

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE ZOOTECNIA**

**MANOELA KAROLINA RIBEIRO SANTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE BISCOITOS ASSADOS  
CONTENDO PRÓPOLIS E ROMÃ PARA SAÚDE ORAL  
DE CÃES**

**FLORIANÓPOLIS – SC**

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE ZOOTECNIA**

**MANOELA KAROLINA RIBEIRO SANTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE BISCOITOS ASSADOS**  
**CONTENDO PRÓPOLIS E ROMÃ PARA SAÚDE ORAL**  
**DE CÃES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do Diploma de Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientadora: Profa. Dra. Priscila de Oliveira Morais

**FLORIANÓPOLIS – SC**

2019

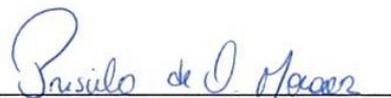
Manoela Karolina Ribeiro Santos

**DESENVOLVIMENTO DE BISCOITOS ASSADOS CONTENDO PRÓPOLIS E  
ROMÃ PARA SAÚDE ORAL DE CÃES**

Esta Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso foi julgada aprovada e adequada para obtenção do grau de Zootecnista.

Florianópolis, 17 de junho de 2019

**Banca Examinadora:**



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Priscila de Oliveira Moraes  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina



Profa. Dra. Lucélia Hauptli  
Universidade Federal de Santa Catarina



Mestre Caroline Fredrich Dourado Pinto  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Santos, Manoela Karolina Ribeiro  
DESENVOLVIMENTO DE BISCOITOS ASSADOS CONTENDO PRÓPOLIS E  
ROMÃ PARA SAÚDE ORAL DE CÃES / Manoela Karolina Ribeiro  
Santos ; orientadora, Professora Dr. Priscila de Oliveira  
Moraes, 2019.  
57 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agrárias, Graduação em Zootecnia, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Zootecnia. 2. Biscoitos assados. 3. fitogênicos. 4.  
textura. 5. atividade de água. I. Moraes, Professora Dr.  
Priscila de Oliveira . II. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Graduação em Zootecnia. III. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer a minha mãe, Celia Ribeiro, que desde o início da graduação me incentivou e que nesse momento de angústia esteve me apoiando e encorajando. Obrigada por toda dedicação, amor, carinho e por sempre acreditar em mim.

Ao meu namorado, Eduardo, por todo o companheirismo durante a minha jornada acadêmica.

Aos amigos pelos momentos de descontração, por compreender a minha ausência em alguns momentos e pelo constante apoio.

A minha Professora Priscila Moraes por me acolher neste momento tão importante da minha vida. Por toda a orientação, amizade, por caminhar lado a lado comigo transmitindo conhecimento e principalmente por toda dedicação, comprometimento e por sempre me incentivar profissionalmente.

A professora Lucélia Hauptli pelo apoio e entusiasmo durante a realização deste trabalho.

Aos colegas do curso de Zootecnia que não mediram esforços para me ajudar a executar este trabalho.

Ao corpo docente do Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural a Universidade Federal de Santa Catarina por todo ensinamento a mim transmitido.

Muito obrigada!

## RESUMO

O hexametáfosfato de sódio complexa o cálcio presente na saliva, ajudando a prevenir a mineralização da placa dentária. Ele é amplamente utilizado em petiscos comerciais destinados a cães para auxiliar na saúde oral. Alguns extratos botânicos e própolis atuam na redução da halitose e da inflamação gengival, limitando a proliferação bacteriana. Desta forma, o objetivo do trabalho foi comparar a eficiência do hexametáfosfato de sódio e dos extratos de romã e própolis no desenvolvimento de biscoitos assados e avaliar o seu efeito na saúde oral de cães *indoor*. Para isso, foram avaliados 5 tipos de biscoitos assados, formando os tratamentos: controle negativo: sem a utilização de aditivos; controle positivo: com a adição de hexametáfosfato de sódio 0,6%; adição de extrato de própolis 0,9%; adição de extrato da casca de romã 0,9%; blend com extrato da casca de romã 0,9% + extrato de própolis 0,9%. Após a elaboração dos biscoitos, dos testes de dureza e atividade de água, foram selecionados 41 cães residentes em Florianópolis e Porto Alegre. Para a integração da área coberta por cálculo dentário, semanalmente a superfície dos dentes do lado esquerdo e do direito da arcada dentária dos cães foram fotografadas e as imagens foram analisadas pelo software Image-Pro® Plus, calculando o percentual de área coberta por cálculo dentário em relação à área total de cada superfície dos dentes acometidos, a duração do experimento foi de 28 dias. Em relação a qualidade dos biscoitos observou-se que a utilização de extrato de própolis reduziu a textura dos biscoitos quando comparado com os demais tratamentos, com exceção do controle ( $p < 0,05$ ). Para a atividade de água todos diferiram-se, apresentando respectivamente da maior atividade para a menor entre os tratamentos controle, hexametáfosfato, própolis, romã e *blend* ( $p < 0,05$ ). Os tratamentos com hexametáfosfato de sódio e romã apresentaram as maiores médias de redução de área coberta por cálculo dentário ( $p > 0,05$ ), seguidos pelo tratamento com *blend* ( $p > 0,05$ ) e os tratamentos controle e própolis apresentaram as menores médias não se diferindo entre si. O extrato de romã e o *blend* apresentaram melhores características de qualidade física dos biscoitos assados. A utilização do extrato de romã foi eficiente para a redução de área coberta por cálculo dentário, assemelhando-se ao hexametáfosfato de sódio.

Palavras chave: biscoitos assados, fitogênicos, textura, atividade de água

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula dentária permanente de cães. Fonte: Gioso, 2007 apud Santos et al., 2012.....	13
Figura 2: Representação da anatomia do dente. Fonte: Pinto, 2007.....	14
<b>Figura 3:</b> Ferramenta visual de avaliação de doenças periodontais. Fonte Stella et al., 2018.....	16
Figura 4: Estrutura química do hexametáfosfato.....	18
Figura 5: Mecanismo de sequestro do cálcio salivar pelo tripolifosfato de sódio. Fonte: Pinto, 2007.....	19
Figura 6: Estrutura básica dos flavanóides. Fontes: Dornas et al., 2010.....	22
Figura 7: Exemplos de diversas classes de taninos. Fontes: Carvalho, 2010.....	23
Figura 8: Estrutura de taninos hidrolisáveis. Fonte: Nakamura et al. (2003) apud Castejon, 2011.....	24
Figura 9: Estrutura da 1,2,3,4,6-penta-O-galoil- $\beta$ -D-glicose, precursor dos elagitaninos. Fontes: Carvalho, 2010.....	24
Figura 10: Estrutura química de alguns elagitaninos Fonte: Abe, 2007.....	25
Figura 11: Hidrólise de um elagitanino (vescalagina). Fontes: Carvalho, 2010.....	25
Figura 12: Ácido elágico na sua forma livre(A) e glicosilada (B). Fonte: Abe, 2007.....	26
Figura 13: Estrutura química dos taninos condensados. Fonte: Lekha & Lonsane (1997) apud Castejon, 2011.....	26
Figura 14: Biscoitos teste.....	28
Figura 15: Embalagens que os biscoitos eram armazenados.....	29
Figura 16: Texturômetro TA.XT plus.....	30
Figura 17: Equipamento Aqua Lab 4TE.....	31
Figura 18: Frequência dos hábitos de higiene oral que os tutores, da anamnese, praticam com os cães.....	33
Figura 19: Índice de placa e cálculo dentário.....	36
Figura 20: Área coberta por cálculo dentário por tratamento durante o período de experimento.....	37
Figura 21: Percentual de redução total de cálculo dentário por tratamentos.....	38
Figura 22: Arcada dentária de um cão do tratamento controle.....	55
Figura 23: Arcada dentário de um cão do tratamento hexametáfosfato de sódio.....	56
Figura 24: Arcada dentário de um cão do tratamento própolis. (Foto: Lucélia Hauptli) ...	56
Figura 25: Arcada dentário de um cão do tratamento romã. (Foto: Lucélia Hauptli) .....	56
Figura 26: Arcada dentária de um cão do tratamento blend. (Foto: Lucélia Hauptli) .....	56

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Determinação do escore de placa e cálculo dentário .....	32
Tabela 3: Média de textura dos biscoitos. ....	33
Tabela 4: Médias de atividade de água dos biscoitos. ....	35

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	11
<b>2. OBJETIVO</b>	12
2.1. Objetivos específicos	12
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b>	13
3.1. Anatomia dentária	13
3.2. Saúde oral em cães	14
3.3. Interação entre nutrição e saúde oral	17
3.4. Hexametafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio	18
3.5. Fitogênicos e própolis	20
3.6. Princípios ativos do extrato de romã e própolis	22
3.6.1. Flavonóides	22
3.6.2. <i>Taninos</i>	22
a) Taninos hidrolisáveis	23
b) Taninos condensados	26
c) Tanino complexos	26
3.6.2.1. Ação antimicrobiana dos taninos	27
3.6.3. Alcalóides	27
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	27
4.1. Desenvolvimento dos biscoitos	27
4.2. Tratamentos experimentais	29
4.3. Qualidade dos biscoitos	29
4.3.1. Composição bromatológica	29
4.3.2. Teste físico	30
4.3.3. Análise de atividade de água dos biscoitos	30
4.4. Seleção dos cães	31
4.5. Avaliação da redução do cálculo dentário	31
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	32
5.1. Resultados da seleção	32
5.2. Qualidade dos biscoitos	33
5.3. Área coberta por cálculo dentário	36
<b>6. CONCLUSÃO</b>	43
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	44
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	45

<b>ANEXO I</b> .....	52
<b>ANEXO II</b> .....	55

## 1. INTRODUÇÃO

Os animais de companhia, no Brasil, vem se tornando cada vez mais numerosos, sendo representados principalmente pelos cães, com um total de 52,2 milhões de cães no país (ABINPET, 2018). Atualmente estes animais estão em grande destaque, pois o ser humano busca, na relação com estes animais, aliviar uma parcela do estresse causado pela vida urbana (Borges et al., 2003)

A placa bacteriana é o principal fato etiológico da doença periodontal, que afeta 75% dos cães entre quatro e oito anos de idade (Santos et al., 2012). Se não removida, a placa dentária pode se desenvolver e ocasionar o surgimento de diversos problemas de saúde oral como mau hálito, formação de cálculo dentário e doenças periodontais que podem causar complicações sistêmicas graves pela disseminação de bactérias para outros órgãos.

O acúmulo de placa bacteriana pode ser evitada por meio da higiene oral como a escovação dos dentes mas esta atividade requer tempo dos tutores e deve ser praticada desde cedo. Devido a essas dificuldades, métodos alternativos foram buscados para reduzir a formação de cálculo dentário por métodos físicos, como o uso de biscoitos, tiras de couro cru comestíveis, alimentos secos específicos e pela combinação de meios físicos e químicos que inibem o crescimento de cristais, como o uso de hexametáfosfato e biscoitos revestidos com pirofosfato de sódio (STOOKEY et al., 1996)

As plantas produzem uma grande variedade de componentes orgânicos que possuem diversas ações como antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, antiviral e antifúngico. A composição química de cada planta, formada principalmente pelo metabolismo secundário das mesmas, são responsáveis por estes efeitos.

## **2. OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi desenvolver biscoitos assado contendo adição de extrato de própolis e extrato de romã para saúde oral de cães adultos saudáveis.

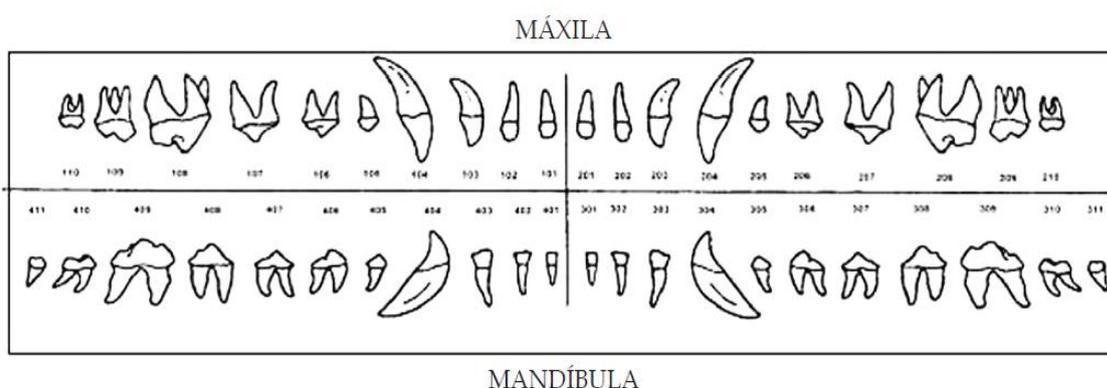
### **2.1. Objetivos específicos**

O objetivo específico deste trabalho foi avaliar individualmente o efeito do extrato de própolis do extrato de romã e o seu pool sobre a redução do acúmulo de cálculo dentário em cães. E comparar a eficiência dos extratos com o hexametáfosfato de sódio.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

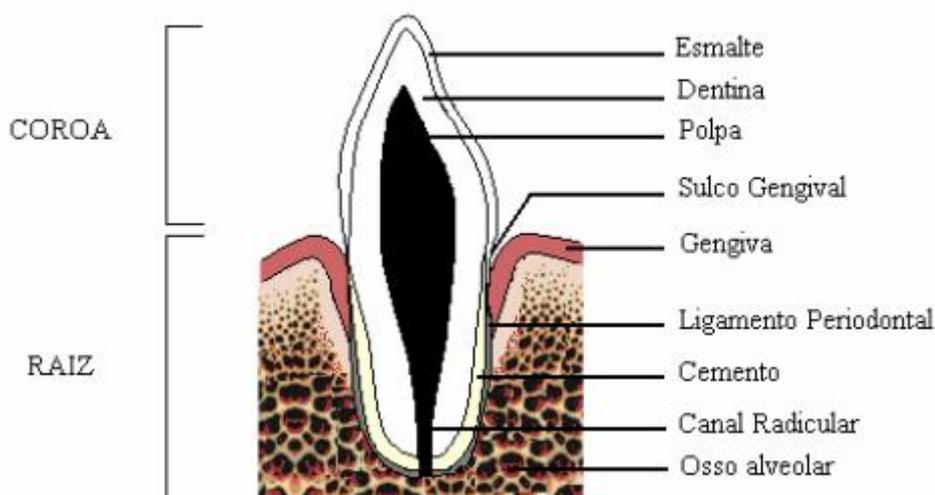
#### 3.1. Anatomia dentária

Os dentes são estruturas localizadas nos alvéolos dos ossos incisivos, do osso maxilar e da mandíbula. Na maioria das raças, os dentes decíduos ou primários iniciam a erupção por volta de um mês de idade. O cão tem 28 dentes decíduos, na seguinte fórmula: (Incisivos 3/3, Caninos 1/1, Pré - molares 3/3) X 2 = 28) e quando adultos apresentam 42 dentes permanentes: (Incisivos 3/3, Caninos 1/1, Pré - molares 4/4, Molares 2/3) x 2 = 42 (Figura 1) (SANTOS et al, 2012).



**Figura 1:** Fórmula dentária permanente de cães. Fonte: Gioso, 2007 apud Santos et al., 2012

Cada dente divide-se em três partes: coroa do dente (*corona dentis*), colo do dente (*collum dentis*) e raiz do dente (*radix dentis*). A coroa é a parte exposta do dente, a qual se projeta para além da gengiva e é coberta por esmalte. O colo é a ligeira constrição localizada na linha da gengiva, onde termina o esmalte. A raiz é a parte abaixo da gengiva, cuja maior parte se encerra no alvéolo ósseo (Figura 2). E são compostos por três tecidos mineralizados diferentes, os quais envolvem a cavidade dentária (*cavum dentis*). A cavidade dentária é preenchida pela polpa a qual é composta de tecidos conectivos, nervos, artérias e veias. Um pequeno forame apical se abre na extremidade de cada raiz e permite a livre passagem de vasos e nervos para dentro e fora do canal do dente. A maioria dos nervos na polpa é sensorial e possui terminações nervosas que podem ser estimuladas de diversas formas, resultando na sensação de dor (KÖNIG; LIEBICH, 2016).



**Figura 2:** Representação da anatomia do dente. Fonte: Pinto, 2007

As três substâncias mineralizadas dos dentes são: esmalte, dentina e cimento. O esmalte, ou revestimento externo do dente, é uma substância branca, calcificada, muito resistente, que possui um conteúdo mineral maior que o da dentina, cimento ou osso. O esmalte é encontrado apenas na coroa, revestindo e protegendo completamente a dentina da exposição externa (DORN, 1998). Trata-se de um elemento acelular, portanto, não pode se regenerar (KÖNIG; LIEBICH, 2016). A dentina, que forma a maior parte do dente, situa-se imediatamente abaixo do esmalte e separa esta estrutura da cavidade da polpa. (Dorn, 1998). O cimento é o tecido calcificado menos rígido no dente e é semelhante ao tecido ósseo alveolar, sendo este elemento o mais resistente a erosão causada por pressão (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

O ligamento periodontal, formado por fibras de tecido conjuntivo denso (colágeno), une o dente, através do cimento, ao osso alveolar (GIOSO, 2003; KÖNIG; LIEBICH, 2016).

A gengiva forma um revestimento em torno de cada dente e divide-se em: gengiva livre, que se adapta perfeitamente a superfície do dente, e gengiva inserida, firmemente aderida ao perióstio subjacente ao osso alveolar (SANTOS et al., 2012).

### 3.2. Saúde oral em cães

A placa bacteriana é o principal fator etiológico da doença periodontal, que afeta 75% dos cães entre quatro e oito anos de idade, sendo caracterizada como um material amarelado, pegajoso que se forma sobre a superfície do

esmalte do dente e por toda a boca, podendo ser igualmente chamada de biofilme (SANTOS et al., 2012). A placa é composta por bactérias em uma matriz de glicoproteínas salivares e polissacarídeos extracelulares (PAIVA et al., 2007).

A placa bacteriana inicialmente se estabelece na superfície do esmalte do dente e sem remoção mecânica periódica, tal como com a mastigação abrasiva ou escovação dos dentes, torna-se mais espessa e amadurece; minerais presentes na saliva ou nos fluidos gengivais, além de materiais alimentares, mineralizam a placa formando o cálculo dentário. O pH alcalino da saliva do cão ( $\cong 7,59$ ) faz com que o ambiente favoreça a mineralização e formação do cálculo (MARX et al., 2016).

A doença periodontal, que ocorre devido ao acúmulo de placa bacteriana na superfície dos dentes, acomete os tecidos que recobrem parcialmente, protegem e sustentam os dentes, estes incluem a gengiva, o osso alveolar, o cimento e o ligamento periodontal (SANTOS et al, 2012).

Além de causar o mau hálito, sinal que os proprietários de cães mais observam, podem causa sialorréia (salivação excessiva), mobilidade dentária, gengivite severa, retração gengival, exposição da raiz, hemorragia gengival branda e moderada, bolsas periodontais, secreção nasal e fístulas oronasais (SANTOS et al, 2012). Devido ao comprometimento da arcada dentária do animal, pode ainda, ocorrer o comprometimento da capacidade de alimentação, o que concorre diretamente com o ganho de peso, além de predispor o animal a doenças sistêmicas graves (PINTO et al, 2008).

Para verificar o estágio da periodontopatia de cães, pode-se utilizar uma ferramenta disponibilizada pela American Veterinary Dental College (AVDC), baseada em uma escala de 0 a IV (Figura 3). Onde o Grau 0 indica boca saudável sem evidência de vermelhidão ou inchaço na margem gengival de qualquer dente; cães com Grau I têm dente ou dentes com vermelhidão na margem gengival; Grau II indica a presença de vermelhidão que se estende além da margem gengival, bem como inchaço indicativo de edema; Bocas encenadas como Grau III têm evidência de sangramento, recessão gengival ou hiperplasia gengival, além de vermelhidão e edema; finalmente, cães com bocas encenadas como Grau IV tem extensa recessão gengival, evidência de infecção além de inflamação, e dentes soltos ou ausentes (STELLA, 2018).



Grau 0 = Sem doença

Gengiva = Normal, saudável

Dentes = Sem placa ou cálculo (tártaro)



Grau I = Gengivite

Gengiva = Vermelhidão suave

Dentes = Quantidade moderada de placa



Grau II = Periodontite precoce

Gengiva = Vermelhidão e edema

Dentes = Placa subgengival, cálculo leve



Grau III = Periodontite moderada

Gengiva = Vermelhidão, edema, gengivas podem sangrar com sondagem suave, recessão gengival ou hiperplasia

Dentes = Quantidade moderada a severa de cálculo, cálculo subgengival, dentes soltos ou ausentes



Grau IV = Periodontite severa

Gengiva = Vermelhidão grave, inflamação, gengivas sangram facilmente, bolsas ao redor dos dentes, pus podem estar presentes

Dentes = Grande quantidade de cálculo subgengival, dentes soltos ou ausentes

**Figura 3:** Ferramenta visual de avaliação de doenças periodontais. Fonte Stella et al., 2018.

Dentre os riscos na periodontopatia, o estágio que causa maior preocupação é quando bactérias que se encontram na boca do animal, alcançam a corrente sanguínea e então são levadas para outros órgãos e causarem infecções graves como glomerulonefrite, endocardite, artrite, meningite e discoespondilite (GIOSO, 1994; BERTOLD, 2003).

### 3.3. Interação entre nutrição e saúde oral

As características físicas do alimento, como textura, tamanho e forma têm papel importante na saúde oral de cães. Animais que comem alimentos macios tendem a desenvolver mais placa e gengivite do que aqueles que ingerem alimentos secos (SANTOS et al., 2012).

A introdução de vários produtos comerciais no mercado com o intuito de melhorar a saúde oral ocorreu ao longo dos últimos anos (OBA et al., 2014).

O alimento seco é potencialmente benéfico para a saúde oral se a forma e a textura dos *kibbles* forem especialmente formuladas para cães e gatos de raças e tamanhos específicos. Para uma adequada ação mecânica de raspagem da superfície dentária durante a mastigação, os dentes devem penetrar no *kibble* antes de quebrá-lo, com isso fatores relacionados ao animal são importantes e influenciam a pressão exercida sobre o *kibble* no momento da apreensão (OBA et al, 2014). Vários estudos demonstraram que há redução na formação do cálculo dentário em cães alimentados com uma dieta regular seca, quando comparados aos alimentados com dieta enlatada (úmida). Entretanto, ainda não está esclarecido se esse efeito é devido à ação abrasiva suave da ração seca ou devido ao alimento enlatado aderir-se mais facilmente ao tecido da placa bacteriana (PAIVA et al., 2007)

Outra maneira de evitar o acúmulo de placa bacteriana é a escovação, através da ação mecânica possui eficácia comprovada, quando efetuada três vezes por semana. Como os animais precisam ser condicionados a tais procedimentos desde novos e como o tempo disponível para tal prática torna-se cada vez menor nas famílias que possuem animais de companhia, a maioria dos proprietários prefere utilizar *snacks* ou tiras de couros na prevenção da formação do cálculo dentário (PAIVA et al., 2007).

Há muitos produtos classificados de acordo com a Instrução Normativa (IN) Nº 30/2009 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) como Alimento Específico. Eles são compostos por ingredientes ou matérias-primas ou

aditivos destinados exclusivamente à alimentação de animais de companhia com finalidade de agrado, prêmio ou recompensa e que não se caracteriza como alimento completo, possuindo propriedades específicas.

Dentre alimentos específicos, existem os biscoitos assados, que apresentam uma grande variedade em relação a sua composição, podendo ser indicado como um produto totalmente natural ou não. Com relação aos aditivos para prevenção e/ou redução no acúmulo de placas bacterianas, os fosfatos são mais utilizados. Eles formam complexos solúveis com o cálcio presente na saliva, ajudando a prevenir a mineralização da placa em cálculo dentário (PINTO et al., 2008).

#### 3.4. Hexametáfosfato de sódio e tripolifosfato de sódio

O hexametáfosfato de sódio (Figura 4) é um sequestrante que forma complexos solúveis com uma variedade de produtos, assim como o tripolifosfato de sódio (PINTO, 2007).

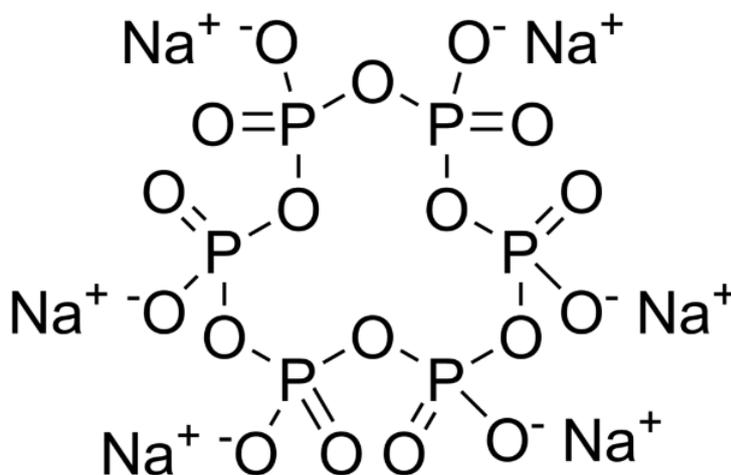
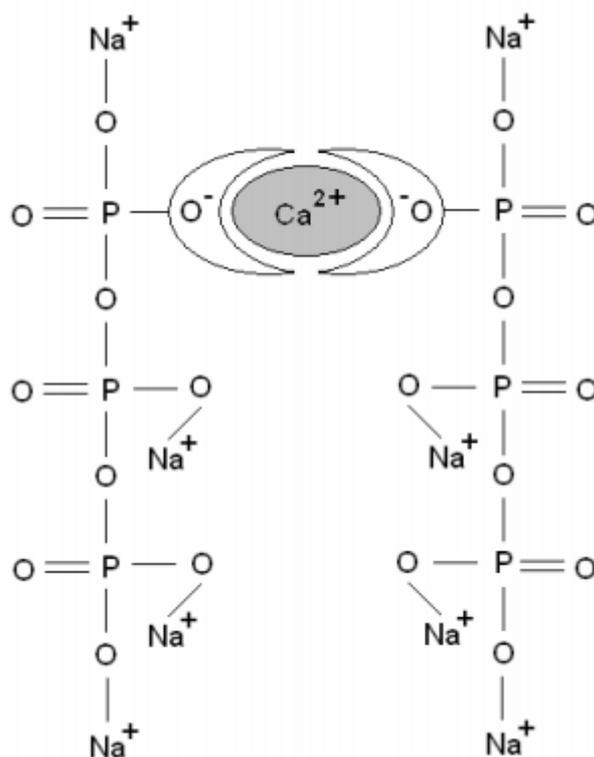


Figura 4: Estrutura química do hexametáfosfato.

Quando adicionado aos alimentos, e com o ato da mastigação, ele é incorporado na placa dentária e forma complexos solúveis com cálcio, os quais, então, se difundem na saliva, prevenindo, assim, a formação de cálculo (Figura 5) (STOOKEY et al., 1996). Sendo o hexametáfosphato de sódio, também, um bom aditivo para redução do acúmulo de cálculo dentário, adicionado tanto na cobertura dos grânulos da ração quanto no interior da massa, acredita-se que o maior tamanho do complexo iônico deste aditivo, comparado aos complexos iônicos do tripolifosphato de sódio, seja responsável pela sua eficácia (PINTO et al, 2008).



**Figura 5:** Mecanismo de sequestro do cálcio salivar pelo tripolifosphato de sódio. Fonte: Pinto, 2007

A incorporação deste componente à ração ou “snacks” não apresenta nenhum risco à saúde do animal. O hexametáfosphato de sódio é convertido a ortofosphato por meio de ácidos presentes no estômago, sendo então metabolicamente assimilado de forma semelhante a outros fosfatos dietéticos (STOOKEY et al., 1996).

### 3.5. Fitogênicos e própolis

Atualmente os fitogênicos não são amplamente comercializados mas são muito estudados na área de nutrição animal, principalmente, na alimentação de animais de produção devido aos seus diversos benefícios como efeitos antioxidantes e antimicrobiano.

As plantas produzem uma grande e diversa variedade de componentes orgânicos, que são divididos em dois grupos, metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são compostos por uma série de processos envolvidos na manutenção fundamental da sobrevivência e do desenvolvimento das plantas, como armazenamento de energia, enquanto o metabolismo secundário possui importante função para a sobrevivência e competição no ambiente. Os metabólitos secundários das plantas são compostos químicos não necessários para a sobrevivência imediata da célula, servindo como uma vantagem evolucionária para a sua sobrevivência e reprodução (VIZZOTO et al., 2010).

Existe uma ampla quantidade de tipos de metabólitos secundários em plantas, podendo ser classificados segundo a presença ou não de nitrogênio na sua composição. Os seguintes grupos de metabólitos secundários mais importantes nas plantas são: os terpenos (formados através da justaposição de modo sucessivo de isopentenilpirofosfato, dando origem a todos os terpenos, como monoterpenos, seuterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos), compostos fenólicos (derivados dos carboidratos, são substâncias que possuem ao menos um anel aromático e nele pelo menos um hidrogênio que é substituído por um grupamento hidroxila), os alcalóides (derivados dos aminoácidos, principais constituintes das proteínas, são compostos orgânicos com ao menos um átomo de nitrogênio em seu anel) (VIZZOTO et al., 2010).

#### 3.5.1. Extratos de romã

A *Punica granatum* é uma planta da família Punicaceae, cultivada mundialmente em regiões de clima tropical e subtropical (PEREIRA et al, 2006). Os preparos obtidos da romãzeira (flor, fruto e casca da árvore) são popularmente usados para tratar vários problemas de saúde (WERKMAN et al, 2008). Alguns pesquisadores identificaram propriedades antimicrobiana em diversas partes da romãzeira, Jiménez Misas et al. (1979) identificaram esta atividade biológica nas folhas e caule, Anesini & Perez (1993) observaram que o

pericarpo do fruto de *P. granatum* produziu um efeito antimicrobiano e De et al. (1999) detectaram que as sementes apresentam alta atividade antimicrobiana.

Pereira et al. (2006) e Amorin et al. (2016) avaliaram o efeito da romã sobre os microrganismos da placa dentária de humanos e cães, respectivamente. Pereira et al. (2016) testou apenas o extrato hidroalcoólico de *P. granatum in vitro* e observou uma redução de 10-25mm sobre as bactérias *Streptococcus mitis*, *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. sobrinus* e *Lactobacillus casei*. Enquanto Amorin et al. (2016) verificou o desempenho sob duas formas: extrato hidroalcoólico de *P. granatum in vitro* e a outra através da utilização de gel dental na escovação dentária durante 60 dia, apresentando uma redução de 10-15mm no teste realizado com as bactérias e observou uma redução de 90% da placa dentária em cães. Ambos os autores encontraram resultados promissores visto que a romã mostrou-se eficaz na redução da placa dentária tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

### 3.5.2. Extrato de própolis

A própolis é uma substância resinosa ou algumas vezes cerosa, coletada por abelhas melíferas de diferentes exsudatos vegetais. Tem sido utilizada na medicina tradicional desde a antiguidade devido ao seu largo espectro de atividade biológica como antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, antiviral, antifúngico e, até mesmo, anti-cancerígeno (KUJUMGIEV et al., 1999; BANSKOTA et al., 2000; SFORCIN et al., 2000; MARCUCCI et al., 2001). As propriedades biológicas da própolis estão diretamente ligadas à sua composição química está por sua vez muito variável pois a produção da própolis depende diretamente da flora visitada pelas abelhas, do período de coleta e da espécie da abelha, ocasionando inúmeras variações no produto (FISHER et al., 2008). Alguns componentes estão presentes em todas as amostras, enquanto outros ocorrem somente em própolis colhidas de espécies particulares de plantas. Pelo menos 200 componentes diferentes já foram identificados em amostras de própolis de origens diversas (GREENAWAY et al., 1991; AGA et al., 1994; BANKOVA et al., 1995; MARCUCCI et al., 1996, 2001).

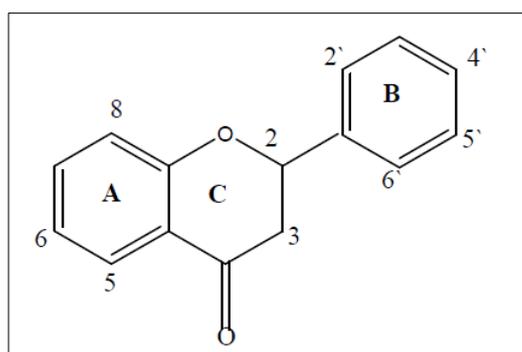
Garcia et al. (2011) avaliaram a ação da própolis vermelha sobre as bactérias *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*, *in vitro*, que estão presente no biofilme dentário humano e são responsáveis, também, pela formação de cáries. E obtiveram resultados favoráveis à prevenção do

surgimento de cáries em humanos, visto que em ambas as bactérias o extrato apresentou um halo de inibição de 1 a 1,4cm. Godin et al. (2011) também avaliou o efeito da própolis em bactérias (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* e *Lactobacillus casei*) responsáveis pela formação da cárie em humanos e obteve resultados semelhantes a Garcia et al. (2011). Porém ambos os autores afirmam que a própolis é um bom produto para ser utilizado como antimicrobiano mas que necessita de mais estudos pois apresenta uma grande variação na sua composição química.

### 3.6. Princípios ativos do extrato de romã e própolis

#### 3.6.1. Flavonóides

Os flavonoides estão presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de plantas e podem ser subdivididos em seis principais classes: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis e antocianidinas (AHERNE; O'BRIEN, 2002). Podendo assim, encontrar flavonoides em diversas formas estruturais. A estrutura química básica destes compostos, conhecida como flavilium, consiste de 15 carbonos distribuídos em dois anéis aromáticos (anéis A e B), os benzenos, interligados a uma estrutura heterocícli-38-ca central, o pirano (anel C), onde o primeiro benzeno é condensado com o sexto carbono do pirano, que na posição 2 carrega um grupo fenila (Figura 6) (DORNAS et al. 2010).



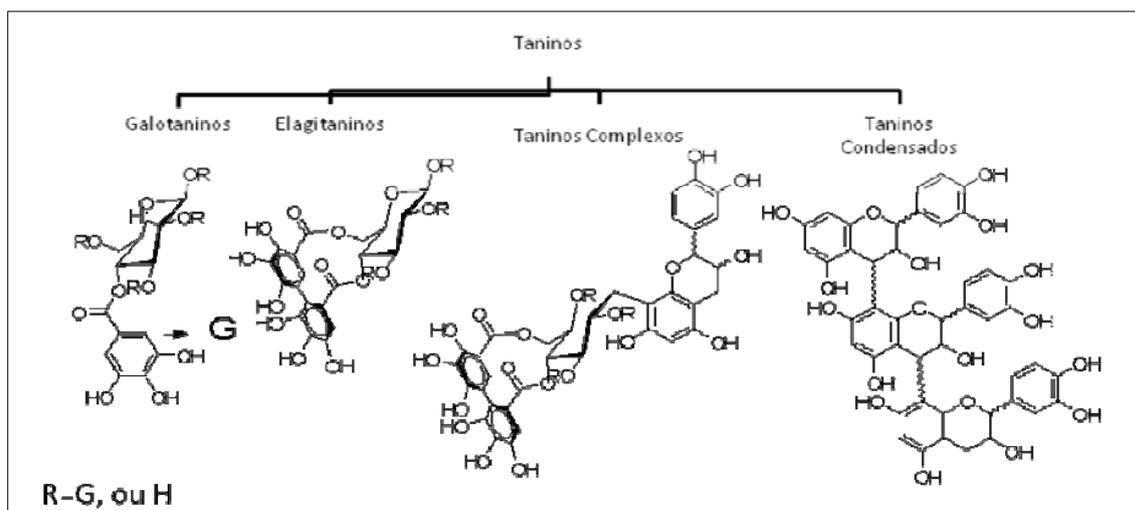
**Figura 6:** Estrutura básica dos flavanóides. Fontes: Dornas et al., 2010

A ação antimicrobiana dos flavonóides provavelmente está relacionada a capacidade de complexar proteínas extracelulares e solúveis, bem como estruturas de parede celular bacteriana. Flavonóides mais lipofílicos podem atuar provocando o rompimento das membranas microbianas (MULLER, 2006).

#### 3.6.2. Taninos

Taninos são compostos fenólicos derivados do metabolismo secundário de plantas. São encontradas na maioria dos órgãos vegetais, como casca, caule, folhas, frutos e raízes (COWAN, 1999). Possuem elevado peso molecular e estão associados aos mecanismos de defesa das plantas contra insetos (PAIS, 1998).

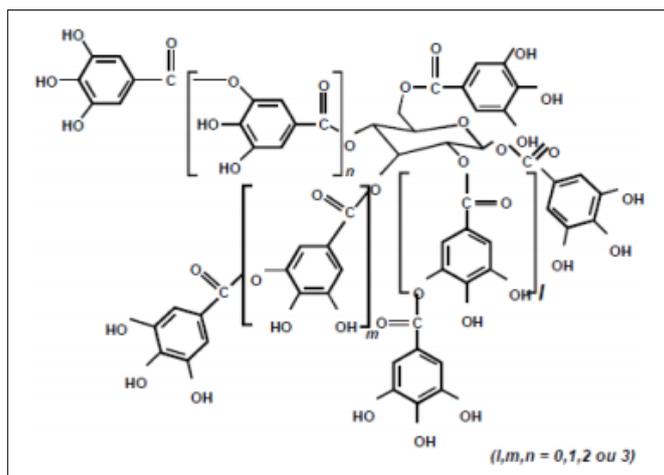
Devido à grande diversidade, os taninos são subdivididos quanto as suas propriedades estruturais e químicas (figura 7). Vários taninos podem ser clivados hidroliticamente; esta propriedade lhes confere a classificação de taninos hidrolisáveis. Dentre os taninos hidrolisáveis encontramos os galotaninos e elagitaninos, polímeros derivados do ácido gálico e elágico respectivamente. Os taninos que não são sujeitos à hidrólise são classificados como taninos condensados. Estes se constituem de subunidades de catequina polimerizadas; encontrado na natureza com diferentes graus de polimerização. A exclusão do grupo de taninos hidrolisáveis e condensados dá origem ao grupo dos taninos complexos (CARVALHO, 2010).



**Figura 7:** Exemplos de diversas classes de taninos. Fontes: Carvalho, 2010.

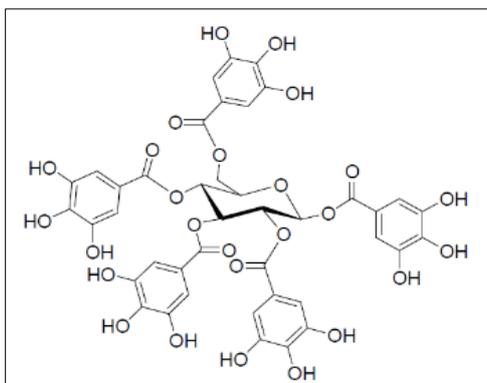
#### a) Taninos hidrolisáveis

Taninos hidrolisáveis possuem, em sua estrutura química (Figura 8), um grupo poliol central (em sua maioria, é  $\beta$ -D- glicose, mas também o ácido quínico, outros fenóis e outros glicósidos) (KHANBABAEE; REE, 2001). Esta unidade central é esterificada a unidades de galóila no caso dos galotaninos ou unidades HHDP (hexa-hidroxidifenoila) no caso de elagitaninos (CARVALHO, 2010).



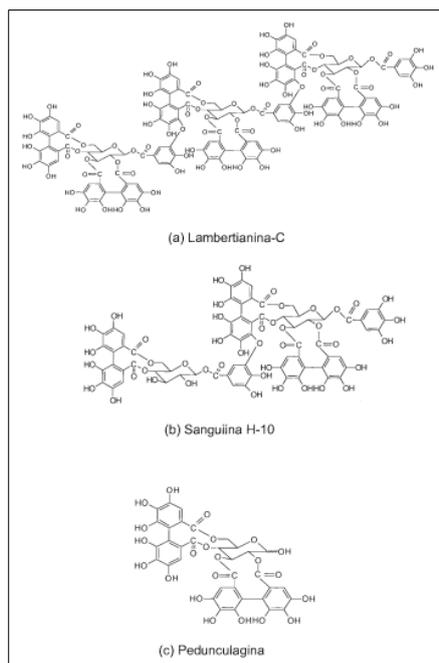
**Figura 8:** Estrutura de taninos hidrolisáveis. Fonte: Nakamura et al. (2003) apud Casteion, 2011.

Galotaninos são os taninos hidrolisáveis mais simples em ocorrência, sua estrutura básica corresponde a um núcleo poliol ligado a moléculas de ácido gálico. Os galotaninos (figura 9) são encontrados em grande parte das plantas e atuam como um intermediário para a biossíntese de taninos hidrolisáveis mais complexos (CARVALHO, 2010).



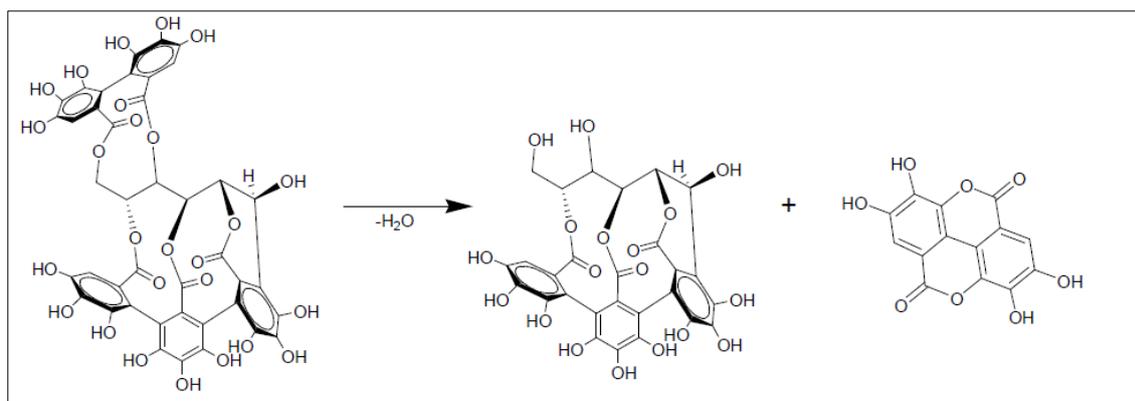
**Figura 9:** Estrutura da 1,2,3,4,6-penta-O-galoi- $\beta$ -D-glicose, precursor dos elagitaninos. Fontes: Carvalho, 2010

Elagitaninos (Figura 10) são polifenóis oriundos do metabolismo secundário das espécies dicotiledôneas das angiospermas. São formados a partir dos galotaninos, mais especificamente da pentagaloiilglicose por um processo de acoplamento oxidativo de pelo menos duas das espécies galoila, formando as unidades quirais HHDP (hexahidroxidifenoila) (CARVALHO, 2010).



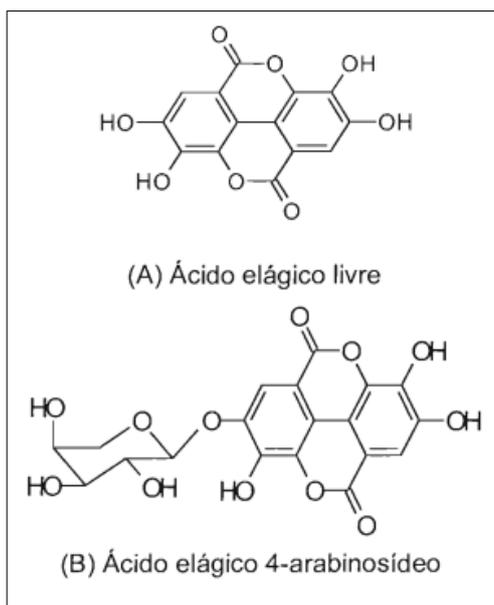
**Figura 10:** Estrutura química de alguns elagitaninos Fonte: Abe, 2007.

A hidrólise (Figura 11) dos elagitaninos resulta na liberação da porção HHDP formando o ácido hexa-hidroxidifenóico que espontaneamente desidrata formando sua dilactona estável, o ácido elágico (CARVALHO, 2010).



**Figura 11:** Hidrólise de um elagitanino (vescalagina). Fontes: Carvalho, 2010.

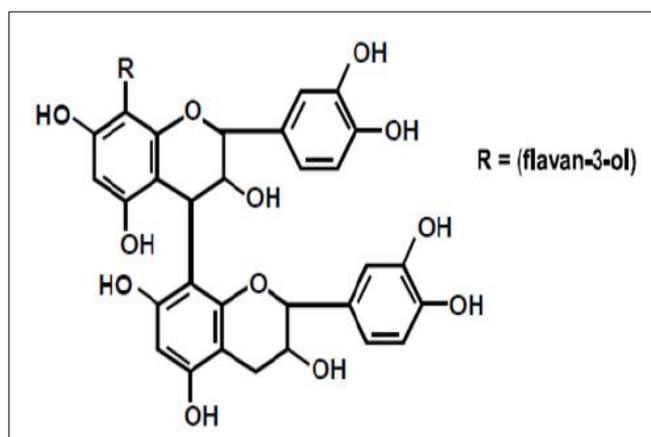
Os ácidos elágicos podem, então, serem encontrados na sua forma livre, glicosilada e na forma de elagitaninos (Figura 12) (ABE, 2007).



**Figura 12:** Ácido elágico na sua forma livre(A) e glicosilada (B).  
Fonte: Abe, 2007

### b) Taninos condensados

Os taninos condensados ou proantocianidinas estão distribuídos por diversas famílias do reino vegetal, em geral, em plantas lenhosas. São polímeros de flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol (HEIL et al., 2002). Com estruturas similares aos flavonoides. Em concentrações mais elevadas, conferem aos frutos e aos alimentos características adstringentes.



**Figura 13:** Estrutura química dos taninos condensados.  
Fonte: Lekha & Lonsane (1997) apud Castejon, 2011.

### c) Tanino complexos

Os tanino complexos, também conhecidos como flavano-elagitaninos são constituídos por uma unidade de tanino hidrolisável e uma unidade de tanino condensado. A porção hidrolisável liga-se à unidade de tanino condensado (flavanol) através de uma ligação carbonocarbono entre o carbono C1 da glicose

de cadeia aberta e carbono 6 ou 8 do anel da unidade de flavanol (CARVALHO, 2010).

#### 3.6.2.1. Ação antimicrobiana dos taninos

O mecanismo de ação antimicrobiana dos taninos explica-se por três hipóteses. A primeira pressupõe que os taninos inibem enzimas bacterianas e fúngicas e/ou se complexam os substratos dessas enzimas; a segunda inclui a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu metabolismo, e a terceira fundamenta-se na complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano (SCALBERT, 1991).

#### 3.6.3. Alcalóides

O nome alcalóide vem do fato de essas substâncias serem álcalis, uma vez que possuem um grupo amina que lhes confere o caráter básico. Os alcalóides podem ocorrer em diferentes órgãos do vegetal, como a raiz (*Symphitum spp.*), folhas (*Passiflora sp.*, *Agerantum conyzoides* e *Phyllanthus spp.*), casca do fruto (*Punica granatum*) e em sementes (*Luoinus albus*) (TAIZ E ZEIGER, 1998).

Este composto é produzido a partir de aminoácidos e possuem grande importância farmacológica, uma vez que apresentam diversas atividades biológicas em seres humanos e animais. (ZENK, 1980).

A ação antimicrobiana deste grupo, ou seja, o mecanismo de ação dos alcaloides, parece estar relacionada a sua capacidade de se intercalar entre a parede celular e o DNA de microrganismos (DOMINGO E LÓPEZ-BREA, 2003).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida em Florianópolis/SC e dividiu-se em duas etapas: a primeira foi a elaboração dos biscoitos e a segunda a seleção dos cães participantes.

O projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética Animal da Universidade Federal de Santa Catarina, número 215101118.

### 4.1. Desenvolvimento dos biscoitos

O desenvolvimento dos biscoitos correu na Usina de alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina do dia 22 de agosto de 2018 a 08 de novembro de 2018. Até alcançar as características desejáveis para um produto

voltado a saúde oral de cães e que agradasse o olhar do consumidor foram realizados sete testes.

Inicialmente a composição dos biscoitos eram farinha de trigo, farinha de trigo integral, farinha de milho, leite em pó desnatado, melaço, gordura vegetal, levedura seca, bissulfito de sódio, bicarbonato de sódio, sal e água. A farinha de milho, levedura seca e o bicarbonato de sódio foram substituídos e retirados da fórmula pois faziam com que os biscoitos apresentassem deformações visuais (Figura 14) e dificultavam com que o produto ficasse assado internamente.



Figura 14: Biscoitos teste

Após os teste a fórmula dos biscoito foi definida, ela é constituída por: farinha de trigo, farinha de trigo integral, farinha de arroz, leite em pó integral, bissulfito de sódio, sal, melaço e gordura vegetal. Todos os ingredientes da formulação dos biscoitos foram adquiridos no comércio local da Grande Florianópolis

Os mesmos foram fabricados semanalmente e armazenados em embalagens internamente metálicas e auto selantes (figura 15), para serem distribuídos, também semanalmente, aos tutores dos cães participantes do projeto.



Figura 15: Embalagens que os biscoitos eram armazenados

#### 4.2. Tratamentos experimentais

Foram avaliados cinco tratamentos, que correspondem inclusão ou não de aditivos nos biscoitos assados, durante quatro semanas. O extrato de romã adquirido no mercado era oriundo da casca do romã.

- a. Tratamento controle negativo: sem a adição de aditivo;
- b. Tratamento controle positivo: com a adição de hexametáfosfato de sódio em 0,6%;
- c. Tratamento Própolis: adição de extrato de própolis 0,9%;
- d. Tratamento Romã: adição de extrato da casca de romã 0,9%;
- e. Tratamento blend: adição de extrato da casca de romã 0,9% + extrato de própolis 0,9%.

#### 4.3. Qualidade dos biscoitos

##### 4.3.1. Composição bromatológica

Foram enviados 200 gramas dos biscoitos para o laboratório CBO em Vale Verde / Valinhos – São Paulo para realização das análises de umidade, proteína bruta (11,69%), extrato etéreo (5,30%), matéria mineral (1,65%), fibra bruta (1%) e energia bruta (4.206,00 Kcal/kg). Com o recebimento dos resultados o Extrato Não Nitrogenado (ENN) foi estimado. Assim, a Energia Metabolizável (EM) dos biscoitos foi calculada, de acordo com NRC (2006), para a determinação do

consumo diário de biscoito pelo cães de acordo com o seu peso corporal e exigência energética de manutenção.

#### 4.3.2. Teste físico

A análise de textura dos biscoitos foi realizada no Laboratório de análise sensorial, em triplicata, no equipamento texturômetro (TA.XT.plus, Stable Micro Systems, Inglaterra), com probe 3-Point bending Rig (HDP/3PB) e plataforma HDP/90. Os parâmetros utilizados nos testes foram: velocidade pré-teste = 1,0 mm.s<sup>-1</sup>; velocidade de teste = 3,0 mm.s<sup>-1</sup>; velocidade pós-teste = 10,0 mm.s<sup>-1</sup>; distância 5 mm, com medida de força de 50Kg em compressão para obter-se os parâmetros de força e fraturabilidade.



Figura 16: Texturômetro TA.XT plus

#### 4.3.3. Análise de atividade de água dos biscoitos

O teste de atividade de água foi realizado, em triplicata, no Laboratório de Análises (LABCAL), do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CAL), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) com a utilização do aparelho AquaLab 4TE. Previamente a análise os biscoitos foram moídos, peneirados e corretamente posicionados no recipiente de amostras do equipamento.

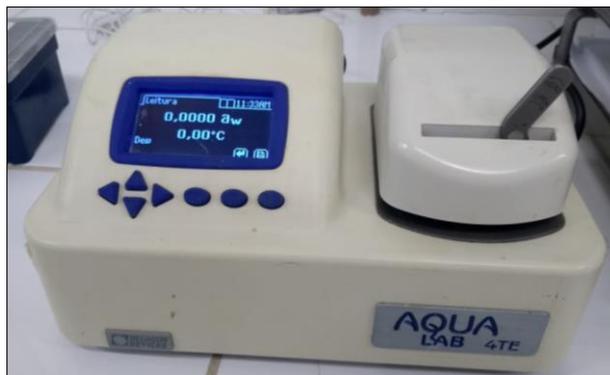


Figura 17: Equipamento Aqua Lab 4TE

#### 4.4. Seleção dos cães

A seleção dos cães participantes do estudo, foi realizada através de uma anamnese (anexo I) online com tutores de cães que estavam interessados em participar do projeto, com o intuito de conhecer a saúde e estilo de vida do animal.

Os cães selecionados tinham entre 3 - 8 anos de idade e não consumiam alimento completo que possuía na sua formulação algum aditivo que poderia ajudar na prevenção do acúmulo de placa bacteriana. Nenhum dos cães participantes foram submetidos a limpeza dentária profissional antes e durante o experimento ou receberam alguma escovação regular durante o experimento. Os quarenta e um cães selecionados foram distribuídos nos cinco tratamentos proposto de forma padrão.

O consumo diário dos biscoitos foi calculado de acordo com o peso corporal (PC) dos animais em relação a necessidade energética de cães em manutenção. A energia metabolizável fornecida pelos biscoitos não ultrapassou 10% da energia de manutenção dos cães.

No primeiro dia os tutores foram informados sobre os procedimentos durante o projeto e receberam a primeira embalagem de biscoitos em quantidade suficiente para uma semana, os mesmo receberam o produto a cada 7 dias.

#### 4.5. Avaliação da redução do cálculo dentário

A avaliação seguiu um modelo adaptado de Logan & Boyce (1994) e foram avaliados os caninos, 1º, 2º, 3º e 4º pré-molar maxilar. Todas as observações quanto a situação inicial e final dos cães sobre o grau da periodontopatia dos cães foram realizados de acordo com Stella et al. (2018).

A área de superfície dos dentes cobertos com placa e cálculo dentário foi determinada a partir de imagens iniciais dos lados esquerdo e direito da arcada dentária dos cães. A primeira imagem foi obtida juntamente com a entrega dos biscoitos e a cada sete dias, para acompanhamento da ação dos tratamentos no cálculo dentário.

As imagens, obtidas com a Câmera Canon Digital EOS Rebel T6 18MP, foram analisadas pelo Image-Pro® Plus software para Windows usando a ferramenta de integração de superfície de Abdalla et al. (2009). Em cada imagem foi integrado o contorno dos cálculos dentárias dos dentes avaliados para posteriormente mensurarmos a área total do acúmulo de cálculo. E em seguida, determinado os escore de cobertura de placa e cálculo dentário segundo Logan & Boyce (1994), onde foi considerado o percentual da boca coberta para determinação de cada escore, de acordo com a tabela 1.

Tabela 1: Determinação do escore de placa e cálculo dentário

<b>Escore</b>	<b>Percentual da boca</b>
<b>0</b>	0
<b>1</b>	1 a 24%
<b>2</b>	25 a 49%
<b>3</b>	50 a 74%
<b>4</b>	75 a 100%

Fonte: Logan e Boyce (1994)

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Fisher ao nível de 5% de significância no programa estatístico Minitab18. As avaliações foram realizadas em triplicada.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **5.1. Resultados da seleção**

Foi obtido um total de 138 tutores de cães interessadas em participar do experimento. Observou-se que muitos tutores optam por fornecer algum tipo de petisco para a saúde oral dos seus cães pois a escovação frequente e adequada exige que os animais sejam condicionados, além de requerer uma grande aquiescência do proprietário, o qual, muitas vezes, não disponibiliza tempo, paciência e ou persistência para tal procedimento (Paiva et al., 2007).

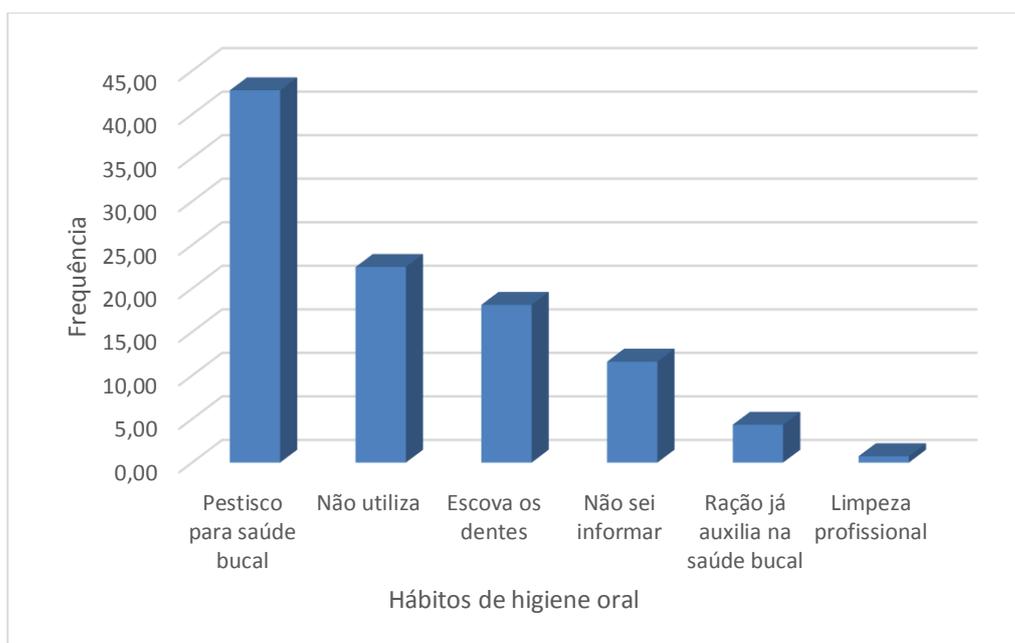


Figura 18: Frequência dos hábitos de higiene oral que os tutores, da anamnese, praticam com os cães.

## 5.2. Qualidade dos biscoitos

As médias de textura de cada tratamento estão indicadas na tabela 2.

Tabela 2: Média de textura dos biscoitos.

Biscoitos	Textura (Kgf)
<b>Controle</b>	12,4809 <sup>ab</sup>
<b>Hexametafosfato de sódio</b>	12,7375 <sup>a</sup>
<b>Própolis</b>	10,8917 <sup>b</sup>
<b>Romã</b>	13,4211 <sup>a</sup>
<b>Blend</b>	12,7458 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem-se por Fisher ( $P \leq 0,05$ ).

O biscoito contendo própolis obteve a menor força de quebra, diferindo-se estatisticamente dos demais, exceto do controle que mostrou ser um tratamento intermediário, não diferenciando-se estatisticamente dos demais.

A formação das redes de glúten na farinha de trigo é um dos fatores que influenciam a dureza dos biscoitos assados. As proteínas do glúten formam uma rede contínua dentro da estrutura da massa, durante a mistura de trigo com água, com impacto direto sobre o produto final (SASAKI et al., 2008).

Além disso, modificações químicas são frequentemente realizadas nos amidos para alterar suas propriedades naturais a fim de que eles possam ser utilizados em aplicações alimentícias ou industriais. O amido resistente (AR) é uma dessas modificações e pode ser obtido através de um processo chamado intercruzamento, onde utiliza-se fosfatos para formação do AR (BATISTA et al.,

2008; MORAES, 2016). As ligações químicas formadas reforçam a estrutura do grânulo, reduzindo a capacidade de expansão, aumentando as temperaturas de gelatinização e dessa forma, reduzindo o rompimento dos grânulos (PRIMO-MARTÍN, 2012). O amido resistente promove crocância para biscoitos e sua habilidade de expansão pode propiciar melhores texturas em cereais matinais, por exemplo (PEREIRA, 2007). Assim, pela presença de fosfato no tratamento contendo hexametáfosfato de sódio, possivelmente, pode ter ocorrido a formação do AR e ter favorecido sua melhor textura e resultado sobre a redução de placa e cálculo dentário.

Resultados sobre alteração na texturas de produtos com adição de extrato de romã também tem sido relatado por alguns autores. Srisvastava et al. (2014) ao avaliar a o efeito do extrato, em pó, da casca do romã sobre características físicas em biscoitos para humanos, com substituição parcial do trigo em 2,5%, 5%, 7,5% e 10% de extrato, observaram o aumento significativo da dureza com 16,04Kgf, 16,83Kgf, 17,15Kgf e 18,21Kgf respectivamente, e diminuição da elasticidade. O mesmo foi relatado por Topkaya e Isik (2019), ao avaliar o mesmo fitogênico, em substituição parcial a farinha de trigo, na produção de muffins com adição de 5%, 10% e 15% de romã na composição e obteve um valor de dureza  $2,84\text{Kgf} \pm 3,21$ ,  $2,60\text{Kgf} \pm 5,02$  e  $2,99\text{Kgf} \pm 7,15$  respectivamente, enquanto o controle apresentou valor de dureza de 1,89Kgf e , também, diminuição da elasticidade (8,83mm, 8,83mm e 8,49mm). Ambos os autores afirmam que este efeito é devido ao aumento na quantidade de fibras dietéticas nos produtos.

Krystujan et al. (2015), ao avaliar a adição do pólen de abelha sobre as características físicas de biscoitos para humanos, observou que conforme o nível de inclusão do pólen foi aumentando, apresentou diminuição na sua dureza. Fayaz (2017), estudou as propriedades físicas de chocolate com adição de óleo de semente de romã distribuído em três tratamentos contendo monoglicérido saturado, cera de abelha e própolis. E observaram que o tratamento contendo própolis foi o que apresentou menor dureza.

Todos os tratamentos apresentaram diferenças estatísticas na análise de atividade de água. Observou-se que a sequência da maior atividade de água para a menor foi: controle, hexametáfosfato de sódio, própolis, romã e blend. As médias de cada tratamento estão na tabela 3.

Tabela 3: Médias de atividade de água dos biscoitos.

<b>Biscoitos</b>	<b>Atividade de água (A.w.)</b>
<b>Controle</b>	0,42645 <sup>a</sup>
<b>Hexametáfosfato de sódio</b>	0,34622 <sup>b</sup>
<b>Própolis</b>	0,30813 <sup>c</sup>
<b>Romã</b>	0,24527 <sup>d</sup>
<b>Blend</b>	0,22317 <sup>e</sup>

<sup>a-e</sup>Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem-se por Fisher ( $P \leq 0,05$ ).

As reações microbiológicas, químicas e enzimáticas tem sua velocidade reduzida com a diminuição da atividade de água até que em uma atividade de água abaixo de 0,2 todas as reações estejam praticamente inibidas, com exceção da oxidação de lipídios (VAN DEN BERG; BRUIN, 1981). O biscoito controle mesmo apresentando maior atividade de água está fora do alcance do desenvolvimento de fungos, leveduras e bactérias pois o desenvolvimento destes microrganismos é favorecidos em um nível de atividade de água a partir de 0,6. Os biscoitos produzidos, no geral, demonstraram ser produtos dentro do padrão de segurança, quando falamos de desenvolvimentos de microrganismos maléficos a qualidade dos produtos pois apresentaram atividade de água entre 0,22317 a 0,42645. Porém podem sofrer com alterações como escurecimento, atividades enzimáticas e oxidação de lipídeos.

A textura de um alimento é afetada pela sua atividade de água (BOUNER, 1987). Alimentos com atividade de água até mais ou menos 0,25 apresentam características como: seco, duro e crocante, enquanto alimentos entre 0,26 até quase 0,8 passam a ser seco, firme e flexível. Já alimentos com nível de atividade de água maior que este é caracterizado como alimento úmido, macio, flácido, inchado e grudento. Alguns alimentos como petiscos, bolachas e biscoitos precisam ter menor atividade de água para ser crocante (DITCHFIELD, 2000).

A textura macia das dietas promove a deposição placa bacteriana e formação de cálculo em cães. Alimentos secos podem fornecer maiores forças mecânicas nos dentes durante a mastigação em comparação com alimentos moles, concluindo assim que a textura do alimento pode exercer efeitos benéficos sobre saúde oral de um animal (MARX et al, 2016). Os biscoitos produzidos se enquadram como alimentos secos, duros e firmes, demonstrando ser um petisco favorável à redução de placa e cálculo dentário.

### 5.3. Área coberta por cálculo dentário

O escore de área coberta por cálculo dentário foi realizado segundo Logan & Boyce (1994). Os resultados demonstram que, enquanto o biscoito com adição de própolis manteve o seu escore todos os outros biscoitos apresentaram um queda na área coberta por cálculo dentário, incluindo o tratamento controle.

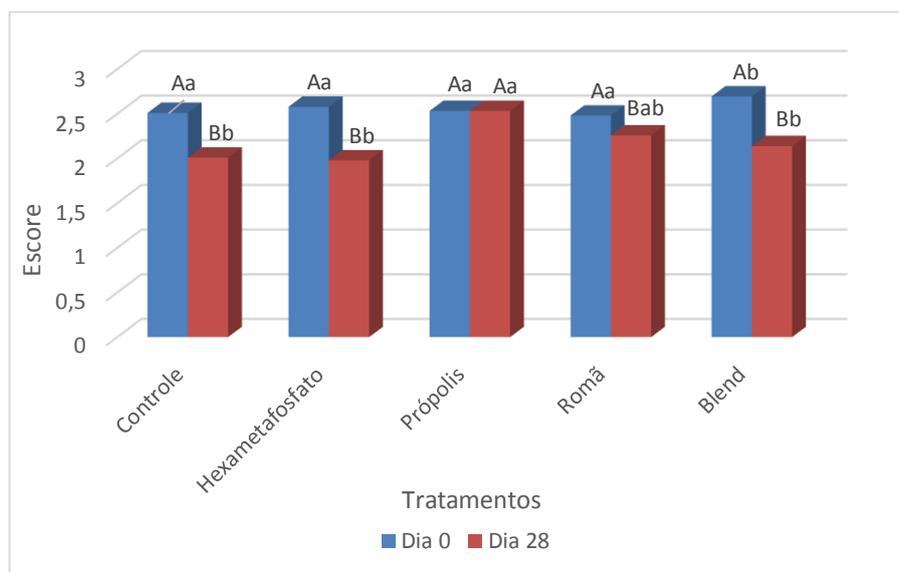


Figura 19: Índice de placa e cálculo dentário. Letras maiúsculas diferente dentro dos tratamentos e letras minúsculas diferem entre tratamentos

Com exceção dos cães que consumiram os biscoitos do tratamento própolis, todos os cães dos demais tratamentos apresentaram diferenças estatísticas no dia zero ao dia 28 em relação a área coberta por cálculo dentário. Ao comparar os cães no dia zero observou-se que aqueles que consumiram biscoito com blend apresentou maior escore de área coberta ( $p < 0.05$ ). No dia 28, observou-se que os dentes dos cães do tratamento própolis apresentaram maior escore quando comparado com os demais cães, com exceção daquelas que consumiram biscoitos do tratamento romã, que mostrou ser tratamento intermediário.

Na figura 20 é possível observar que os cães iniciaram o experimento com dentes parcialmente cobertos cálculo dentário. Foi gerado uma equação de regressão linear para demonstrar a redução da área coberta por cálculo dentário, de cada tratamento ao longo do período do experimento.

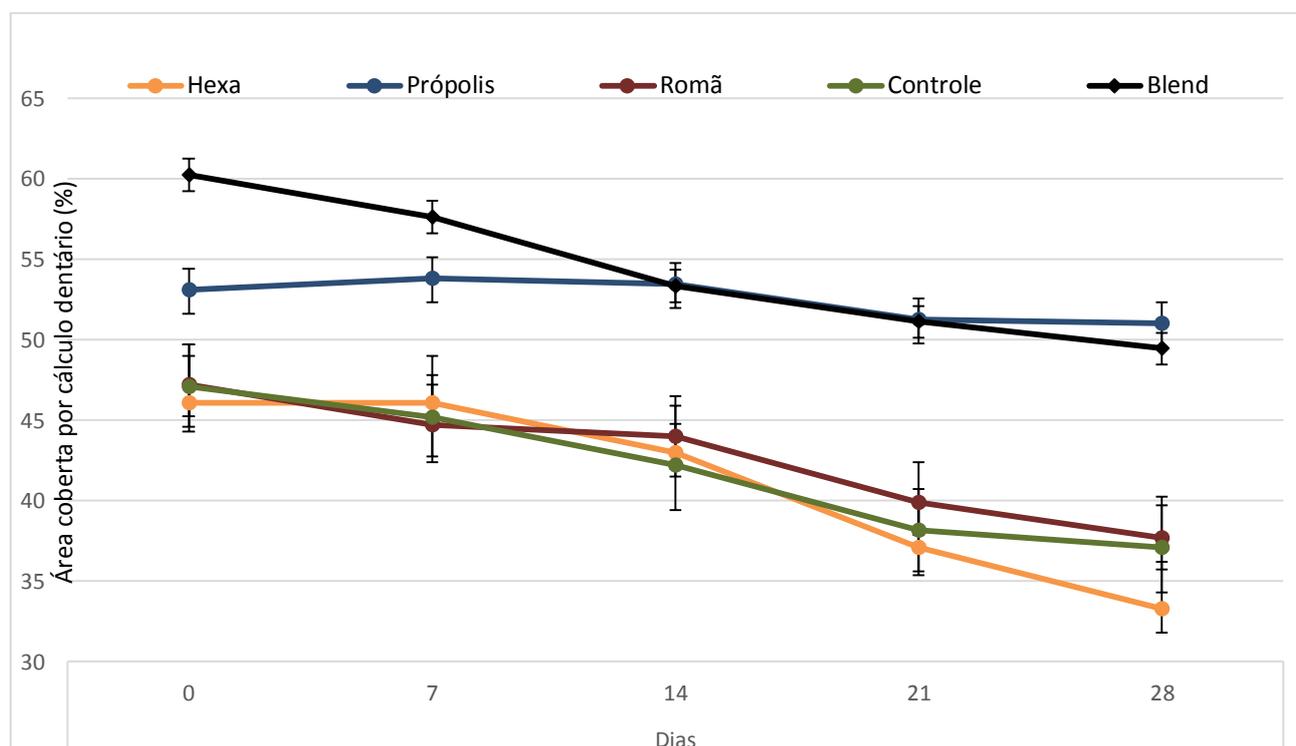


Figura 20: Área coberta por cálculo dentário por tratamento durante o período de experimento. Equações lineares geradas: H =  $-3,46x + 51,5$  ( $H^2 = 0,9177$ ); P =  $-0,673x + 54,567$  ( $P^2 = 0,6745$ ); R =  $-2,386x + 49,878$  ( $R^2 = 0,9648$ ); C =  $-2,698x + 50,05$  ( $C^2 = 0,9739$ ) e B =  $-2,808x + 62,794$  ( $B^2 = 0,9756$ ).

Cães *in door* apresentam maior prevalência de placa bacteriana e cálculo dentário. Rezende et al. (2004) confirma esta afirmação ao relatar em seu estudo realizado com 94 cães, em Uberlândia/MG, em que 100% dos animais apresentaram os dentes cobertos por placa bacteriana com uma média de escore de 3,46, de acordo com Logan e Boyce (1994). Esta alta frequência também foi descrita por Stella et al. (2018) com 445 cães em Indiana e Illinois (EUA), mostrando que 86,3% dos animais tinham a presença de doença periodontal, sendo esta consequência do acúmulo excessivo de placa bacteriana e cálculo dentário.

Os resultados obtidos pelos autores confirmam a relevância de estudos realizados com cães *in door* visto que eles representam a realidade da população canina em diversas regiões do mundo.

Na figura 21 quando verifica-se os tratamentos como um todo, observa-se que os tratamentos apresentaram um percentual de redução total de área coberta por cálculo dentário (Anexo II). Dentre os tratamentos que tiveram

adição de fitogênicos, o romã apresentou a maior média percentual de redução, seguida pelo tratamento blend.

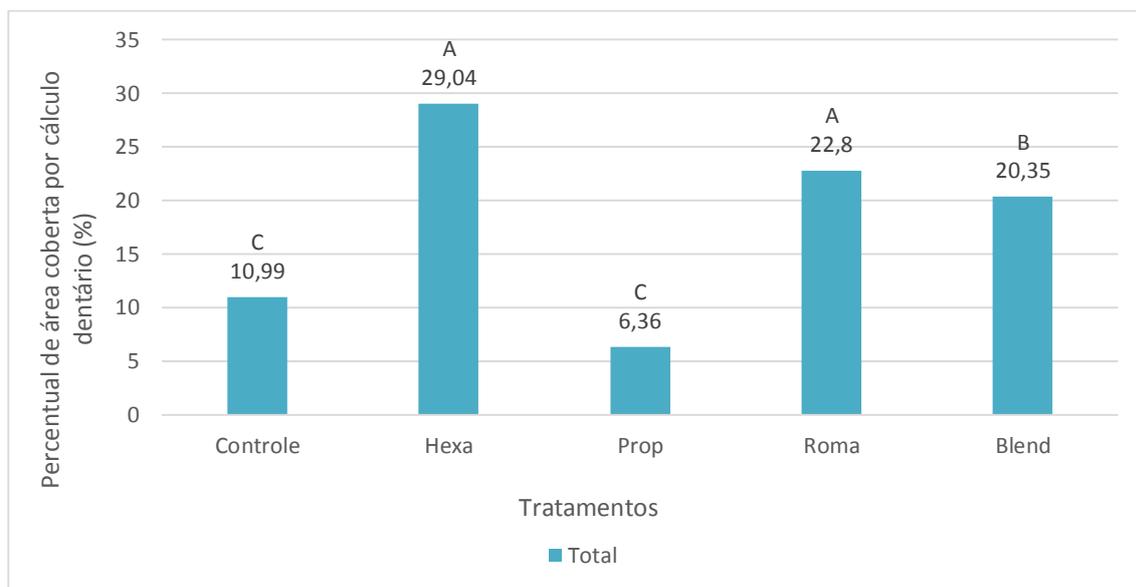


Figura 21: Percentual de redução total de cálculo dentário por tratamentos

O biscoito controle demonstrou ser um biscoito seco e firme, ou seja, um alimento ainda crocante, mesmo apresentando a maior atividade de água. Este fator pode ter facilitado a redução de área coberta por cálculo dentário deste tratamento e conseqüentemente o seu escore.

Além da forma dos alimentos ou dos grânulos de dietas comerciais, a textura do alimento apresenta grande importância, ela afeta diretamente a saúde da cavidade oral. Alimentos secos e firmes são melhores para os dentes, pois proporcionam resistência quando mastigados. (MARCO; GIOSO, 1997). Hennem et al. (2007) ao avaliar o acúmulo de placa bacteriana sobre o consumo de alimento completo com diferentes tamanhos de *kibbles*, um com 10mm de diâmetro e outro com 15mm, observou que os cães consumindo a ração maior apresentou redução significativa do escore de cálculo dentário, com 42% de redução. Enquanto Rocha e Castro (2018) ao avaliar o acúmulo de placa bacteriana em cães consumindo alimentos com diferentes texturas, verificou que os cães alimentados exclusivamente com dieta úmida apresentaram placa bacteriana recobrendo um maior percentual dos dentes, enquanto o grupo de animais alimentados com ração seca foi o único a não apresentar perda dental. Marx et al. (2016) analisou o efeito de ossos esponjosos e compacto bovinos sobre a redução do acúmulo de cálculo dentária, e observou em um período de três dias que o osso esponjoso apresentou o melhor resultado (56,5%) quando

comparado com o osso bovino compacto (35,5%). Isso ocorreu pois o osso esponjoso possibilita que os dentes dos cães penetrem a estrutura dos ossos, aumentando área de contato entre os dentes e o osso, gerando assim ação mecânica suficiente para reduzir significativamente o cálculo dentário.

O hexametáfosfato de sódio por atuar sobre o cálcio salivar, formando complexos solúveis, dificulta a estabilização da placa e cálculo dentário. Tem mostrado efeitos positivos tanto incorporado a petiscos, como no presente estudo, quanto a rações.

Pinto et al (2007) avaliaram a redução da placa bacteriana em cães consumindo ração extrusada que continham na sua composição os aditivos hexametáfosfato de sódio e tripolifosfato de sódio, adicionados no interior da massa e por cobertura dos grânulos. Observou-se que ambos os fosfatos avaliados foram efetivos na redução do acúmulo de placa bacteriana e cálculo dentário, sendo o hexametáfosfato de sódio superior ao tripolifosfato de sódio na redução do acúmulo de cálculo dentário, e pode ser usado tanto como cobertura dos grânulos quanto na massa da ração sem comprometimento de sua eficácia pois apresentou percentual de redução de 47,6% e 34,2% respectivamente. Resultado contrário foi encontrado por Hennes et al (2007) ao avaliar ração extrusada com 15mm de diâmetro, onde o tripolifosfato de sódio mostrou-se superior ao hexametáfosfato de sódio com 55% e 36% de redução de cálculo dentário, respectivamente. Paiva et al (2008) também avaliaram a utilização do hexametáfosfato de sódio e tripolifosfato de sódio sobre a redução do acúmulo de placa bacteriana, porém incorporados a petiscos assados e extrusados comparados com um petisco apenas de ação mecânica e um controle. Foi observada uma notória superioridade dos tratamentos que utilizaram coadjuvantes com fosfatos sobre os tratamentos controle e o que utilizou coadjuvante apenas com ação mecânica.

Os extratos da romã têm demonstrado ação antibacteriana e antiaderente *in vitro* sobre os microrganismos Gram-positivos e Gram - negativos (PESSINI et al., 2003; MICHELIN et al., 2005). Estudos realizados demonstram que as bactérias predominantes na placa bacteriana e nos sulcos gengivais são aeróbias e Gram positivas. A inflamação instalada e a contínua proliferação bacteriana podem acarretar retração ou hiperplasia gengival, formando assim cavidades gengivais que favorecem ainda mais o acúmulo de bactérias,

passando então a predominar as bactérias anaeróbias, geralmente Gram negativas (HARVEY; EMILY, 1993). O mecanismo de ação antimicrobiana do romã, específica sobre bactérias presentes no biofilme supragengival, manifesta-se através da interferência na síntese de poliglicanos, agindo, então, no mecanismo de aderência das bactérias sobre as superfícies dos dentes. (KAKIUCHI et al., 1986; CÁCERES, 1987; NAQVI et al., 1991, ANESINI E PEREZ, 1993). Agindo semelhantemente ao hexametáfosfato de sódio pois dificultam a formação e estabilização da placa bacteriana e cálculo dentário.

Pereira et al. (2006) avaliaram o efeito da romã sobre os microrganismos da placa dentária de humanos através do extrato hidroalcoólico de *P. granatum* *in vitro* em comparação ao glucanato de clorexidina, uma substância usual para prevenir o acúmulo de placa dentária em humanos, e observou melhores resultados com o fitogênico tendo uma redução do halo de 10-25mm.

Argenta et al. (2012) estudaram a ação da *P. granatum* através do extrato glicólico do romã para a saúde oral humana, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, em comparação com a clorexidina. E observaram que *in vitro* que o extrato glicólico de romã na concentração de 3% promoveu o mesmo padrão de inibição que àquele verificado para a clorexidina com 18 e 19mm de inibição do halo, respectivamente. Enquanto *in vivo*, nas concentrações de 3% e 1%, evidenciaram maior redução da colonização microbiana das superfícies dentárias com 45,07% e 31,77% de redução, ao mesmo tempo em que a clorexidina apresentou percentual de redução de apenas 10,22%.

Amorin et al. (2016), avaliaram o desempenho do extrato de romã sob duas formas: extrato hidroalcoólico de *P. granatum* *in vitro* e a outra através da utilização de gel dental na escovação dentária, realizada duas vezes por semana, durante 60 dia. Ambos os testes apresentaram resultados promissores sobre a utilização do extrato de romã para a saúde oral de cães pois o teste *in vitro*, com bactérias extraídas direto da boca dos cães, apresentou redução de 10-15mm em um período de 24 horas e o teste *in vivo* 90% de redução da placa dentária em cães. Observando, portanto, que o fitogênico romã tem potencial antimicrobiano contra bactérias da placa bacteriana, agindo positivamente na melhora da saúde oral (AMORIN et al., 2016).

A menor eficiência na redução de área coberta por cálculo dentário e escore dental dos biscoitos contendo própolis pode estar relacionada com a

menor dureza do biscoito que exigiu menor pressão para ser quebrado e principalmente pela ação do extrato sobre as bactérias presentes na placa bacteriana e cálculo dentário. As bactérias Gram-positivas mostraram-se mais suscetíveis à própolis, sendo este fato atribuído à ação dos compostos presentes na própolis sobre a parede celular (VARGAS et al., 2004). Portanto, pelo fato dos animais já iniciarem o experimento com placa e cálculo dentário pré-estabelecidos, havendo assim uma mistura de bactérias Gram positivas e Gram negativas, o própolis não alcançou resultados de redução significativos.

Magalhães et al. (2016) ao avaliarem a ação antimicrobiana da própolis pura e com 30% de álcool, *in vitro*, observaram que a própolis sem álcool inibiu o crescimento bacteriano de maneira muito discreta somente nas bactérias Gram positivas, mostrando-se menos potente quando relacionada à própolis alcóolica, e não demonstrando efeito nas bactérias Gram negativas. Sendo o álcool, um potencializador do efeito antimicrobiano da própolis. Semelhante aos resultados encontrados por Junior et al. (2012) em seu estudo sobre o efeito antimicrobiano da própolis vermelha de Alagoas, mostrando que o extrato etanólico da própolis vermelha apresentou atividade antimicrobiana maior frente a cepas gram-positivas (100%) e fungos (100%), enquanto as gram-negativas (62,5%) mostraram-se mais resistentes. O mesmo foi relatado por Muli e Maingi (2004) com própolis da Quênia com 30%, 50% e 70% de álcool.

Apesar do tratamento blend ter apresentado a segunda melhor média percentual de redução de área coberta por cálculo dentário, dentre os biscoitos contento extratos naturais, a utilização dos dois extratos em um único biscoito não potencializou o efeito esperado. Este fenômeno também foi encontrado por Ellet et al (2015) na avaliação antimicrobiana *in vitro* sobre a combinação de extratos vegetais onde os resultados apresentaram a maior interferência na associação entre os extratos de barbatimão + cajueiro e barbatimão + aroeira sendo considerado a ação do fitogênicos antagônicas visto que promoveu diminuição da atividade inibitória frente à cepa de *S. aureus*, com redução do diâmetro do halo de crescimento do extrato de barbatimão (17 mm), quando testado isoladamente para respectivamente 13 e 14 mm, quando associado. E por Tele e Costa (2014) ao avaliar a ação antimicrobiana conjunta dos extratos de *Punica granatum* e *Plantago major* também sobre a bactéria *S. aureus* observou que o extrato puro de romã teve sua atividade antimicrobiana reduzida

quando combinada com o extrato de *Plantago major* na diluição de 50%, com redução da sua ação em 1mm de redução do halo e quando combinados o romã com diluição de 50% com o *Plantago major* puro a redução foi de 0,7mm. Os extratos vegetais utilizados conjuntamente podem exercer ação interferente sobre sua atividade antibacteriana quando comparados ao uso de sua forma isolada (ELLER et al., 2015).

Além dos fatores individuais de cada animal sobre a redução de área coberta por cálculo dentário durante o experimento, acredita-se que alguns fatores sobre a rotina dos cães podem ter influenciado na diferença entre os tratamentos devido os animais serem *in door*. Alguns tutores possuíam mais de um cão participante do experimento entretanto nem sempre os animais eram pertencentes ao mesmo tratamento, isso pode ter interferido pois há relatos que as vezes um cão consumiu o biscoito do outro. Outro fator que pode ter influenciado foi a presença de objetos mastigatórios/brinquedos pois o ato de mastigar brinquedos emborrachados estimula a autolimpeza dos dentes (GIOSO et al., 2004). Porém todos os tratamentos apresentaram um redução da área coberta por cálculo dentário, sendo o hexametafosfato de sódio e romã estatisticamente superiores aos demais.

## 6. CONCLUSÃO

Conclui-se que os biscoitos assados com extrato de romã e com *blend* de extrato de romã e própolis apresentaram melhores características físicas dos biscoitos. Os biscoitos contendo extrato de romã foi eficiente para a redução de área coberta de cálculo dentário em cães, assemelhando-se ao hexametáfosfato de sódio.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho apresentou resultados muito interessantes, levando em consideração que há poucas pesquisas sobre a utilização de extratos vegetais para a alimentação de animais de companhia e principalmente por este projeto ter sido aplicado em cães *indoor*, onde não se pode ter um controle absoluto da rotina dos animais, simulando desta forma a realidade da população canina. O extrato de romã não diferiu-se estatisticamente do hexametáfosfato de sódio, mostrando-se superiores aos demais tratamentos, proporcionando uma redução de área coberta por cálculo dentário de 22,8% e 29,04%, respectivamente. Enquanto a própolis e controle apresentaram os menores percentuais de redução de área coberta por cálculo dentário, não diferindo estatisticamente. O tratamento blend, mesmo apresentando uma redução significativa, não apresentou um efeito potencializado. Entretanto a pesquisa demonstrou que fitogênicos a base de romã apresentam resultados promissores sobre a redução do acúmulo de placa e cálculo dentário em cães adultos saudáveis, consequentemente proporcionando melhor saúde oral aos animais.

Este trabalho contribuiu tanto para a minha vida profissional quanto pessoal, me proporcionou maior conhecimento sobre assuntos que, muitas vezes, não são abordados durante a graduação. Trabalhando diretamente com a população foi possível aprender sobre como lidar com situações e perguntas inesperadas. Me mostrou que o trabalho em equipe é essencial para um bom resultado.

## 8. REFERÊNCIAS

ABADALLA, S. L. **Análise computadorizada para avaliação do índices de placa bacteriana e cálculo dentário em cães (*Canis familiaris*)**. 2008. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Ciências Clínicas) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ.

ABE, Lucile Tiemi. **Ácidos elágicos em alimentos regionais brasileiro**. Dissertação (mestrado) – Faculdade Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. 2007, 91p

AGA, H. et al. **Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis**. Biosci Biotechnol Biochem, Tokio, v.58, n.5, p.945–946, 1994.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. **Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism**. Nutrition, v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.

ANESINI, C.; PEREZ, C. **Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity**. Journal of Ethnopharmacology, v.39, p.119-28, 1993.

Amorim, T. C., Schunk, Y. S., Magnago L. R. F., Cardinot C. B., Neto F. B., Z. G., Zanini, M. S., Porfírio, L. C.. **Terapêutica odontológica com fitofármaco**. XX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VI Encontro de Iniciação à Docência – Universidade do Vale do Paraíba. 2016.

Argenta, J. A.; PasquaL, M.; Pereira, C. V.; Dias, D. R.; Ricardo Augusto Barbosa, R. A.;Pereira, L. J. **Efeito do extrato de romã (*Punica granatum*) sobre bactérias cariogênicas: estudo *in vitro* e *in vivo***. Arq Odontol, Belo Horizonte, 48(4): 218-226, out/dez 2012.

BANKOVA, V. et al. **Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis**. Z Naturforsch C, Tübingen, v.50, n.3-4, p.167–172, 1995.

BASNKOTA, et al. **Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China**. J Ethnopharmacol, Limerick, v.72, n.1-2, p.239–246, 2000.

BATISTA, W. P.; SILVA, C. E. M.; LIBERATO, M.C. **Propriedades químicas e de pasta dos amidos de trigo e milho fosforilados**. Ciencia e Tecnologia de Alimentos, 2008. ISSN 0101-2061.

BERTOLD, H. **Odontologia**. Disponível em: <<http://www.easyline.com.br/impavet/serviços/odontologia.htm>>. Acesso em: 27 fev. 2003.

BEUCHAT, L. R. **Influence of Water Activity on Growth, Metabolic Activities and Survival of Yeasts and Molds**. *Journal of Food Protection*, Vol. 46, No.2, Pages /35-141. 1983

BORGES, F. M. O.; SALGARELLO, R. M.; GURIAN, T. M. **Recentes avanços na nutrição de cães e gatos**. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 3., 2003, Campinas: CBNA, 2003. p. 21-60.

CARVALHO, Marcelo Rodrigues. **Estudos sobre a síntese de elagitaninos** - Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade Filosofia Ciências e Letras. de Ribeirão Preto/USP. 141p, 2010.

CASTEJON, Fernanda Vieira. **Tanino e Saponinas**. Universidade Federal de Goiás, 2011.

Cáceres A. **Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases**. J Ethnopharmacol 20: 223-237, 1987.

COWAN, M.M. **Plant products as antimicrobial agents**. Clinical Microbiology Reviews, Washington, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

DE, M.; KRISHNA, A.; BANERJEE, A.B. **Antimicrobial screening of some Indian spices**. Phytotherapy Research, v.13, n.7, p.616-8, 1999.

DITCHFIELD, C.. **Estudo dos métodos para a medida de atividade de água**. Dissertação (mestrado) – Escola Politécnica de Universidade de São Paulo – Área de concentração: Engenharia química. 2000. 195p.

DOMINGO, D.; LÓPEZ-BREA, M. Plantas com acción antimicrobiana. Revista Espanhola de Quimioterapia, ISSN-e 0214-3429, Vol. 16, Nº. 4, 2003, páginas 385-393

DORN, A. S. Introdução para a odontologia veterinária. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. p. 2726-2732.

Dornas W.C., Oliveira T.T.D., Rodrigues R.G.D.; Santos A.F.D., Nagem T.J. **Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo**. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 28, n.3, p. 241- 249, 2007

ELLER, S. C. W. S.; FEITOSA, V. A.; ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P.; RAÍSSA MAYER CATÃO, R. **Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica *in vitro***. Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2015;36(1):131-136. ISSN 1808-4532

ELMÔR, L. D.. **Zeolita (clinoptilolita) em biscoitos para cães: qualidade do produto e palatabilidade**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo. Departamento de Ciências Básicas. Área de concentração: Ciências de Engenharia de alimentos. Pirassununga, 2013. 93p.

FAYAZ, G., GOLI, S.A.H., KADIVAR, M., VALOPPI, F., BARBA, L., CALLIGARIS, S., NICOLI, M.C., **Potential application of pomegranate seed oil oleogels based on monoglycerides, beeswax and propolis wax as partial substitutes of palm oil in functional chocolate spread**, *LWT - Food Science and Technology* (2017), doi: 10.1016/j.lwt.2017.08.036.

FISCHER, G.; HÜBNER, S.O.; VARGAS, G.D.; VIDOR, T. **Imunomodulação pela própolis**. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.75, n.2, p.247-253, abr./jun., 2008.

GIOSO, M. A. **Odontologia veterinária para o clínico de pequenos animais**. 5 ed. São Paulo: FMVZ- USP, 2003. 202p.

GIOSO, M. A. **Odontologia veterinária: pequenos animais**. 3. ed. São Paulo, 1994. 180p.

GREENAWAY, W.; MAY, J.; SCAYSBROOK, T.WHATLEY. **Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis**. *Z Naturforsch.*, v.46, n.1-2, p.111– 121, 1991.

HARVEY, C. E.; EMILY, P. P.; **Small animal dentistry**. St. Louis: Mosby Year Book, p.413, 1993.

HEIL, M.; BAUMANN, B.;ANDARY, C.; LINSENMAIR, K. E; MCKEY, D. **Extraction and quantification of “condensed tannins” as a measure of plant anti-herbivore defence? Revisiting an old problem**. *Naturwissenschaften*. v.89. p. 519-524, 2002.

Hennet, D.V.M.; Servet E.; Soulard, Y.; Biourge, V. **Effect of Pellet Food Size and Polyphosphates in Preventing Calculus Accumulation in Dogs**. *J VET DENT* Vol. 24 No. 4, 236- 239. 2007

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 30, DE 5 DE AGOSTO DE 2009. Disponível em: <  
<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=1312271284>>. Acessado em: 12 de janeiro de 2019

JIMÉNEZ MISAS, C.A.; ROJAS HERNANDEZ, N.M.; LOPEZ ABRAHAM, A.M. Biological evaluation of Cuban plants. IV. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, v.31, n.1, p.29-35, 1979.

JUNIOR, W. B.; MIRANDA, E. O.; ALVINO, V.; ARAUJO, B.; SILVA, D. W.; PORFIRIO, Z.. **Atividade antimicrobiana de frações da própolis vermelha de Alagoas, Brasil**. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina*, v. 33, n. 1, p. 03-10, jan./jun. 2012

Kakiuchi N. **Studies on dental caries prevention by traditional medicines. VIII. Inhibitory effect of various tannins on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans***. *Chem Pharm Bull* 34: 720-725, 1986.

KHANBABAE, Karamali.; REE, Teunis Van. **Tannins: Classification and Definition. Natural Product.** Reports, Londres, v.18, n.6, p.641-649, 2001.

KRYSTYJAN, M.; GUMUL, D.; ZIOBRO, R.; KORUS A. **The fortification of biscuits with bee pollen and its effect on physicochemical and antioxidant properties in biscuits.** © 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved. 7p.

KUJUMGIEV, A. et al. **Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin.** J Ethnopharmacol, Limerick, v.64, n.3, p.235 – 240, 1999

Logan E. I., BOYCE, E.N.. **Oral health assessment in dog: parameters and methods.** Journal of Veterinary Dentistry, v.11, n.2, p.58-63. 1994

MAGALHÃES, T. V.; LOT, R. F. E.; DEL CARRATORE, C. R. **Análise da ação antibacteriana da própolis e padronização de volumes através de antibiograma.** Unimar Ciências-ISSN 1415-1642, Marília/SP, V. 25, (1-2), pp. 38-44, 2016.

MARCO, V. de; GIOSSO, M. A. Doença periodontal em cães e gatos: profilaxia e manejo dietético. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 2, n. 8, p. 24-28, maio/jun. 1997.

MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA, C.; BANKOVA, V.S.; CASTRO, S.L.; DANTAS, A.P.; VALENTE, P.H.M.; PAULINO, N... **Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities.** J Ethnopharmacol, Limerick, v.74, n.2, p.105–112, 2001.

MARCUCCI, M. C.; CAMARGO, F. A. de; LOPES, C. M. A.. **Identification of Amino Acids in Brazilian Propolis.** Z. Naturforsch. 51c, 1 1 -1 4p, 1995

Marx, FR; Machado, GS; Pezzali, JG; Marclla, CS; Kessler, AM Kessler; Ahlstrøm; Trevizan, L. **Raw beef bones as chewing items to reduce dental calculus in Beagle dogs.** Australian Veterinary Journal Volume 94, No 1-2, January/February 2016.

MICHELIN, D.C.; MORESCHI, P.E.; LIMA, A.C.; NASCIMENTO, G.G.F.; PAGANELLI, M.O.; CHAUD, M.V.. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais.** Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 15(4): 316-320, Out./Dez. 2005

MORAES, J. **Obtenção de amido resistente por tratamento hidrotérmico e por intercruzamento, e sua incorporação em bolos.** 2016, 107p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas. São José do Rio Preto/SP.

Muli, E. M.; Maingi, J. M.. **Antibacterial activity of Apis mellifera I. Propolis collected in three regions of Kenya.** J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis., 2007, 13, 3, p. 656

MÜLLER, Juliane de Borba. **Avaliação da atividades antimicrobiana, antioxidante e antinociceptiva das folhas da Luehea divaricata Martius** - Dissertação de mestrado. Santa Maria - RS - Brasil, 2006.

Naqvi S.A.H.; Khan, M.S.Y.; Vohora, S.B. **Anti-bacterial, antifungal and anthelmintic investigations on indian medical plants.** Rev Fitoterapia 62: 221-228, 1991

OBA, Patricia M.; SANTOS, João Paulo F.; MATHEUS, Laura F.; ERNANDES, Mariane C.; TEIXEIRA, Fabio A.; BRAGHIOLLI, Eduardo Z.; FOLCONI, Livia R.; HALFEN, Dóris P.; BRUNETTO, Marcio A. **Aditivos nutricionais empregados no controle e na melhora da saúde oral de cães e gatos.** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/USP, Pirassununga/São Paulo – SP. 2014

PAIVA, A.C.; SAAD, F.M.O.B.; LEITE, C.A.L.; DUARTE, A.; PEREIRA, D.A.R.; JARDIM, C.A.C. **Eficácia dos coadjuvantes de higiene bucal utilizados na alimentação de cães.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.59, n.5, p.1177-1183, 2007.

PAIS, Mara Patrícia. **Valor nutritivo e investimento em defesas em folhas de Didymopanax vinosum E. March e sua relação com a herbivoria em três fisionomias de Cerrado.** 1998. 106p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

PEREIRA, Jozinete V.; PREIRA, Maria S. Vieira; SAMPAIO, Fábio C.; SAMPAIO, Maria C. Correia; ALVES, Pollianna M.; ARAÚHO, Cristina R. Ferreira de; HIGINO, Jane S. **Efeito antibacteriano e antiaderente in vitro do extrato da Punica granatum Linn. sobre microrganismos do biofilme dental.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 16(1): 88-93, Jan./Mar. 2006.

PEREIRA, K. D. **Amido resistente, a última geração no controle de energia e digestão saudável.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(supl.): 88-92, ago. 2007

PESSINI, G.L.; HOLETZ, F.B.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; DIAS FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V. **Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 2003;

PINTO, A.B.F.; SAAD, F.M.O.B.; LEITE, C.A.L.; AQUINO, A.A.; ALVES, M.P.; PEREIRA, D.A.R.. **Tripolifosfato de sódio e hexametáfosfato de sódio na prevenção do cálculo dentário em cães.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.60, n.6, p.1426-1431, 2008.

Pinto, Adriana Brasil Ferreira. **Tripolifosfato de sódio e hexametáfosfato de sódio na prevenção de odontólitos em cães.** Dissertação (Mestrado) – UFLA. Lavras, Minas Gerais-Brasil, 78p, 2007.

PRIMO-MARTÍN, C. **Cross-linking of wheat starch improves the crispness of deep-fried battered food.** Food Hydrocolloids 28 (2012) 53 – 58

REZENDE, R. J.; SILVA, F. O. C.; MILKEN, V. M. F.; LIMA, C. A. P.; LIMA, T. B. F. **Frequência de placa bacteriana dental em cães.** Biosci J. Uberlândia, v.20, n.2, p. 113 – 118, 2004.

PEREIRA, V. J.; M. S. V.; SAMPAIO, F. C.; CORREIA SAMPAIO, M. C. C.; ALVES, P. M.; ARAÚJO, C. R. F.; HIGINO, J. S. **Efeito antibacteriano e antiaderente in vitro do extrato da Punica granatum Linn. sobre microrganismos do biofilme dental.** Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 16(1): 88-93, Jan./Mar. 2006

SANTOS, Neila Sondré; CARLOS, Renata Santiago Alberto; ALBUQUERQUE, George Rêgo. **Doença periodontal em cães e gatos – revisão de literatura.** Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação; 2012; 10(32); 1-637.

Sarantópoulos, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E **Resquisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis.** 2Ed., Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 213P. ISBN 85-7029-037-3. Disponível em: <[http://cetea.ital.sp.gov.br/publicacoes/adi\\_24/files/assets/basic-html/index.html#page2](http://cetea.ital.sp.gov.br/publicacoes/adi_24/files/assets/basic-html/index.html#page2)> Acessado em: 05 de maio de 2019

SASAKI, T.; UASYI, T.; KOHYAMA K.. **Influene of sstarch and gluten charactericts on rheolical properties of wheat flour gel at smal and large deformatin.** Volume 85, N° 3, 2008.

SCALBERT, A. **Antimicrobial properties of tannins.** Phytochemistry, Chichester, v.30, n.12, p.3875-3883, 1991.

SFORCIN, J.M.; FERNANDES JR, A.; LOPES, C.A.M.; BANKOVA, V.; FUNARI, S.R.C.. **Seasonal effect of Brazilian propolis antibacterial activity.** J Ethnopharmacol, Limerick, v.73, n.1-2, p.243–249, 2000.

STELLA, Jusith L.; BAUER, Amy E.; CRONEY, Candace C.. **A cross-sectional study to estimate prevalence of periodontal disease in a population of dogs (*Canis familiaris*) in commercial breeding facilities in Indiana and Illinois.** Editora: Francesco Staffieri, University of Bari, ITALY. PLOS ONE, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191395>. 13p, 2018

STOOKEY, G. K.; WARRIK, J. M.; MILLER, L. L.; KATZ, B. P. **Hexametaphosphate-coated snacks biscuits significantly reduce calculus formation in dogs.** Journal of Veterinary Dentistry, Boise, v. 13, n. 1, p. 27-30, Mar. 1996.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant physiology.** 2. ed. Massachusetts: Sinauer Associats, 792p, 2006. Disponível em: <<https://www.ebah.com.br/content/ABAAAfqVkAG/taiz-zeiger-fisiologia-vegetal-3ed>>. Acessado em: 12 de janeiro de 2019.

TELES, D.G.; COSTA, M.M. **Estudo da ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (*Plantago major* L., Plantaginaceae) e Romã (*Punica granatum* L., Punicaceae) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina in vitro.** Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.16, n.2, supl. I, p.323-328, 2014.

TOPKAYA, C.; ISIK, F. **Effects of pomegranate peel supplementation on chemical, physical, and nutritional properties of muffin cakes.** *J. Food Process Preserv.* 2019. 11p.

WERKMAN, C.; GRANATO, D.C.; KERBAUY, W.D.; SAMPAIO, F.C.3; BRANDÃO, A.A.H.1; RODE, S.M. **Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã).** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.10, n.3, p.104-111, 2008.

ZENK, P. **The spectrum of biological activities of indole alkaloids.** In: Neuss, N. (org.) Indole and Biogenetically Related Alkaloids. New York: Academic Press, 298p, 1980.

VALADARES, Sara Anacleto. **Doença esquelético-dentária em cães de raça bull terrier - estudo retrospectivo** - dissertação de mestrado integrado em medicina veterinária. Lisboa, 2018.

VAN DEN BERG, C.; BRUIN, S. **Water Activity and its estimation in food systems: theoretical aspects.** In: Rockland, L. B.; STEWART, g. f.. Water Activity: Influences on food quality. London, Academic Press Inc., 1981. P. 1-61

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M. et al. **Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis.** *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 159-163, 2004.

VIZZOTO, Marcia; KROLOW, Ana Cristina; WEBER, Gisele Eva Bruch. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 16 p. – (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 316). ISSN 1516-8840.

## ANEXO I

### Anamnese online de seleção dos cães

- **Dados do tutor**

Nome completo

---

Idade

---

Sexo

- Feminino
- Masculino

Telefone

---

E-mail

---

Em qual região da Grande Florianópolis você reside?

- Sul da Ilha
- Norte da Ilha
- Centro
- Coqueiros
- Estreito
- Abrãao
- Outros

Reside em:

- Casa
- Apartamento
- Sítio
- Fazenda

Quantos cães residem em sua casa?

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- Mais de 5

- **Informações do cão**

Nome

---

Qual a raça do cão?

- Sem raça definida
- Raça pura

Caso a resposta seja raça pura, qual?

---

Idade

- 2 - 3 ano
- 4 - 5 anos
- 6 - 7 anos
- 8 - 9 anos
- Outro

Seu cão é ativo?

- Sim
- Não

Peso

- 1 - 6 kg
- 7 - 12 Kg
- 13 - 20 Kg
- 21 - 40 Kg
- mais de 40 Kg

Seu cão possui algum problema de saúde? (Cardíaco, diabetes, renal, hiper alérgico, etc)

- Sim
- Não

Caso a resposta anterior seja sim, qual(is)?

---

Qual tipo de alimento você fornece para o seu cão?

- Apenas ração.
- Dieta caseira
- Ambas.

Se você fornece ração, qual a marca? (Ex: Golden filhote, Premier Adulto, VetLife gastrointestinal, GranPlus Senior)

---

Você fornece petisco?

- Sim (todos os dias)
- Não (nunca)
- As vezes

Caso a resposta anterior seja sim, qual(is)?

- Biscoitos
- Bifinhos
- Alimento humano (presunto, queijo, pão)
- Outro

Em relação a saúde bucal do seu cão, você...

- Escova os dentes.
- Utiliza ossos bovinos
- Utiliza ossos de couro
- A ração que o cão consome é já auxilia na saúde bucal
- O petisco que você utiliza é para a saúde bucal
- Não sei informar
- Não utilizo

Caso escove os dentes do seu cão, quantas vezes na semana?

- 1 vez
- 2 vezes
- 3 vezes
- 4 vezes
- 5 vezes
- 6 vezes
- 7 vezes

Seu cão já fez algum tratamento para periodontite?

- Sim
- Não

Se sim, qual tratamento foi realizado?

---

## ANEXO II

Fotos das bocas dos cães dos tratamento com aditivos



Figura 22: Arcada dentária de um cão do tratamento controle.



Figura 23: Arcada dentário de um cão do tratamento hexametáfosfato de sódio.

a



Figura 24: Arcada dentário de um cão do tratamento própolis.  
(Foto: Lucélia Hauptli)



Figura 25: Arcada dentário de um cão do tratamento romã.  
(Foto: Lucélia Hauptli)



Figura 26: Arcada dentária de um cão do tratamento blend.  
(Foto: Lucélia Hauptli)