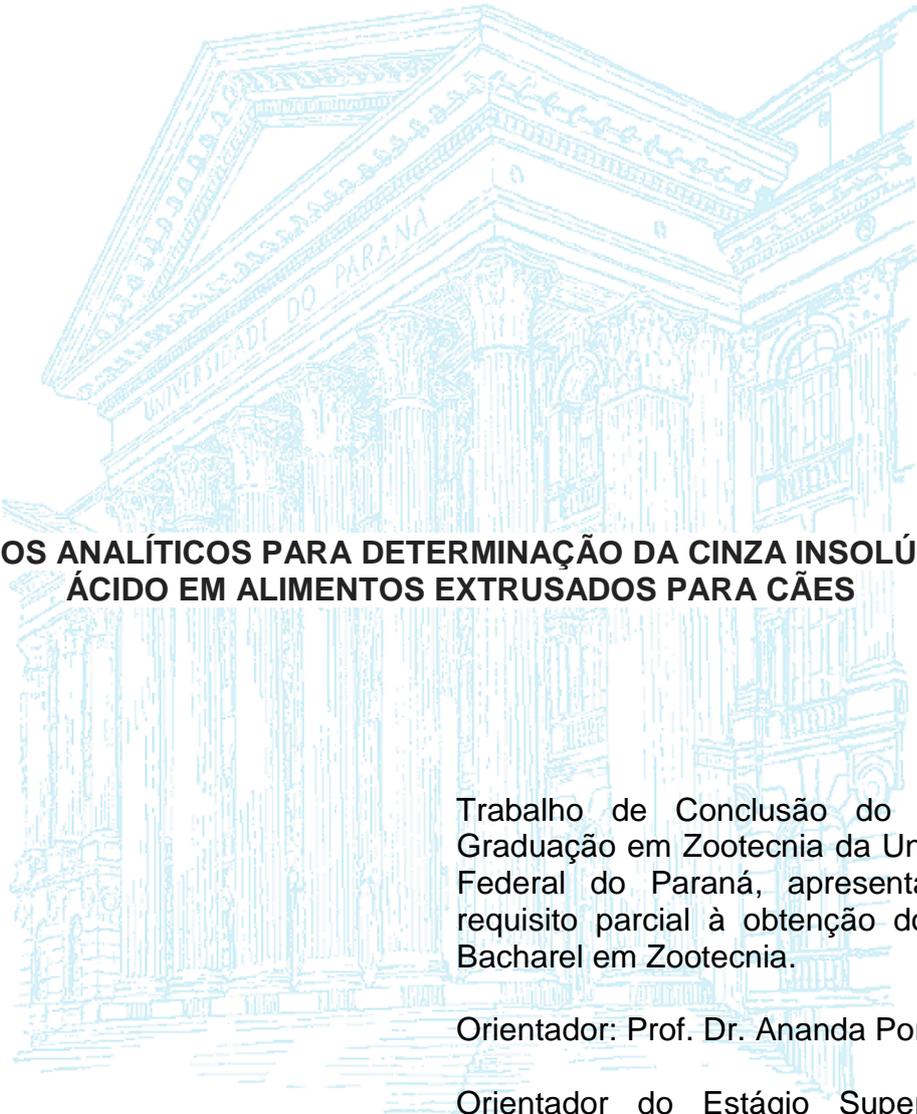
CURSO DE ZOOTECNIA

FABIANA MÁRCIA DA SILVA

**MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DA CINZA INSOLÚVEL EM
ÁCIDO EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES**

**CURITIBA
2013**

FABIANA MÁRCIA DA SILVA



**MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DA CINZA INSOLÚVEL EM
ÁCIDO EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Paraná, apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Ananda Portela Félix

Orientador do Estágio Supervisionado:
Cleusa Bernardete Marcon
de Brito. Zootecnista.

**CURITIBA
2013**

TERMO DE APROVAÇÃO

FABIANA MÁRCIA DA SILVA

MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DA CINZA INSOLÚVEL EM
ÁCIDO EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES

Trabalho de conclusão de curso aprovado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia pela Universidade Federal do Paraná.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Ananda Portela Félix
Departamento de Zootecnia
Presidente da Banca

Prof. Dr. Alex Maiorka
Departamento de Zootecnia

Prof^a. Dra. Simone Gisele de Oliveira
Departamento de Zootecnia

Curitiba
2013

***A todos os animais que participaram da minha jornada de vida.
Dedico***

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me dar de presente pessoas maravilhosas que cruzaram meu caminho e o maior de todos: o presente da VIDA;

Aos meus pais, por ser o início de tudo e ter dado a herança que hoje eu sou;

A minha mãe, que tantas vezes me ligava para que eu tivesse forças e mostrava seu orgulho por ser minha mãe. MÃE EU AMO VOCÊ e queria que você estivesse aqui;

A meu companheiro e amor Daniel, pela ajuda, incentivo e compreensão pelas horas e momentos da minha ausência, eu sei que não foi fácil e muitas vezes você esteve só;

Aos meus irmãos de sangue e do coração que ajudaram de alguma forma nessa minha caminhada;

Aos meus amigos, que muitas vezes não tiveram minha presença, que agüentaram minhas lamentações em tempos de dor e desânimo. Obrigada de todo coração. Meus dias foram menos cinzas com suas presenças.

A minha amiga Lidiane, pelos momentos de riso e choro, de noitadas fazendo trabalhos e madrugadas estudando. AMIGA você foi essencial para tornar os meus dias mais leves. Vou carregar você no meu coração de uma maneira sublime;

A minha orientadora Ananda P. Félix, pela confiança, paciência e dedicação. Meu OBRIGADO mais sincero e em letras garrafais.

A Cleusa Brito, minha supervisora de estágio, pelos anos de ensinamentos, conselhos que muitas vezes me trouxe acalento nos dias “menos bons” e dividir comigo seu tempo;

Aos técnicos, estagiários e profissionais do LNA e LENUCAN, pela ajuda, divisão de trabalho e sorrisos nos momentos de descontração;

A todos os colegas de curso, sendo que alguns se tornaram amigos: Ingrid Menegusso, Carol Mohr, Gabriel Wernek, Everaldo e Ismaína meu eterno agradecimento pela caminhada acadêmica e de vida;

A todos os animais que um dia passaram pelo meu convívio, me mostrando a sublime forma de viver;

Aos meus cães, meus bebês: Persephane e Cloe pela demonstração de carinho real e presencial, por me mostrar o verdadeiro amor sem me cobrar nada em troca;

E por fim, a todos que direta ou indiretamente acrescentaram um pouco de si em mim e levou um pouco do meu eu consigo.

***“Dirige os meus passos nos teus caminhos, para que as minhas pegadas não
vacilem
Guarda-me Senhor como a menina do olho; esconde-me debaixo da sombra
das tuas asas”***

Salmo 17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias e variâncias do teor de cinza insolúvel em ácido (CIA) de dietas contendo crescentes níveis de sílica avaliada por diferentes metodologias.....	25
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CDA - coeficiente de digestibilidade aparente

CIA - cinza insolúvel em ácido

Q - Cochran

EB - energia bruta

EM - energia metabolizável

EMA - energia metabolizável aparente

FB - fibra bruta

FDA - fibra detergente ácido

FDN - fibra detergente neutro

HCl - ácido clorídrico

LNA - laboratório de nutrição animal

N - nitrogênio

NIRs - near infrared spectroscopy

PB - proteína bruta

UFPR - Universidade Federal do Paraná

2N - dois normal

4N - quatro normal

°C - grau centígrado

% - porcentagem

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVO	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1. ENSAIOS DE DIGESTIBILIDADE EM CÃES	14
3.2. MÉTODO DA COLETA TOTAL DE FEZES OU DIRETO	14
3.3. MÉTODO PARCIAL DE COLETA OU INDIRETO	15
3.3.1. <i>Indicadores externos</i>	16
3.3.2. <i>Indicadores internos</i>	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1. DIETA EXPERIMENTAL	22
4.2. ANÁLISES LABORATORIAIS	22
4.2.1. <i>1º Procedimento (HCl Concentrado)</i>	22
4.2.2. <i>2º Procedimento (HCl 4N)</i>	23
4.2.3. <i>3º Procedimento (HCl 2N)</i>	23
4.2.4. <i>4º Procedimento (Tradicional)</i>	23
4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÃO	27
7. RELATÓRIO DE ESTÁGIO	28
7.1. PLANO DE ESTÁGIO	28
7.2. EMPRESA.....	28
7.3. ATIVIDADES E ANÁLISES REALIZADAS	28
7.3.1. <i>Moagem</i>	28
7.3.2. <i>Pesagem</i>	29
7.3.3. <i>Umidade</i>	29
7.3.4. <i>Resíduo mineral</i>	29
7.3.5. <i>Cinza insolúvel em ácido</i>	29
7.3.6. <i>NIRs (Near Infrared Spectroscopy System)</i>	29
7.3.7. <i>FDA e FDN</i>	29
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS	32
ANEXOS	37
ANEXO 1. TERMO DE COMPROMISSO.....	37
ANEXO 2. PLANO DE ESTÁGIO.....	38
ANEXO 3. FICHA DE CONTROLE DE FREQUÊNCIA.	39
ANEXO 4. FICHA DE AVALIAÇÃO DO ESTÁGIO.	42

RESUMO

O conhecimento apenas dos níveis nutricionais apresentados no rótulo dos alimentos comerciais para cães não apresentam o quanto os nutrientes realmente são absorvidos pelo organismo. Os ensaios de digestibilidade usando as metodologias dos indicadores diretos e indiretos são uma boa alternativa para se mensurar o teor nutricional dos alimentos potencialmente aproveitados pelos cães. É de grande importância a avaliação dos diferentes métodos analíticos dos indicadores, levando em consideração os custos financeiros, tempo de análise, etapas de execução, margens de erros e confiabilidade do método. A cinza insolúvel em ácido (CIA) é um indicador indireto bastante usado e que possui muitas vantagens em comparação ao método de coleta total de fezes (método direto), visto a praticidade em seu uso e dinâmica do tempo. O estágio curricular foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), responsável pela recepção e análises químicas e físicas de amostras de matérias-primas, rações e fezes de animais. Durante o estágio foram comparadas quatro metodologias de CIA em alimentos extrusados para cães. Conclui-se que o método convencional usado no LNA da UFPR é o mais indicado em função da sua praticidade, exatidão e repetibilidade. O estágio concedeu a oportunidade de realização e acompanhamento da rotina em análises bromatológicas e a importância dessa área na formação profissional do Zootecnista.

Palavras-chaves: Cães, CIA, digestibilidade, indicadores.

1. INTRODUÇÃO

Os alimentos comerciais para cães possuem em seus rótulos valores mínimos e máximos para determinados componentes nutricionais. Entretanto, não apresentam dados referentes à sua digestibilidade, sendo necessária a associação da avaliação *in vivo* com métodos analíticos para determinar esses valores. A determinação da digestibilidade dos alimentos pode ser realizada por meio de dois procedimentos básicos: o método direto (coleta total de fezes) e o método indireto (uso de indicadores).

O método direto requer controle rigoroso na ingestão dos alimentos e excreção, tornando assim uma análise mais complicada, além da dificuldade de se obter uma amostra confiável para análise, por fatores como: contaminação do ambiente externo e perda de excretas durante a coleta. Já no método indireto, as coletas podem ser parciais e são feitas em menor tempo, sendo a digestibilidade calculado por meio de indicadores (KOBT E LUCKEY, 1972).

Indicadores são compostos indigestíveis, inerentes aos alimentos (internos) ou adicionados a eles (externos) que não são absorvidos pelo trato gastrointestinal dos animais (OWENS e HANSON, 1992).

Entre os indicadores externos, o óxido crômico é amplamente utilizado em ensaios de digestibilidade com a espécie canina (Lloyd e McCay, 1954; Andreasi, 1956). Entretanto esse composto possui algumas limitações em seu uso, como propriedades com potencial cancerígeno, influência no consumo do alimento, entre outros. Enquanto entre os indicadores internos, tem-se a utilização da fibra bruta (FB) e da fibra em detergente ácido (FDA) para cães (CARCIOFI et al., 1998).

A cinza insolúvel em ácido também é um indicador utilizado na determinação da digestibilidade de dietas para cães. A CIA pode ser um indicador externo e/ou interno, já que pode ser adicionada à dieta na sua forma purificada (Celite®, terra diatomacia), além de estar presente naturalmente em ingredientes de origem vegetal. No entanto, em virtude das diferenças obtidas nos teores de CIA por

diferentes métodos analíticos, estudos relatam que a CIA pode superestimar a digestibilidade da dieta. Em pequenos ruminantes, Van Keulen e Young (1977), mostrou que o método CIA forneceu estimativas superiores de digestibilidade. Em estudo realizado com cães, o indicador CIA superestimou a digestibilidade das dietas contendo farinha de vísceras de aves (Félix, 2011). Assim, o estudo de métodos analíticos que reduzam os erros de análise da CIA são importantes para melhorar a estimativa da digestibilidade de alimentos em cães. Além disso, a escolha pelas análises desse indicador para a digestibilidade possui alguns fatores de extrema importância comparados aos métodos diretos, como: menor tempo de execução da metodologia pelos laboratórios de bromatologia, menos possibilidade de contaminação, menor quantidade com reagentes na elaboração da análise entre outros, levando a menores custos financeiros e maior confiabilidade nos resultados. A realização da comparação entre metodologias de determinação de CIA nesse presente trabalho de conclusão de curso objetivou avaliar o melhor e mais confiável método desse indicador em alimentos extrusados para cães.

2. OBJETIVO

Discutir e comparar diferentes métodos analíticos de determinação da CIA em alimentos extrusados para cães.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Ensaio de digestibilidade em cães

O Brasil é um dos grandes produtores de alimentos comerciais para animais de companhia, levando a grande variedade de produtos, com distintas qualidades. Embora exista muita propaganda nutricional destes alimentos, há poucas informações a respeito da digestibilidade dos mesmos (KROGDAHL et al., 2004).

A digestibilidade é uma das variáveis para mensuração do teor nutricional dos alimentos consumidos pelos cães, existindo diferentes métodos para essa determinação.

A seguir serão descritos alguns métodos utilizados para essa avaliação e a utilização da CIA, objeto de estudo do presente trabalho de conclusão de curso.

3.2. Método da coleta total de fezes ou direto

A metodologia consiste em mensurar todo o consumo de alimento, de fezes e urina dos cães ou excretas (no caso de aves) que os animais produziram durante um período de tempo para a determinação da digestibilidade das frações nutricionais e energia metabolizável da ração. Esse método foi descrito por Sibbald e Slinger (1963). Os animais passam por um período de adaptação de pelo menos cinco dias, seguidos de três a cinco dias de mensuração do alimento ingerido e do excretado (GRÖNER e PFEFFER, 1997; SILVIO et al. 2000; CAVALARI et al., 2006).

A Associação Americana de Controladores de Alimentos (AAFCO, 1992), afirma que o alimento deve ser oferecido pelo menos uma vez ao dia, numa quantidade equivalente para manter o peso corporal e as funções de manutenção dos cães.

Desse modo, se utiliza a equação de coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para o cálculo: $CDA (\%) = [(g \text{ nutriente ingerido} - g \text{ nutriente excretado}) \times 100 / (g \text{ nutriente ingerido})]$.

Segundo a AAFCO (2004), a energia metabolizável (EM) pode ser mensurada sem a coleta de urina por meio de um fator de correção: $EM (kcal/g) = \{kcal/g \text{ EB ingerida} - kcal/g \text{ EB excretada nas fezes} - [(g \text{ PB ingerida} - g \text{ PB excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal/g}]\} / g \text{ ração ingerida}$.

Uma das vantagens do método é a representatividade dos dados e a confiabilidade dos mesmos, levando a bons resultados. Em contra ponto, há limitações, sendo um método que requer controle rigoroso na ingestão dos alimentos e excreção, o que torna a metodologia trabalhosa, além na dificuldade de obter uma amostra confiável para análise, principalmente pelo fator de contaminação por fatores externos do ambiente e perda de excretas durante a coleta.

Mesmo sendo um método amplamente utilizado ainda não existe um padrão que seja seguido por todos os pesquisadores (AVILA et al., 2006).

3.3. Método parcial de coleta ou indireto

Uma alternativa ao método tradicional de coleta total de fezes foi desenvolvida para mensurar a digestibilidade por meio de substâncias denominadas indicadores ou substâncias índice.

Segundo a Associação Americana de Controladores de Alimentos (AAFCO, 2004), o método dos indicadores pode ser realizado em menor período (cinco dias de adaptação e três dias de coleta de fezes para cães).

Essa metodologia indireta consiste na utilização de uma substância não digerível que possibilite sua recuperação quantitativa nas fezes (OWENS e HANSON, 1992).

Um bom indicador é caracterizado por uma substância inerte no sistema gastrointestinal, conhecida, não tóxica, inalterada pela passagem pelo intestino, que não exerça influencia sobre os processos fisiológicos do trato digestório, não se associe em outros ingredientes, seja totalmente recuperado nas excretas e que tenha facilidade nas análises laboratoriais (KOBT e LUCKEY, 1972).

Entretanto, em princípio, nenhum dos indicadores atualmente utilizados satisfaz todas essas premissas (OWENS e HANSON, 1992).

A classificação dessas substâncias inertes pode ser mencionada como dois grupos: indicadores internos e externos.

3.3.1. Indicadores externos

Os indicadores externos são considerados assim por serem adicionados à dieta, sendo em alguns casos administrados aos animais (VASCONSELLOS et al., 2006; SOUZA et al., 2007).

Os mais utilizados são o óxido crômico, dióxido de titânio, lignina modificada do eucalipto, entre outros.

3.3.1.1. Óxido crômico

O óxido crômico tem sido o mais amplamente utilizado em estudos de digestão. Entretanto, por apresentar passagem pelo trato gastrointestinal distinta daquela dos constituintes dos alimentos e, devido à variação diurna na excreção fecal, torna-se necessária a obtenção de coletas mais freqüentes (TITGEMEYER, 1997).

Em gatos domésticos, o óxido crômico tem sido o indicador mais utilizado na avaliação da digestibilidade e taxa de passagem dos alimentos pelo trato digestório (PENCOVIC e MORRIS, 1975; HENDRIKS et al., 1996; PEACHEY, 2000).

Esse indicador também é o mais utilizado em estudos com cães (Harmon, 2007). Porém apresenta limitações quanto ao seu uso, tais como taxas de recuperação variáveis, dependendo da composição do alimento; propriedades carcinogênicas; oxidação de gorduras insaturadas presentes na dieta; influência negativa no consumo de alimento pelos animais e valores encontrados podem variar dependendo do método analítico utilizado (SALES e JANSSENS, 2003; HARMON, 2007).

Hill et al. (1996) observaram em seu estudo que a recuperação fecal do óxido crômico (87%) foi significativamente menor que a recuperação ileal (94%) em cães.

3.3.1.2. Dióxido de titânio

Possui características semelhantes ao óxido crômico, porém é mais utilizado em trabalhos com ruminantes (FERREIRA et al., 2009, TITGEMEYER et al., 2001). Em aves, Short et al. (1996) utilizaram esse indicador em estudos de digestibilidade com frangos, concluindo que é um método preciso e relativamente simples. Em cães, não foram encontrados trabalhos que avaliassem esse indicador.

3.3.1.3. Lignina modificada de eucalipto

Baseado no composto fenólico lignina, essa substância é extraída do eucalipto (*Eucalyptus grandis*).

Um trabalho realizado por Lanzetta et al. (2009) utilizando o indicador lignina modificada demonstrou que esse indicador é eficiente para avaliar digestibilidade em equinos e conclui que pode ser utilizado em substituição ao método de coleta total das fezes. Esse indicador também é usado em estudos com aves e ruminantes. Em cães, a lignina modificada do eucalipto demonstrou ser um indicador eficaz na determinação de coeficientes de digestibilidade de aminoácidos essenciais para farinha de vísceras (BORTOLO, 2008). Saliba et al., (1999), concluíram que esta lignina possuía características estruturais e físico-químicas altamente estáveis no trato gastrointestinal dos animais e totalmente recuperada nas fezes. Assim, surgiu a possibilidade da utilização da lignina modificada em eucalipto como indicador para testes de digestibilidade nos animais. No entanto, exige uma análise muito específica para a sua determinação, não sendo prático de ser utilizada.

3.3.2. Indicadores internos

Os indicadores internos apresentam a vantagem de já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem uniformemente distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção (PIAGGIO et al., 1991). Esse método tem mostrado eficácia na determinação da digestibilidade em aves, suínos e cães (CARCIOFI et al., 1998).

Quanto ao uso da lignina, inerente nos alimentos vegetais recuperações positivas e incompletas foram reportadas por Muntifering (1982) e Fahey e Jung (1983). Assim, a FB e o FDA tem sido mais utilizados como indicadores internos.

3.3.2.1. Fibra bruta (FB)

É uma fração encontrada naturalmente em ingredientes de origem vegetal, um resíduo insolúvel obtido por meio de fervura da amostra com ácido e álcali, sendo sua composição: celulose, lignina e parte da hemicelulose insolúvel (AOAC, 1995).

Segundo Sales & Jansen (2003), alguns erros no resultado da digestibilidade em aves pode ocorrer pela possibilidade de fermentação de alguns componentes pela microbiota intestinal desses animais. Carciofi et al. (1998) observaram que a FB pode ser utilizada para estimar a digestibilidade dos alimentos em gatos, não diferenciando dos resultados obtidos com a coleta total de fezes.

Em cães, a FB pode ser um indicador usado para a espécie, já que eles possuem menor capacidade fermentativa do intestino grosso, diminuindo os erros nos resultados. Félix (2011) também demonstra que a FB foi efetiva na determinação dos CDA de dietas com fontes protéicas e enzima β -mananase em experimento com cães.

3.3.2.2. Fibra em detergente ácido (FDA)

A FDA consiste no resíduo insolúvel após a fervura da amostra em bromo-cetil-trimetilamônio, sendo constituída principalmente de lignina, celulose, N lignificado, cutina e sílica (Van Soest, 1987), sendo um componente presente naturalmente nos alimentos de origem vegetal e conseqüentemente na composição das rações comerciais para cães e gatos. Segundo Rostagno et al. (2011) o milho contem 3,38% de FDA, enquanto o farelo de soja (45%) possui 8,07%.

Carciofi et al. (1998) encontraram taxa de recuperação de FDA próximas a 100% em gatos. Portanto, o FDA é um indicador natural de digestão tanto para gatos como para cães.

3.3.2.3. Lignina

Composto bastante utilizado como indicador interno, mas, devido à indefinição de sua composição química e conseqüente variação dos resultados de

análises, tem apresentado estimativas variáveis dos coeficientes de digestibilidade (FAHEY e JUNG, 1983).

Entre as razões que explicam a recuperação incompleta da lignina, encontram-se a idade da planta e técnicas laboratoriais (Carvalho et al., 1992); diferenciação dos monômeros fenólicos da lignina original; digestão aparente obtida pela formação de complexos solúveis lignina-carboidratos; destruição da lignina fecal pelos reagentes utilizados nos métodos analíticos; e diferenças físicas e/ou químicas entre os alimentos e as fezes de natureza do material definido como lignina (MUNTIFERING, 1982).

Entretanto, em estudo realizado por Berchielli et al. (2000), utilizando indicadores internos como a lignina na estimativa da digestibilidade, foi relatado resultados semelhantes aos da coleta total de fezes. Do mesmo modo outros trabalhos relatam a lignina como sendo um bom indicador (SHERROD et al., 1978; SEIN e TODD, 1988; PIAGGIO et al., 1991). Os alimentos comerciais para espécies como cães e gatos apresentam grande quantidade de ingredientes de origem vegetal em sua composição (CRANE, 2000). Esse fator pode inviabilizar o uso da lignina em estudos de digestibilidade em cães, tendo poucos trabalhos referentes a esse indicador interno para a espécie.

3.3.2.4. Cinza insolúvel em ácido (CIA)

A CIA é um indicador composto basicamente por sílica, formada por dióxido de silício. Representa a fração mineral que é inerte e indisponível ao animal e inclui os silicatos de origem vegetal e mineral, provenientes do solo (VAN SOEST e ROBERTSON, 1985). É um resíduo mineral remanescente após o tratamento da amostra com ácido clorídrico (HCl) e queima em forno mufla, não sendo absorvida pelo SGI. Portanto, é determinada gravimetricamente, após secagem da amostra, queima, fervura com HCl, filtragem, lavagem e segunda queima em forno mufla (VAN KEULEN e YOUNG, 1977).

O conteúdo de CIA é baixo em grãos, e eventualmente podem ser adicionadas fontes externas de CIA (Celite®, areia e sílica) às dietas para melhorar a precisão das estimativas, vindo a ser também considerado como um indicador externo (SALES e JANSSENS, 2003). Esse fato é importante considerando alimentos para com cães e gatos, visto que os ingredientes usados na dieta desses

animais possuem grãos e farinhas de origem animal, sendo a composição mineral muito variável e/ou com baixa concentração de CIA.

A adição de uma fonte purificada de sílica é recomendada quando a dieta promove menos que 0,75% de CIA na sua forma natural (Thonney et al., 1985), minimizando os erros associados na determinação laboratorial, o que comprometeria a estimativa da digestibilidade. Portanto, é recomendável a adição de sílica. No entanto, níveis acima de 2 % de sílica na dieta podem diminuir a taxa de passagem da digesta no trato e conseqüentemente a digestibilidade da mesma (CHENG e COON, 1990).

A inclusão de CIA na dieta é feita em alguns trabalhos no nível de 1% (Coca-Sinova et al. 2011), 1,5 % (Garcia, Batal e Dale, 2007; Poureslami, 2012) ou 2% (Ravindran et al. 1999; Huang et al. 2005; Huang, Ravindran, Bryden, 2006; Biggs e Parsons, 2009; Frikha et al. 2012;). Esses valores são em relação à inclusão, mas deve-se considerar que os ingredientes da dieta já possuem esse composto, portanto, os níveis de CIA na dieta são superiores. A concentração de CIA pode variar, dependendo dos ingredientes utilizados.

Esse indicador vem sendo utilizado para avaliação da digestibilidade de rações para ruminantes (VAN KEULEN e YOUNG, 1977). Os resultados insatisfatórios encontrados na determinação da digestibilidade de dietas para ruminantes com o uso da CIA estão relacionados principalmente às contaminações dos alimentos e das fezes com areia, à variações na concentração ou mesmo às reduzidas concentrações na dieta (MEZA, 2003).

Foram encontrados resultados satisfatórios de CIA por Skrivan (1980), Block e Kimel (1981), Valderrabano (1982), Taniguchi et al. (1986) e Fontes et al. (1996) na determinação da digestibilidade de dietas em pequenos e grandes ruminantes.

Um dos fatores que mais influencia na determinação da digestibilidade de dietas por meio da CIA é o método analítico. Van Keulen e Young (1977) avaliando três concentrações de HCl (concentrado, 4N e 2N) para determinação da CIA, observaram diferenças entre os resultados analíticos obtidos pelos três métodos. As principais diferenças nos resultados se refletiram na taxa de recuperação deste indicador, que foi de 103%, 96,7% e 95,8% com o ácido a 4N, concentrado e 2N, respectivamente. Apesar dessas variações encontradas entre os três métodos, os autores não encontraram diferenças na determinação da digestibilidade da dieta

predita pelos métodos comparados pela metodologia de coleta total de fezes em ovelhas.

A CIA pode apresentar valores superestimados de digestibilidade em comparação com a coleta total de fezes em alguns estudos, fato esse, que pode ocorrer pela incompleta solubilização dos minerais em HCl, como o cálcio e fósforo. Esse fato foi constatado em experimento de Félix (2011) com cães, o qual relatou que a CIA superestimou a digestibilidade das dietas contendo farinha de vísceras de aves. Assim, Sales & Janssen (2003) citam que o método de Van Keulen e Young (1977), com duas queimas da amostra na mufla, com tratamento de HCl entre as queimas é adequado para se evitar superestimativa da digestibilidade da dieta, levando esse indicador a apresentar um potencial de uso nos ensaios de digestibilidade, tanto pela facilidade, como pelo menor custo da análise e maior reprodução dos resultados. Apesar disso, o estudo de metodologias de determinação de CIA em dietas para cães ainda são escassos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Dieta experimental

Foi realizado o experimento com um alimento completo seco comercial para cães adultos. O estudo foi conduzido durante o período de setembro a novembro de 2013, no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba-PR.

Foram moídos 3 kg do alimento completo em moinho de facas com peneira de 2,5 mm e fracionados em três partes, contendo 1 kg cada, obtendo-se uma ração controle e duas testes. Nos alimentos teste foram adicionados o indicador externo Celite[®], na proporção de 1% e 2%, respectivamente, sendo posteriormente homogeneizados aos alimentos.

4.2. Análises laboratoriais

Foram comparadas quatro metodologias de determinação de CIA, sendo três delas descritas segundo Van Keulen e Young (1977), baseados nos descritos por Shrivastava e Talapatra (1962) e Vogtmann et al. (1975), com algumas adaptações em laboratório e a última sendo a análise tradicional empregada no Laboratório de Nutrição Animal da UFPR, adaptado do método do Compêndio Brasileiro de Nutrição Animal (2003).

Os procedimentos realizados foram seqüenciados como descritos a seguir:

4.2.1. 1º Procedimento (HCl Concentrado)

Foram pesados em quadruplicata 10 g de ração (ração controle, 1% e 2% de Celite[®],) em cadinhos de porcelana e levados para incineração por 5 horas em temperatura gradativa de 250°C para 650°C em forno mufla. As cinzas obtidas foram umedecidas com 5 ml de água destilada e acrescentado 10 ml de HCl concentrado.

Foram levados em fervura em bandeja com areia até a secagem (o procedimento foi repetido duas vezes). Após a segunda secagem foram adicionados 5 ml de HCl e repetido a fervura por 15 minutos. Os cadinhos foram filtrados com água destilada quente (85°C a 100°C) em filtro Whatman nº 42. As cinzas e os filtros foram incinerados em mufla por uma noite a 650°C, retirados em dessecador, resfriados e pesados.

4.2.2. 2º Procedimento (HCl 4N)

Foram pesados em quadruplicata 10 g das rações do presente estudo em copo Becker de 600 ml e adicionado 100 ml de HCl 4N. Foram fervidos por 30 minutos em placa de aquecedor (com condensador acoplado para evitar a perda de HCl). A mistura foi filtrada com água quente (85°C a 100°C) em filtro Whatman nº 41, sendo as cinzas e os filtros transferidos para os cadinhos e levados à mufla por uma noite a 650°C. Os cadinhos foram pesados depois de resfriados em dessecador.

4.2.3. 3º Procedimento (HCl 2N)

As amostras foram pesadas (5g em quadruplicata) em cadinho e levado em mufla com temperatura de 135°C por 2 horas. Na sequência foram resfriadas em dessecador e pesadas. Em seguida, foram encaminhadas para a mufla a 450°C por uma noite toda.

Posteriormente, as cinzas foram transferidas para o copo de Becker (600ml) e adicionado 100ml de HCl 2N, sendo fervidos durante 30 minutos. Em seguida, filtrados com água destilada quente (85°C a 100°C) em Filtro Whatman nº 41, sendo as cinzas e os filtros transferidos para os cadinhos e colocados em mufla a 450°C por toda uma noite.

As cinzas resultantes foram pesadas quando foram resfriadas em dessecador.

4.2.4. 4º Procedimento (Tradicional)

Foram pesados 3g das amostras em quadruplicata, as quais foram secas em estufa por 3 horas a 105°C para quantificar a umidade. Em seguida as amostras foram transferidas para queima em forno mufla a 600°C por mais 3 horas. As cinzas

resultantes foram pesadas e posteriormente adicionados 10 ml de HCl concentrado e encaminhados para fervura durante 10 minutos. O conteúdo, depois de frio, foi filtrado com água destilada em temperatura ambiente em Filtro Whatman nº 41.

Os filtros contendo as cinzas foram levados para mufla a 600°C por 3 horas, resfriadas e pesadas.

4.3. Análise estatística

Quatro repetições por tratamento foram analisadas pela ANOVA (Análise de Variância), considerando um delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 4 x 3 (metodologias x níveis de inclusão de sílica). As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foram analisadas as variâncias entre os métodos dentro de cada nível de inclusão de sílica pelo Teste de Cochran (Q) a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias e variâncias dos tratamentos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Médias e variâncias do teor de cinza insolúvel em ácido (CIA) de dietas contendo crescentes níveis de sílica avaliada por diferentes metodologias.

Métodos	% Inclusão sílica			Médias métodos
	0	1	2	
Concentrado	0,24 (0,001)	1,20 (0,003)	2,11 (0,000)	1,18 ^b
HCl 4N	0,18 (0,000)	1,13 (0,000)	1,99 (0,005)	1,10 ^c
HCl 2N	0,11 (0,000)	1,07 (0,001)	2,04 (0,001)	1,07 ^c
Tradicional	0,34 (0,000)	1,30 (0,002)	2,27 (0,014)	1,30 ^a
Médias inclusão	0,22 ^c	1,17 ^b	2,10 ^a	
<i>P</i> Métodos			<0,001	
<i>P</i> Inclusão			<0,001	
<i>P</i> Métodos x Inclusão			0,2871	
Qc 0 x Métodos			0,6797	
Qc 1 x Métodos			0,4486	
Qc 2 x Métodos			0,6788	

^{a, b, c} Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

*Valor de Q calculado (Qc) se maior que o valor tabelado (0,6841) indica diferença entre a maior variância e as demais pelo teste Q-Cochran a 5% de significância.

Não houve interação entre métodos x inclusão de sílica ($P > 0,05$). No entanto, o método tradicional foi o que resultou no maior teor de CIA ($P < 0,05$), seguido pelo método concentrado e pelos demais, que não diferiam entre si ($P > 0,05$). Já os resultados obtidos por Van Keulen e Young (1977), mostraram que o método HCl 4N forneceu estimativas de digestibilidade superiores aos métodos concentrado e HCl 2N em estudos em ovelhas Suffolk. Os mesmo autores obtiveram diferenças nos resultados se refletiram na taxa de recuperação deste indicador, que foi de 103%, 96,7% e 95,8% com o ácido 4N, concentrado e 2N, respectivamente.

Os resultados pelo Teste de Cochran (Qc), não demonstraram diferenças entre as variâncias obtidas ($P > 0,05$), não havendo, portanto, diferenças significativas entre a repetibilidade dos métodos.

Considerando que apenas os ingredientes vegetais da dieta já contribuem com parte da CIA na amostra, podemos inferir que o método tradicional resultou no valor mais próximo de CIA da ração, enquanto os demais métodos subestimaram a CIA. Ainda, considerando a maior facilidade de execução desse método, em relação ao tempo de análise e reagentes, este é recomendado para análise de CIA em alimentos extrusados para cães.

6. CONCLUSÃO

Os métodos de determinação de CIA avaliados não diferem quanto a repetibilidade. No entanto a metodologia tradicional se mostra mais adequada, visto que a dinâmica na utilização é mais fácil, leva menos custos com reagentes, é determinada em menor espaço de tempo e possui boa confiabilidade nos resultados, se mostrando bem aplicável em laboratórios sendo mais econômica e rápida na execução.

7. RELATÓRIO DE ESTÁGIO

7.1. Plano de Estágio

- Acompanhar e realizar análises físicas e químicas dos alimentos utilizados na nutrição animal.
- Desenvolver um projeto de pesquisa sobre diferentes métodos da cinza insolúvel em ácido para melhor prever a digestibilidade de dieta para cães.

7.2. Empresa

- Estabelecimento: Laboratório de Nutrição Animal (LNA) da UFPR
- Local: Rua dos Funcionários, 1540 – Curitiba- PR.
- Supervisor do estágio: Cleusa Bernardete Marcon de Brito
- Cargo do Supervisor: Técnico
- Formação profissional: Zootecnista
- Telefones para contato: (41) 3350 5627 – Fax: (41) 3252 4149
- E-mail: labzoo@ufpr.br
- Período de estágio: 26 de Agosto a 09 de Dezembro de 2013
- Total de horas semanais: 30 horas

O laboratório se encontra em região central de Curitiba, na Universidade Federal do Paraná, no Setor de Ciências Agrárias-Departamento de Zootecnia.

As atividades realizadas são análises físicas e químicas de alimentos em estudos e pesquisas da própria instituição e empresas privadas.

7.3. Atividades e análises realizadas

7.3.1. Moagem

As amostras recebidas são catalogadas e identificadas para posterior moagem das mesmas em moinhos de facas e moinhos para forragens.

7.3.2. Pesagem

A pesagem das amostras é feita em balanças de precisão de acordo com a metodologia empregada para cada caso.

7.3.3. Umidade

São feitas a análise de umidade dos alimentos moídos em estufas de 105°C durante três horas consecutivas depois da pesagem em balança precisa.

Para forragens, as amostras são pesadas e mantidas em estufas para retirada da umidade excessiva e só posteriormente, são moídas.

7.3.4. Resíduo mineral

As amostras são colocadas em muflas a 600°C por três horas e/ou como a metodologia é prescrita para a obtenção do resíduo mineral.

7.3.5. Cinza insolúvel em ácido

As amostras passam pelo procedimento de moagem, pesagem, umidade e cinzas. As cinzas obtidas são filtradas e posteriormente levadas em mufla a 600°C para obtenção da CIA gravimetricamente.

7.3.6. NIRs (Near Infrared Spectroscopy System)

O aparelho NIRs é utilizado para análises físicas de alguns ingredientes cadastrados no qual são avaliadas amostras de origem vegetal e animal. As amostras moídas são inseridas no equipamento através de células, onde o comando para a leitura é realizado.

7.3.7. FDA e FDN

As amostras são pesadas em saquinhos na balança de precisão e transferidas para o aparelho ANKON[®] (fiber analyser) para determinação do FDN e

FDA. Esse aparelho maximiza o trabalho por realizar um número maior de análise por dia.

Outras análises são realizadas no LNA, como extrato etéreo, fibra bruta, proteína bruta, cálcio, fósforo entre outras, porém não foram acompanhadas essas análises no presente estágio.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nutrição animal é uma área extremamente essencial na atuação do Zootecnista, visto que sua formação é imprescindível na cadeia produtiva.

A oportunidade de realizar o estágio na área de análises laboratoriais de matérias primas e alimentos para animais garantiu a convivência com métodos da bromatologia e da importância dessa área na atuação no mercado de trabalho.

O estágio curricular ofertou a realização de experimento na área e o convívio com os métodos de análises, maximizou a interação da parte teórica com a prática, agregando valores de ensino e potencializando a formação acadêmica.

A realização do estágio ocorreu de forma satisfatória, com grande aprimoramento no conhecimento, tanto na área prática como na área de pesquisa científica.

Essa experiência foi de extrema gratificação, levando a um aumento na perspectiva de seguir a área de análises química e físicas e/ou pesquisas científicas na área de bromatologia.

REFERÊNCIAS

ANDREASI, F. Estudos de métodos indiretos (óxido crômico e lignina) para determinação da digestibilidade aparente no cão e métodos de avaliação da energia alimentar. 78p. **(Tese, Livre Docência)**. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1956.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS – AAFCO. **Official Publication. Inc.**, Atlanta, GA, 1992.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC): **Official Methods of Analysis of AOAC International**, ed. 16, v. 1-2 , Arlington, Virginia: Patricia Cunniff, 1995.

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

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Dog and cat nutrient profiles. **Official Publications of the Association of American Feed Control Officials** Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2004.

AVILA, V.; PAULA, A.; BRUM, P.; CORDEBELLA, A.; MAIER, J.C. Determinação do período de coleta total de excretas para estimativa dos valores de energia metabolizável em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1966-1970, 2006.

BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. Avaliação dos indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.830-833, 2000.

BIGGS, P.; PARSONS, C.M. The effects of whole grains on nutrient digestibilities, growth performance, and cecal short-chain fatty acid concentrations in young chicks fed ground corn-soybean meal diets. **Poultry Science**, v.88, p.1893–1905, 2009.

BLOCK, E., KILMEL, M.L.D. Acid insoluble ash as a marker of digestibility for sheep fed corn plants or hay and for lactating dairy cattle fed hay “*ad libitum*”. **J. Anim. Sci.**, 52(4):1164-1169, 1981.

BORTOLO, M. Avaliação aminoacídica de fontes proteicas para cães utilizando diferentes metodologias. 82p.**Tese (Doutorado em Zootecnia)**. Universidade Estadual de Maringá, Maringá – PR, 2008.

CARCIOFI, A.C., *et al.* Uso de indicadores internos na avaliação da digestibilidade aparente de alimentos para gatos – comparação de métodos. **Ciencia Rural**, v.28, n.2, p.299-302, 1998.

CARVALHO, F. F. R., *et al.* Uso de indicadores internos para estimar a digestibilidade dos nutrientes das rações para cabras em lactação alimentadas *ad libitum*. **Rev. Soc. Bras. Zoot.** v. 21, n. 2, p. 270-278, 19

CAVALARI, A.P., *et al.* Determinação do valor nutritivo de alimentos energéticos e proteicos utilizados em rações para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1985-1991, 2006.

CHENG, T.K.; COON, C.N. Research note: calcium digestibility studies utilizing acid insoluble ash measurements. **Poultry Science**, 69:2228-2230, 1990.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. Brasil. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Brasília: Sindirações/ Anfar; **CBNA; SDR/ MA**, 12p, 2003.

COCA-SINOVA, A.; MATEOS, G.G.; GONZALEZ-ALVARADO, J.M.; CENTENO, C.; LAZARO, R.; JIMENEZ-MORENO, E. Comparative study of two analytical procedures. for the determination of acid insoluble ash for evaluation of nutrient retention in broilers. **Spanish Journal of Agricultural Research**, 9(3), 761-768, 2011.

CRANE, S. W. Introduction to commercial pet foods. Small animal clinical nutrition. 4.ed. Topeka: **Mark Morris Institute**, p.111-126, 2000.

FAHEY, G.C., JUNG. H.G. Lignin as a marker in digestion studies - a review. **J. Anim. Sci.**, 57(1):220-225, 1983.

FELIX, A. P. Avaliação nutricional de derivados proteicos de soja para cães. **Tese (Pos-graduação em Ciências Veterinárias)**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, 188p. 2011.

FERREIRA. *et al.* Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: estimativa de consumos de concentrado e de silagem de milho por vacas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, n.8, p.1574-1580, 2009.

FONTES, C.A.A., OLIVEIRA, M.A.T., LANA, R.P. Avaliação de indicadores na determinação da digestibilidade em novilhos. **R. Soc. Bras. Zootec.**, 25(3):529-539, 1996.

FRIKHAA, M.; SERRANO, M.P.; VALENCIA, D.G.; REBOLLARA, P.G.; FICKLER, J.; MATEOS, G.G. Correlation between ileal digestibility of amino acids and chemical composition of soybean meals in broilers at 21 days of age. **Animal Feed Science and Technology**, v. 178, p.103–114, 2012.

GARCIA, A.R.; BATAL, A.B; DALE, N. M. A Comparison of Methods to Determine Amino Acid Digestibility of Feed Ingredients for Chickens. **Poultry Science**, 86:94–101, 2007.

GRÖNER, T.; PFEFFER; E. Digestibility of organic matter and digestible energy in single ingredients of extruded dog feeds and their effects on faecal dry matter

concentration and consistency. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v.77, n.1.5, p.214-220, 1977.

HARMON, D. Experimental approaches to study the nutritional value of food ingredients for dogs and cats. **Revista Brasileira de zootecnia**, v., n.,p., 2007.

HENDRIKS, W.H.; MOUGHAN, P.J.; TARTTELIN, M.F. Gut endogenous nitrogen and amino acid excretions in adult domestic cats fed a protein-free diet or an enzymatically hydrolyzed casein-based diet. **J. Nutr.**, v.126, p.955-962, 1996.

HILL, R.C. *et al.* The use of chromic oxide as a marker for measuring small intestinal digestibility in cannulate dogs. **Journal of Animal Science**, Champaign, n.74, p 1629-1634, 1996.

HUANG, K.V.; RAVINDRAN, V.; LI, X.; BRYDEN, W.L. Influence of age on the apparent ileal amino acid digestibility of feed ingredients for broiler chickens, **British Poultry Science**, 46:2, 236-245, 2005.

HUANG, K.V.; LI, X.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. Comparison of Apparent Ileal Amino Acid Digestibility of Feed Ingredients Measured with Broilers, Layers, and Roosters, **Poultry Science** 85:625–634, 2006.

JOHNSON, M.L., *et al.* Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ilealy cannulated dogs. **Journal of Animal Science**, v.76, n.4, p.1112-1122, 1998.

KIENZLE, E. Effect of carbohydrates on digestion in the cat. **Journal of Nutrition**. V. 124, p. 2568S-2571S, supplementum 12,1994.

KROGDAHL, A.; AHLSTROM, O.; SKREDE, A. Nutrient digestibility using mink as a model. **Journal of Nutrition**, v.134, n.12, p.2141-2144. Supl.,2004.

LANZETTA, V.A.S.; REZENDE, A.S.C.; SALIBA, E.O.S.; LANA, A.M.Q.; RODRIGUEZ, N.M.; MOSS, P.C.B. Validação do Lipe® como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p.69-74, 2009.

LLOYD, L.E., MCCAY, C.M. The use of chromic oxide in digestibility and balance studies with dogs. **J. Nutr.**, v.53, p.613-622, 1954.

MEZA, R. A. C. Uso de marcadores internos como método para determinar pérdidas de masa en ensilajes. **Informe de residencia para optar al título de: ingeniero agrónomo**. Pontificia Universidad Católica de Chile, 79p.,2003.

MUNTIFERING, R.B. Evaluation of various lignin assays for determining ruminal digestion of roughages by lambs. **J. Anim. Sci.**, 55(2):432-438, 1982.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient Requirements of Dogs and Cats. Washington, **DC: National Academy Press**, 424p., 2006.

OWENS, F. N.; HANSON, F. H. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science** , v.75, n.9, p.2605-2617, 1992.

PEACHEY, S.E.; DAWSON, J.M.; HARPER, E.J. Gastrointestinal Transit times in young and old cats. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.126, part A, p.85-90, 2000.

PENCOVIC, T. A.; MORRIS, J. G. Corn and wheat starch utilization by the cat. **J. Anim. Sci.**, v.41, p.325, 1975.

PIAGGIO, L.M., PRATES, E.R., PIRES, F.F. *et al.* Avaliação de cinzas insolúveis em ácidos indigestíveis e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. **R. Soc. Bras. Zootec.**, 20(3):306-312, 1991.

POURESLAMI, R.; BATAL, A.B.; JUNG, B. Effect of ileal sub-section and the method of collection of digesta on the determination of apparent ileal digestibility of amino acids in broilers. **Animal Feed Science and Technology**. v.177, p.130–133, 2012.

RAVINDRAN, V., L. I. HEW, G. RAVINDRAN, AND W. L. BRYDEN. A comparison of ileal digesta and excreta analysis for the determination of amino acid digestibility in feed ingredients for poultry. **British Poultry Science**, 40:266–274, 1999.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3º Edição. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2011.

SALES, J.; JANSSENS, G. The use of markers to determine energy metabolizability and nutrient digestibility in avian species. **World's Poultry Science**, v.59, p.314-327, 2003.

SALIBA, E. O. S.; RODRÍGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C. *et al.* Estudo comparativo da lignina isolada da palha de milho, com outros indicadores em ensaios de digestibilidade aparente. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 36., 1999, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: SBZ, 1999.

SEIN, T.; TODD, J. R. Investigation into the use of indicator methods of estimating the digestibilities of feeds by ruminant animals. **J. Agric. Sci.** v. 110, n. 2, p. 315-320, 1988.

SHERROD, L. B. *et al.* ADF Insoluble ash, HCl Insoluble ash, and lignin as indicator for determining ruminant digestibility. **Proceed. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.** v. 29, n. 5, p. 236-242, 1978.

SHORT, F.J.; GORTON, P.; WISEMAN, J.; BOORMAN, K.N.. Determination of titanium dioxide added as an marker in chicken digestibility studies. **Animal Feed Science Technology** 59, 15-221, 1996.

SHRIVASTANA, V. S.; TALAPATRA, S. K. Use of some natural indicators to determine the plane of nutrition of a grazing animal. Pasture studies in Uttar Pradesh. **Indian J. Dairy Sci.** 15:154, 1962.

SIBBALD, I.R.; SLINGER, S.J. A biological assay for metabolizable energy in feed ingredients together with findings which demonstrate some of the problems associated with the evaluation of fats. **Poultry Science**, London, v.42, p.313-325, 1963.

SILVIO, J., *et al.* Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. **Nutrition**. 16, 289–295, 2000.

SKRIVAN, M. Estimation of digestibility by the indicator method with ash insoluble in HCl. **Nutr. Abstr. Rev. Série B.**, 50(6):233, 1980.

TANIGUCHI, K., YAMATANI, Y., OTANI, I. Acid insoluble ash as indicator for determining the feed consumption and the digestibility in the lactating dairy cow. **Jap. J. Zootec. Sci.**, 57(5):438-441, 1986.

THONNEY, M.L. *et al.* Sources of variations of dry matter digestibility measured by the acid insoluble ash marker. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p.661-668, 1985.

TITGEMEYER, E. C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2235-2247, 1997.

VALDERRABANO, J. Evaluation of acid insoluble ash as an internal marker in digestibility studies. **Nutr. Abstr. Rev., Série B.**, 52(2):64. (Abstract, 535), 1982.

VAN KEULEN, J.; YOUNG, B. A. Evaluation of Acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. **Journal of Animal Science**, v.44, n.2, p.282-287, 1977.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminants: ruminant metabolism, nutritional strategies, the cellulolytic fermentation and the chemistry of forages and plant fiber. Ithaca: Cornell University Press, 1987.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminants. Corvallis, Oregon, **O&B Books**. 476p, 1994.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell University, 202p, 1985 Van Keulen e Young, 1977.

VASCONCELLOS, C.H.F.; FONTES, D.O.; SALIBA, E.O.S.; VELOSO, J.A.F.; LARA, L.J.C. Uso da lipídeo como indicador externo na determinação da digestibilidade da proteína e matéria seca de alimentos em frangos de corte. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 35, n. 3, p. 613-620, maio/jun., 2011.

VOGTMANN, H., *et al.* A new method of determining metabolizability of energy and digestibility of fatty acids in broiler diets. **Brit. Poul. Sci.** 16:531, 1975.

ANEXOS

Anexo 1. Termo de compromisso.

**TERMO DE COMPROMISSO PARA ESTÁGIO
PARA ALUNOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ (INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 01/92-CEP)**

A UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, sediada à Rua XV de Novembro n.º 1299 Curitiba CEP 80.020-300 PR CGC 75.095.679/0001-49
Fone 3310-2656 ou 3310-2675, doravante denominada PARTE CONCEDENTE representada neste ato por seu Reitor e de outro lado,
FABIANA MARCIA DA SILVA RG n.º 6038587-4 CPF 028893009-60, estudante do
ano/período 11º PERÍODO do Curso de ZOOTECNIA Matrícula n.º GRB 200, residente à
Rua FRANCISCO DALLALIBERA n.º 1747 na Cidade de
CURITIBA, Estado PARANÁ CEP 82410-030 Fone 30108801 / 98362566
Data de nascimento 13/12/1979 doravante denominado (a) Estagiário (a), tendo como interveniente a Instituição de Ensino, celebram o presente
Termo de Compromisso em consonância com o Art. 82 da Lei nº 9394/96 - LDB, da Lei nº 11.788/08 e a Orientação Normativa nº 07/08-MPOG e com a
Resolução nº 46/10 - CEPE/UFPR e mediante as seguintes cláusulas e condições:

CLÁUSULA PRIMEIRA- As atividades a serem desenvolvidas durante o Estágio constam de programação acordada entre as partes - Plano de Estágio no verso - e terão por finalidade propiciar ao Estudante uma experiência acadêmico-profissional em um campo de trabalho determinado, visando:

- o aprimoramento técnico-científico em sua formação;
- a maior proximidade do aluno, com as condições reais de trabalho, por intermédio de práticas afins com a natureza e especificidade da área definida nos projetos políticos pedagógicos de cada curso;
- a realização de Estágio () OBRIGATÓRIO ou () NÃO OBRIGATÓRIO;

CLÁUSULA SEGUNDA - O presente estágio somente poderá ser iniciado após assinatura das partes envolvidas, não sendo reconhecido, validade e pago com data retroativa;

CLÁUSULA TERCEIRA - O estágio será desenvolvido no período de 26/08/2013 a 09/12/2013, (no prazo máximo de 02 anos), no horário das 7:00 às 12:00 e 13:30 às 14:30 hs, (intervalo caso houver) de _____, num total de 30 hs semanais, (não podendo ultrapassar 30 horas), compatíveis com o horário escolar podendo ser denunciado a qualquer tempo, unilateralmente, e mediante comunicação escrita, ou ser prorrogado por meio de emissão de Termo Aditivo;

Parágrafo Primeiro - Em caso do presente estágio ser prorrogado, o preenchimento e a assinatura do Termo Aditivo deverão ser providenciados antes da data de encerramento, contida na Cláusula Terceira deste Termo de Compromisso;

Parágrafo Segundo - Nos períodos de avaliação ou verificações de aprendizagem pela Instituição de Ensino, o estudante poderá solicitar à Parte Concedente, redução de carga horária, mediante apresentação de declaração, emitida pelo(a) Coordenador(a) do Curso ou Professor(a) Supervisor(a), com antecedência mínima de 05(cinco) dias úteis;

Parágrafo Terceiro - É assegurado ao estagiário, sempre que o estágio não obrigatório tenha duração igual ou superior a dois semestres, período de recesso de trinta dias, a ser gozado preferencialmente durante suas férias escolares, sendo permitido seu parcelamento em até três etapas, devendo ser remunerado; os dias de recesso serão concedidos de maneira proporcional, na hipótese de estágio inferior a dois semestres;

CLÁUSULA QUARTA- Na vigência deste Termo de Compromisso o Estagiário será protegido contra Acidentes Pessoais, providenciado pela
UFPR e representado pela Apólice n.º 05 82000466 da
Companhia TOKIO MARINE

CLÁUSULA QUINTA - Durante o período de Estágio Não Obrigatório, o estudante receberá uma Bolsa Auxílio, no valor de _____, bem como auxílio transporte no valor de R\$ 6,00 (seis reais/dia útil).

Parágrafo Primeiro - A comunicação referente a frequência e rescisão deverá ser encaminhada diretamente ao DAP/PROGEPE/UFPR, sendo de inteira responsabilidade do(a) orientador(a) do presente estágio;

Parágrafo Segundo - Ocorrendo rescisão, término ou abandono do estágio, sem que haja a possibilidade de interromper o pagamento, dentro do prazo hábil fica o estagiário obrigado a devolver os valores recebidos indevidamente, referentes a bolsa e auxílio transporte, por meio de GRU - Guia de Recolhimento da União, após cálculo apresentado pelo DAP/DIP/PROGEPE, sendo esse valor devolvido em uma única vez;

Parágrafo Terceiro - Em caso de Estágio Obrigatório, o estagiário não fará jus a concessão de Bolsa Auxílio, bem como Auxílio Transporte;

CLÁUSULA SEXTA- Caberá ao Estagiário cumprir a programação estabelecida, observando as normas internas da Parte Concedente, bem como, elaborar relatório referente ao Estágio a cada 06 (seis) meses e ou quando solicitado pela Instituição de Ensino;

CLÁUSULA SÉTIMA- O Estagiário responderá pelas perdas e danos decorrentes da inobservância das normas internas ou das constantes no presente Termo de Compromisso;

CLÁUSULA OITAVA- Nos termos do Artigo 3º da Lei nº 11.788/08, o Estagiário não terá, para quaisquer efeitos, vínculo empregatício com a Parte Concedente;

CLÁUSULA NONA Constituem motivo para interrupção automática da vigência do presente Termo de Compromisso de Estágio:

- conclusão ou abandono do curso e o fechamento de matrícula;
- pedido da Instituição de Ensino;
- pedido do Estagiário;
- pedido da Unidade Concedente;
- não cumprimento do conveniado neste Termo de Compromisso;
- pelo não comparecimento, sem motivo justificado, por mais de cinco dias, consecutivos ou não, no período de um mês, ou por trinta dias durante todo o período do estágio.

E, por estar de inteiro e comum acordo com as condições deste Termo de Compromisso, as partes assinam em 03 (três) vias de igual teor.

Curitiba,

Jocimara Rodrigues Cardoso dos Santos
Secção de Documentação e Certificação de Assinaturas

PARTE CONCEDENTE - UFPR COORDENAÇÃO GERAL DE ESTÁGIOS
(assinatura e carimbo)
Cláudio
ORIENTADOR(A) do Local de Estágio
(assinatura e carimbo)

ESTAGIÁRIO
(assinatura)
Fue Sil
COORDENADOR(A) DO CURSO
(assinatura e carimbo)
Eduardo Teixeira da Silva
Diretor do Setor de Ciências Agrárias
Matrícula 120944

Anexo 2. Plano de estágio.

ESTÁGIO NO ÂMBITO DA UFPR

INFORMAMOS QUE O PREENCHIMENTO DO PLANO DE ESTÁGIO É OBRIGATÓRIO

Ficha nº 1 – PLANO DE ESTÁGIO
(Instrução Normativa nº 01/92 CEP)

1. IDENTIFICAÇÃO DO ESTÁGIO:
 ESTÁGIO OBRIGATÓRIO ESTÁGIO NÃO OBRIGATÓRIO
 Disciplina concomitante ao estágio: _____

2. DADOS REFERENTES AO LOCAL DE ESTÁGIO:
 Unidade/Departamento: Departamento Zootecnia Ramal: 5627
 Nome do(a) Orientador(a): Cleusa Bernardete Marcon de Brito
 Cargo ou função: Tecnico
 Formação Profissional: Zootecnista

3. DESENVOLVIMENTO
 Atividades previstas: Acompanhar e realizar análises físicas e químicas dos alimentos utilizados na nutrição animal;
Desenvolver um projeto de pesquisa sobre diferentes métodos de determinação da lignina e carga insolúvel em ácido para melhor medir a digestibilidade de dieta para coas.
 Curitiba, 22 / 08 / 2013
 Assinatura do(a) Aluno(a): [assinatura]

Cabe ao(a) Professor(a) supervisor(a) bem como ao(a) Orientador(a) no local de estágio, acompanhar as atividades desenvolvidas pelo Estagiário(a), na vigência do presente Termo de Compromisso, conforme.

[assinatura]
Visto do(a) orientador(a)

ANANDA P. FELIX [assinatura]
Professor(a) Supervisor(a) – UFPR
(assinatura e nome por extenso)

A SER PREENCHIDA PELA COE

04. Professor supervisor – UFPR (Para emissão de certificado):
 a) Modalidade de orientação: Direta Semi-Direta Indireta
 b) Número de horas da orientação no período: _____
 c) Número de estagiários concomitantes com esta orientação: _____

Parecer da Comissão Orientadora de Estágio (COE), em se tratando de aluno da UFPR, em ESTÁGIO NÃO OBRIGATÓRIO _____

Curitiba, ____ / ____ / ____ Assinatura: _____

Anexo 3. Ficha de controle de frequência.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Coordenação do Curso de Zootecnia

ESTAGIÁRIO (A) <u>FABIANA MARCIA DA SILVA</u>						
DIA MÊS	ENTRADA/SAÍDA ASSINATURA			ENTRADA/SAÍDA: ASSINATURA		
26/08/13	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
27/08	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
28/08	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
29/08	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
30/08	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
02/09/13	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
03/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
04/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
05/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
06/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
09/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
10/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
11/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
12/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
13/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
16/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
17/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
18/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
19/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
20/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
23/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
24/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
25/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
26/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
27/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
30/09	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
01/10/13	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
02/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
03/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
04/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi



Rua dos Funcionários, 1540
CEP 80035-050 - Curitiba - PR
Tel. / Fax: (41) 3350-5769
www.cursozootecnia@ufpr.br

Cleusa B
UFPR
Deb. Zootecnia
Lab. Nutrição Animal



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

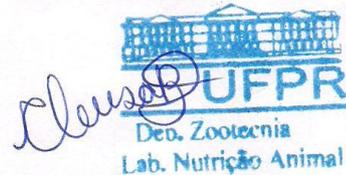
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Coordenação do Curso de Zootecnia

ESTAGIÁRIO(A) <u>FABIANA MARCIA DA SILVA</u>						
DIA MÊS	ENTRADA/SAÍDA ASSINATURA			ENTRADA/SAÍDA: ASSINATURA		
07/10/13	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
08/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
09/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
10/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
11/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
14/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
16/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
17/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
18/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
19/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
21/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
22/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
23/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
24/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
25/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
29/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
30/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
31/10	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
01/11/13	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
04/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
05/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
06/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
07/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
08/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
11/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
12/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
13/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
14/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
18/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi
19/11	7:00	12:00	Fabi	13:30	14:30	Fabi

Assinatura e carimbo do Orientador (NO LOCAL DO ESTÁGIO)



Rua dos Funcionários, 1540
CEP 80035-050 - Curitiba - PR
Tel. / Fax: (41) 3350-5769
www.cursozootecnia@ufpr.br



Anexo 4. Ficha de avaliação do estágio.


 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
 Coordenação do Curso de Zootecnia

AVALIAÇÃO DO ESTAGIÁRIO

5.1 ASPECTOS TÉCNICOS		NOTA (01 A 10)	X
5.1.1 - Qualidade do trabalho			10,0
5.1.2 Conhecimento Indispensável		Teóricas	9,5
ao Cumprimento das tarefas		Práticas	10,0
5.1.3 - Cumprimento das Tarefas			9,8
5.1.4 - Nível de Assimilação			9,8
5.2 ASPECTOS HUMANOS E PROFISSIONAIS		Nota (01 a 10)	X
5.2.1 Interesse no trabalho			10,0
5.2.2 Relacionamento		Frente aos Superiores	10,0
		Frente aos Subordinados	10,0
5.2.3 Comportamento Ético			10,0
5.2.4 Disciplina			10,0
5.2.5 Merecimento de Confiança			10,0
5.2.6 Senso de Responsabilidade			10,0
5.2.7 Organização			10,0


 Dea. Zootecnia
 Lab. Nutrição Animal


 Rua dos Funcionários, 1540
 CEP 80035-050 - Curitiba - PR
 Tel. / Fax: (41) 3350-5769
 www.cursozootecnia@ufpr.br