

## AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE DE DIETAS CONTENDO FONTES PROTEICAS DE ORIGEM ANIMAL OU VEGETAL MENSURADAS POR MÉTODOS *IN VIVO* E *IN VITRO* EM CÃES

LAÍS M. ANTUNES<sup>1</sup>, LILIAN D. SANTOS<sup>2</sup>, LUANA Z. MASSIRER<sup>1</sup>, KARLA S. FELSSNER<sup>2</sup>, HELOÍSA L. SILVA<sup>1</sup>, RENATA B. M. S. SOUZA<sup>1</sup>, LAIANE S. LIMA<sup>1</sup>, SIMONE G. OLIVEIRA<sup>1</sup>, ANANDA P. FÉLIX<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil. <sup>2</sup> Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus Palotina, Palotina, PR, Brasil.

Contato: lais.dma@gmail.com / Apresentador: LAIS DE M. ANTUNES

**Resumo:** Este estudo comparou métodos de digestibilidade *in vivo* e *in vitro* de dietas contendo fontes proteicas de origem animal ou vegetal em cães. Foram avaliadas duas dietas secas extrusadas para cães, uma contendo 27% de farinha de vísceras de aves (FVA) e outra com 20% de farelo de soja (FS), como principais fontes proteicas. Foram avaliados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das dietas *in vivo*, pelo método da coleta total de fezes, utilizando 12 cães adultos da raça Beagle (n=6/dieta). A digestibilidade *in vitro* das dietas foi analisada em quadruplicata, com digestão simulada por pepsina e pancreatina. O CDA da matéria seca (MS) foi maior, enquanto da matéria orgânica (MO) foi menor para o método *in vitro*, em relação ao *in vivo*, independentemente da fonte proteica (P<0,05). Já, o CDA da energia bruta (EB) não diferiu entre os métodos (P>0,05). Houve interação entre método e fonte proteica (P<0,05) para o CDA da proteína bruta (PB), sendo que o CDA da PB *in vitro* foi maior que o *in vivo* apenas para a dieta FS. Já, o CDA da PB da dieta FVA não diferiu entre os métodos (P>0,05). Assim, conclui-se que o método *in vitro* prediz melhor o CDA da PB de dietas contendo FVA, podendo superestimar a digestibilidade da PB em dietas contendo FS para cães.

**PalavrasChaves:** Alternativas de experimentação *in vivo*; digestibilidade simulada; incubação enzimática.

## EVALUATION OF THE DIGESTIBILITY OF DIETS CONTAINING ANIMAL OR PLANT-BASED PROTEIN SOURCES MEASURED BY *IN VIVO* AND *IN VITRO* METHODS IN DOGS

**Abstract:** This study compared *in vivo* and *in vitro* digestibility methods of diets containing animal or plant-based protein sources in dogs. Two extruded dry diets for dogs were evaluated, one containing 27% poultry by-product meal (PBM) and the other with 20% soybean meal (SBM) as the main protein sources. The apparent digestibility coefficients (ADC) of the diets were assessed *in vivo* using the total fecal collection method, with 12 adult Beagle dogs (n=6/diet). The *in vitro* digestibility of the diets was analyzed in quadruplicate, with simulated digestion using pepsin and pancreatin. The ADC of dry matter (DM) was higher, while that of organic matter (OM) was lower for the *in vitro* method compared to *in vivo*, regardless of the protein source (P<0.05). However, the ADC of gross energy (GE) did not differ between methods (P>0.05). There was an interaction between method and protein source (P<0.05) for the ADC of crude protein (CP), with the *in vitro* CP ADC being higher than *in vivo* only for the SBM diet. In contrast, the CP ADC of the PBM diet did not differ between methods (P>0.05). Thus, it is concluded that the *in vitro* method better predicts the CP ADC of diets containing PBM but may overestimate the CP digestibility of diets containing SBM for dogs.

**Keywords:** Alternatives to *in vivo* experimentation; simulated digestibility; enzymatic incubation.

**Introdução:** A avaliação da digestibilidade dos alimentos para cães é importante para determinar a qualidade nutricional das dietas. Métodos *in vivo* seguem diretrizes da AAFCO (2016) e FEDIAF (2024), mas podem causar estresse devido ao confinamento dos animais. Como alternativa, surgiram métodos *in vitro*, baseados na incubação multienzimática da dieta com concentrações e tempos compatíveis com a fisiologia canina, permitindo a triagem preliminar de ingredientes e reduzindo a necessidade de experimentação animal (HERVERA et al., 2007; BIAGI et al., 2016). Estudos indicam que a digestibilidade *in vitro* pode estimar a digestibilidade *in vivo* em cães adultos (JEON et al., 2024). Entretanto, não foram encontrados estudos que avaliassem se o método *in vitro* pode ser adequado para dietas contendo diferentes fontes proteicas. Assim, este estudo comparou os métodos de digestibilidade *in vivo* e *in vitro* de dietas contendo fontes proteicas de origem animal e vegetal em cães.

**Material e Métodos:** O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais. Doze cães adultos castrados da raça Beagle (6 machos e 6 fêmeas), com 1,2 anos de idade, peso médio de 10,65 ± 0,90 kg e escore de condição corporal de 5 (1 = magro a 9 = obeso) participaram do estudo. Foram avaliadas duas dietas secas extrusadas para cães adultos, uma contendo 27% de farinha de vísceras de aves (FVA) e outra contendo 20% de farelo de soja (FS), como principais fontes proteicas. A dieta FVA continha: 92,20% de matéria seca (MS); 25,00% de proteína bruta (PB); 13,13% de extrato etéreo ácido (EEA); 7,56% de matéria mineral (MM) e 2,24% de fibra bruta (FB). A dieta FS continha: 91,6% de MS; 24,57% de PB; 12,37% de EEA; 7,12% de MM e 2,24% de FB. O ensaio de digestibilidade *in vivo* seguiu o método de coleta de fezes recomendado pela AAFCO (2016), com 5 dias de adaptação e 5 dias de coleta de fezes e seis cães por dieta. A digestibilidade *in vitro* foi determinada pelo método adaptado de Hervera et al. (2007), sem cloranfenicol, realizando-se incubação multienzimática em quadruplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) considerando os efeitos de fonte proteica (FVA e FS), método (*in vivo* e *in vitro*) e interação (fonte proteica × método). Quando o teste F da ANOVA foi significativo para interação, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey quando P<0,05.

**Resultado e Discussão:** O CDA da MS foi maior, enquanto da matéria orgânica (MO) foi menor para o método *in vitro*, em relação ao *in vivo*, independentemente da fonte proteica (P<0,05, Tabela 1). Já, o CDA da energia bruta (EB) não diferiu entre os métodos (P>0,05). Houve interação entre método e fonte proteica (P<0,05) para o CDA da PB, sendo que o CDA da PB *in*

*vitro* foi maior que o *in vivo* apenas para a dieta FS. Já, o CDA da PB da dieta FVA não diferiu entre os métodos (Tabela 1). A superestimativa da digestibilidade *in vitro*, que foi observada para o CDA da MS (independentemente da fonte proteica) e CDA da PB (apenas para a dieta FS), corrobora com estudos anteriores em cães (HERVERA et al., 2007; BIAGI et al., 2016; JEON et al., 2024). Isso pode ocorrer porque o método *in vitro* assume todos os nutrientes solubilizados como digestíveis, enquanto *in vivo* nem todos os nutrientes serão efetivamente digeridos e absorvidos. Além disso, o método *in vitro* não simula todas as interações que podem ocorrer no sistema gastrointestinal, como o aumento da viscosidade da digesta ou alterações na taxa de passagem, devido à maior concentração de fibras solúveis na dieta contendo FS, por exemplo. Apesar dessas limitações, o método *in vitro* é mais econômico e oferece vantagens, como a triagem preliminar de novos ingredientes sem necessidade de ensaios *in vivo*. Também permite a avaliação simultânea de formulações, otimizando a análise e a eficiência nutricional das dietas.

Tabela 1. Coeficientes de digestibilidade aparente (%) medidos *in vitro* e *in vivo* (%) das dietas.

Fonte proteica	Método	MS	MO	PB	EB
Farelo de soja	<i>in vitro</i>	84,0	82,7	85,4a	86,9
	<i>in vivo</i>	80,6	85,3	82,6b	85,8
Farinha de vísceras de aves	<i>in vitro</i>	84,6	84,2	81,5b	87,2
	<i>in vivo</i>	81,0	86,9	82,0b	87,1
EPM		0,510	0,411	0,414	0,198
P-fonte proteica		0,239	<0,001	0,002	0,013
P-método		<0,001	<0,001	0,069	0,061
P-fonte proteica × método		0,810	0,954	0,013	0,079

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; EB: energia bruta; EPM: erro padrão da média; P: probabilidade.

<sup>a,b</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

**Conclusão:** O método de digestibilidade *in vitro* prediz melhor o CDA da PB de dietas contendo FVA, podendo superestimar a digestibilidade da PB em dietas contendo FS para cães. Desse modo, é importante que novos estudos avaliem e aperfeiçoem os métodos *in vitro* para melhor adequação à diferentes formulações para cães.

**Agradecimentos:** Agradecemos à VB Alimentos pelo suporte ao Laboratório.

**Referências Bibliográficas:** AAFCO – ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. Dog and cat nutrient profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated, 2016. BIAGI, G.; CIPOLLINI, I.; GRANDI, M.; PINNA, C.; VECCHIATO, C. G.; ZAGHINI, G. A new *in vitro* method to evaluate digestibility of commercial diets for dogs. Italian Journal of Animal Science, v. 15, n. 4, p. 617–625, 2016. FEDIAF – EUROPEAN PET FOOD INDUSTRY FEDERATION. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. Bruxelas, 2024. HERVERA, M.; BAUCCELLS, M. D.; BLANCH, F.; CASTRILLO, C. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by *in vitro* analyses. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl), v. 91, n. 5–6, p. 205–209, 2007. JEON, K.; LEE, J.; SONG, M.; KIM, K.; MINSEOK, J.; CHANG, S.; SONG, D.; PARK, S.; KIM, H.; KIM, H., et al. Evaluation of the nutrient digestibility at each age in dogs diet by *in vitro* and *in vivo* methods. Journal of Animal Science and Technology, 2024