**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**FONTES PROTEICAS NÃO CONVENCIONAIS EM
ALIMENTOS PARA CÃES E GATOS**

Katiani Silva Venturini
Zootecnista

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**FONTES PROTEICAS NÃO CONVENCIONAIS EM
ALIMENTOS PARA CÃES E GATOS**

Katiani Silva Venturini

Orientador: Prof. Dr. Euclides Braga Malheiros
Co-Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Venturini, Katiani Silva
V469f Fontes proteicas não convencionais em alimentos para cães e gatos /
Katiani Silva Venturini. -- Jaboticabal, 2016
ix, 102 p. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientador: Euclides Braga Malheiros

Co-orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

Banca examinadora: Ricardo Souza Vasconcellos, Márcia de Oliveira
Sampaio Gomes, Jane Maria Bertocco Ezequiel, Thaila Cristina Putarov

Bibliografia

1. Animais de companhia. 2. Concentrado proteico de soja. 3. Levedura
hidrolisada. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 636.084.5:636.7

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: FONTES PROTEICAS NÃO CONVENCIONAIS EM ALIMENTOS PARA CÃES
E GATOS

AUTORA: KATIANI SILVA VENTURINI

ORIENTADOR: EUCLIDES BRAGA MALHEIROS

COORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA,
pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. EUCLIDES BRAGA MALHEIROS
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. RICARDO SOUZA VASCONCELLOS
Universidade Estadual de Maringá / UEM - Maringá/PR
Participação por Videoconferência

Profa. Dra. MÁRCIA DE OLIVEIRA SAMPAIO GOMES
Departamento de Clínica Médica / FMVZ - USP - São Paulo/SP

Profa. Dra. JANE MARIA BERTOCCO ÉZEQUIEL
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. THAILA CRISTINA PUTAROV
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Pós Doutoranda - FCAV/UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 26 de fevereiro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

KATIANI SILVA VENTURINI – Filha de Adelson Romeu Venturini e Selma Lins da Silva, nasceu em Vitória – ES, no dia 05 de junho de 1984. Em agosto de 2008, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Federal do Espírito Santo – ES. Em março de 2010 ingressou no curso de mestrado em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, *Campus* de Jaboticabal na área de nutrição animal com ênfase em nutrição de aves com a dissertação intitulada por “Modelos para estimar as exigências de lisina digestível para poedeiras comerciais” sob orientação dos professores Euclides Braga Malheiros e Nilva Kazue Sakomura. Em março de 2012 ingressou no curso de doutorado pela mesma instituição na área de nutrição animal com ênfase em nutrição de cães e gatos com a tese intitulada por “Fontes proteicas alternativas na nutrição de cães e gatos” sob orientação dos professores Euclides Braga Malheiros e Aulus Cavalieri Carciofi.

À minha mãezinha, Selma Lins da Silva, por todo amor, compreensão e joelhos dobrados para que eu conseguisse enfrentar todos os obstáculos. Ao meu pai, Adelson Romeo Venturini, por todo amor e apoio e orações.

À minha amiga-irmã, Miryelle Freire Sarcinelli, pela amizade, apoio e colo quando sempre precisei.

Dedico

À minha mãe-vó Ana Lins Souza da Silva (*in memoriam*) por todo amor, carinho, colo e mesmo sem saber ler e muito menos o que era um doutorado nunca desistiu de mim e sempre me incentivou. Sem a senhora eu não teria conseguido chegar até aqui. Saudade eterna...

Ofereço

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”

(Antoine de Saint-Exupéry)

AGRADECIMENTOS

Obrigada Papai do Céu por tudo o que me deu, por tudo que me ajudou a conquistar, por me carregar no colo sempre que precisei e me encorajar quando achava que não tinha mais solução.

À minha família que amo tanto, minha mãe Selma, meu pai Adelson, minhas irmãs Thayna e Jéssica, minha tia-mãe Fátima, meus primos Igor, Iago e Juliana, meus tios Cláudio e Néia, meu pai drasto Everaldo, meus avós Edite e Moacir e minha eterna “mãe Ana” (*in memoriam*). Obrigada pelo amor, pelo orgulho que vocês tem por mim, pela compreensão da minha ausência, por cada oração, por cada palavra de incentivo, enfim obrigada por fazerem parte da minha vida, amo vocês demais!!!

À minha amiga-irmã Miryelle por segurar a minha mão quando tudo parece desabar, por rir com minhas alegrias e chorar comigo nos momentos obscuros, por me ajudar nos momentos de surtos (e não foram poucos ao longo deste doutorado), enfim obrigada por ser essa amiga de ouro!

À minha família de coração Léia, Eugênio, Renata, Victor, Vanusa, João Victor e Jônatas por todo carinho, apoio e por me adotarem na família Freire-Sarcinelli.

Ao meu orientador Prof. Dr. Euclides Braga Malheiros. Obrigada por aceitar me orientar, por todos os conselhos, orientações e por toda ajuda.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi por toda amizade e oportunidade ao longo do doutorado. Obrigada por cada aprendizado e confiança e pelo exemplo de simplicidade e humildade.

Aos professores Dr. Dalton José Carneiro, Dra Jane Maria Bertocco Ezequiel e aos pós-doutorandos Dra. Thaila Cristina Putarov e Dr. Marcos José Batista dos Santos por participarem da minha banca de qualificação e pela contribuição a este trabalho.

Aos professores Dra Jane Maria Bertocco Ezequiel, Dra. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes, Dr. Ricardo Souza Vasconcellos e a pós-doutoranda Thaila Cristina Putarov pela participação da banca de defesa desta tese, por poder contar com sua compreensão e por todas as sugestões e contribuições.

À minha amiga, co-orientadora e conselheira Thaila, por toda amizade, conselhos, risadas, apoio nos momentos difíceis, obrigada por tudo!

À minha amiga e companheira de plantão Mayara Aline Baller pela amizade, ajuda na fabricação das minhas rações, pelas risadas,

Aos meus amigos e companheiros da família Labnutri: Fernanda Kroll, Márcia de Oliveira Sampaio Gomes, Bruna Ponciano, Ana Paula Judice Maria, Claudia Nogueira, Diego Nogueira, Elaine Vitta, Fabiano César Sá, Bruna Agy, Flávio Lopes, Chayanne Ferreira, Mariana Monti, Mayara Peixoto, Raquel Silveira Pedreira e Michele Oliveira, Ludmilla Di Santo, Peterson Pacheco, Fernanda Mendonça, Érico Ribeiro e Francine Mendes. Obrigada a todos pela ajuda direta e indireta neste trabalho, pela amizade, momentos de descontração e agradável convivência.

Às minhas estagiárias pela ajuda na condução do experimento: Amanda Vitta, Janine Alves, Gabrielle Estatuti, Tayana Richter, Aline Rocha, Adriane Lie e Mariana Pescuma.

Aos meus amigos e companheiros da família Aviário: Letícia Soares, Nayara Tavares, Camila Gonçalves, Juliano Dorigan, Bruno Balbino, Michele Bernardino, Larissa Vargas, Gabriel Dessimoni, Hilda Palma, Rafael Suzuki, Paulo Matsumura, Mirella Melaré, Natália Bassi, Henrique Nogueira, Guilherme Henrique, Marcos Santos, Allan Reis, Raian Malta, Fabrizia Melo e Israel Pires pela amizade, momentos de descontração e agradável convivência.

À minha amiga Camila Gonçalves pela amizade, por toda ajuda com análises e risadas descontroladas, obrigada por tudo!

Às minhas grandes amigas Miryelle, Ana Carolina, Daniella Zanardo, Thaila, Joyce, Letícia, Camila, Marcela, Paula por tornarem os dias em Jaboticabal muito mais agradável, ajudando a superar a ausência da minha família, por todo consolo, risada e zoações, enfim amo vocês!!!

Aos meus amigos Giuliana, Matheus, Bruna (Pik), Thais, Deise, Anitta, Amanda, Danilo dos Santos, Gabriel (Covi-flor), Thalís (Riniti), Fernando (Gracinha), Rodolfo Guariz, Bruno (K-banha), Rafael (Chupeta), pela amizade, descontração, risadas e apoio em todos os momentos.

Aos colegas Batista (*in memoriam*), Hélinho e Lucas pelo auxílio na fábrica de ração.

Aos funcionários do Lana Joyce, Ana Paula e senhor Orlando por toda ajuda e paciência na condução das análises no Lana.

Aos funcionários da pós-graduação Márcia, Fernanda, Diego e Moyses por toda colaboração, paciência e disposição em ajudar.

À Biorigin e Selecta pelo apoio financeiro, à Altech, DSM e SPF do Brasil pela doação de ingredientes.

À Mogiana Alimentos S/A, pela manutenção financeira do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”.

À CAPES pela bolsa de estudos.

Aos cães e gatos do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos, obrigada por todo carinho, companhia e tornar nossos dias mais alegres.

À todos que, de alguma forma, contribuíram para realização desta tese e para meu crescimento profissional.

MUITO OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Ingredientes alternativos na alimentação de cães e gatos.....	3
2.2 Levedura de cana-de-açúcar (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	5
2.2.1 Processamento da levedura hidrolisada de cana-de-açúcar.....	6
2.2.2 Composição química da levedura de cana-de-açúcar.....	6
2.3 Concentrado proteico de soja.....	7
2.3.1 Processamento do concentrado proteico de soja.....	8
2.3.2 Composição química do concentrado proteico de soja.....	8
2.4 Levedura de cana-de-açúcar e concentrado proteico de soja como fonte protéica.....	9
2.5 Processamento das rações.....	10
2.6 Palatabilidade dos ingredientes proteicos em animais de companhia.....	11
3. REFERÊNCIAS.....	12
CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DE LEVEDURA HIDROLISADA DE CANA DE AÇÚCAR EM DIETAS DE CÃES.....	21
Resumo.....	23
Abstract	25
1. INTRODUÇÃO.....	27
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3. RESULTADOS.....	35
4. DISCUSSÃO.....	36
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DE LEVEDURA HIDROLISADA DE CANA DE AÇÚCAR EM DIETAS DE GATOS.....	47
Resumo	49
Abstract.....	51
1. INTRODUÇÃO.....	52
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	53
3. RESULTADOS.....	60
4. DISCUSSÃO.....	61

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
CAPÍTULO 4 –CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS, MACROESTRUTURA DOS EXTRUSADOS E DIGESTIBILIDADE DE ALIMENTOS PARA CÃES FORMULADOS COM PROTEÍNA CONCENTRADA DE SOJA.....	70
Resumo	72
Abstract.....	74
1. INTRODUÇÃO.....	76
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	77
3. RESULTADOS.....	84
4. DISCUSSÃO.....	87
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89

CAPITULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A população canina e felina doméstica brasileira tem apresentado aumento significativo nos últimos anos, da mesma forma que o perfil de alimentação dos *pets* e o comportamento dos seus proprietários com relação à compra dos seus alimentos (Gomes, 2009). Tal fato despertou nos nutricionistas interesse em buscar ingredientes alternativos que possam ser utilizados nas formulações de animais de estimação de forma que, atenda as exigências específicas dos nutrientes, sem alterar a digestibilidade e a palatabilidade das dietas.

Para o uso adequado de ingredientes alternativos na alimentação animal é necessário verificar a qualidade, disponibilidade, palatabilidade, presença de fatores antinutricionais ou tóxicos (quando presentes estejam inativados ou eliminados durante o processamento) e a composição nutricional destes ingredientes em potencial (Vasconcellos, 2010). Avaliar estes fatores é importante, pois formular dietas para animais de estimação vai além do atendimento das necessidades nutricionais, incluindo a qualidade do produto acabado e o atendimento das expectativas dos consumidores (Vasconcellos e Carciofi, 2009).

De maneira geral, as farinhas de origem animal, amplamente utilizadas como fonte proteica na alimentação de cães e gatos, apresentam bom balanço em aminoácidos essenciais, sendo que a qualidade nutricional está diretamente relacionada com a origem de suas matérias-primas e o processamento adotado (Bellaver, 2001). No entanto, possuem grande variação em sua composição nutricional, devido a alterações das matérias-primas e os efeitos do processamento, principalmente pressão, temperatura e tempo empregados, resultando em ingredientes com valores nutricionais bastante diferentes (Parsonset al., 1997).

Por outro lado, as fontes proteicas vegetais têm sido empregadas como alternativas viáveis e de baixo custo (Yamka et al., 2005) pois, apresentam composição mais uniforme, com menor variação entre as safras e o mercado fornecedor. Em geral, possuem fatores antinutricionais (inibidores de enzimas, lectinas, tanino, fitato, polissacarídeos não amiláceos), que quando presentes podem influenciar negativamente a disponibilidade de seus nutrientes (Carciofi, 2008).

Dentre os ingredientes alternativos com potencial para uso em dietas de cães e gatos incluem-se os produtos de origem microbiana, especificamente as leveduras, coprodutos da indústria canavieira (Butolo, 1991) e o concentrado proteico de soja.

A levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) já é empregada em dietas comerciais para cães e gatos, entretanto, esta entra como ingrediente funcional em pequena inclusão. Poucos estudos são encontrados utilizando este ingrediente como fonte proteica na alimentação de pets. As leveduras apresentam conteúdo de proteína bruta bastante variável (30 a 60%), alta concentração de vitaminas do complexo B e um bom perfil de aminoácidos, sendo ricas em lisina e treonina (Costa, 2004).

O concentrado proteico de soja é um ingrediente proteico que pode ser utilizado na alimentação dos animais, pois apresenta altos teores de proteína bruta (mínimo de 60%), de aminoácidos digestíveis e de energia metabolizável quando comparado com o farelo de soja. Apresenta alta digestibilidade e é livre de fatores antinutricionais devido ao seu processamento.

Considerando as informações acerca do emprego destes ingredientes proteicos alternativos nas dietas para animais de companhia, o trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da inclusão de 5% de duas leveduras de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre a palatabilidade e digestibilidade de dietas para cães e gatos; e avaliar o efeito de dois concentrados proteicos de soja sobre as características de extrusão, macroestrutura dos extrusados, palatabilidade e digestibilidade de alimentos para cães.

2. REVISÃO DE LITERTURA

2.1 Ingredientes alternativos na alimentação de cães e gatos

Atualmente, o aproveitamento de coprodutos agroindustriais na alimentação animal, tem-se mostrado uma alternativa economicamente viável e que visa a redução do impacto ambiental, além de proporcionar maior variedade de opções para o nutricionista durante a formulação de rações, desenvolvendo alimentos com menor custo e/ou melhores balanceados do ponto de vista de saúde (Vasconcellos, 2010). No entanto, o uso destes ingredientes na alimentação animal depende basicamente do conhecimento sobre a composição química, dos fatores limitantes, benefícios à saúde, disponibilidade durante o ano, visando manter os níveis adequados de inclusão na dieta.

De acordo com a EMBRAPA (2002), a América Latina produz mais de 500 milhões de toneladas de coprodutos agroindustriais por ano, sendo o Brasil responsável por mais da metade desta produção. Porém, o principal entrave para o uso destes ingredientes em alimentos para animais é o déficit de informação dos valores nutritivos que essas matérias-primas apresentam. Por este motivo, diversas pesquisas têm sido realizadas nas últimas décadas, utilizando os coprodutos como fontes proteicas alternativas ou não convencionais para a alimentação humana e animal (Carciofi et al., 2006).

Apesar de a soja apresentar fatores antinutricionais e alto teor de fibra, seus coprodutos são bastante utilizados na nutrição animal. Ao utilizar soja micronizada em dieta de cães e gatos, Oliveira (2009), Carciofi et al. (2009) e Souza (2013) observaram bom aproveitamento do ingrediente por estes animais. Nos dois primeiros estudos a digestibilidade da soja micronizada foi igual ou superior a fontes proteicas como o farelo de glúten de milho 60% e farinha de vísceras de frango. No estudo de Souza (2013) foi observado que a inclusão de soja crua em dietas para gatos não interferiu nos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, com exceção da redução do coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo em hidrólise ácida. Além disso, observou que o consumo de soja crua também não interferiu de maneira pronunciada na produção e qualidade das fezes dos gatos. A soja crua mostrou-se um ingrediente adequado quanto ao aproveitamento proteico e balanço de nitrogênio, nesta espécie.

Em estudo realizado com animais de companhia, Murray et al. (1999), avaliaram a digestibilidade das farinhas de arroz, milho e sorgo e observaram que a digestibilidade do sorgo foi inferior a das farinhas de milho e arroz. Além disso, Belayet al. (1997) e Walker et al. (1994) relataram que a digestibilidade de farinha de arroz supera a da farinha de milho, mostrando que os ingredientes alternativos apresentam boa digestibilidade. Trabalhando com farelo de arroz gordo em dieta purificada para gatos, Stratton-Phelps et al. (2002), observaram que a inclusão de 26% deste ingrediente levou a uma concentração significativamente menor de taurina no sangue em comparação com uma dieta com 26% de amido de milho.

Carciofi et al. (2006) avaliando dietas isoproteicas com diferentes fontes de proteína (farelo de soja, farelo de glúten de milho 60%, farinha de vísceras de frango e farinha de carne e ossos), encontraram que a dieta à base de farelo de soja apresentou o menor coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, as dietas com farinha de carne e ossos e glúten de milho apresentaram valores intermediários e a farinha de vísceras de frango apresentou a melhor digestibilidade. Não considerando a interferência da matéria mineral, o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria orgânica foi maior para a ração com farinha de carne e ossos permanecendo, no entanto, a com farelo de soja com os menores resultados. As dietas compostas por fontes de proteína vegetal apresentaram maiores coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta. O maior valor foi encontrado para a ração com glúten de milho, seguida por farelo de soja. As dietas à base de farinha de carne e ossos teve resultado intermediário e a com farinha de vísceras de frango obteve menor valor.

Tavares et al. (2010) em estudo com cães, avaliando a digestibilidade aparente e valores de energia digestível e metabolizável dos alimentos a base de dorso, pés e pescoço de aves (partes do abate de frangos), obtiveram coeficientes de digestibilidade aparente da região do dorso cru e cozido para matéria seca de 89,75 e 91,07%, matéria orgânica de 94,75 e 95,56%, proteína bruta de 90,01 e 92,23%, extrato etéreo de 99,27 e 99,46% e valores de energia digestível de 6,719 e 6,493 kcal/kg e metabolizável variando de 6,718 a 6,493 kcal/kg respectivamente.

Hestaet al. (2003) utilizaram uma dieta seca controle com 29,5% de proteína na matéria seca (MS) e substituíram em 50% por outras três fontes de proteína animal: farinha de carne e ossos, farinha de aves e farinha de suínos, constituindo

dietas com 48,5% de proteína na MS, 53,5% de proteína na MS e 48,3% de proteína na MS respectivamente, para cães adultos. Esses autores verificaram que a farinha de carne e ossos foi à fonte proteica que proporcionou maior quantidade de nitrogênio amoniacal, em comparação às demais fontes e ao controle.

Martins et al. (2014), estudaram a substituição do ingrediente proteico usual (farinha de vísceras de frango) na ração de cães por leveduras de cana-de-açúcar. Esses autores estudaram a inclusão de dois diferentes níveis e tipos de levedura, distribuídas em cinco tratamentos, sendo eles: 0 (basal), 7,5 e 15% de levedura de cana-de-açúcar autolisada e 7,5 e 15% de levedura de cana-de-açúcar íntegra. De acordo com os autores, a utilização da levedura de cana-de-açúcar não influenciou a ingestão dos nutrientes, nem tampouco o CDA para MS, MO, PB, EEHA, EB e EM das dietas, indicando que a inclusão dos ingredientes estudados podem ser uma boa alternativa de fonte proteica na ração de animais de estimação.

2.2 Levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*)

As leveduras são exploradas pelo homem há milhares de anos. São utilizadas na alimentação humana e animal por serem fontes de proteína e carboidratos. O Brasil, sendo um dos maiores produtores de etanol, gera um excedente de 25 a 30g de levedura para cada litro de álcool produzido (Costa, 2004).

Estes microrganismos são unicelulares, pertencentes ao grupo de fungos que se reproduzem assexuadamente por brotamento e realizam a fermentação alcoólica. Apresenta na sua estrutura, membrana celular bem definida, pouca espessa em células jovens e rígidas em células adultas, sendo a mais antiga fonte de proteína unicelulares consumida pelo homem por meio de produtos naturais, bebidas e alimentos elaborados por processos fermentativos (Costa, 2004). As leveduras possuem elevada velocidade de crescimento, podem ser cultivadas em diversos tipos de substratos e, possuem ainda, um alto teor de proteínas e vitaminas do complexo B (Rocha, 2002).

Tal ingrediente é constituído de proteínas, carboidratos, extrato etéreo, sais minerais e vitaminas, cujas proporções variam com a cepa e com o meio ambiente. A variação das condições de nutrição, da natureza do substrato, da reação do meio, ocorrência de aeração, lavagens e outros fatores, influenciam a composição do microrganismo (Lima e Sato, 2001).

A levedura de cana-de-açúcar apresenta em sua parede celular aproximadamente, 29% de glucanos, 30% de mananos, 13% de proteínas, 8,5% de lipídios e 1% de quitina (RobinoweJohnson, 1991). Os componentes restantes, após extração da parede celular, são, coletivamente, chamados extrato celular de levedura e contem numerosos nucleotídeos, enzimas, vitaminas e minerais. (Zaine et al., 2011).

2.2.1 Processamento da levedura hidrolisada de cana-de-açúcar

A biomassa de levedura produzida no Brasil pode ser comercializada *in natura*, para utilização em alimentação de ruminantes ou secas, para fabricação de rações animais não-ruminantes. Segundo Butolo (1996), a levedura pode ser obtida por três maneiras distintas: sangria do leite de levedura, fundo de dorna e da vinhaça, sendo que após a obtenção do produto úmido é necessária passar por secagem e para isso existem duas técnicas, a secagem por rolos rotativos ou pela tecnologia de *spray dryer*.

A secagem pelo *spray dryer*, o leite da levedura é bombeado na câmara de secagem, onde passa por cabeçote atomizador, que em alta rotação, gira, atomizando o leite em gotículas pequenas e combinado com um fluxo de ar quente, com temperatura entre 200 a 220°C seca instantaneamente, onde é recolhido em um cone e descarregado na forma de pó, onde já pode ser ensacado (Furco, 1996).

A levedura hidrolisada é obtida através de um processo de fermentação específico da *Saccharomyces cerevisiae*, onde ocorre a ruptura da célula através da atuação de enzimas endógenas e exógenas. O rompimento celular melhora a digestibilidade e favorece a liberação dos nucleotídeos, polipeptídios, ácido glutâmico e vitaminas do complexo B.

2.2.2 Composição química da levedura de cana-de-açúcar

De acordo com Faria et al. (2000), a composição química da levedura de cana sofre influencia do substrato no qual foi desenvolvida, do grau de aeração do substrato, da espécie da levedura, da idade das células, do numero de lavagens para eliminação das impurezas, da temperatura de secagem, das condições de fermentação e da forma de armazenamento.

Os teores de fibra bruta normalmente são inferiores a 1%. Os carboidratos representam de 45 a 55% da composição da levedura, sendo que destes, em média, 33, 12, 21 e 27% são de trealose, glicogênio, mananoligossacarídeos e glucanos, respectivamente (Battisti et al., 1985), sendo aos últimos atribuído ao efeito potencial no sistema imune.

Segundo Campos Neto (1987), a levedura apresenta baixo teor de extrato etéreo, que varia de 0,9 a 1,6%, que correspondem aos triglicerídeos e fosfolípidios. A porcentagem de extrato etéreo na levedura varia de acordo com o substrato utilizado. Em relação aos minerais, os mais abundantes encontrados na literatura são o fósforo e o potássio. A variação no teor de minerais também é dependente do substrato utilizado, com variação de 9,8 a 14,4%. A levedura apresenta ainda altas concentrações de vitaminas do complexo B e nucleotídeos, que são representados pelos ácidos nucleicos, que podem atuar no trato gastrointestinal, influenciando na microbiota e melhorando as vilosidades intestinais.

2.3 Concentrado proteico de soja

A utilização de produtos derivados de soja na alimentação de cães e gatos tem aumentado nos últimos anos. Grãos de soja são excelentes fontes de proteína amplamente utilizadas na alimentação de animais de muitos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Com a diversificação de ingredientes proteicos oriundos da soja, desenvolvidos para alimentação humana, nutricionistas notaram que estes produtos poderiam ser alternativos proteicos relevantes para diferentes tipos de dietas (Bellaver e Snizek, 1999).

A partir do grão de soja crua é possível obter-se diversos derivados com diferentes composições químicas, conforme o processo adotado e a etapa de beneficiamento do grão, sendo eles: grão tostado, farelo de soja com 45% e 48% de proteína bruta, farinha desengordurada, soja micronizada, concentrado proteico, proteína isolada, casca e óleo. Em função de seus fatores antinutricionais, a soja crua praticamente não é empregada, em detrimento do uso de seus coprodutos.

O concentrado proteico de soja (CPS) é uma fonte de proteína e sua utilização em dietas para várias espécies animais já foram reportadas. Os valores nutricionais do farelo de soja podem ser melhorados com a fragmentação para a produção de CPS, que contém aproximadamente 70,0% de proteína bruta (Vielmaet et al., 2000).

Além disso, as concentrações de fatores antinutricionais no CPS são mais baixos do que as do farelo de soja (Refstieet al., 2001). Porém, este ingrediente possui deficiência em alguns aminoácidos essenciais, como a metionina (Kaushiket al., 1995).

2.3.1 Processamento do concentrado proteico de soja

O CPS é obtido através da remoção da casca, do óleo e oligossacarídeos do grão da soja. O processo de extração dos oligossacarídeos é caracterizado, basicamente, pelo tratamento dos flocos brancos desengordurados de soja ou do farelo de soja com solução aquosa de etanol a 70-90%; lavagem com água em pH isoelétrico (4,5) ou desnaturação protéica com calor úmido antes da extração com água. Aproximadamente 90% dos oligossacarídeos da soja são removidos durante o processo (Choctet al., 2010) e o efeito antigênico das proteínas de reserva glicinina e β -conglucina é reduzido, por desnaturação destas (Lusas e Riaz, 1995).

Em virtude dos processamentos para obtenção do CPS se basearem na insolubilização da proteína, para remoção dos resíduos solúveis, estes podem reduzir a solubilidade protéica em KOH e o índice de dispersibilidade da proteína (IPD). Apesar disso, a redução na solubilidade protéica, nesse caso, não compromete à digestibilidade deste nutriente tanto quanto à insolubilização proteica resultante da formação de pontes dissulfeto e outras interações entre cadeias polipeptídicas, com o aquecimento térmico excessivo. Além disso, a solubilidade proteica pode ser restabelecida pelo tratamento com álcalis após insolubilização em pH isoelétrico e extração dos oligossacarídeos ou pela utilização de enzimas para hidrolisar a proteína (Lusas e Riaz, 1995).

2.3.2 Composição química do concentrado proteico de soja

O CPS é um alimento com aproximadamente 65% proteína bruta na matéria seca e baixos teores de rafinose, estaquiose, verbascose; de glicinina e β -conglucina. Ele possui menor teor de umidade e maior teor de proteína bruta possuindo, desta forma, maior potencial de aproveitamento pelos animais. Apresenta teor reduzido de lipídios, com a mesma digestibilidade que o farelo de soja, menor teor de carboidratos e fibra e, ainda assim proporciona maior percentual

de energia aos animais (Rostagno et al., 2011). Além disso, o CPS é uma fonte de aminoácidos bem balanceada e apresenta fibras de fácil solubilidade, de forma que não agride o trato gastrointestinal dos animais (Endres, 1996).

2.4 Levedura de cana-de-açúcar e concentrado proteico de soja como fonte proteica

As principais fontes proteicas utilizadas em alimentos secos e semi-úmidos para cães e gatos são as farinhas de coprodutos de origem animal, como a farinha de carne e ossos, farinha de vísceras de aves, farinha de vísceras de suínos, entre outros; e os ingredientes protéicos de origem vegetal. Dentre as fontes proteicas vegetais, o farelo de soja, concentrado protéico de soja, proteína isolada de soja, soja micronizada e o glúten de milho são os mais utilizados para cães e gatos.

A levedura de cana-de-açúcar vem sendo avaliada para emprego como fonte proteica na dieta de diferentes espécies animais, incluindo novilhos, peixes, suínos, frangos de corte e cães (Pereira, 2001; Moreira et al. 2002; Castilho, 2004; Pezzato, et al, 2006; Martins et al., 2014). A indústria *petfood* já emprega a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas comerciais, entretanto, esta entra como ingrediente funcional e em pequena inclusão, existindo até o momento, pouco estudo deste ingrediente como fonte de proteína na alimentação de cão e nenhum estudo na alimentação de gatos.

A levedura de cana-de-açúcar tem despertado interesse como ingrediente proteico, pois, seu teor de proteína pode superar 45% e sua concentração de aminoácidos essenciais, como lisina, triptofano e treonina é satisfatória. Porém, possuem menor quantidade de aminoácidos sulfurados, como a metionina e a cisteína (Roepcke, 2007). Martins et al. (2014) estudaram a substituição de farinha de vísceras como fonte proteica por levedura de cana em dietas de cães e concluíram que a substituição parcial da fonte proteica pode ser feita de modo eficiente.

O CPS vem sendo avaliado como fonte proteica na alimentação de peixes, camarões, aves e animais de estimação (Sá et al., 2012; Soares, 2014; Oviedo-Rondón, 2012; Félix et al. 2012). Esse ingrediente chama atenção, pois apresenta alto teor de proteína (mínimo de 65%) e sua concentração de aminoácidos essenciais é muito satisfatória. Félix et al.(2012) avaliou dietas contendo 30% farelo

de soja (50% PB), CPS (60% PB), CPS (70% PB), CPS hidrolisado (70% PB) e proteína isolada de soja na dieta de cães e concluiu que derivados proteicos de soja, de modo geral, são fontes proteicas de alta digestibilidade para cães adultos e filhotes, mas podem reduzir a consistência das fezes dos cães.

2.5 Processamento de rações

Atualmente os alimentos secos para cães e gatos são produzidos com tecnologia de extrusão termoplástica. O princípio básico do processamento é a alta temperatura, curto tempo, pressão e fricção do ingrediente no cone de extrusão (Riaz, 2003). Além disso, é um processo multi-funcional e térmico/mecânico, permitindo vasta aplicação na indústria de alimentos para animais. As principais funções deste processo são hidratação, mistura, tratamento térmico, gelatinização do amido, desnaturação das proteínas, destruição dos microorganismos e de alguns componentes tóxicos.

As empresas de *petfood* tem como objetivo produzir extrusados de elevada qualidade com características específicas para atrair o consumidor. Neste contexto, as empresas tentam produzir extrusados expandidos, com bordas arredondadas, aparência uniforme e estrutura celular interna fina. Segundo Moscicki (2011), para atingir estas características, quantidades suficientes de energia mecânica e térmica devem ser aplicadas durante o processo de extrusão. Adicionalmente, são necessários cuidados iniciais com o tamanho de partículas da matéria prima, de modo a possibilitar adequada mistura, cozimento, expansão e formação de textura.

Diversos fatores influenciam a qualidade física e nutricional do alimento. Embora a qualidade das matérias-primas e a formulação das rações sejam os primeiros pontos a serem considerados, o processamento também exerce papel importante (Tran, et al. 2008). Implementação de energia, na formas mecânica e térmica, induz mudanças na composição química e na estrutura física dos ingredientes, alterando sua digestibilidade, valor energético, forma de apreensão e palatabilidade (Griffin, 2003). Este processo envolve o condicionamento, a mistura, o cisalhamento, o aquecimento e a formação de pressão dentro do canhão do extrusor, de modo que estas operações resultam na desnaturação e plasticização (Guy, 2001; Steelet al., 2012). Após a desnaturação ocorre o realinhamento das moléculas de proteínas resultando na formação de uma estrutura

complexa, alterando as propriedades físico-químicas dos produtos (Onwulataet al., 2003, Daye Swanson, 2013).

Durante o processo de extrusão, o calor e o atrito facilitam a hidratação do amido e das proteínas, ambos classificados como materiais de formação (Guy, 2001). O amido e a proteína são transformados e plastificados com a umidade presente. A composição dos ingredientes afeta as propriedades viscoelásticas da massa e, posteriormente, a habilidade de reter a pressão de vapor formada. O vapor escapa quando o alimento sai da matriz da extrusora e forma um produto poroso e expandido.

A qualidade física do produto é afetada fortemente pela seleção dos ingredientes (Cavalcantie Behnke, 2005) e condições do processo (Rolfeet al., 2000). Ingredientes como o concentrado de soja, apresentam elevado índice de dispensabilidade de proteína (PDI) que poderá favorecer o processo de extrusão, com aumento da expansão e crocância e formação de produto de melhor aparência.

Em relação ao aproveitamento da proteína de origem vegetal, o processo de extrusão permite eliminar fatores antinutricionais, de forma que melhore o aproveitamento da soja crua e permitindo seu emprego em dietas para monogástricos. Além disso, o processo de extrusão provoca o rompimento de parede celular, liberando a proteína complexada ou enclausurada, também responsável pelo baixo aproveitamento proteico do ingrediente in natura.

De acordo com Borges et al. (2003), a elevada pressão do processo causa o rompimento da parede celular, liberando o óleo intracelular, aumentando portanto, a digestibilidade do extrato etéreo. Outra provável vantagem do processamento é a melhora da palatabilidade do ingrediente. As alterações causam à inativação das lipoxigenases que promovem, quando presentes, a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados, desenvolvendo sabor e odor desagradáveis (Mustakas et al., 1969).

2.6 Palatabilidade dos ingredientes proteicos em animais de companhia

Segundo Yamaguchi & Ninomiya (2000), a palatabilidade promove a seleção e o consumo. Todos os cinco sentidos estão envolvidos na palatabilidade de um alimento. Destacam-se o sabor, análise olfatória (aroma), estímulo tátil (textura, tamanho da partícula), conteúdo de umidade do alimento, comportamento alimentar, grau de fome, estresse do animal e efeito de experiência alimentar prévia, entre

outros (Carciofiet al. 2006; NRC 2006). Como relatado por Lima (2008), um dos fatores preponderantes na indústria de *petfood* é a palatabilidade dos produtos. Ela se apresenta como ponto chave pelo poder de ampliar o laço afetivo entre o proprietário e o animal de estimação. Dessa forma, a satisfação de palatabilidade se estende do animal ao seu proprietário, o qual detém o poder de decisão da compra num amplo leque de produtos existente atualmente no mercado (Carvalho, 2006).

As leveduras, na sua forma inativa, caracterizam-se por ser um ingrediente altamente palatável. Nos estudos utilizando extrato de levedura realizados em animais de companhia, às análises foram direcionadas principalmente a fatores de digestibilidade e palatabilidade (SwansoneFahey Júnior, 2006). Teshimaet al. (2007) em um ensaio de palatabilidade, observou que a adição de 2% do extrato de levedura de cepa específica ao alimento completo seco extrusado conferiu uma maior palatabilidade em cães, comparado à uma dieta controle. Os resultados demonstraram preferência pela dieta contendo o extrato de levedura de cepa específica, na proporção de 67%:33%. Em estudo com cães, Martins et al. (2014) verificaram forte preferência para alimentos que tiveram 7,5% de inclusão de levedura seca ou levedura autolizada de cana-de-açúcar, sem diferença entre estas duas matérias primas quanto à sua preferência pelos animais.

Com as inúmeras possibilidades que os ingredientes descritos oferecem, somado à disponibilidade de obtenção dos mesmos no mercado brasileiro, a levedura de cana-de-açúcar e o CPS tornam-se matérias-primas de potencial interesse para a indústria de alimentos de animais de companhia.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATTISTI, J.A. et al. Composição química e valores energéticos de alguns alimentos para suínos com diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.14, p.141-150, 1985.

BELAY, T.; SHIELDS-, R. O. Jr; WIERNUSZ, C. J.; et al. Evaluation of nutrient digestibility and stool quality of rice (*Oryza sativa*) based canine diets. **Veterinary Clinical Nutrition**, v. 4, n. 4, p. 122-129, 1997.

BELLAVER, C.; SNIZEK JR., P.N. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de aves e suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999. **Anais...** Londrina: EMBRAPA Soja, 1999.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2001, Campinas. **Anais...** Campinas, SP:CBNA, 2001. p.167-190.

BORGES, S.A.; SALVADOR, D.; IVANOVSKI, R.A. Utilização da soja desativada na dieta de monogástricos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, Cascavel, PR. **Anais...** CBNA, p.21-66, 2003.

BUTOLO, J.E. Avaliação biológica da levedura de cana (*Saccharomyces cerevisiae*) na alimentação de frangos de corte, fase inicial e engorda, substituindo-se total e parcialmente a suplementação de vitaminas do complexo B, presentes na levedura de cana. In: SEMINÁRIO DE PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE LEVEDURA DE CANA, 2, 1991, Piracicaba. **Anais do Seminário de Produção e Comercialização de Levedura de Cana.** Piracicaba, SP: CTC, 1991. p.47

BUTOLO, J.E. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custo relativo e outras fontes de nutrientes. In: Workshop – produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal, 1996, Campinas. **Anais...**Campinas: ITAL – Instituto de Tecnologia de alimentos, 1996. P.70-89.

CAMPOS NETO, O. Utilização dos coprodutos da indústria sucroalcooleira na alimentação animal. In: Simpósio sobre produção animal, 4, 1987, Brasília, DF. **Anais Simpósio sobre Produção Animal Brasília,** DF: SBZ, 1987. p.129-152

CARCIOFI, A. C. et al. Avaliação de fontes protéicas para a alimentação de cães. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 35. n. 3, p.754-760, 2006.

CARCIOFI, A.C. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.37, p.28-41, 2008 (supl. especial)

CARCIOFI, A.C.; de-OLIVEIRA, L.D.; VALERIO, A.G.; et al. Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.151, p.251-260.2009.

CARVALHO, Y. M. A trilogia da palatabilidade homem-animal-alimento. In:FÓRUM PET FOOD DA AMÉRICA LATINA, 5., 2006, São Paulo. **Anais...**São Paulo:In: business media, 2006. p. 5.

CASTILHO, W. et al. Efeito da substituição do farelo de soja pela levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) desidratada como fonte de proteína em dietas para leitões desmamados sobre peso de órgão digestivos e atividade das enzimas pancreáticas. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v. 12, n. 1, p. 12-20, 2004.

CAVALCANTI, W. B.; BEHNKE, K. C. Effect of composition of feed model systems on pellet quality: A mixture experimental approach. I. **Cereal Chemistry**, St. Paul. v.82, n°.4, p.455-461, 2005.

CHOCT, M. et al. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry. **Australian Journal of Animal Science**, v.23, n.10, 1386-1393, 2010.

COSTA, L. F. Leveduras na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, n°1, p.01-06, 2004.

DAY, L. & SWANSON, B. G. Functionality of Protein-Fortified Extrudates. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2013, v.12, p.546-564.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária** – Tabuleiros Costeiros. Aracaju. SE, 2002. Disponível em: <http://www.cpatc.embrapa.br>. Acesso em: 28 ago. 2015.

ENDRES, J. **Low Antigenicity Soy Protein Concentrate or Fish Meal for Young Pigs**. <http://www.centalsoya.com/censoya/censoya.nsf>. 1997.

FARIA, H.G.; SCAPINELLO, C.; FURLAN, A.C.; MOREIRA, I.; MARTINS, E.N. Valor nutritivo das leveduras de recuperação seca por rolo rotativo ou por “spray-dry” para coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1750-1753, 2000.

FÉLIX, A.P. ; CARVALHO, M.P. ; ALARÇA, L.G. ; BRITO, C.B.M. ; OLIVEIRA, S.G. ; MAIORKA, A. . Effects of the inclusion of carbohydrases and different soybean meals in the diet on palatability, digestibility and faecal characteristics in dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 174, p. 182-189, 2012.

FURCO, A.M. Produção de biomassa de levedura em destilarias de álcool: In: Workshop – produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal, 1996, Campinas. **Anais...**Campinas: ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1996. P.52-58.

GRIFFIN, R. W. Palatability testing: Parameters and analyses that influence test conclusions. In: KVAMME, J.L.; PHILLIPS, T.D. **Petfood technology**. Illinois Mt Morris, 2003, p.187-193.

GUY, R. **Extrusion Cooking: Technologies and Applications**. Boca Raton: CRC Press, 2001, p. 206.

GOMES, M.O.S. Efeito da adição de parede celular de levedura sobre adigestibilidade, microbiota, ácidos graxos de cadeia curta e aminos fecais e parâmetros hematológicos e imunológicos de cães. 2009. 96 f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

HESTA, M.; JANSSENS, G.P.J.; DEBRAEKELEER, J. et al. Fecal odor components in dogs: nondigestible oligosaccharides and resistant starch do not decrease fecal

h₂s emission. **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine, Washington**, v.1, n.3, 2003.

KAUSHIK, S.J., CRAVEDI, J.P., LALLÈS, J.P., SUMPTER, J., FAUCONNEAU, B., LAROCHE, M. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture** 133: 257–274, 1995.

LIMA, L.M.S. Extrato de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para gatos adultos. **Tese** mestrado Lavras: UFLA, 2008 87 p.: il.

LIMA, U.A.; SATO, S. Proteínas de origem microbiana. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A. **Biotecnologia Industrial**. V. 4. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda., p. 421-446, 2001.

LUSAS, E.W.; RIAZ, M.N. Soy protein products: processing and use. **Journal of Nutrition**, v.125, p.573S-580S, 1995.

MARTINS, M. S.; SAKOMURA, N. K.; D. F. SOUZA, D. F.; FILHO, F. O. R.; GOMES, M. O. S.; VASCONCELLOS, R. S.; A. C. CARCIOFI, A. C. Brewer's yeast and sugarcane yeast as protein sources for dogs. **Journal of Animal Physiology Animal Nutrition**, v.98, p.948-957, 2014.

MOREIRA, I. et al. Uso da levedura seca por "spray-dry" como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira Zootecnia.**, v.31, p.962-969, 2002.

MOSCICKI, L. **Extrusion-Cooking Techniques: Applications, Theory and Sustainability**. Weinheim: WileyVCH, 2011, p.234.

MURRAY, S. M.; FAHEY Jr, G. C.; MERCHEN, N. R. et al. Evaluation of selected high-starch flours as ingredients in canine diets. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 77, n. 8, p. 2180-2186, 1999.

MUSTAKAS, G.C.; ALBRECHT, W.J.; MCGHEE, J.E. et al. Lipoxidase deactivation to improve stability, odor and flavor of full-fat soy flours. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, 46:623-626, 1969.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**, Washington, The National Academic Press, 2006.

OLIVEIRA, L.D. Avaliação de fontes protéicas e de tratamentos industriais da farinha de carne e ossos para cães e gatos. **Tese de doutorado** Jaboticabal, 2009 p 114.

ONWULATA, C. I.; KONSTANCE, R. P. ; COOKE, P. H. & FARRELL JR, H. M. Functionality of Extrusion-Texturized Whey Proteins. **Journal of Dairy Science**, 2003, v.86, p.3775-3782.

OVIEDO-RONDÓN, E.O. Tecnologias para reduzir o impacto ambiental nos sistemas de produção de frangos de corte In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, DF, 2012. (CD-ROM).

PARSONS, C.M.; CASTANON, F.; HAN, Y. Protein and amino acid quality of meat and bone meal. **Poultry Science**, v.61, p.2241-2246, 1997.

PEREIRA, E.S. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilho: consumo, digestibilidade, balanço, nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira Zootecnia**, 20(2):563-572, 2001.

PEZZATO, L.E. et al. Levedura em dietas para alevinos de tilápias do Nilo. **Veterinária e Zootecnia** V.13, n.1, p.84-94, 2006.

REFSTIE, S., STOREBAKKEN, T., BAEVERFJORD, G. & ROEM, A.J. Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level. **Aquaculture**, 193: 91–106, 2001.

RIAZ, M. N. Extrusion basics. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. **Petfoodtechnology**. Illinois Mt Morris, 2003, p.347-360.

ROBINOW, C.F.; JOHNSON, B.F. Yeast cytology: an overview. In: ROSE, A.H.; HARRISON, J.S. The Yeasts: yeast organelles. 2. ed. London: **Academic Press**, 1991. v.4, cap. 2, p. 7-120.

ROCHA, A.P.T. Estudo do desempenho de um leite de jorro convencional para secagem de leveduras. 2002. **Dissertação** – Universidade Federal de Campina Grande, 2002.

ROEPCKE, C.B.S. Desenvolvimento de bioprocesso para produção de biomassa de levedura rica em zinco orgânico. **Tese Mestrado**. Curitiba, PR, UFPR, 2007.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health, **Journal of Nutrition**, v.130, n°.2, p.396S–402S, 2000.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos** (composição de alimentos e exigências nutricionais). Viçosa, MG: UFV, 2011. 186p

SÁ, L.; NOGUEIRA, E.; GOULART, C.; COSTA, F.P. **Aminoácidos para nutrição de frangos de corte**, 2012. Disponível em: <http://www.lisina.com.br>

SOARES, M. Avaliação do desempenho zootécnico do camarão branco do Pacífico alimentado com dietas com diferentes níveis de substituição de farinha de peixe por concentrado proteico de soja. 2014. 68 f. **Dissertação** (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

SOUZA, D.F. 2013. Soja crua em dietas extrusadas para gatos. **Dissertação** de mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal. 81p.

STEEL, C. J.; VERNAZA LEORO, M. G.; SCHMIELE, M., FERREIRA, R. E. & CHANG, Y. K. Thermoplastic extrusion in food processing. In: El-Sonbati, A. Z., **Thermoplastic elastomers**. InTech., 2012, p. 265-290.

STRATTON-PHELPS M., BACKUS R.C., ROGERS Q.R., FASCETTI A.J. 2002. Dietary rice bran decreases plasma and whole-blood taurine in cats. **J. Nutr.** 132:1745S–1747S.

SWANSON, K.S.; FAHEY JÚNIOR, G.C. Potential role of yeast and yeast byproducts in pet food. In: LAUE, D.; TUCKER, L.A. (Eds.) **Recent advances in pet nutrition**. Nottingham: Nottingham University, 2006. p.19-36.

TAVARES, G.C.M.B.; ARAÚJO, A.H.B.; COLNAGO, G.L. et al. Composição química e digestibilidade de partes e subprodutos de aves nas formas crua e cozida para cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2010.

TESHIMA, E.; RIVERA, N.L.M.; KAWAUCHI, I.M. et al. Extrato e levedura na alimentação de cães: digestibilidade e palatabilidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...**Jaboticabal, 2007.

TRAN, Q. D.; HENDRIKS, W. H. & VAN DER POEL, A. F. B. Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2008, v. 88, p. 1487-1493.

VASCOCELLOS, R.S; CARCIOFI, A.C. Formulação de alimentos com base em nutrientes digestíveis para cães e gatos. **I Congresso internacional e VIII Simpósio sobre nutrição de animais de estimação CBNA**, Campinas, 2009.

VACONCELLOS, R.S. Uso de coprodutos na alimentação de cães e gatos. **II Congresso Internacional e IX simpósio sobre nutrição de animais de estimação CBNA**, Campinas, 2010.

VIELMA, J., MÄKINEN, T., EKHOLM, P., KOSKELA, J. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. **Aquaculture** 183: 349–362, 2000.

YAMAGUCHI, S.; NINOMIYA, K. Umami and food palatability. **Journal Nutrition, Tokyo**, v. 130, p. 921-962, 2000. Supplement.

YAMKA, R. M., HETZLER, B. M., HARMON, D. L., Evaluation of low-oligosaccharide, low-phytate whole soybeans and soybean meal in canine foods. **Journal Animal Science**, v. 83, p.393–399, 2005.

WALKER, J.A.; HARMON, D.L.; GROSS, K.L. et al. Evaluation of nutrient utilization in the canine using the ileal cannulation technique. **Journal of Nutrition**, v.124, p.2672S-2676S, 1994.

ZAINE, L.; FERREIRA, C.; GOMES, M. O. S.; MONTI, M.; TORTOLA, L.; VASCONCELLOS, R. S.; A. C. CARCIOFI, A. C. Faecal IgA concentration is influenced by age in dogs. **British Journal of Nutrition**, v.106, p.183–186, 2011.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DE LEVEDURA HIDROLISADA DE CANA-DE-AÇÚCAR EM DIETAS PARA GATOS¹

¹ Escrito de acordo com as normas da revista Journal Animal Physiology and Animal Nutrition

Running head: sugarcane yeast hydrolysed in cat dogs.

EVALIATION SUGARCANE YEAST HYDROLYSED IN DIETS FOR DOGS

K. S. Venturini^a, T. C. Putarov^a, M. F. Sarcinelli^a, E. B. Malheiros^c, A. C. Carciofi^b

^a Departamento de Zootecnia, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

^b Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

^c Departamento de Ciências Exatas, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

E-mail address: aulus.carciofi@gmail.com (A.C. Carciofi).

AVALIAÇÃO DE LEVEDURA HIDROLISADA DE CANA-DE-AÇÚCAR EM DIETAS PARA CÃES

RESUMO - O aumento no consumo mundial de proteína tem sido previsto como o principal problema nutricional para a humanidade nos próximos anos. Devido a isto, pesquisas têm sido desenvolvidas avaliando fontes proteicas novas, não convencionais para a alimentação humana e animal. A levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) vem sendo avaliada na dieta de diferentes espécies animais e poucos são os estudos encontrados utilizando este ingrediente como fonte proteica na alimentação de cães. O objetivo do estudo foi avaliar a inclusão de 5% de duas apresentações de levedura de cana-de-açúcar (Levedura 1 – LEV1, Levedura 2 – LEV2) e de glúten de milho 60% (GM) em dieta para cão à base de farinha de vísceras de frango (FVF). Para isso foi conduzido um experimento com 24 cães distribuídos em blocos casualizados com quatro tratamentos (FVF, GM; LEV1 e LEV2) e seis repetições. Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (CDA), produtos de fermentação e qualidade das fezes e o balanço de nitrogênio foram determinados por coleta total de fezes e urina. A palatabilidade das rações foi avaliada pelo método de duas vasilhas. O metabolismo de ácido úrico foi avaliado medindo-se sua concentração sérica, urinária e eliminação renal diária e o metabolismo da uréia foi avaliado mensurando sua concentração urinária e eliminação renal diária. Os dados de palatabilidade, foi avaliado pelo teste T-Student utilizando o programa estatístico R e os demais dados obtidos foram submetidos a análise de variância e comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o programa estatístico SAS. Não foi verificada diferença estatística ($P > 0,05$) entre os CDA de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, energia bruta. Para o CDA do amido foi encontrada diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$). O escore fecal, matéria seca das fezes, produção de fezes por animal e pH fecal não sofreram influência dos tratamentos ($P < 0,05$). Quando alimentados com as dietas contendo levedura, as fezes dos cães apresentaram maior produção de lactato ($P < 0,05$). Não foi observada diferença significativa no balanço de nitrogênio, no volume e pH urinário. Maior densidade urinária ($P < 0,05$) foi obtida por animais que consumiram a dieta FVF. Além disso, o consumo da dieta FVF proporcionou aos animais maior excreção de uréia ($P < 0,05$) e maior concentração de uréia urinária ($P < 0,0001$). Foi observada maior aceitabilidade da dieta LEV1 pelos

cães como primeira opção ($P < 0,05$). Para taxa de consumo, os cães preferiram tanto a dieta LEV1 quanto a LEV2 ($P < 0,05$) em relação à FVF e não apresentaram preferência à dieta GM em relação à FVF. As duas preparações de levedura e o glúten de milho se mostraram seguros para inclusão na dose testada. As leveduras agregaram palatabilidade ao alimento, com possível vantagem quanto ao comportamento alimentar.

Palavras-chave: balanço de nitrogênio, digestibilidade, palatabilidade, produtos de fermentação microbiana.

EVALIATION SUGARCANE YEAST HIDROLISED IN DIETS FOR DOGS

Summary - The increase in protein consumption worldwide has been predicted as the main nutritional problem for humanity in the coming years. Because of this, research has been undertaken to assess new protein sources, unconventional for food and feed. Yeast sugarcane (*Saccharomyces cerevisiae*) has been evaluated in the diet of different animal species and few studies found using this ingredient as a protein source in the feed dogs. The aim of the study was to evaluate the inclusion of 5% two performances of sugarcane yeast (Yeast 1 - lev1, Yeast 2 - LEV2) and corn gluten 60% (GM) in diet for dog-based flour chicken viscera (FVF). For this experiment was carried out with 24 dogs distributed in randomized blocks with four treatments (FVF, GM; lev1 and LEV2) and six repetitions. The apparent digestibility of nutrients (CDA), fermentation products and stool quality and nitrogen balance were determined by total collection of feces and urine. The palatability of the feed was evaluated by two canisters method. Uric acid metabolism was evaluated by measuring serum levels, urinary and daily renal elimination and metabolism of urea was evaluated by measuring its urinary concentration and daily renal elimination. The palatability data was evaluated by T-test using the statistical program R and other data were submitted to ANOVA and Tukey test ($P < 0.05$) using the SAS statistical software. There was no statistical difference ($P > 0.05$) between the ADCs of dry matter, organic matter, crude protein, crude energy. For starch CDA difference was found between treatments ($P < 0.05$). The fecal score, dry weight faeces, production per animal feces and fecal pH were not influenced treatments ($P < 0.05$). When fed diets containing yeast, the feces of the dogs showed higher lactate production ($P < 0.05$). There was no significant difference in nitrogen balance, volume and urinary pH. Increased urinary density ($P < 0.05$) was obtained by animals fed the diet FVF. Moreover, the consumption of animals provided FVF diet increased excretion of urea ($P < 0.05$) and increased urinary urea concentration ($P < 0.0001$). It was greater acceptability of lev1 diet for dogs as a first option ($P < 0.05$). For consumption rate, the dogs prefer both lev1 diet as LEV2 ($P < 0.05$) in relation to the FVF and showed no preference to the GM diet in relation to the FVF. The two yeast preparations and corn gluten have proven safe for inclusion in dose tested. Yeast added to food palatability, with possible advantage on the feeding behavior.

Keywords: nitrogen balance, digestibility, palatability, microbial fermentation products.

1. INTRODUÇÃO

Pesquisas têm sido desenvolvidas avaliando fontes proteicas novas, alternativas ou não convencionais para a alimentação humana e animal. Isto se torna mais importante à medida que o aumento no consumo mundial de proteína tem sido previsto como o principal problema nutricional para a humanidade nos próximos anos (FAO, 2013). Para emprego como fonte proteica, os ingredientes devem atender as necessidades de aminoácidos do animal, ser palatável e ser seguro (Dust et al, 2005).Dentre os alimentos com uso potencial para dietas de cães incluem-se os produtos de origem microbiana, especificamente as leveduras de cana-de-açúcar, coprodutos da indústria canavieira (Butolo, 1991). As leveduras constituem, na atualidade, por um grupo de microrganismos com ampla utilização, sendo aplicadas em grande número de processos fermentativos industriais (Bourgeois e Larpent, 1995).

A levedura de cana-de-açúcar vem sendo estudada como ingrediente proteico alternativo, pois apresentam em sua composição níveis de proteína bruta que podem ultrapassar os 45%. Além disso, apresenta concentração satisfatória de aminoácidos essenciais, como lisina, triptofano e treonina, embora apresente menores quantidades de aminoácidos sulfurados, como a metionina e a cisteína (Roepcke, 2007). Outro componente importante da levedura são os nucleotídeos, representados pelos ácidos nucléicos. A concentração de ácidos nucléicos nas leveduras é de 5 a 12%, e a maior parte está presente na forma de RNA.

Em estudos com cães, Martins et al. (2014) avaliaram o efeito da substituição da farinha de vísceras de frango por 7,5; 15 e 30% de inclusão de levedura de cana de açúcar e de levedura de cerveja. Estes autores verificaram que a substituição de 15% de levedura de cana-de-açúcar não afetou a digestibilidade dos nutrientes em dietas para cães e que adição de 7,5% de levedura de cana de açúcar melhorou a aceitabilidade dos cães.

Sendo assim, considerando as poucas informações acerca do emprego de leveduras de cana-de-açúcar como fonte proteica, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a inclusão de 5% de duas fontes de leveduras hidrolisadas de cana-de-açúcar sobre a digestibilidade, a palatabilidade, o balanço de nitrogênio, produtos de fermentação, produção e características das fezes e a excreção urinária de ácido úrico e úreia de cães.

2.MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada” do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, campus de Jaboticabal.

2.1 Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 24 cães, machos ou fêmeas adultos, com peso corporal de $12,90 \pm 1,49$ kg e idade de $7,45 \pm 3,74$ anos, da raça beagle, em boas condições corporais e clinicamente saudáveis, provenientes do canil do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal.

O experimento foi delineado em blocos casualizados, com quatro tratamentos e dois blocos, com três repetições dentro de cada bloco. Cada bloco teve duração de 21 dias, sendo os 10 primeiros dias destinados a adaptação dos cães ao alimento e os outros 11 dias para coleta de dados. Durante o período de adaptação as dietas, os cães foram alojados em canil de 1,50m x 4,50m, em grupo de três animais por canil. Os cães eram soltos diariamente em uma área de recreação para prática de exercício e socialização. Durante a coleta de dados os animais permaneceram em gaiolas metabólicas individuais em inox, com dimensões de 90 x 80 x 90 cm, com aparato para coleta separada de fezes e urina.

O período de coleta iniciou no 11º até o 15º dia foi realizada coleta total de fezes e urina para o ensaio de digestibilidade e balanço de nitrogênio; do 16º e 18º dia foi feita a coleta de urina para determinação do pH, volume, densidade, concentração de ácido úrico e excreção urinária de uréia de 24h; do 19º ao 21º dia foi realizada a coleta de frescas (máximo 15 min após a defecação) para análise de ácidos graxos de cadeia curta e ramificada, amônia e ácido lático. No 21º dia foi realizada uma coleta de sangue para determinação da concentração de ácido úrico no plasma sanguíneo.

2.2 Dietas experimentais

Foram formuladas quatro dietas experimentais com composições nutricionais semelhantes, de forma que seus teores de nutrientes atendessem às recomendações nutricionais para manutenção de cães da European Pet Food Industry Federation (FEDIAF, 2014). A primeira teve apenas farinha de vísceras de frango como fonte proteica, sendo considerada ração controle (FVF). A segunda ração foi formulada com 5% de glúten de milho 60% (GM). A terceira e quarta formulação teve a inclusão de 5% de levedura hidrolisada de cana-de-açúcar, com dois produtos comerciais denominados levedura 1 (LEV1) e levedura 2 (LEV2). A composição química das fontes proteicas empregadas no experimento encontra-se na Tabela 1.

[Inserir tabela 1]

Previamente à confecção das dietas, os ingredientes foram adquiridos, estocados e analisados para umidade, proteína bruta, extrato etéreo, proteína bruta e energia bruta. A formulação das dietas experimentais e sua composição química analisada encontram-se na Tabela 2.

[Inserir tabela 2]

Os ingredientes foram previamente misturados e moídos em moinho de martelos (Tigre, Moinhos Tigre, São Paulo, SP), utilizando-se peneira com furos de 0,8 mm de diâmetro e processadas em extrusora de rosca simples (Modelo Mex-250, Manzoni Industria Ltda, Campinas, SP) com capacidade para produção de 250 quilogramas de ração por hora, na Fábrica de Rações da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal. Foi utilizado um sistema de extrusão completo em escala laboratorial, com os mesmos componentes e princípios de funcionamento dos sistemas de extrusão comercial.

Durante o processo de extrusão a amperagem do motor da extrusora foi constantemente monitorada e registrada a cada 20 minutos. A densidade dos extrusados (g/L) foi determinada apenas quando o sistema atingiu a estabilidade, sendo a partir deste momento registrada a cada 20 minutos. A temperatura do pré-condicionador da extrusora foi mantida por meio da injeção de vapor próxima de

80°C. Água, vapor, velocidade da rosca e fluxo de matérias-primas foram ajustados de acordo com a formulação da dieta. A temperatura no interior do canhão da extrusora foi mantida no intervalo entre 122°C e 131°C. Após a extrusão, os kibbles foram secos em secador estacionário de ar forçado, aquecido a 105°C, e recobertos com óleos e palatilizante. Os parâmetros obtidos durante o processamento das rações estão apresentados na Tabela 3.

A quantidade de ração fornecida aos animais foi calculada de acordo com a energia metabolizável, estimado com base em sua composição química e a necessidade energética individual de cada animal, de acordo com o preconizado pelo Nutritional Requirements of Dogs and Cats (NRC, 2006). A quantidade total diária foi oferecida em duas refeições iguais, às 9h e às 16h. Água foi oferecida à vontade. O consumo de alimento foi mensurado e registrado durante todo o período experimental.

2.3 Determinação da digestibilidade, produção e qualidade das fezes e balanço de nitrogênio

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes foram determinados pelo método de coleta total de fezes e urina, segundo recomendações da Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2013). O consumo alimentar foi registrado diariamente, pesando-se as quantidades oferecidas e recusadas de alimento a cada refeição. Fezes e urina foram coletadas integralmente, duas vezes ao dia (08h e 16h). Fezes avaliadas quanto ao escore, conforme Carciofi (2008), atribuindo-se notas de 0 a 5, sendo: 0 = fezes líquidas; 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes, que não marcam o piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas, considerando-se normal valores entre 3 e 4. As fezes foram pesadas e acondicionadas em sacos plásticos individuais, previamente identificados, fechados e armazenados em freezer (-15°C) para posteriores análises. A urina foi coletada em recipientes plásticos colocados sob o funil coletor da gaiola, contendo 1 mL de ácido sulfúrico 1N, para evitar perdas de nitrogênio por volatilização e proliferação de bactérias. Após a mensuração do volume, a urina foi

armazenadas em garrafas plásticas identificadas e mantidas em freezer (-15°C) até realização das análises laboratoriais.

Ao final do período de coleta, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra única por animal e período. Estas foram pesadas e secas em estufa de ventilação forçada, a 55°C por 72h (320-SE, FANEM, São Paulo, Brasil). Fezes pré-secas e as rações foram moídas em moinho tipo faca (MOD 340, ART LAB, São Paulo) com peneira contendo furos de 1,0 mm, para realização das análises laboratoriais. As amostras foram analisadas quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo hidrólise ácida (EEHA) e matéria orgânica (MO), de acordo com a AOAC (1995). A quantidade de amido foi determinada de acordo com Miller (1959) e Hendrix (1993). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica (1281, PARR Instruments, EUA). Para sua realização, amostras de rações e fezes foram peletizadas e pesadas, e a urina, seca em cadinho, para posterior combustão. Adicionalmente, foi determinado o índice de gelatinização do amido das rações pelo método da amiloglicosidade, de acordo com Sá et al. (2013). Todas as análises laboratoriais foram realizadas em duplicata, sendo repetidas quando variaram mais de 5% entre as réplicas.

Os CDA da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo em hidrólise ácida e energia bruta (EB), assim como a energia metabolizável dos alimentos foram calculados de acordo com AAFCO (2013), com o emprego da seguinte fórmula (Pond et. al.,1995):

$$\text{CDAN (\%)} = \frac{\text{nutriente ingerido (g)} - \text{nutriente excretado (g)} \times 100}{\text{nutriente ingerido (g)}}$$

A matéria seca das fezes foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{MS fecal} = \frac{1^{\text{a}} \text{MS} \times 2^{\text{a}} \text{MS}}{100}$$

Sendo:

1ª MS = matéria seca a 55 °C das fezes *in natura*

2ª MS = matéria seca a 105°C das fezes secas a 55°C.

Para realização do cálculo do balanço de nitrogênio (BN), nas amostras de alimentos, fezes e urina foi determinado o teor de nitrogênio pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1995) e o BN calculado pela diferença entre o nitrogênio ingerido (N ingerido) e excretado nas fezes (N fecal) e urina (N urinário), sendo os resultados expressos por unidade de peso metabólico por dia, conforme a fórmula:

$$\text{BN (mg/kg de peso corporal}^{0,75}\text{/dia)} = \text{Ningerido (mg/kgPC}^{0,75}\text{/dia)} - (\text{Nfecal (mg/kgPC}^{0,75}\text{/dia)} + \text{Nurinário (mg/kgPC}^{0,75}\text{/dia)})$$

2.4 Avaliação do pH, ácidos graxos de cadeia curta e ramificada, lactato e amônia das fezes

Para a aferição do pH, 2g de fezes frescas foi diluída (1:5 w/w) em 6 mL de água tipo miliq e o pH avaliado em peagômetro de precisão 0,01 pH. Para a análise dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR), cerca de 10gde fezes frescas foram homogeneizadas e misturadas com 30 mL de ácido fórmico a 16% (proporção volumétrica de 1:3). Posteriormente as amostras foram centrifugadas (5804R; Eppendorf, Hamburgo, Brasil) quatro vezes a 5000 G e 15°C, durante 15min, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o precipitado. O sobrenadante foi então centrifugado a 20.000 G durante 1 hora a 5°C, mais uma vez foi extraído o sobrenadante e este armazenado em freezer a -20 °C.

As concentrações de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) e ácidos graxos de cadeia ramificada (isovalérico, isobutírico e valérico) foram determinadas por cromatografia gasosa (Finningan, modelo 9001, Finningan Corporation, San Jose, EUA) de acordo com ERWIN et al. (1961), sendo a coluna de vidro de 2 metros de comprimento, diâmetro de 1/8", empacotada com 80/120 Carbopack B-DA/4% Carbowax 20M. O cromatógrafo foi calibrado por meio da injeção de 1 µL de solução padrão misto e a curva pré-estabelecida no software BORWIN versão 1.21.60. Foi utilizado nitrogênio como gás de arraste (vazão de 25 mL/min.), oxigênio como gás comburente (vazão de 175 mL/min.) e hidrogênio como gás combustível (vazão de 15 mL/min.), com temperaturas de operação de 220°C no injetor, 210°C na coluna e 250°C no detector de ionização de chama.

Para determinação de ácido láctico, aproximadamente 3 gramas das fezes frescas foram homogeneizados e misturados com 9 mL de água destilada

(proporção volumétrica de 1:3). Posteriormente, as misturas foram centrifugadas durante 15 minutos a 5°C por quatro vezes a 5.000 G, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. Após a extração, as amostras foram identificadas e armazenadas em freezer (-20°C). Os teores de ácido láctico foram determinados de acordo com Pryce (1969) pelo método espectrofotométrico a 565 nm (500 a 570nm), utilizando branco reagente a fim de calibrar o espectrofotômetro. As amostras foram quantificadas comparando-as com padrão de ácido láctico a 0,08%.

A concentração de NH₃ fecal foi mensurada a partir dos extratos coletados para AGCC e AGCR, conforme metodologia proposta por Vieira (1980). Os extratos foram descongelados à temperatura ambiente e em seguida alíquotas de 2 mL foram diluídas em 13 mL de água destilada (2:13 v/v) e submetidas à destilação em um destilador de nitrogênio (Tecnal TE - 036/1, Piracicaba, Brasil). A destilação foi realizada com 5 mL de solução 0.2N de hidróxido de potássio e o nitrogênio recebido em um erlenmeyer com 10 mL de solução receptora (ácido bórico a 0,97 N). Ao atingir-se 50 mL de solução receptora mais material destilado será interrompida a destilação. Em seguida realizou-se a titulação com ácido clorídrico 0.005N.

2.5 Determinação do pH, densidade, volume e concentração de uréia e de ácido úrico na urina dos cães

Para determinação do pH, densidade e volume urinário, a urina foi coletada em garrafas de plástico com adição de 100mg de timol como conservante (Tymol, LabSinth, Diadema, São Paulo, Brasil). As coletas foram feitas duas vezes ao dia, a urina de cada animal foi filtrada e armazenada em garrafas plásticas identificadas e mantidas sob refrigeração (4°C). A urina produzida no período de 24 horas foi homogeneizada e foi analisado seu volume, densidade em refratômetro (Atago, CO T2-NE, Japão) e pH em peagâmetro digital ((DM20; Digicrom Analítica Ltda, São Paulo, Brasil). Nas amostras de urina foram determinadas a concentração de ácido úrico (Ácido Úrico Liquiform, Ref. 140, Labtest Diagnóstica S.A. - Lagoa Santa, MG, Brasil) e uréia (Ureia UV liquiform (LABTEST, Lagoa Santa, Brasil), com leitura em espectrofotômetro (espectrofotômetro rápido - Lab, Drake, São José do Rio Preto,

Brasil). Com base nas informações de composição química e volume de urina, foram calculadas as excreções de uréia e ácido úrico diária dos cães.

2.6 Determinação da concentração de ácido úrico no soro dos cães

Cerca de 2 mL de sangue foram coletados de cada animal, por punção direta da veia jugular. Estes foram colocados em tubo de ensaio de vidro, sem anticoagulante e centrifugados a 20°C durante 5 minutos com 2000 G, para obtenção do soro. A concentração sérica de ácido úrico foi utilizada em analisadores semi automáticos (Labquest, modelo BIO-2000, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brazil), por kits de ensaios cinéticos ultravioleta (ácido úrico UV Liquiform, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brazil).

2.7 Teste de preferência do alimento

O teste de preferência do alimento foi realizado na Guabi PetCare, em Campinas – SP, com um painel qualificado de 20 cães adultos, machos ou fêmeas, de diferentes raças. A palatabilidade foi determinada pelo método de duas vasilhas (Griffin, 2003). Os cães foram alojados em baias individuais e os alimentos A e B fornecidos simultaneamente em comedouros idênticos. Foi anotado o alimento primeiro consumido pelo cão. As dietas permaneceram disponíveis durante 30 minutos, após isso a sobras foram recolhidas e quantificadas, para registro do consumo. Os alimentos foram oferecidos em quantidade que excedia a capacidade de ingestão, permitindo o consumo de apenas um dos alimentos, ou parte da quantidade de cada um. Para evitar distorção nos resultados de escolha dos animais, as dietas experimentais destinadas a este teste não foram recobertas por palatilizante, apenas por gordura de aves para suprir a necessidade nutricional dos cães. As seguintes comparações foram realizadas:

Teste 1: Dieta FVF versus dieta GM.

Teste 2: Dieta FVF versus LEV1;

Teste 3: Dieta FVF versus LEV2.

2.8 Análises estatísticas

Os dados foram avaliados quanto à pressuposição de homocedasticidade e normalidade dos erros. Posteriormente foram submetidos à análise de variância utilizando Modelos mistos no procedimento Proc Mixed do software Statistical Analysis System (Versão 9, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Quando obtida significância estatística, as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey. A preferência do alimento foi avaliada pelo teste T-Student, utilizando-se o programa estatístico R Versão 3.1.0 (R Core Team 2014). Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

3. RESULTADOS

As dietas experimentais foram adequadamente consumidas pelos cães, sem episódios de rejeição ao alimento, diarreia ou vômito. A ingestão dos nutrientes não variou entre as dietas (Tabela 3) bem como os CDA dos nutrientes.

A produção de fezes foi maior para cães alimentados com a ração GM e LEV1 ($P < 0,05$), como pode ser observado na Tabela 4. A matéria seca das fezes foi menor para as dietas suplementadas com levedura ($P = 0,0102$), mas sem efeito perceptível ao escore fecal. O pH fecal também foi afetado de forma significativa, embora tenha sido menor apenas nos cães que receberam a dieta LEV 2 ($P < 0,05$). Quanto aos produtos de fermentação nas fezes, a concentração fecal de ácido lático e os ácidos graxos de cadeia curta e ramificada foram iguais em todos os tratamentos ($P > 0,05$). O teor de amônia das fezes não se alterou.

Os resultados de volume, densidade, pH urinário e BN encontram-se na Tabela 5. Os animais alimentados com a ração FVF apresentaram menor volume de urina, o que explica a maior densidade urinária nestes animais ($P < 0,05$). O pH da urina não variou entre dietas. Também não foi detectada diferença para o BN, N ingerido e N excretado ($P > 0,05$), resultando em valores semelhantes para todos os tratamentos.

Na tabela 6 estão apresentados os resultados de excreção urinária, concentração de uréia urinária e ácido úrico na urina de cães alimentados com as dietas experimentais. Não foi observado efeito significativo para excreção urinária de uréia ($P > 0,05$), bem como as dietas experimentais não apresentaram influência

sobre a excreção de ácido úrico, concentração de ácido úrico na urina e no sangue ($P > 0,05$). Houve efeito dos tratamentos para a concentração de uréia na urina ($P = < 0,0001$). Os animais que consumiram dietas com inclusão de levedura, apresentaram menor excreção urinária de uréia (1130,79 e 1001,60 mg/kg/dia, respectivamente para LEV1 e LEV2) e menor concentração de uréia na urina (2942,43 e 3770,08 mg/dL, respectivamente para LEV1 e LEV2) quando comparados com os animais que ingeriram a dieta FVF. Apesar da elevada concentração de uréia na urina encontrada no tratamento FVF, não foi observada diferença significativa na excreção urinária de uréia entre os tratamentos estudados.

Em relação aos testes de palatabilidade, no teste de primeira escolha do alimento, não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$), quando comparada a ração com FVF com a LEV2 ou GM. No entanto, foi encontrada diferença entre com maior atratividade inicial dos cães pela ração LEV1 ($P = 0,011$; Figura 1). No teste de preferência, houve diferença significativa, com preferência dos cães pela ração LEV1 ($P < 0,01$) e LEV2 ($P < 0,05$) em relação à FVF (Figura 2). A ração LEV1 foi preferida por 77% dos cães, enquanto a LEV2 por 62% dos animais (Figura 2). Em relação à ração GM e FVF, estas foram igualmente ingeridas pelos cães.

4. DISCUSSÃO

A avaliação da digestibilidade é mais importante que a representação dos níveis de garantia dos nutrientes ou do conteúdo dos ingredientes (Pond et al., 1995). Sendo assim, os resultados obtidos para o CDA dos nutrientes neste estudo demonstram que a inclusão de até 5% das leveduras de cana-de-açúcar podem ser utilizadas como fonte proteica na dieta de cães sem alterar a porcentagem de nutrientes absorvidos no trato digestório. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Martins et al. (2014), também em estudo para cães, quando a substituição de até 15% da proteína alimentar por levedura de cana-de-açúcar ou de cerveja também não alterou a digestibilidade dos nutrientes.

Scandolera et al. (2008), empregando dietas completas a base de milho, farelo de soja e leite em pó integral, estudaram substituição parcial do farelo de soja por levedura hidrolisada de cana-de-açúcar. Obtiveram desempenho de suínos na fase de creche semelhantes entre a dieta com soja ou levedura.

Do ponto de vista comercial, consistência das fezes é característica importante, percebida pelo proprietário como atributo de qualidade da ração. Apesar da substituição da FVF por LEV1 e LEV2 ter influenciado a MS das fezes, esta não se refletiu em alteração de seu escore ou qualidade.

O pH fecal ideal pra cães é em torno de 6,2 (Mentula, 2005). No presente estudo os valores de pH obtidos através do consumo das dietas FVF, GM e LEV1 estão próximos ao ideal, já para o tratamento LEV2 foi encontrado um pH ácido (5,88). Há uma correlação entre a concentração de ácido lático e o pH fecal (Bourriaud, et al., 2005), a medida que aumenta a produção de ácido lático, há uma diminuição no pH fecal (Swanson, et al., 2002), porém tal fato não foi observado no presente estudo, contrariando a literatura.

O volume e a densidade urinária possuem uma relação inversamente proporcional, sendo que à medida que o volume diminui ocorre o aumento da densidade urinária dos animais. No presente estudo, essa relação foi observada no tratamento FVF. Tal fato pode ter ocorrido devido ao ingrediente utilizado na formulação desta dieta pois, de acordo com Carciofi et al. (2005) os ingredientes da dieta, a sua digestibilidade, composição química e métodos de alimentação afetam o volume, o pH, a densidade urinária. A concentração de ureia na urina pode ter ocorrido devido ao menor volume de urina produzido pelos animais que consumiram a dieta FVF.

Em relação à palatabilidade das dietas, os cães quando possuem mais de uma opção de alimento, sua primeira escolha é feita pelo olfato, seguido do paladar e, por último, a sensação do alimento na boca (Félix et al., 2010). No consumo houve diferença significativa, com preferência dos cães pela ração LEV1 ($P < 0,01$) e LEV2 ($P < 0,05$) em relação à FVF (Figura 2). A ração LEV1 foi preferida por 77% dos cães, enquanto a LEV2 por 62% dos animais (Figura 2). Pode-se explicar a preferência dos animais pelas dietas com inclusão de levedura, pois as mesmas conferem maior palatabilidade das dietas, melhorando a textura e a digestibilidade dos nutrientes (Swanson e Fahey, 2006).

Os resultados encontrados no presente estudo corroboram com os observados por Martins et al. (2014). Estes autores avaliaram a preferência alimentar, comparando a dieta basal (FVF) com a inclusão de 7,5% de dois tipos de levedura de cana-de-açúcar (autolisada e íntegra) em dietas para cães. Eles concluíram que houve grande aceitabilidade das leveduras por parte dos animais.

Teshima et al. (2007) também verificaram que a adição de 2% do extrato de levedura de cepa específica ao alimento completo seco extrusado conferiu palatabilidade superior da dieta para cães. Com os resultados obtidos neste estudo é possível afirmar que a levedura hidrolisada apresenta boa aceitabilidade pelos cães e isso provavelmente está relacionada à composição desse ingrediente, que confere sabor *umami*. Este sabor é conferido ao alimento e identificado pelo cão devido à presença de glutamato e de certos nucleotídeos, que são responsáveis pelo sabor residual dos alimentos (Bourgeois, 2004). O sabor *umami* possui qualidades que o diferenciam de outros sabores, tendo um sabor residual prolongado (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

Em conclusão, podemos afirmar que a inclusão de 5% de levedura hidrolisada de cana-de-açúcar como fonte proteica em dietas extrusadas para cães não interfere na digestibilidade dos nutrientes, no balanço de nitrogênio e na formação e produção de fezes. Além disso não altera as concentrações séricas e a excreção urinária de ácido úrico dos cães. A levedura hidrolisada, no entanto, se mostrou ingrediente palatável, cuja inclusão favorece a aceitação e consumo dos alimentos pelos cães.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAFCO, **Official Publication. Association of American Feed Control Officials Inc.**, West Lafayette, IN. 2013.

AOAC, **Association of Official Analytical Chemists.** Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1995.

BOURGEOIS, C. M. y LARPENT, J. P. **Microbiologia Alimentar.** Volumen 2: Fermentaciones alimentarias. Zaragoza: Acribia, p. 19-29. 1995.

BOURGEOIS, H. **O Livro da palatabilidade em cães e gatos.** Royal Canin, n. 24, 2004.

BOURRIAUD C., R. J ROBINS, L MARTIN, F. KOZLOWAKI, C. CHERBUT, C. MICHEL. Lactate is mainly fermented to butyrate by Human intestinal microfloras but inter-individual variation is evident. **J. of Appl. Microb.** 99:201-212, 2005.

BUTOLO, J.E. Avaliação biológica da levedura de cana (*Saccharomyces cerevisiae*) na alimentação de frangos de corte, fase inicial e engorda, substituindo-se total e parcialmente a suplementação de vitaminas do complexo B, presentes na levedura de cana. In: SEMINÁRIO DE PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE LEVEDURA DE CANA, 2, 1991, Piracicaba. **Anais do Seminário de Produção e Comercialização de Levedura de Cana**. Piracicaba, SP: CTC, p.47, 1991.

CARCIOFI, A.C.; BAZZOLI, R.S.; ZANNI, A. *et al.* Influence of water content and the digestibility of pet foods on the water balance of cats. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**. v. 42, n.6, p. 429-434, 2005.

CARCIOFI, A.C. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Rev. Bras. Zootecn.**37, suplemento especial, 28-41, 2008.

DUST, J.M., GRIESHOP, C.M., PARSONS, C.M., KARR-LILIENTHAL, L.K., SCHASTEEN, C.S., QUIGLEY, J.D., MERCHEN, N.R., FAHEY, G.C. Chemical composition, protein quality, palatability, and digestibility of alternative protein sources for dogs. **Journal of Animal Science**, 83: 2414-2422, 2005.

ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **J.Dairy Sci.**, 44, 1768-1771, 1961.

FAO 2013 – **Carbohydrates in Human Nutrition: a Joint FAO/WHO Report**. Rome, FAO (Food and Nutrition Paper 55), 1998.

FEDIAF, **Federation Europeene de L'industrie des Aliments pour Animaux Familiars; European Federation of Pet Food Manufacturers**, FEDIAF, 2014.

FÉLIX, A. P.; BRITO, C. B. M.; FERRARINI, H. *et al.* Características físico-químicas de derivados proteicos de soja em dietas extrusadas para cães. **Ciência Rural**, v.40, n.12, p.2568-2573, 2010.

GRIFFIN, R. Palatability testing methods: Parameters and analyses that influence test conditions. **Petfood Technology**. 1^a ed. J.L. Kvamme and T.D. Phillips, Ed Watt Publishing Co, Mt. Morris, IL, p.187-193, 2003.

HENDRIX, D.L. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Sci**. 25, 1306–1311, 1993.

MARTINS, M. S.; SAKOMURA, N. K.; D. F. SOUZA, D. F.; FILHO, F. O. R.; GOMES, M. O. S.; VASCONCELLOS, R. S.; A. C. CARCIOFI, A. C. Brewer's yeast and sugarcane yeast as protein sources for dogs. **Journal of Animal Physiology Animal Nutrition**, v.98, p.948-957, 2014.

MENTULA, S. Analysis of canine small intestinal and fecal microbiota. **National Public Health Institute**, v.8, p.1-86, 2005.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal.Chem.** v.31, p. 426-428, 1959.

National Research Council. Nutrient Requirements of Dogs and Cats. Natl. Academy Press, Washington, DC, USA, 2006.

Pond, W.G.; Church, D.C.; Pond, K.R. **Basic Animal Nutrition and Feeding**. 4a ed. New York, John Wiley, 615p, 1995.

Pryce, J.D. **A modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid.** *Analyst*.94, 1151-1152, 1969.

ROEPCKE, C.B.S. Desenvolvimento de bioprocesso para produção de biomassa de levedura rica em zinco orgânico. **Tese Mestrado**. Curitiba, PR, UFPR, 2007.

Sá, F. C., R. S. Vasconcellos, M. A. Brunetto, F. O. R. Filho, M. O. S. Gomes, and A. C. Carciofi. Enzyme use in kibble diets formulated with wheat bran for dogs: effects on processing and digestibility. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.** 97(Suppl 1): 51-59, 2013.

SAS **.Statistical Analysis Systems**. In: SAS/STAT User's Guide, Version 9. Cary, NC: Statistical Analysis Systems Institute Inc, 801-858, 2007.

SCANDOLERA, A.J. et al. Hidrolisados proteicos de mucosa intestinal, levedura e preotéina isolada de soja em dietas com leite em pó integral para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.4, p.653-659, 2008.

SWANSON, K. S. et al. Fructooligosaccharides and lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy Adult dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p.3721–3731, 2002.

SWANSON, K.S.; FAHEY JÚNIOR, G.C. Potential role of yeast and yeast byproducts in pet food. In: LAUE, D.; TUCKER, L.A. (Eds.) **Recent advances in pet nutrition**. Nottingham: Nottingham University. p.19-36, 2006.

TESHIMA, E.; RIVERA, N.L.M.; KAWAUCHI, I.M. et al. Extrato e levedura na alimentação de cães: digestibilidade e palatabilidade. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 44., 2007, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal, 2007.

VIEIRA, P. F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 98p, 1980.

YAMAGUCHI, S.; NINOMIYA, K. Umami and food palatability. **Journal Nutrition, Tokyo**, v. 130, p. 921-962, Supplement, 2000.

Tabela 1. Composição química analisada das fontes proteicas empregadas no experimento Valores sobre a matéria original

Item	Dietas ¹			
	FVF	GM	LEV1	LEV2
Matéria Seca (%)	91,38	89,18	91,38	91,21
Matéria Mineral (%)	13,07	0,31	5,58	3,99
Matéria Orgânica (%)	78,31	88,87	85,80	87,22
Extrato Etéreo em Hidrólise Ácida (%)	13,66	1,47	4,13	7,88
Proteína Bruta (%)	63,86	59,83	47,20	57,75
Energia Bruta (Kcal/kg)	5,02	5,01	4,48	5,06

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2.

Tabela 2. Formulação e composição química das dietas experimentais para cães com diferentes fontes proteicas.

INGREDIENTE	Dietas ¹ (%)			
	FVF	GM	LEV1	LEV2
MilhoGrão	55,96	55,23	53,74	54,62
Farinha de vísceras de aves	31,31	26,59	27,96	27,01
Farelo de glúten 60%	0,00	5,00	0,00	0,00
Levedura hidrolisada ²	0,00	0,00	5,00	0,00
Levedura hidrolisada ³	0,00	0,00	0,00	5,00
Gordura de Aves	6,15	6,58	6,68	6,75
Fibra de Cana	3,00	3,00	3,00	3,00
Palatabilizante líquido ⁴	2,00	2,00	2,00	2,00
Suplemento mineral-vitamínico ⁵	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal Comum	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Potássio	0,29	0,30	0,33	0,34
Cloreto de Colina	0,15	0,15	0,15	0,15
Antifúngico ⁶	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante ⁷	0,04	0,04	0,04	0,04
Composição química analisada (valores sobre a matéria natural)				
Matéria seca (%)	94,73	94,27	94,15	94,17
Matéria mineral (%)	6,34	5,62	5,66	5,67
Matéria orgânica(%)	88,38	88,65	88,49	88,50
Extrato etéreo em hidrólise ácida (%)	11,97	11,60	12,35	11,98
Proteína bruta (%)	28,32	28,37	27,82	28,08
Amido (%)	32,11	32,82	29,55	32,59
Energia bruta (Kcal/Kg)	4,60	4,69	4,65	4,70

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2; ²46,3% de PB; ³56,8% de PB;

⁴Palatabilizante líquido; SPF do Brasil, Descalvado, Brasil;

⁵Adição por quilograma de produto: Ferro 100 mg, Cobre 10 mg, Manganês 10 mg, Zinco 150 mg, Iodo 2 mg, Selênio 0,3 mg, Vitamina A 18000 UI, Vit. D 1200 UI, Vit. E 200 UI, Tiamina 6 mg, Riboflavina 10 mg, Ácido pantotênico 40 mg, Niacina 60 mg, Piroxidina 6 mg, Ácido fólico 0,30 mg, Vit. B12 0,1 mg.

⁶MoldZapAquativa, Alltech Brasil Agroindustrial Ltda: propionato de amônio, propanodiol, ácido propiônico, ácido acético, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido fórmico, sorbato de potássio, veículo q.s.p.

⁷Banox, Alltech Brasil Agroindustrial Ltda: galato de propila e carbonato de cálcio BHA, BHT.

Tabela 3. Ingestão e coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas experimentais para cães com inclusão de diferentes fontes proteicas

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	LEV1	LEV2		
Ingestão (g/cão/dia)						
Matéria seca	208,52	215,94	214,13	210,23	4,17	0,9288
Matéria orgânica	194,56	203,06	201,26	197,58	3,94	0,8991
Proteína bruta	62,33	64,99	63,27	62,69	1,25	0,8954
Extrato etéreo em hidrólise ácida	24,96	25,04	26,44	25,18	0,35	0,7358
Amido	66,95	70,86	63,28	68,50	1,59	0,3306
Energiabruta	954,80	1075,70	1058,42	1050,40	22,70	0,2464
Coefficiente de digestibilidade aparente (%)						
Matéria seca	81,03	80,71	81,22	80,97	0,29	0,9521
Matéria orgânica	84,38	83,68	83,95	84,10	0,27	0,8576
Proteína bruta	85,43	85,32	84,85	84,61	0,28	0,7007
Extrato etéreo em hidrólise ácida	91,55	89,14	89,86	89,75	0,51	0,7358
Amido	99,78	99,76	99,75	99,74	0,01	0,2398
Energia Bruta	83,78	84,36	84,50	84,26	0,25	0,7932

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2.

² EPM – erro padrão da média (n=6 cães por raça).

a, b.– médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

Tabela 4. Produção, pH, características e concentração de alguns produtos de fermentação nas fezes de cães mediante o consumo das dietas experimentais com inclusão de diferentes fontes proteicas

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	LEV1	LEV2		
Matéria seca fecal (%)	38,56 ^a	40,06 ^a	36,31 ^b	37,73 ^b	0,78	0,0102
Escore Fecal	3,85	3,75	3,89	3,83	0,03	0,7100
pH Fecal	6,31 ^a	6,27 ^a	6,11 ^{ab}	5,88 ^b	0,10	0,0117
g fezes MS/cão/dia	21,40 ^b	24,55 ^a	25,71 ^a	22,62 ^b	0,96	0,0275
g fezes MN/cão/dia	102,74	104,23	110,80	105,06	2,22	0,6246
mMol/kg de MS						
Ácido láctico	6,81	11,93	9,48	8,61	0,84	0,1967
Ácido acético	320,75	337,87	314,04	301,01	16,50	0,8756
Ácido propiônico	160,44	162,47	188,32	198,46	10,55	0,5247
Ácido butírico	59,43	76,82	65,76	65,34	3,88	0,3263
Ácido isobutírico	10,29	10,49	8,06	7,69	0,49	0,0712
Ácido isovalérico	15,27	16,36	12,21	11,59	0,76	0,0657
Ácido valérico	0,84	0,97	0,53	1,06	0,12	0,4550
AGV ³ totais	567,01	604,96	588,97	584,58	29,13	0,9755
mMol/g de MS						
Amônia fecal	123,07	161,49	119,71	123,69	19,75	0,4491

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2. ² EPM – erro padrão da média (n=6 cães por raça). a, b.– médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

³ AGV – ácidos graxos voláteis

Tabela 5. Volume, densidade e pH urínario e balanço de nitrogênio de cães mediante o consumo das dietas experimentais para cães com inclusão de diferentes fontes proteicas.

Item	Dietas ¹				EPM ³	Valor de p
	FVF	GM	LEV1	LEV2		
Volume urinário (mL/cão/dia)	185,10 ^b	315,90 ^a	265,30 ^a	275,00 ^a	27,37	0,0499
Densidade (g/dL)	1,044 ^a	1,035 ^{ab}	1,034 ^b	1,034 ^b	0,002	0,0382
pH urínario	6,39	6,45	6,43	6,32	0,029	0,7057
mg/Kg PC^{0,75}/dia						
Balanço de Nitrogênio	182,36	287,40	81,84	199,38	40,7	0,7195
N ² ingerido	1469,50	1396,91	1381,35	1374,88	21,77	0,3144
N excretado						
N urinário	1074,68	905,01	1078,74	965,9	42,63	0,6514
N fecal	212,46	204,49	210,11	209,6	1,67	0,9299

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2;

²N – nitrogênio;

³ EPM – erro padrão da média (n=6 cães por ração).

a, b, c – médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

Tabela 6. Excreção urinária de uréia e ácido úrico, concentração de uréia e ácido úrico na urina e ácido úrico no sangue de cães mediante consumo das dietas experimentais com inclusão de diferentes leveduras

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	LEV1	LEV2		
Excreção urinária (mg/kg/dia)						
Ácidoúrico	0,71	2,00	1,65	1,28	0,55	0,3277
Uréia	1200,93	960,81	1130,79	1001,60	115,50	0,8278
Concentração na urina (mg/dL)						
Ácidoúrico	2,97	7,68	6,61	6,55	1,02	0,2273
Uréia	7143,78 ^a	3267,53 ^b	2942,43 ^b	3770,08 ^b	968,94	<0,0001
Concentração no soro (mg/dL)						
Ácidoúrico	0,42	0,48	0,43	0,43	0,01	0,8423

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2. ² EPM – erro padrão da média. a, b, c – médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

Figura 1 – Primeira escolha dos cães na ingestão das dietas experimentais para cães com diferentes fontes de proteína. FVF - Farinha de vísceras de frango; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2; GM – Glúten de Milho 60%. * diferença entre rações.

Figura 2 - Comparações das porcentagens de ingestão das dietas experimentais para cães com diferentes fontes de proteína. FVF - Farinha de vísceras de frango; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2; GM – Glúten de Milho 60%. * diferença entre rações.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DE LEVEDURA HIDROLISADA DE CANA-DE-AÇÚCAR EM DIETAS PARA GATOS¹

¹ Escrito de acordo com as normas da revista Journal Animal Physiology and Animal Nutrition

Running head: sugarcane yeast hydrolysed in cat diets.

EVALIATION SUGARCANE YEAST HYDROLYSED IN DIETS FOR CATS

K. S. Venturini^a, F. M. Peres^a, M. F. Sarcinelli^a, M. Monti^b, A. Vitta^a, E. B. Malheiros^c,
A. C. Carciofi^b

^a Departamento de Zootecnia, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

^b Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

^c Departamento de Ciências Exatas, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

E-mail address: aulus.carciofi@gmail.com (A.C. Carciofi).

AVALIAÇÃO DE LEVEDURA HIDROLISADA DE CANA-DE-AÇÚCAR EM DIETAS PARA GATOS

O aumento na população de gatos tem impulsionado o desenvolvimento de novos ingredientes, que além de nutritivos agreguem benefícios aos animais. A levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) vem sendo avaliada para emprego como fonte proteica na dieta de diferentes espécies animais, não existindo, até o momento, estudos deste ingrediente como fonte proteica em alimentos para gatos. O objetivo deste estudo foi avaliar inclusão de 5% de duas apresentações de levedura de cana-de-açúcar (Levedura 1 – LEV1, Levedura 2 – LEV2) e de glúten de milho 60% (GM) em dieta para gato à base de farinha de vísceras de frango (FVF). Foi conduzido um experimento com 24 gatos distribuídos em blocos casualizados com quatro tratamentos (FVF, GM; LEV1 e LEV2) e seis repetições. Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (CDA), produtos de fermentação e qualidade das fezes e o balanço de nitrogênio foram determinados por coleta total de fezes e urina. A palatabilidade das rações foi avaliada pelo método de duas vasilhas. O metabolismo de ácido úrico foi avaliado medindo-se sua concentração sérica, urinária e eliminação renal diária e o metabolismo da uréia foi avaliado mensurando sua concentração urinária e eliminação renal diária. Os dados de palatabilidade, foi avaliado pelo teste T-Student utilizando o programa estatístico R e os demais dados obtidos foram submetidos a análise de variância e comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o programa estatístico SAS. Os tratamentos não influenciaram de forma significativa ($P > 0,05$) os CDA dos nutrientes. Não foi observada diferença estatística para produção e qualidade das fezes ($P > 0,05$). Os gatos que consumiram as dietas contendo levedura apresentaram fezes com maior produção de lactato ($P < 0,05$). A inclusão de 5% dos ingredientes testados não proporcionou diferença estatística no volume, pH, densidade urinária, balanço de nitrogênio ($P > 0,05$). Maior excreção ($P < 0,05$) e concentração de ácido úrico ($P < 0,05$) foram encontradas na urina produzida por gatos que consumiram a dieta FVF. No teste de palatabilidade, os gatos preferiram as dietas LEV1 e LEV2 em relação à dieta FVF ($P < 0,01$), não apresentando preferência à dieta GM em relação à FVF. Conclui-se que as duas leveduras avaliadas, na dose empregada, podem substituir a FVF como fonte proteica em dietas para gatos, agregando palatabilidade às rações.

Palavra-chave: balanço de nitrogênio, digestibilidade, palatabilidade, produtos de fermentação microbiana.

EVALIATION SUGARCANE YEAST HIDROLISED IN DIETS FOR CATS

The increase in the cat population has driven the development of new ingredients which add besides nutritional benefits to the animals. Yeast sugarcane (*Saccharomyces cerevisiae*) has been evaluated for use as a protein source in the diet of different animal species, and there is, to date, studies of this ingredient as a protein source in foods for cats. The aim of this study was to evaluate the inclusion of 5% two performances of sugarcane yeast (Yeast 1 - lev1, Yeast 2 - LEV2) and 60% corn gluten (GM) in diet for flour-based cat chicken bowels (FVF). An experiment was conducted with 24 cats distributed in randomized blocks with four treatments (FVF, GM; lev1 and LEV2) and six repetitions. The apparent digestibility of nutrients (CDA), fermentation products and stool quality and nitrogen balance were determined by total collection of feces and urine. The palatability of the feed was evaluated by two canisters method. Uric acid metabolism was evaluated by measuring serum levels, urinary and daily renal elimination and metabolism of urea was evaluated by measuring its urinary concentration and daily renal elimination. The palatability data was evaluated by T-test using the statistical program R and other data were submitted to ANOVA and Tukey test ($P < 0.05$) using the SAS statistical software. The treatments did not affect significantly ($P > 0.05$) the CDA nutrients. There was no statistical difference for the production and quality of stools ($P > 0.05$). The cats that consumed diets containing yeast showed feces with higher lactate production ($P < 0.05$). The inclusion of 5% of the tested ingredients provided no statistical difference in volume, pH, urine specific gravity, nitrogen balance ($P > 0.05$). Increased excretion ($P < 0.05$) and uric acid concentration ($P < 0.05$) were found in urine produced by FVF cats consuming the diet. In palatability tests, cats preferred the LEV2 and lev1 diets compared to FVF diet ($P < 0.01$), showing no preference for GM diet compared to FVF. We conclude that the two yeasts evaluated the dose used, can replace the FVF as protein source in diets for cats, adding palatability to the feed.

Keyword: digestibility, microbial fermentation nitrogen balance, palatability, products.

1. INTRODUÇÃO

O expressivo aumento na indústria petfood tem incentivado os fabricantes de rações a desenvolverem constantemente novas dietas e para atingir tais objetivos é necessário a busca por novos ingredientes que apresentem qualidade e preço competitivos sendo, ainda, palatáveis.

Para a utilização de ingredientes não convencionais na alimentação de cães e gatos, é necessário que a natureza, a digestibilidade e a biodisponibilidade dos ingredientes sejam verificadas, de forma que atenda às necessidades nutricionais específicas desses animais. A qualidade das matérias-primas utilizadas para a fabricação de alimentos destinados a animais de companhia é tão importante quanto à eficiência de ingredientes e nutrientes relacionados à saúde animal.

Com relação às fontes alternativas de proteínas, procuram-se alimentos que sejam capazes de fornecer a quantidade de nutrientes necessária para atender às exigências nutricionais dos animais de companhia, com menor custo e sem comprometer sua qualidade, refletindo em produtos mais acessíveis ao consumidor (Silva, 2003).

A levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) vem sendo avaliada para emprego como fonte proteica na dieta de diferentes espécies animais. A indústria *petfood* já emprega a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em dietas comerciais para cães, entretanto, esta entra como ingrediente funcional em pequena taxa de inclusão, não existindo, até o momento, estudos deste ingrediente como fonte proteica em alimentos para gatos, sendo desconhecida a biodisponibilidade de seus nutrientes.

Considerando a ausência de informações de caráter científico acerca do emprego de leveduras em dietas para gatos, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a inclusão de 5% de dois tipos de levedura hidrolisada de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) como fonte protéica em dietas para felinos a fim de verificar a influencia sobre a digestibilidade, a palatabilidade, o balanço de nitrogênio, produção e características das fezes e a excreção urinária de ácido úrico de gatos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada” do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, campus de Jaboticabal.

2.1 Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 24 gatos, machos e fêmeas, sem raça definida, adultos com peso corporal de $4,43 \pm 1,07$ kg e idade de $7,00 \pm 2,56$ anos em boas condições corporais e clinicamente sadios, provenientes do gatil do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal.

O experimento foi delineado em blocos casualizados, com quatro tratamentos e dois blocos, com três repetições dentro de cada bloco. Cada bloco teve duração de 22 dias, sendo os 10 primeiros dias destinados a adaptação dos gatos ao alimento e os outros 12 dias para coleta de dados. Durante a adaptação à dieta os gatos eram soltos para exercício e socialização das 8h às 16 h, em um gatil com 50m². Ficaram restritos às suas gaiolas das 16h às 8h, quando recebiam as dietas experimentais.

Em todo o período da coleta de fezes e urina, os animais permaneceram em gaiolas individuais de metabolismo em inox, com dimensões de 80 x 80 x 100 cm, com aparato para coleta separada de fezes e urina. A coleta de dados iniciou-se no 11º dia, onde até o 16º dia foi realizada coleta total de fezes e urina para o ensaio de digestibilidade e balanço de nitrogênio; do 17º e 19º dia foi feita a coleta de urina para determinação do pH, volume, densidade urinária, concentração de ácido úrico e excreção urinária de uréia de 24h e do 20º a 22º dia foi realizada a coleta de fezes frescas (máximo 15 min após a defecação) para análise de amônia e ácido láctico. No 21º dia foi realizada uma coleta de sangue para determinação da concentração de ácido úrico no plasma sanguíneo.

2.2 Dietas experimentais

Foram formuladas quatro dietas experimentais com composições nutricionais semelhantes, de forma que seus teores de nutrientes atendessem às recomendações nutricionais para manutenção de gatos da European Pet Food Industry Federation (FEDIAF, 2014). A primeira teve apenas farinha de vísceras de frango como fonte proteica, sendo considerada ração controle negativo (FVF). A segunda ração foi formulada tendo 5% de inclusão de fonte proteica do glúten de milho 60%, sendo empregada como controle positivo (GM). A terceira e quarta formulação empregou a inclusão de 5% de levedura hidrolisada de cana-de-açúcar do tipo 1 e 2 como fonte proteica, respectivamente, para o tratamento 3 (LEV1) e 4 (LEV2). A composição química das fontes proteicas empregadas no experimento encontra-se na Tabela 1.

[Inserir tabela 1]

Previamente à confecção das dietas, os ingredientes foram analisados para umidade, proteína bruta, extrato etéreo, proteína bruta e energia bruta. A formulação das dietas experimentais e sua composição química analisada encontram-se na Tabela 2.

[Inserir tabela 2]

As dietas foram previamente misturadas e moídas em moinho de martelos (Tigre, Moinhos Tigre, São Paulo, SP), utilizando-se peneira com furos de 0,8 mm de diâmetro e processadas em extrusora de rosca simples (Modelo Mex-250, Manzoni Indústria Ltda, Campinas, SP) com capacidade para produção de 250 quilogramas de ração por hora, na Fábrica de Rações do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal. Foi utilizado um sistema de extrusão completo em escala laboratorial, com os mesmos componentes e princípios de funcionamento dos sistemas de extrusão comercial.

Durante o processo de extrusão a amperagem do motor da extrusora foi constantemente monitorada e registrada a cada 20 minutos. A densidade dos extrusados (g/L) foi determinada apenas quando o sistema atingiu a estabilidade,

sendo a partir deste momento registrada a cada 20 minutos. A temperatura do pré-condicionador da extrusora foi mantida por meio da injeção de vapor próxima de 80°C. Água, vapor, velocidade da rosca e fluxo de matérias-primas foram ajustados de acordo com a formulação da dieta. A temperatura no interior do canhão da extrusora foi mantida no intervalo entre 122°C e 131°C. Após a extrusão, os kibbles foram secos em secador estacionário de ar forçado, aquecido a 105°C, e recobertos com óleos e palatabilizante.

A quantidade de ração que foi fornecida aos animais foi calculada de acordo com o valor energético da ração, estimada com base em sua composição química e a necessidade energética individual de cada animal, de acordo com o preconizado pelo *Nutritional Requirements of Dogs and Cats* (NRC, 2006), sendo a ração, oferecida em duas refeições, fornecida às 9h e às 16h. Água foi oferecida à vontade. O consumo de alimento foi mensurado e registrado durante todo o período experimental.

2.3 Determinação da digestibilidade, produção e qualidade das fezes e balanço de nitrogênio

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes foram determinados pelo método de coleta total de fezes e urina, segundo recomendações da Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2013). O consumo alimentar foi registrado diariamente, pesando-se as quantidades oferecidas e recusadas de alimento a cada refeição. Fezes e urina foram coletadas integralmente, duas vezes ao dia (08h e 16h), e as fezes avaliadas quanto ao escore, conforme Carciofi (2008), atribuindo-se notas de 0 a 5, sendo: 0 = fezes líquidas; 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes, que não marcam o piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas, considerando-se normal valores entre 3 e 4. As fezes foram pesadas e acondicionadas em sacos plásticos individuais, previamente identificados, fechados e armazenados em freezer (-15°C) para posteriores análises. A urina foi coletada em recipientes plásticos colocados sob o funil coletor da gaiola, contendo 1 mL de ácido sulfúrico 1N, para evitar perdas de nitrogênio por

volatilização e proliferação de bactérias. Após a mensuração do volume, as urinas foram armazenadas em garrafas plásticas identificadas e mantidas em freezer (-15°C) até realização das análises laboratoriais.

Ao final do período de coleta, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra única por animal e período. Estas foram pesadas e secas em estufa de ventilação forçada, a 55°C por 72h (320-SE, FANEM, São Paulo, Brasil). Fezes pré-secas e as rações foram moídas em moinho tipo faca (MOD 340, ART LAB, São Paulo) com peneira contendo furos de 1,0 mm, para realização das análises laboratoriais. As amostras foram analisadas quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo hidrólise ácida (EEHA) e matéria orgânica (MO), de acordo com a AOAC (1995). A quantidade de amido foi determinada de acordo com Miller (1959) e Hendrix (1993). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica (1281, PARR Instruments, EUA). Para sua realização, amostras de rações e fezes foram peletizadas e pesadas, e a urina, seca em cadinho, para posterior combustão. Adicionalmente, foi determinado o índice de gelatinização do amido das rações pelo método da amiloglicosidade, de acordo com Sá et al. (2013). Todas as análises laboratoriais foram realizadas em duplicata, sendo repetidas quando variaram mais de 5% entre as réplicas.

Os CDA da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo em hidrólise ácida e energia bruta (EB), assim como a energia metabolizável dos alimentos foram calculados de acordo com AAFCO (2013), com o emprego da seguinte fórmula (Pond et. al.,1995):

$$\text{CDAN (\%)} = \frac{\text{nutriente ingerido (g)} - \text{nutriente excretado (g)} \times 100}{\text{nutriente ingerido (g)}}$$

A matéria seca das fezes foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{MS fecal} = \frac{1^{\text{a}} \text{MS} \times 2^{\text{a}} \text{MS}}{100}$$

Sendo:

1^a MS = matéria seca a 55 °C das fezes *in natura*

2^a MS = matéria seca a 105°C das fezes secas a 55°C.

Para realização do cálculo do balanço de nitrogênio (BN), nas amostras de alimentos, fezes e urina foi determinado o teor de nitrogênio pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1995) e o BN calculado pela diferença entre o nitrogênio ingerido (N ingerido) e excretado nas fezes (N fecal) e urina (N urinário), sendo os resultados expressos por unidade de peso metabólico por dia, conforme a fórmula:

$$\text{BN (mg/kg de peso corporal}^{0,67}\text{/dia)} = \text{Ningerido (mg/kgPC}^{0,67}\text{/dia)} - (\text{Nfecal (mg/kgPC}^{0,67}\text{/dia)} + \text{Nurinário (mg/kgPC}^{0,67}\text{/dia)})$$

2.4 Avaliação do pH, lactato e amônia das fezes

Para a aferição do pH, 2g de fezes frescas foi diluída (1:5 w/w) em 6 mL de água tipo miliq e o pH avaliado em peagômetro de precisão 0,01 pH. Para a análise de amonia, cerca de 10gde fezes frescas foram homogeneizadas e misturadas com 30 mL de ácido fórmico a 16% (proporção volumétrica de 1:3). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (5804R; Eppendorf, Hamburgo, Brasil) quatro vezes à 5000 G e 15°C, durante 15min, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o precipitado. O sobrenadante foi então centrifugado a 20.000 G, durante 1 hora, à 5°C e mais uma vez foi extraído o sobrenadante e este armazenado em freezer a -20 °C.A concentração de NH₃foi determinada segundo Vieira (1980), sendo os extratos descongelados à temperatura ambiente e, em seguida, alíquotas de 2 mL foram diluídas em 13 mL de água destilada (2:13 v/v) e submetidas à destilação em um destilador de nitrogênio (Tecnal TE - 036/1, Piracicaba, Brasil). A destilação foi realizada com 5 mL de solução 0.2N de hidróxido de potássio e o nitrogênio recebido em erlenmeyer com 10 mL de solução receptora (ácido bórico a 0,97 N). Ao atingir-se 50 mL de solução receptora mais material destilado foi interrompida a destilação. Em seguida, realizou-se a titulação com ácido clorídrico 0,005N.

Para determinação de ácido láctico, aproximadamente 3 gramas das fezes frescas foram homogeneizadas e misturados com 9 mL de água destilada(proporção volumétrica de 1:3). Posteriormente, as misturas foram centrifugadas durante 15 minutos a 5°C, por quatro vezes, a 5.000 G (Eppendorf, Hamburgo, Brasil), aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. Após a extração, as amostras foram identificadas e armazenadas em freezer (-20°C). Os teores de ácido láctico foram determinados de acordo com Pryce(1969), pelo método

espectrofotométrico (espectrofotômetro rápido - Lab, Drake, São José do Rio Preto, Brasil) a 565 nm (500 a 570nm), utilizando branco reagente a fim de calibrar o espectrofotômetro. As amostras foram quantificadas comparando-as com padrão de ácido láctico a 0,08%.

2.5 Determinação dopH, densidade, volume e concentração de uréia e de ácido úrico na urina dos gatos

Para determinação do pH, densidade e volume urinário, a urina foi coletada em garrafas de plástico com adição de 100mg de timol como conservante (Tymol, LabSinth, Diadema, São Paulo, Brasil). As coletas foram feitas duas vezes ao dia, a urina de cada animal foi filtrada e armazenada em garrafas plásticas identificadas e mantidas sob refrigeração (4°C). A urina produzida no período de 24 horas foi homogeneizada e foi analisado seu volume, densidade em refratômetro (Atago, CO T2-NE, Japão) e pH em peagâmetro digital ((DM20; Digicrom Analítica Ltda, São Paulo, Brasil). Nas amostras de urina foram determinadas a concentração de ácido úrico(Ácido Úrico Liquiform, Ref. 140, Labtest Diagnóstica S.A. - Lagoa Santa, MG, Brasil) e uréia (Ureia UV liquiform (LABTEST, Lagoa Santa, Brasil), com leitura em espectrofotômetro (espectrofotômetro rápido - Lab, Drake, São José do Rio Preto, Brasil). Com base nas informações de composição química e volume de urina, foram calculadas as excreções de uréia e ácido úrico diária dos gatos

2.6 Determinação da concentração de ácido úrico no soro dos gatos

Cerca de 2 mL de sangue foram coletados de cada animal, por punção direta da veia jugular. Estes foram colocados em tubo de ensaio de vidro, sem anticoagulante e centrifugados a 20°C durante 5 minutos com 2000 G, para obtenção do soro. A concentração sérica de ácido úrico foi utilizada em analisadores semi automáticos (Labquest, modelo BIO-2000, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brazil), por kits de ensaios cinéticos ultravioleta (ácido úrico UV Liquiform, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brazil).

2.7 Teste de preferência do alimento

O teste de preferência do alimento foi realizado na Guabi PetCare, em Campinas – SP, com um painel qualificado de 51 gatos adultos, machos e fêmeas. A palatabilidade foi determinada pelo método de livre escolha, “*two pan*” (Griffin, 2003). Os gatos eram separados por salas, sendo três salas com 17 gatos cada. A fase experimental foi de 48 horas, onde em cada sala foi distribuído simultaneamente os alimentos em comedouros idênticos e devidamente identificados. Os comedouros eram distribuídos por toda a sala, de forma que a cada dois comedouros contendo os alimentos A e B devam ficar próximos. Passado o período experimental os alimentos avaliados foram retirados e as sobras foram pesadas. Os alimentos foram oferecidos em quantidade que excedia a capacidade de ingestão, permitindo o consumo de apenas um dos alimentos, ou parte da quantidade de cada um. Para evitar distorção nos resultados de escolha dos animais, as dietas experimentais destinadas a este teste não foram recobertas por palatabilizante, apenas por gordura de aves para suprir a necessidade nutricional dos gatos. As dietas avaliadas foram:

Teste 1: Dieta FVF versus dieta GM.

Teste 2: Dieta FVF versus LEV1;

Teste 3: Dieta FVF versus LEV2.

2.8 Análises estatísticas

Os dados foram avaliados quanto à pressuposição de homocedasticidade e normalidade dos erros. Posteriormente foram submetidos à análise de variância utilizando Modelos mistos no procedimento Proc Mixed do software Statistical Analysis System (Versão 9, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Quando obtida significância estatística, as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey. No teste de preferência do alimento, utilizou-se o teste T-Student, ao nível de 5% de probabilidade pelo software R utilizando-se o programa estatístico R Versão 3.1.0 (R Core Team 2014).

3. RESULTADOS

As dietas experimentais foram adequadamente consumidas pelos gatos, sem episódios de diarreia. Apenas um animal apresentou episódio de vômito, sem interferência na condução do estudo. Na tabela 3 apresenta-se a ingestão e os CDA dos nutrientes. Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) na ingestão diária dos nutrientes MS, MO, Amido, PB, EEHA e EB e nem no CDA dos nutrientes, indicando que os a inclusão de 5% de dois tipos de leveduras de cana-de-açúcar utilizados no estudo não influenciaram na digestibilidade dos nutrientes quando comparados com os demais tratamentos.

A quantidade de fezes produzidas, o escore, ácido lático e o pH fecal não sofreram efeito dos tratamentos ($P>0,05$), conforme observado na Tabela 4.

Na Tabela 5 estão apresentados o volume, a densidade e o pH urinário, além do balanço de nitrogênio e o nitrogênio ingerido e excretado (fezes e urina). As dietas experimentais não influenciaram nenhuma das variáveis citadas ($P>0,05$). Apesar da diferença numérica no balanço de nitrogênio (entre 118,96 a 224,81mg de nitrogênio por kg de peso metabólico ($PC^{0,67}$ por dia), não houve diferença estatística ($P=0,3436$) entre os tratamentos.

Na tabela 6 estão apresentados os resultados para excreção urinária de uréia e ácido úrico e a concentração de uréia e ácido úrico na urina e no plasma sanguíneo para gatos alimentados com as dietas experimentais. A excreção urinária do ácido úrico foi influenciado pelos tratamentos ($P=0,0036$) e a excreção urinária de uréia não apresentou efeito significativo entre os tratamentos ($P>0,05$). As dietas experimentais não apresentaram influência sobre as a concentração uréia na urina e ácido úrico no sangue ($P>0,05$). Os valores encontrados para as concentrações de ácido úrico no soro apresentam-se dentre os considerados normais para felinos adultos (0 a 1 mg/dL). Para a concentração de ácido úrico na urina houve efeito significativo dos tratamentos ($P=0,0199$). A menor concentração foi observada no tratamento GM.

Em relação à palatabilidade das rações, foi observada diferença significativa ($P<0,05$), no teste 1 e 2, conforme figura 1. No primeiro teste de preferência comparou-se a dieta que utilizou fonte proteica de origem animal (FVF) e LEV1. Verificou-se que 25% dos animais consumiram a dieta de FVF enquanto 75% dos animais consumiram a dieta LEV1, indicando preferência dos animais pela LEV1

($P=0,003$). O segundo teste de preferência foi feita com a FVF e LEV2, onde a maior aceitabilidade dos gatos ($P<0,001$) foi pela LEV2 (69% de aceitabilidade). Já no terceiro teste não foi observada diferença ($P>0,05$) para as ingestão das dietas contendo FVF e GM.

4. DISCUSSÃO

A levedura de cana-de-açúcar vem sendo estudada como ingrediente alternativo proteico para alimentação de diversas espécies de animais, sendo observado que não foram localizados estudos que tenham avaliado a levedura de cana-de-açúcar como ingrediente proteico na alimentação de gatos.

Martins et al. (2014), estudaram a substituição do ingrediente proteico usual (farinha de vísceras de frango) na ração de cães por leveduras de cana-de-açúcar. Esses autores estudaram a inclusão de dois diferentes níveis e tipos de levedura, distribuídas em cinco tratamentos, sendo eles: 0 (basal), 7,5 e 15% de levedura de cana-de-açúcar autolisada e 7,5 e 15% de levedura de cana-de-açúcar íntegra. De acordo com os autores, a utilização da levedura de cana-de-açúcar não influenciou a ingestão dos nutrientes, nem tampouco o CDA para MS, MO, PB, EEHA, EB e EM das dietas, indicando que a inclusão dos ingredientes estudados podem ser uma boa alternativa de fonte proteica na ração de gatos.

Em estudos com suínos, Castilho et al. (2004) avaliaram a substituição do farelo de soja pela levedura, como fonte proteica sobre o desempenho de leitões desmamados. Os níveis de substituição foram 0 (controle), 25, 50, 75 e 100%. Esses autores concluíram que a substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da levedura em até 41% não interferiu no desempenho e ainda melhorou o consumo da dieta pelos animais.

Nos estudos de Martins et al. (2014) e Castilho et al. (2004), a levedura de cana-de-açúcar demonstrou que pode substituir os ingredientes proteicos usados constantemente. No presente estudo, na inclusão testada, a levedura também mostrou-se eficaz, pois sua substituição à farinha de vísceras de frango (ingrediente amplamente utilizado pelas indústrias *petfood*) foi eficiente, não apresentando diferença entre os tratamentos para o CDA da MS, MO, PB, EEHA e EB (Tabela 3).

O uso de leveduras desperta uma preocupação devido ao alto valor de ácidos nucleicos presentes na composição deste ingrediente. O ácido nucleico na dieta é

tóxico pois a capacidade de excreção do ácido úrico formado é limitada, possibilitando um aumento da deposição deste no corpo, e uma possível desordem de metabolismo (Schulz e Oslage, 1976). Porém na inclusão testada no presente estudo, houve redução da eliminação renal de ácido úrico quando comparado como tratamento FVF. Sendo assim, é possível dizer que até o nível de inclusão de levedura estudado, não foi observado efeito de toxicidade.

É importante ressaltar que um ingrediente além de atender as necessidades nutricionais dos animais deve ser palatável. A recusa de um ingrediente pelos animais acarreta no insucesso deste. A inclusão de 5% de levedura hidrolisada de cana-de-açúcar além de não prejudicar a digestibilidade e fornecer os nutrientes necessários para os gatos, ainda são ingredientes altamente palatáveis. Essa alta palatabilidade pode estar relacionada com a quantidade de proteína presente nelas.

Os gatos possuem grande exigência por alimentos palatáveis, sendo mais sensíveis que os cães quanto à palatabilidade e a qualidade de seu alimento (Saad, 2004). Esses animais são muito seletivos e tendem a recusar qualquer alimento que apresente um odor que não lhe agrade, exigindo que as dietas sejam altamente palatáveis (Lima, 2008). Sendo assim, a escolha do alimento para felinos domésticos exige a observação não só das suas necessidades nutricionais peculiares, mas também do seu comportamento alimentar diferenciado (Case, et al., 1998).

Teshima et al. (2007) estudaram o efeito da adição de 2% de extrato de levedura de cana-de-açúcar, esses autores observaram que houve aumentada palatabilidade nos alimentos extrusados de cães. Já Lima (2008) ao incluir 2% de extrato de levedura em dietas de gatos teve o consumo reduzido quando comparada com a dieta controle.

Os resultados encontrados demonstraram que dietas contendo 5% de dois tipos de levedura hidrolisada de cana-de-açúcar apresentam mesma digestibilidade que dietas contendo ingredientes convencionalmente utilizados em rações para gatos (Farinha de vísceras de frango e glúten de milho 60%). A levedura mostrou ser um ingrediente adequado quanto ao aproveitamento proteico e balanço de nitrogênio. Além disso, reduziu a concentração de ácido úrico na urina dos gatos e manteve próxima a concentração de uréia. A palatabilidade das dietas com leveduras foram superiores aos outros tratamentos. Sendo assim, conclui-se que leveduras de cana-de-açúcar podem ser usadas em até 5% de inclusão como ingrediente proteico na

formulação de dietas para gatos sem afetar a digestibilidade dos nutrientes e ainda agregaram palatabilidade às dietas, com possível vantagem quanto ao comportamento alimentar.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAFCO. 2013. **Official Publication. Association of American Feed Control Officials Inc.**, West Lafayette, IN.

Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1995.

CARCIOFI, A.C. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Rev. Bras. Zootecn.**, suplemento especial, v. 37, 28-41, 2008.

CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina:** manual para profissionais. Madrid: Harcourt Brace, p.424,1998.

CASTILHO, W. et al. Efeito da substituição do farelo de soja pela levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) desidratada como fonte de proteína em dietas para leitões desmamados sobre peso de órgão digestivos e atividade das enzimas pancreáticas. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v. 12, n. 1, p. 12-20, 2004.

FEDIAF, **Federation Europeene de L'industrie des Aliments pour Animaux Familiars; European Federation of Pet Food Manufacturers**, FEDIAF, 2014.

GRIFFIN, R. Palatability testing methods: Parameters and analyses that influence test conditions. **Petfood Technology**. 1ª ed. J.L>Kvamme and T.D. Phillips, Ed Watt Publishing Co, Mt. Morris, IL, p.187-193, 2003.

LIMA, L.M.S. **Extrato de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para gatos adultos.** Dissertação de mestrado Lavras: UFLA, p. 87, 2008.

MARTINS, M. S.; SAKOMURA, N. K.; D. F. SOUZA, D. F.; FILHO, F. O. R.; GOMES, M. O. S.; VASCONCELLOS, R. S.; A. C. CARCIOFI, A. C. Brewer's yeast and sugarcane yeast as protein sources for dogs. **Journal of Animal Physiology Animal Nutrition**, v.98, p.948-957, 2014.

National Research Council. Nutrient Requirements of Dogs and Cats. Natl. Academy Press, Washington, DC, USA, 2006.

POND, W.G.; CHURCH, D.C.; POND, K.R. **Basic Animal Nutrition and Feeding.** 4a ed. New York, John Wiley, 615p, 1995.

PRYCE, J.D. **A modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid.** *Analyst*.94, 1151-1152, 1969.

SAAD, F.M.O.B; SAAD, C.E.P. **História evolutiva na alimentação de cães e gatos.** Lavras: UFLA/FAEPE, p. 44, 2004.

SAS .Statistical Analysis Systems. In: SAS/STAT User's Guide, Version 9. Cary, NC: Statistical Analysis Systems Institute Inc, 801-858, 2007.

SILVA, W.V. Avaliação de digestibilidade e valores energéticos de alguns ingredientes para rações de cães (*Canis familiaris*). 2003. 40f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

SCHULZ, E.; OSLAGE, H.J. Composition and nutritive value of single-cell protein (SCP). **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v.1, n.1, p.9-24, 1976.

TESHIMA, E.; RIVERA, N.L.M.; KAWAUCHI, I.M. et al. Extrato e levedura na alimentação de cães: digestibilidade e palatabilidade. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 44., 2007, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal, 2007.

VIEIRA, P. F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes.** Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 98p, 1980.

Tabela 1. Composição química analisada das fontes proteicas empregadas no experimento. Valores sobre a matéria original

Item	Dietas ¹			
	FVF	GM	LEV1	LEV2
Matéria Seca (%)	91,38	89,18	91,38	91,21
Matéria Mineral (%)	13,07	0,31	5,58	3,99
Matéria Orgânica (%)	78,31	88,87	85,8	87,22
Extrato Etéreo em Hidrólise Ácida (%)	13,66	1,47	4,13	7,88
Proteína Bruta (%)	63,86	59,83	47,20	57,75
Energia Bruta (Kcal/kg)	5,02	5,01	4,457	5,066

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2.

Tabela 2. Composição em ingredientes das dietas experimentais de gatos

INGREDIENTE (%)	Dietas ¹ (%)			
	FVF	GM	LEV1	LEV2
Milho Grão	55,96	55,23	53,74	54,62
Farinha de vísceras de aves	31,31	26,59	27,96	27,01
Farelo de glúten 60%	0,00	5,00	0,00	0,00
Levedura hidrolisada 1 ² (46,3 % PB)	0,00	0,00	5,00	0,00
Levedura hidrolisada 2 ³ (56,8 % PB)	0,00	0,00	0,00	5,00
Gordura de Aves	6,15	6,58	6,68	6,75
Fibra de Cana	3,00	3,00	3,00	3,00
Palatabilizante líquido ⁴	2,00	2,00	2,00	2,00
Suplemento mineral-vitamínico ⁵	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal Comum	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Potássio	0,29	0,30	0,33	0,34
Cloreto de Colina	0,15	0,15	0,15	0,15
Antifúngico ⁶	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante ⁷	0,04	0,04	0,04	0,04
Composição química analisada				
Matéria seca (%)	95,52	94,97	94,99	95,32
Matéria mineral (%)	7,56	7,39	7,36	7,49
Matéria orgânica(%)	87,96	87,58	87,63	87,83
Extrato etéreo em hidrólise ácida (%)	13,59	13,68	13,72	13,93
Proteína bruta (%)	35,61	36,34	36,14	35,66
Amido (%)	36,72	37,05	36,95	36,02
Índice de gelatinização do amido (%)	87,45	88,56	79,99	90,47
Energia bruta (Kcal/Kg)	4,93	4,91	4,85	4,89

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2;

²46,3% de PB;

³56,8% de PB;

⁴Palatabilizante líquido; SPF do Brasil, Descalvado, Brasil;

⁵Adição por quilograma de produto: Ferro 100 mg, Cobre 10 mg, Manganês 10 mg, Zinco 150 mg, Iodo 2 mg, Selênio 0,3 mg, Vitamina A 18000 UI, Vit. D 1200 UI, Vit. E 200 UI, Tiamina 6 mg, Riboflavina 10 mg, Ácido pantotênico 40 mg, Niacina 60 mg, Piroxidina 6 mg, Ácido fólico 0,30 mg, Vit. B12 0,1 mg.

⁶MoldZapAquativa, Alltech Brasil Agroindustrial Ltda: propionato de amônio, propanodiol, ácido propiônico, ácido acético, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido fórmico, sorbato de potássio, veículo q.s.p.

⁷Banox, Alltech Brasil Agroindustrial Ltda: galato de propila e carbonato de cálcio BHA, BHT.

Tabela 3. Ingestão de nutrientes e coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas experimentais para gatos com inclusão de dois diferentes tipos levedurashidrolisada de cana-de-açúcar

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	LEV1	LEV2		
Ingestão (g/gato/dia)						
Matéria seca	58,68	50,75	56,57	47,18	2,48	0,2529
Matéria orgânica	54,04	46,80	52,18	43,48	2,28	0,2542
Proteína bruta	21,91	19,31	21,21	17,99	0,91	0,3348
Extrato etéreo em hidrólise ácida	7,93	6,90	7,77	6,60	0,32	0,3326
Amido	14,95	12,46	13,77	11,68	0,72	0,2648
Energia bruta	303,36	262,39	289,16	242,43	12,76	0,2504
Coeficiente de digestibilidade aparente (%)						
Matéria seca	78,07	78,99	76,52	77,07	0,42	0,5718
Matéria orgânica	81,76	81,95	80,31	80,72	0,43	0,5168
Proteína bruta	82,26	82,85	80,27	80,72	0,59	0,4367
Extrato etéreo em hidrólise ácida	89,05	89,97	87,95	87,45	0,56	0,6351
Amido	99,84	99,83	99,90	99,86	0,02	0,9042
Energia bruta	82,49	82,61	80,54	81,33	0,46	0,3552

1 FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2. 2 EPM – erro padrão da média.

Tabela 4. Produção, qualidade, ácido láctico e amônia das fezes de gatos mediante consumo das dietas experimentais com inclusão de diferentes leveduras

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	LEV1	LEV2		
MS fezes (%)	38,77	38,78	33,51	35,15	1,33	0,3052
Escore fecal	3,03	3,06	3,26	3,40	0,09	0,8327
pH Fecal	5,85	5,92	5,83	5,87	0,02	0,8809
g fezes MS/gato/dia	12,67	10,95	13,35	10,92	0,61	0,2295
g fezes MN/gato/dia	34,64	28,57	32,59	25,45	2,05	0,3291
mMol/kg de MS						
Ácido láctico	3,69	4,59	5,04	5,00	0,27	0,2763
mMol de NH3/g de MS fecal						
Amônia fecal	144,67	146,72	163,63	137,49	7,43	0,5021

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2. ² EPM – erro padrão da média^{a, b} – médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

Tabela 5. Volume, densidade, pH urinário e balanço de nitrogênio de gatos mediante consumo das dietas experimentais com inclusão de diferentes leveduras

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	LEV1	LEV2		
Volume urinário (mL/gato/dia)	123,33	102,05	137,84	102,57	8,68	0,2245
Densidade (g/dL)	1,048	1,052	1,052	1,063	0,003	0,8612
pH urinário	6,330	6,380	6,340	6,380	0,013	0,9517
Balanço de nitrogênio (mg/Kg PC ^{0,67} /dia)	195,22	224,81	171,39	118,96	22,39	0,3436
N ingerido (mg/Kg PC ^{0,67} /dia)	1199,34	1167,59	1095,12	1075,81	29,28	0,6695
<i>N excretado</i>						
N urinário (mg/Kg PC ^{0,67} /dia)	784,20	740,47	710,69	753,51	15,23	0,8939
N fecal (mg/Kg PC ^{0,67} /dia)	218,15	202,31	213,25	203,34	3,85	0,9414

1 FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2. ² EPM – erro padrão da média

Tabela 6. Excreção urinária de uréia e ácido úrico e concentração de uréia na urina, ácido úrico na urina e ácido úrico no sangue de gatos mediante consumo das dietas experimentais com inclusão de diferentes leveduras

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	LEV1	LEV2		
Excreção urinária (mg/kg/dia)						
Ácido úrico	1,24 ^a	0,55 ^b	0,66 ^b	0,65 ^b	0,15	0,0036
Uréia	1005,55	922,06	1029,15	926,56	27,30	0,9042
Concentração na urina (mg/dL)						
Ácido úrico	7,86 ^a	3,74 ^b	4,93 ^b	4,58 ^b	0,89	0,0199
Uréia	7292,17	7362,22	7196,37	6990,92	80,67	0,9925
Concentração no soro (mg/dL)						
Ácido úrico	0,28	0,50	0,36	0,32	0,05	0,6511

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2. ² EPM – erro padrão da média. ^{a, b, c} – médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

Figura 1 - Comparações das porcentagens de ingestão das dietas experimentais para gatos com diferentes fontes de proteína. FVF - Farinha de vísceras de frango; LEV1- Levedura 1; LEV2 – Levedura 2; GM – Glúten de Milho 60%. ** diferença entre rações.

CAPÍTULO 4

CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS, MACROESTRUTURA DOS EXTRUSADOS E DIGESTIBILIDADE DE ALIMENTOS PARA CÃES FORMULADOS COM PROTEÍNA CONCENTRADA DE SOJA¹

¹ Escrito de acordo com as normas da revista *Animal Feed Science and Technology*

Running head: soy protein concentrate and extrusion of dog foods.

**CHARACTERISTICS RHEOLOGICAL, MACROSTRUCTURE OF THE EXTRUDED
AND DIGESTIBILITY FOOD FOR DOGS FORMULATED WITH SOY PROTEIN
CONCENTRATE**

K. S. Venturini^a, M. F. Sarcinelli^a, M. A. Baller^b, E. B. Malheiros^c, A. C. Carciofi^b

^a Departamento de Zootecnia, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

^b Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

^c Departamento de Ciências Exatas, Campus de Jaboticabal, UNESP - Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

E-mail address: aulus.carciofi@gmail.com (A.C. Carciofi).

CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS, MACROESTRUTURA DOS EXTRUSADOS E DIGESTIBILIDADE DE ALIMENTOS PARA CÃES FORMULADOS COM PROTEÍNA CONCENTRADA DE SOJA

RESUMO

O concentrado proteico de soja (CPS) tem se destacado, em função do alto teor de proteína (36 a 90%) e boa digestibilidade. Além disso, o CPS pode apresentar bom índice de dispersibilidade da proteína (PDI), o qual favorece o processo de extrusão. Diante disso, em um primeiro experimento, foram estudados dois concentrados proteicos de soja, um com granulometria reduzida (CPSgr) e outro com granulometria elevada (CPSge) sobre as características de extrusão e macroestrutura dos extrusados. Foram formuladas 8 dietas experimentais: controle, à base de farinha de vísceras de frango (FVF), dieta com inclusão de 45% de glúten de milho 60% (GM), dietas com CPSgr (CPSgr15, CPSgr30, CPSgr45), com níveis de inclusão de 15, 30 e 45% e dietas com CPSge (CPSge15, CPSge30, CPSge45) com níveis de inclusão de 15, 30 e 45%. Foi utilizado o programa SAS para análise estatística e as médias foram comparadas por contrastes polinomiais e ortogonais ($P < 0.05$) ou pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). No segundo experimento, foram selecionadas quatro dietas: FVF, GM, CPSge 45% e CPSgr 45% e assim, avaliar a digestibilidade, produção e qualidade das fezes e palatabilidade das mesmas. Dessa forma, foram utilizados 24 cães distribuídos em blocos casualizados com quatro tratamentos (dietas experimentais) e seis repetições. Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (CDA), produtos de fermentação e qualidade das fezes foram determinados por coleta total de fezes e urina. A palatabilidade das rações foi avaliada pelo método de duas vasilhas. Os dados de palatabilidade, foi avaliado pelo teste T-Student utilizando o programa estatístico R e os demais dados obtidos foram submetidos a análise de variância e comparados pelo teste de Tukey ($P < 0.05$) utilizando o programa estatístico SAS. A adição de CPSge resultou em aumento linear para todos os parâmetros de extrusão estudados ($P < 0.05$). Já a adição do CPSgr ocasionou aumento linear para temperatura (125.3 a 135.3 °C; $P < 0.01$) e redução linear da pressão da extrusão (38.5 a 32.3 Bars; $P < 0.01$). Para macroestrutura dos extrusados, foi observado redução na densidade aparente ($P < 0.01$) e específica ($P < 0.01$) para adição tanto do CPSge (399.0 a 335.5 g/L³) quanto para a adição de CPSgr (384.5 a 359.3 g/L³). A expansão radial, aumentou com a inclusão tanto de CPSge (1.52 a 1.60 mg/g) como CPSgr (1.47 a 1.62 mg/g; $P < 0.01$) quando comparada a dieta FVF. A inclusão de CPSge proporcionou aumento no comprimento específico dos kibbles (1.13 a 1.26 cm/g; $P < 0.05$) porém diminuiu com a inclusão do CPSgr (1.27 a 1.20 cm/g; $P < 0.01$). Quanto à força de ruptura, tanto a inclusão do CPSge, quanto o CPSgr proporcionou aumento na força de ruptura (4.42 a 5.05 e 4.78 a 5.83 respectivamente; $P < 0.01$). Cães que consumiram as dietas GM e CPSge apresentaram menor ingestão de matéria seca e proteína ($P < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os CDA da matéria seca, gordura e energia ($P > 0,05$). Foi observado menor CDA de proteína para as dietas

FVF e CPSge e maior para GM ($P < 0,05$), com valor intermediário para CPSgr. O CDA da matéria orgânica também foi menor para CPSge em comparação com GM ($P < 0,05$). A ingestão da dieta CPSge proporcionou aos cães produzirem fezes com menor matéria seca ($P < 0,05$) enquanto a dieta GM proporcionou fezes com menor escore ($P < 0,05$). Os cães apresentaram preferência alimentar pela dieta FVF em relação ao GM ($P < 0,05$), não apresentando preferência entre FVF versus CPSge e GM versus CPSge. Pode-se concluir que a inclusão de CPS proporcionou melhores extrusados. Além disso o tamanho de partículas mostrou-se um fator importante para a digestibilidade do CPS onde dietas com CPSgr apresentaram elevada digestibilidade, comparável às com GM.

Palavra-chave: derivado de soja, digestibilidade, palatabilidade

CHARACTERISTICS RHEOLOGICAL, MACROSTRUCTURE OF THE EXTRUDED AND DIGESTIBILITY FOOD FOR DOGS FORMULATED WITH CONCENTRATED SOY PROTEIN

SUMMARY

Among the protein ingredients potential, the soy protein concentrate (SPC) has stood out due to the high protein content (36-90%) and good digestibility. In addition, the PSC can provide good protein dispersibility index (PDI), which favors the extrusion process. Thus, in a first experiment, we studied two concentrated soy protein, with reduced particle size (CPSgr) and the other with high grain size (CPSge) on the extrusion characteristics and macro-structure of the extrudates. Eight experimental diets were formulated: control, flour-based chicken viscera (FVF), dietary inclusion of 45% to 60% corn gluten (GM), diets CPSgr (CPSgr15, CPSgr30, CPSgr45), with levels of inclusion of 15, 30 and 45% and diets CPSge (CPSge15, CPSge30, CPSge45) with inclusion levels of 15, 30 and 45%. We used the SAS software for statistical analysis and the means were compared by polynomials and orthogonal contrasts ($P < 0.05$) or by Tukey test ($P < 0.05$). In the second experiment, four diets were selected: FVF, GM, CPSge 45% and 45% CPSgr and thus the digestibility, production and stool quality and palatability of them. Thus, we used 24 dogs distributed in randomized blocks with four treatments (diets) and six repetitions. The apparent digestibility of nutrients (CDA), fermentation products and quality of feces were determined by total collection of feces and urine. The palatability of the feed was evaluated by two canisters method. The palatability data was evaluated by T-test using the statistical program R and other data were submitted to ANOVA and Tukey test ($P < 0.05$) using the SAS statistical software. The addition of CPSge resulted in a linear increase in all extrusion parameters studied ($P < 0.05$). Since the addition of CPSgr caused a linear increase in temperature (125.3 to 135.3 °C; $P < 0.01$) and linear reduction of the extrusion pressure (38.5 Bars to 32.3; $P < 0.01$). For macrostructure of the extrudates was observed decrease in apparent density ($P < 0.01$) and specific ($P < 0.01$) for adding both CPSge (399.0 to 335.5 g / L³) and for adding CPSgr (384.5 to 359.3 g/L³). Radial expansion increased with the inclusion of both CPSge (1:52 to 1.60 mg / g) as CPSgr (1:47 to 1.62 mg/g, $P < 0.01$) when compared to FVF diet. The inclusion of CPSge provided an increase in the specific length of kibbles (1:13 to 1:26 cm/g; $P < 0.05$), but decreased with the addition of CPSgr (1:27 to 1:20 cm/g; $P < 0.01$). As regards tensile strength, the inclusion of both CPSge, as CPSgr provided an increase in tensile strength (4.42 to 5.05 and 4.78 to 5.83 respectively; $P < 0.01$). Dogs who consumed the GM and CPSge diets had lower dry matter intake and protein ($P < 0.05$). There was no significant difference between the ADC of dry matter, fat and energy ($P > 0.05$). less was observed protein CDA for FVF and CPSge diets and higher for GM ($P < 0.05$), with intermediate value for CPSgr. The ADC of organic matter was lower compared to CPSge GM ($P < 0.05$). The intake of dietary CPSge provided to produce dogs with lower dry matter feces ($P < 0.05$) while GM diet provided stools with scores ($P < 0.05$). Dogs showed preference

for food FVF diet relative to the GM ($P < 0.05$), showing no versus preferably FVF CPSge and GM versus CPSge. These results indicate that the inclusion of CPS provided better extrudates. In addition the particle size was found to be an important factor for the CPS digestibility where diets CPSgr showed high digestibility, comparable to GM.

Keywords: soy derivative, digestibility, palatability

1. INTRODUÇÃO

O expressivo crescimento da indústria *petfood* tem tornado necessárias pesquisas para melhor caracterizar os ingredientes empregados, bem como de fontes não tradicionais de matérias primas. Estes ingredientes devem apresentar um adequado perfil nutricional, ser palatáveis e ter boas características de processamento por extrusão (Dust et al. 2005). De acordo com Carciofi (2002), os ingredientes proteicos encarecem as formulações das rações, especialmente quando selecionados com base em elevada digestibilidade, bom equilíbrio de aminoácidos, adequada palatabilidade e características reológicas desejáveis.

Proteínas de origem vegetal têm sido empregadas na indústria *pet food* na tentativa de se encontrar alternativas viáveis e competitivas para cães e gatos. Dentre os ingredientes proteicos em potencial, os derivados de soja tem se destacado, em função do alto teor de proteína (36,0% a 90,0%) e boa digestibilidade (Tortola et al., 2013). Dentre as vantagens da inclusão da soja e seus coprodutos em alimentos para cães pode-se citar sua disponibilidade comercial, qualidade consistente, adequada palatabilidade, perfil de aminoácidos adequado, boa utilização como fonte proteica principal, boa fonte de fibra, melhora da textura da dieta e viabilidade de custo (Fahey Jr, 2004). A proteína da soja apresenta boa digestibilidade podendo, neste quesito, se igualar as proteínas de origem animal (Fortes, 2005; Carciofi, 2006; Oliveira, 2009; Tortola et al., 2013; Souza, 2013).

O concentrado proteico de soja (CPS) é ingrediente ainda pouco explorado cientificamente em produtos extrusados para cães. Obtido a partir do farelo desengordurado de soja, com remoção da casca, óleo e oligossacarídeos do grão, é fonte concentrada de aminoácidos quando comparado a outras fontes proteicas. Devido à sua purificação, apresenta expressiva redução de alguns dos fatores antinutricionais do grão, com remoção de oligossacarídeos (rafinose e estaquiose) e alérgenos (glicinina, β -conglucina). O CPS pode apresentar bom índice de dispersibilidade da proteína (PDI), que poderá favorecer o processo de extrusão com adequada transferência de energia mecânica, aumento da expansão e diminuição da densidade dos kibbles, com formação de ração com melhor textura e aparência.

Com base no exposto, o objetivo do estudo foi avaliar a utilização do CPS moído em duas granulometrias, como substitutos das fontes proteicas convencionais

para cães sobre as características de extrusão, macroestrutura dos extrusados, palatabilidade e digestibilidade de alimentos para cães.

2. MATERIAL E METODOS

Foram conduzidos dois experimentos, no primeiro experimento foi avaliada a inclusão do CPS com duas granulometrias sobre as características de extrusão e macroestrutura dos extrusados e no segundo foi avaliada a influência deste ingrediente sobre a digestibilidade e palatabilidade de dietas para cães.

2.1 Experimento 1

2.1.1 Formulação e produção das dietas experimentais

As dietas foram formuladas com base na composição química analisada dos seguintes ingredientes: farinha de vísceras de frango, glúten de milho 60%, concentrado proteico de soja com granulometria reduzida – aproximadamente 95% das partículas estão abaixo de 180 microns – (CPSgr, Sementes Selecta S.A., Goiânia, Brasil) e concentrado proteico de soja com granulometria elevada – aproximadamente 97% das partículas estão abaixo de 2 microns - (CPSge, Sementes Selecta S.A., Goiânia, Brasil). A composição química analisada dos ingredientes está apresentada na Tabela 1.

[Inserir Tabela1]

Foi formulada uma dieta controle, à base de farinha de vísceras de frango (FVF) para cães adultos em manutenção conforme recomendações nutricionais da European Pet Food Industry Federation (FEDIAF, 2014). O segundo tratamento foi feito com a formulação de uma dieta substituição de 45% da farinha de vísceras de frango da ração controle por glúten de milho 60% (GM). Para as demais dietas, os CPS foram adicionados à dieta controle em substituição à farinha de vísceras de

frango gerando seis formulações, três utilizando o CPSgr (CPSgr 15%, CPSgr 30% e CPSgr 45%) e três utilizando o CPSge (CPSge 15%, CPSge 30% e CPSge 45%, Tabela 2).

As dietas foram previamente misturadas e moídas em moinho de martelos (Tigre, Moinhos Tigre, São Paulo, SP), utilizando-se peneira com furos de 0,8 mm de diâmetro e processadas em extrusora de rosca simples (Modelo Mex-250, Manzoni Industria Ltda, Campinas, SP) com capacidade para produção de 250 quilogramas de ração por hora, na Fábrica de Rações Experimentais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal.

[Inserir Tabela 2]

A extrusão foi iniciada pela produção da ração FVF. A temperatura do pré-condicionador da extrusora foi mantida acima de 80°C por meio da injeção de vapor direto. Após estabilização do sistema, os parâmetros variáveis de processo como adição de água e vapor, entrada de ração, velocidade da rosca extrusora e da faca de corte não foram mais modificados, de modo a se verificar alterações decorrentes da adição das diferentes fontes proteicas. Após 45 minutos de produção estável, a cada 10 minutos foi registrada a entrada de matéria-prima e água, temperatura de condicionamento, temperatura e pressão na extrusora, amperagem do motor da extrusora, produção horária e densidade aparente dos extrusados (g/L). Nestes mesmos momentos, amostras de ração à saída do condicionador, extrusora e secador foram coletadas e armazenadas para análises posteriores. Para cada ração, no mínimo 4 registros dos parâmetros de produção foram obtidos. Após a extrusão, os kibbles foram secos em secador contínuo de ar forçado, aquecido a 105°C e armazenados para posterior recobrimento com gordura e palatilizantes.

Durante a extrusão, a implementação de Energia Mecânica Específica (EME) foi avaliada de acordo com Riaz (2003), empregando-se a seguinte equação:

$$EME = (\sqrt{3} \times \text{voltagem} \times (A_t - A_v) \times \cos\phi) / 1000 \times 1000 / \text{Produção horária}$$

Onde:

Voltagem = Voltagem do motor 220V;

A_t = Amperagem de trabalho do motor;

A_v = Amperagem do motor ligado vazio;

$\cos\phi$ = cosseno de ϕ .

A composição química das rações sem o recobrimento com óleo e palatabilizantes, da forma como foram extrusadas, encontra-se na Tabela 3.

[Inserir Tabela 3]

2.1.2 Macroestrutura e força de ruptura dos extrusados, gelatinização do amido e digestibilidade *in vitro*

Para cada tratamento, o comprimento, diâmetro e massa de 20 extrusados foram medidos e utilizados para se obter a taxa de expansão radial (ER), comprimento específico (Cesp) e a densidade específica dos extrusados (Dk), como descrito abaixo:

$$ER = \frac{d^2}{d_m^2} \qquad C_{esp} (mm/g) = \frac{c}{m} \qquad Dk (g/cm^3) = \frac{4m}{\pi \cdot \frac{d^2}{2} \cdot c}$$

Onde: d- diâmetro dos extrusados, em mm; d_m - diâmetro da abertura da matriz da extrusora, em mm; c- comprimento dos extrusados, em mm; m- massa dos extrusados, em gramas; Dk- densidade específica dos extrusados.

Os extrusados foram submetidos ao teste de ruptura para avaliação da crocância, realizado com texturômetro (TA-XT2 SMS, Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido) definido para a operação no modo de força/compressão, retorno para começar a opção ativada, na velocidade pré-teste de 2 mm/s, velocidade durante o ensaio de 0,5 mm/s e a velocidade antes do teste de 10 mm/s. O teste foi realizado em 20 unidades para cada dieta, utilizando sonda com conjunto de lâminas com faca Warner Bratzler (pesados plataforma/set lâmina), com distância de corte de 10 mm. Os dados foram analisados com o software Texture Expert (Stable Micro Systems, Godalming, UK).

O índice de gelatinização do amido foi empregado para verificar o cozimento das rações. Este foi determinado pelo método da amiloglicosidade, de acordo com Sá et al. (2013). Os coeficientes de digestibilidade *in vitro* das rações foram determinados segundo o método descrito por Hervera et al. (2007). Foi empregado sistema enzimático contendo as enzimas pepsina, em etapa de incubação em meio ácido, seguido de etapa com tratamento com pancreatina, com incubação em meio próximo ao neutro.

2.2 Experimento 2

2.2.1 Local, animais e digestibilidade in vivo

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos — “Prof. Dr. Flávio Prada” do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal.

Foram empregados cães beagle machos ou fêmeas, com peso corporal de $12,04 \pm 1,75$ kg, idade de $3,34 \pm 2,18$ anos, em boas condições corporais e clinicamente sadios, provenientes do canil do laboratório citado acima. Cada bloco teve duração de 19 dias, sendo os 10 primeiros destinados a adaptação dos cães ao alimento e os outros 9 dias para coleta de dados. Durante o período de adaptação os cães foram alojados em canis de 1,50m x 4,50m com solário. Estes foram soltos diariamente em uma área de recreação para prática de exercício e socialização. Durante o período de coleta permaneceram em gaiolas metabólicas individuais em inox, com dimensões de 90 x 80 x 90 cm, com aparato para coleta separada de fezes e urina. Do dia 11 até 16 de cada bloco foi realizada coleta total de fezes e urina para o ensaio de digestibilidade e balanço de nitrogênio; do dia 17 ao 19 foi realizada coleta de fezes frescas (máximo 15 min após a defecação) para análise de produtos da fermentação, pH e amônia.

A digestibilidade *in vivo* foi avaliada com 6 cães por ração. Para esta análise foram utilizadas 4 rações: controle (FVF), GM, CPSge45% e

CPSgr45% Tais dietas foram escolhidas por apresentarem maior inclusão do ingrediente teste.

Antes do fornecimento aos cães, as rações foram recobertas com óleo de frango e palatabilizantes (Tabela 4). Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foram determinados pelo método de coleta total de fezes e urina, segundo recomendações da Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2013). A quantidade de ração fornecida foi calculada de acordo com o valor energético da ração, estimado com base em sua composição química e a necessidade energética individual de cada animal, de acordo com o preconizado pelo Nutritional Requirements of Dogs and Cats (NRC, 2006). A quantidade diária foi dividida em duas refeições, fornecida às 9h e às 16h. Água foi oferecida à vontade.

[Inserir Tabela 4]

O consumo alimentar foi registrado diariamente, pesando-se as quantidades oferecidas e recusadas de alimento a cada refeição. Fezes e urina foram coletadas integralmente, duas vezes ao dia (08 e 16h).

A urina foi coletada em recipientes plásticos colocados sob o funil coletor da gaiola, contendo 1mL de ácido sulfúrico 1N, para evitar perdas de nitrogênio por volatilização e proliferação de bactérias. Após a mensuração do volume, as urinas foram armazenadas em garrafas plásticas identificadas e mantidas em freezer (-15°C) até realização das análises laboratoriais.

Ao final do período de coleta, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra por animal. Estas foram pesadas e secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72h (320-SE, FANEM, São Paulo, Brasil). Fezes pré-secas e as rações foram moídas em moinho tipo faca (MOD 340, ART LAB, São Paulo) com peneira contendo furos de 1,0 mm. Amostras de rações e fezes foram analisadas quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo hidrólise ácida (EEHA) e matéria orgânica (MO), de acordo com a AOAC (1995). O teor de amido foi determinado de acordo com Miller (1959) e Hendrix (1993). Energia bruta foi determinada nas amostras de ração, fezes e urina em bomba calorimétrica (1281, PARR

Instruments, EUA). Para sua realização, amostras de rações e fezes foram peletizadas e pesadas, e a urina seca em cadinho, para posterior combustão.

2.2.2 produção, qualidade e produtos de fermentação das fezes

As fezes foram avaliadas quanto ao escore, conforme Carciofi (2008): 0 = fezes líquidas; 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes, que não marcam o piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas. Considera-se normal valores entre 3 e 4. Assim que recolhidas fezes foram pesadas e acondicionadas em sacos plásticos individuais, previamente identificados, fechados e armazenados em freezer (-15°C) para posteriores análises.

Para a aferição do pH, 2 g de fezes frescas foi diluída (1:3 w/w) em 6 mL de água ultrapura e o pH avaliado em peagômetro de precisão 0,01 pH (Digicrom Analítica Ltda, modelo DM20). O procedimento foi repetido por três dias seguidos, tomando-se a média de cada cão. Para a análise de amônia, cerca de 10 gramas de fezes frescas foram homogeneizadas e misturadas com 30 mL de ácido fórmico a 16% (proporção volumétrica de 1:3). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (5804R; Eppendorf, Hamburgo, Brasil) quatro vezes à 5.000g e 15°C, durante 15min, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o precipitado. O sobrenadante foi então centrifugado a 20.000 g, durante 1 hora, à 5°C e mais uma vez foi extraído o sobrenadante e este armazenado em freezer a -20 °C. O procedimento foi repetido por três dias consecutivos, e os extratos compostos, obtendo-se um extrato para cada cão. A concentração de NH₃ foi mensurada conforme metodologia proposta por Vieira (1980). Os extratos foram descongelados à temperatura ambiente e alíquotas de 2mL diluídas em 13 mL de água destilada (2:13 v/v) e submetidas à destilação em um destilador de nitrogênio (Tecnal TE - 036/1, Piracicaba, Brasil). A destilação foi realizada com 5mL de solução 0.2N de hidróxido de potássio e o nitrogênio recebido em erlenmeyer com 10 mL de solução receptora (ácido bórico a 0,97 N). Ao atingir-se 50 mL de solução receptora

mais material destilado foi interrompida a destilação. Em seguida, realizou-se a titulação com ácido clorídrico 0,005N.

Para determinação de ácido láctico, aproximadamente 3 gramas de fezes frescas foram homogeneizadas e misturadas com 9 mL de água destilada (1:3 v/v). Posteriormente, as misturas foram centrifugadas durante 15 minutos a 5°C, por quatro vezes, a 5.000 rpm, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. Após a extração, as amostras foram identificadas e armazenadas em freezer (-20°C). O procedimento foi repetido por três dias consecutivos, compondo-se ao final um extrato único por animal. Os teores de ácido láctico foram determinados de acordo com Pryce(1969), pelo método espectrofotométrico (espectrofotômetro rápido - Lab, Drake, São José do Rio Preto, Brasil) a 565 nm (500 a 570nm), utilizando branco reagente a fim de calibrar o espectrofotômetro. As amostras foram quantificadas comparando-as com padrão de ácido láctico a 0,08%.

2.2.3 Teste de preferência do alimento

O teste de preferência do alimento foi realizado na Panelis, Descalvado SP, com um painel qualificado de 37 cães adultos de diferentes raças. A palatabilidade foi determinada pelo método de duas vasilhas (Griffin, 2003). Os cães foram alojados em baias individuais e os alimentos A e B fornecidos simultaneamente em comedouros idênticos identificados. Foi anotado qual alimento foi consumido primeiro pelo cão. As dietas permaneceram disponíveis durante 30 minutos, após isso a sobras foram quantificadas para registro do consumo. Os alimentos foram oferecidos em quantidade que excedia a capacidade de ingestão, permitindo o consumo de apenas um dos alimentos, ou parte da quantidade de cada um. As comparações realizadas foram:

Teste 1: Dieta FVF versus dieta GM.

Teste 2: Dieta FVF versus CPS600;

Teste 3: Dieta GM versus CPS600.

2.3 Delineamento experimental e análises estatísticas

O estudo da influência da fonte proteica na extrusão das rações foi analisado seguindo-se delineamento inteiramente casualizado. A unidade experimental foi considerada a amostragem, tomada a cada 10 minutos com no mínimo quatro repetições por ração. Para a análise das características macroscópicas dos extrusados a unidade experimental foi considerada o kibble, com 20 repetições por ração. O estudo de digestibilidade *in vivo*, produção e produtos de fermentação das fezes foi analisado seguindo-se delineamento em blocos ao acaso, com dois blocos de 12 animais, quatro rações e seis repetições por ração. Todos os resultados foram previamente avaliados quanto a pressuposições de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento MIXED do SAS Software (versão 9.1, SAS Institute, Cary, NC, 79 EUA). No estudo do processamento por extrusão, quando diferenças foram obtidas no Teste F, os efeitos dos níveis de inclusão do CPS foram avaliados por contrastes polinomiais com quatro níveis de substituição: zero (ração FVF), substituição de 15%, 30% e 45% do ingrediente proteico. Adicionalmente foi realizado um teste de Tukey entre o tratamento controle (FVF) e os tratamentos com maior inclusão dos ingredientes proteicos (GM, CPSge 45% e CPSgr 45%). No estudo de digestibilidade com cães, quando diferenças foram obtidas no Teste F as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Os resultados de palatabilidade foram avaliados pelo teste T pareado, considerando-se 37 repetições (cães). Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

3. RESULTADOS

Experimento 1

As dietas foram processadas de acordo com o planejado. Os dados de macroestrutura dos extrusados referente às dietas contendo CPSge estão apresentados na Tabela 5. A produtividade da extrusora apresentou efeito

linear, onde os valores variaram de 267 a 281 kg ($P < 0,05$). Foi verificado aumento linear da amperagem da extrusora, pressão da massa da extrusora, temperatura de extrusão e da aplicação de EME no produto com adição de CPSge ($P < 0,01$). A maior aplicação de EME e temperatura ocasionou redução linear da densidade aparente do extrusado à saída da extrusora ($P < 0,001$) que diminuiu de 412g/L na ração FVF para 335g/L na ração CPSge 45%. Isto alterou a macroestrutura dos extrusados ocasionando redução da densidade específica, aumento da expansão longitudinal (comprimento específico) ($P < 0,01$) e expansão radial ($P < 0,05$) dos extrusados. O teste de ruptura demonstrou diferenças entre a resistência à quebra dos extrusados, sendo esta maior no tratamento com maior inclusão do CPSge.

À semelhança do verificado para CPSge, a adição do CPSgr (Tabela 6) aumentou de modo linear a amperagem da extrusora, temperatura de extrusão e aplicação de EME no produto ($P < 0,01$) porém ocasionou redução linear da pressão da massa da extrusora ($P < 0,05$). O aumento da aplicação de EME também se refletiu em redução quadrática da densidade aparente do extrusado à saída da extrusora ($P < 0,001$), maior expansão radial ($P < 0,001$) e comprimento específico dos kibbles ($P < 0,001$). O teste de ruptura demonstrou diferenças entre a resistência à quebra dos extrusados, sendo esta maior nos tratamentos com inclusão do CPSgr ($P < 0,05$).

Foi realizado um teste de Tukey para comparar o tratamento controle (FVF) com os tratamentos com maior inclusão dos ingredientes protéicos (GM, CPSge 45% e CPSgr 45%). Os resultados encontram-se na Tabela 7. Foram observadas diferenças significativas para todos os parâmetros de extrusão. A produtividade foi maior para a dieta GM ($P = 0,0002$). Foi observado maior amperagem de extrusão ($P < 0,0001$), pressão da massa da extrusão ($P = 0,0132$), EME ($P < 0,0001$) e temperatura de extrusão ($P = 0,0002$) para o tratamento CPSge 45%. A maior gelatinização do amido foi de 88,8% proveniente do tratamento CPSgr 45% ($P < 0,0001$).

Ao avaliar a macroestrutura dos kibbles foi possível observar que o tratamento CPSge 45 proporcionou menor densidade aparente e específica ($P < 0,0001$). A expansão radial foi maior nos tratamentos com inclusão dos concentrados protéicos ($P < 0,0001$). A inclusão de 45% do CPSge ocasionou a formação de extrusados com maior comprimento específico ($P = 0,0002$). No

teste de ruptura, o tratamento CPSgr conferiu maior resistência à quebra dos extrusados apresentando, desta forma, maior média ($P < 0,0001$). Evidencia-se, assim, que embora em menor magnitude, este derivado da soja também apresentou vantagem em relação ao Glúten de Milho 60 quanto à formação de macroestrutura dos kibbles.

Experimento 2

Em relação à digestibilidade dos nutrientes, os animais consumiram adequadamente as dietas experimentais. Durante os 18 dias de experimento, não houve episódios de rejeição alimentar ou vômitos. Nenhum animal apresentou reação adversa ao consumir as dietas contendo o concentrado proteico de soja.

Na Tabela 8 estão apresentados os resultados da digestibilidade das dietas experimentais dos cães. A ingestão de MO, amido e EB não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos estudados. A ingestão de MS foi influenciada pelos tratamentos ($P = 0,0477$), assim como a ingestão de PB ($P = 0,0182$). Não houve diferença significativa para o CDA de MS, EEHA e EB ($P > 0,05$), já o CDA de amido, MO e PB sofreram influência dos tratamentos. A maior ingestão de proteína no tratamento FVF resultou no pior CDA de PB.

A quantidade de fezes produzidas e o escore sofreram efeito dos tratamentos, conforme observado na Tabela 9. A MS do tratamento CPSGR45%PB foi igual estatisticamente a MS da dieta FVF. Os animais que consumiram as dietas com CPS excretaram quantidade semelhante de fezes na MN do que os cães que ingeriram a dieta FVF. A concentração de ácido láctico e a amônia das fezes dos cães não foram influenciados pelos diferentes tratamentos ($P > 0,05$).

Para o escore fecal, é possível observar que todas as dietas apresentaram escore fecal dentro do ideal (entre 3 e 4) e que as dietas CPSGE45%e CPSGR45%f foram semelhantes ao tratamento FVF.

Em relação a palatabilidade dos ingredientes, no teste de primeira escolha dos cães, não foi observado efeito nos testes 2 e 3 ($P > 0,05$). No teste 1 foi verificada preferência dos cães pela dieta com FVF ($P < 0,05$), conforme

apresentado na figura 1. No teste de taxa de consumo do alimento, não foi observada diferença significativa ($P>0,05$), nos testes 2 e 3. No teste 1, foi encontrada diferença entre os tratamentos ($P=0,0001$), sendo que 70% dos animais consumiram a FVF (Figura 2).

4. DISCUSSÃO

A composição do ingrediente e o tamanho de suas partículas influenciam a viscosidade da massa na extrusora. No processo de extrusão, a viscosidade é uma peça chave que determina as condições de operação da extrusora e, como consequência, a qualidade do produto final (Fellows, 2002).

Comparada com a dieta FVF, a utilização do CPSge proporcionou maior aplicação de energia mecânica, tal fato pode ser explicado pela maior geração de viscosidade no canhão da extrusora, favorecendo a transferência de força de cisalhamento e dissipação de temperatura, com maior expansão, favorecendo a texturização e formatação dos extrusados (All-Rabadi, 2011). Esse resultado mostrou que a proteína de origem animal possui baixa funcionalidade na extrusão reduzindo, dessa forma, a eficiência do processo.

Neste contexto é possível dizer que quanto maior a granulometria do ingrediente menor será o índice de gelatinização e a digestibilidade de alguns nutrientes, sendo que esses fatores também podem ser afetados pelos ingredientes utilizados nas dietas. No estudo feito com cães, Bazolli et al. (2015) avaliou o efeito da moagem de três diferentes ingredientes (arroz, milho e sorgo) e ele afirmou que o aumento da granulometria das dietas de 0,8mm para 3,0mm resultou em diminuição do índice de gelatinização do amido e redução do coeficiente de digestibilidade aparente de alguns nutrientes, sendo notado também um efeito de acordo com o ingrediente testado. Estas evidências indicam que a moagem tem um efeito direto na digestibilidade de alimentos in vivo e que 5possivelmente uma maior quantidade de resíduos de nutrientes pode alcançar o intestino quando uma moagem mais grosseira é utilizada.

Cruz-Suárez et al. (2009) afirmam que o CPS, possuem benefícios sobre o farelo de soja, como por exemplo, boa formatação dos aminoácidos, boa digestibilidade de proteínas e energia, e alta palatabilidade. Clapper et al.

(2001) ao determinarem a digestibilidade de dietas contendo derivados da soja (farelo de soja e CPS) e farinha de vísceras de aves, relataram que os CDA da PB e dos aminoácidos totais foram similares para as dietas contendo os produtos da soja (respectivamente 86,3% e 85,2% em média), sendo esses resultados superiores aos apresentados pela farinha de vísceras de aves (76,9 e 74,2%, respectivamente). Resultados semelhantes foram obtidos por Sá-Fortes (2005) e Carciofi et al. (2006), os quais relataram maior CDA da MS e PB para o farelo de soja, em relação aos ingredientes proteicos de origem animal avaliados em cães.

Formulações comerciais podem ser enriquecidas com ingredientes a base de soja, pois apresentam alta digestibilidade da PB, demonstrando que esse nutriente é bem aproveitado pelos cães. Apesar da alta digestibilidade desses ingredientes, é importante verificar o nível de inclusão mais adequado, de modo a não prejudicar a palatabilidade, qualidade das fezes produzidas e a digestibilidade de outras frações nutricionais da dieta (Félix, 2011).

A aceitação dos cães pela inclusão de CPS na ração pode ser justificado pelo fato que em cães o principal sentido é o olfato, seguido pelo paladar e por último a sensação do alimento na boca (tato). Desse modo, a percepção da palatabilidade do alimento ocorre a partir da interação entre três mecanismos sensoriais: olfato (odor), paladar (sabor) e tato (textura), não havendo estudos comprobatórios sobre efeitos expressivos da visão e audição na escolha dos alimentos por cães (Félix et al., 2010). Com os resultados obtidos neste estudo é possível afirmar que CPS apresenta uma boa aceitabilidade, sem alterar a atratividade dos animais pelo alimento.

Como conclusão, foi possível observar que o concentrado proteico de soja mostrou ter boa funcionalidade durante a extrusão, favorecendo a expansão dos extrusados e cozimento do amido. O tamanho da partícula do ingrediente é importante para a digestibilidade do concentrado proteico de soja, e quando este possui moagem fina, apresenta alta digestibilidade, similar ao glúten de milho e superior a farinha de vísceras de frango. Até o nível de inclusão testado, o concentrado proteico de soja não interfere na palatabilidade dos alimentos ou na formação fecal.

5. REFERÊNCIAS

AAFCO. 2013. Official Publication. **Association of American Feed Control Officials Inc.**, West Lafayette, IN.

AL-RABADI, G. J.; TORLEY, P. J.; WILLIAMS, B. A.; BRYDEN, W. L.; GIDLEY, M. J. Particle size of milled barley and sorghum and physicochemical properties of grain following extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 464-472, 2011.

Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1995.

BAZOLLI, R. S., VASCONCELLOS, R. S., DE-OLIVEIRA, L., PEREIRA, G. T., CARCIOFI, A. C. Effect of the particle size of maize, rice, and sorghum in extruded diets for dogs on starch gelatinization, digestibility, and the fecal concentration of fermentation products. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 2956-2966, 2015.

CARCIOFI, A. C. Proteína na alimentação de cães e gatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 2; 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p.31-44.

CARCIOFI, A. C. Ingredientes energéticos e proteicos para cães e gatos. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2, 2006, São Paulo, **Anais...** São Paulo: CBNA-AMENA. 1CD-ROM.

CARCIOFI, A.C., PONTIERI, R., FERREIRA, C.F. et al. Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 754-760, 2006.

CARCIOFI, A.C. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, suplemento especial p.28-41, 2008.

CLAPPER, G. M.; GRIESHOP, C. M.; MERCHEN, N. R. et al. Ileal and total tract nutrient digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. **Journal of Animal Science**, v.79,p. 1523-1532, 2001.

CRUZ-SUAREZ, L.E., TAPIA-SALAZAR, M., VILLAREAL-CAVAZOS, D., BELTRAN-ROCHA, J., NIETO-LOPEZ, M.G., LEMME, A., AND RICQUE-MARIE, D. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. **Aquaculture** 292: 87-94, 2009.

DUST, J.M., GRIESHOP, C.M., PARSONS, C.M., KARR-LILIENTHAL, L.K., SCHASTEEN, C.S., QUIGLEY, J.D., MERCHEN, N.R., FAHEY, G.C. Chemical composition, protein quality, palatability, and digestibility of alternative protein sources for dogs. **Journal of Animal Science** v.83, p.2414-2422, 2005.

FAHEY Jr., G. C. **Soybean use – companion animals**. Soybean Meal Information Center Fact Sheet, United Soybean Board. 4 p. 2004

FEDIAF, **Federation Europeene de L'industrie des Aliments pour Animaux Familiars; European Federation of Pet Food Manufacturers**, FEDIAF, 2014.

FÉLIX, A. P.; BRITO, C. B. M.; FERRARINI, H. et al. Características físico-químicas de derivados proteicos de soja em dietas extrusadas para cães. **Ciência Rural**, v.40, n.12, p.2568-2573, 2010.

FÉLIX, A.P. Avaliação proteica de derivados de soja para cães. Universidade Federal do Paraná, 188p. Tese (Doutorado em Ciência Animal), UFPR, 2011.

FELLOWS, P. Extrusion. In: FELLOWS, P. Food processing technology: principles and practice. Cambridge: **Woodhead Publishin**, cap. 14, p. 294-308, 2002.

FORTES, C.M.L. Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 82p. **Tese** (Doutorado em Zootecnia). UNESP, 2005.

GRIFFIN, R. W. Palatability testing: Parameters and analyses that influence test conclusions. In: KVAMME, J.L.; PHILLIPS, T.D. **Petfood technology**. Illinois Mt Morris, 2003, p.187-193.

HENDRIX, D.L. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Sci.** v. 25, p. 1306–1311, 1993.

HERVERA, M.D., BAUCCELLS, F., BLANCH, C., CASTRILHO, M. 2007. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 91, 205-209.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal.Chem.** v.31, p. 426-428, 1959.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**, Washington, The National Academic Press, 2006.

OLIVEIRA, L.D. Avaliação de fontes protéicas e de tratamentos industriais da farinha de carne e ossos para cães e gatos. **Tesedoutorado**Jaboticabal, 2009 p 114.

PRYCE, J.D. **A modification of Barker-Summerson method for the determination of lactic acid.**Analyst.94, 1151-1152, 1969.

RIAZ, M. N. Extrusion basics. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. **Pet food technology**. Illinois Mt Morris, 2003, p.347-360.

SAS .Statistical Analysis Systems. In: SAS/STAT User's Guide, Version 9. Cary, NC: Statistical Analysis Systems Institute Inc, 801-858, 2007.

SÁ-FORTES, C. M. L. **Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. 2005. P. 44-71. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

SÁ, F. C.; VASCONCELLOS, R. S.; BRUNETTO, M. A.; FILHO, F. O. R.; GOMES, M. O. S.; CARCIOFI, A. C. Enzymes use in kibble diets formulated with wheat bran for dogs: effects on processing and digestibility. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, p.51-59, 2013.

SOUZA, D. F. Soja crua em dietas extrusadas para gatos. 2013. 67f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

TORTOLA, L.; SOUZA, N. G.; ZAINÉ, L.; GOMES, M. O. S.; MATHEUS, L. F. O.; VASCONCELLOS, R. S.; PEREIRA, G. T.; CARCIOFI, A. C. Enzyme effects on extruded diets for dogs with soybean meal as a substitute for poultry by-product meal. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, p.39-50, 2013.

Tabela 1. Composição química das fontes proteicas empregadas no experimento. Valores sobre a matéria original.

Item	Dietas ¹			
	FVF	GM	CPSge	CPSgr
Matéria Seca (%)	91,38	89,18	92,70	94,05
Matéria Mineral (%)	13,07	0,31	6,95	7,26
Matéria Orgânica (%)	78,31	88,87	85,75	86,79
Extrato Etéreo em Hidrólise Ácida (%)	13,66	1,47	0,45	0,40
Proteína Bruta (%)	63,86	59,83	62,37	60,52
Energia Bruta (Kcal/kg)	5,02	5,01	4,32	4,30

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; CPSge- concentrado proteico de soja 600 (Sementes Selecta S.A., Goiânia, Brasil); CPSgr – concentrado proteico de soja 200 (Sementes Selecta S.A., Goiânia, Brasil).

Tabela 2. Composição de ingredientes de dietas para cães com fontes alternativas de proteínas

Inclusão do ingrediente (%)	Dietas ¹							
	FVF	GM	CPSge15%	CPSge30%	CPSge45%	CPSgr15%	CPSgr30%	CPSgr45%
Milho	55,45	50,20	54,25	52,38	50,38	54,25	52,38	50,38
Farinha Vísceras de Aves	30,92	14,14	25,17	19,50	13,86	25,17	19,50	13,86
Glúten de milho 60%	0,00	18,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CPS 600 ²	0,00	0,00	6,25	12,50	18,75	0,00	0,00	0,00
CPS 200 ³	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,25	12,50	18,75
Gordura de Aves	7,69	9,56	8,42	9,16	9,90	8,42	9,16	9,90
Fibra de Cana	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato Bicálcico	0,00	1,20	0,00	0,37	0,89	0,00	0,37	0,89
Suplemento vitamínico e mineral ⁴	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal Comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Potássio	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Calcário	0,00	0,28	0,00	0,20	0,35	0,00	0,20	0,35
Cloreto de Colina	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
Antifúngico ⁵	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante ⁶	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
DL-Metionina	0,07	0,00	0,04	0,02	0,00	0,04	0,02	0,00
Palatabilizante líquido ⁷	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –substituição de 45% da proteína por Glúten de milho 60%; CPSge 15% - substituição de 15% da proteína por CPSge; CPSge30% - substituição de 30% da proteína por CPSge; CPSge 45% - substituição de 45% da proteína por CPSge; CPSgr 15% - substituição de 15% da proteína por CPSgr; CPSgr 30% - substituição de 30% da proteína por CPSgr; CPS200 45% - substituição de 45% da proteína por CPSgr.

²CPS ge –Concentrado proteico de soja granulometria maior. Sementes Selecta S.A., Goiânia, Brasil.

³CPSgr- Concentrado proteico de soja granulometria menor. Sementes Selecta S.A., Goiânia, Brasil.

⁴Adição por quilograma de produto: Ferro 100 mg, Cobre 10 mg, Manganês 10 mg, Zinco 150 mg, Iodo 2 mg, Selênio 0,3 mg, Vitamina A 18000 UI, Vit. D 1200 UI, Vit. E 200 UI, Tiamina 6 mg, Riboflavina 10 mg, Ácido pantotênico 40 mg, Niacina 60 mg, Piroxidina 6 mg, Ácido fólico 0,30 mg, Vit. B12 0,1 mg.

⁵MoldZapAquativa, Alltech Brasil Agroindustrial Ltda: propionato de amônio, propanodiol, ácido propiônico, ácido acético, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido fórmico, sorbato de potássio, veículo q.s.p.⁶Banox, Alltech Brasil Agroindustrial Ltda: galato de propila e carbonato de cálcio BHA, BHT.

⁷Palatabilizante líquido; SPF do Brasil, Descalvado, Brasil;

Tabela 3. Composição química de dietas para cães com fontes alternativas de proteínas. Composição dos produtos como extrusados, sem recobrimento por gordura ou palatilizantes.

Item	Dietas ¹							
	FVF	GM	CPSge ² 15%	CPSge 30%	CPSge 45%	CPSgr ² 15%	CPSgr 30%	CPSgr 45%
Composição química (%)								
Matéria seca	89,15	88,79	88,97	88,88	88,79	88,97	88,88	88,79
Matéria mineral	5,26	3,13	4,82	4,38	3,94	4,82	4,38	3,94
Proteína bruta	31,47	29,07	34,31	30,51	29,33	27,66	32,30	29,02
Extrato etéreo em hidrólise ácida	5,52	5,60	7,11	4,82	5,72	5,89	6,45	5,14
Amido	34,64	34,00	33,90	32,73	31,48	33,90	32,73	31,48
Índice de gelatinização do amido	78,92	84,07	76,32	82,46	76,51	81,44	76,82	87,08
Energia bruta (Kcal/g)	4,38	4,36	4,36	4,34	4,28	4,30	4,31	4,25

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM – substituição de 45% da proteína por Glúten de milho 60%; CPSge 15% - substituição de 15% da proteína por CPSge; CPSge 30% - substituição de 30% da proteína por CPSge; CPSge 45% - substituição de 45% da proteína por CPSge; CPSgr 15% - substituição de 15% da proteína por CPSgr; CPSgr 30% - substituição de 30% da proteína por CPSgr; CPSgr45% - substituição de 45% da proteína por CPSgr.

²CPSge–Concentrado proteico de soja granulometria maior. Sementes Selecta S.A., Goiânia, Brasil.

³CPSgr- Concentrado proteico de soja granulometria menor. Sementes Selecta S.A., Goiânia, Brasil.

Tabela 4. Composição química analisada das rações experimentais para cães com fontes alternativas de proteína. Composição do produto acabado, após recobrimento com gordura e palatilizantes.

Item (%)	Dietas			
	FVF	GM	CPSge 45%	CPSgr 45%
Matéria mineral	7,56	6,64	6,92	7,73
Matéria seca	93,93	95,12	95,77	96,9
Proteína bruta	31,23	30,47	28,86	28,52
Extrato etéreo em hidrólise ácida	11,11	10,37	11,24	10,43
Energia bruta (Kcal/kg)	4,94	4,92	4,83	4,76

Tabela 5. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos kibbles de ração para cães com diferentes inclusões de Concentrado Proteico de Soja com granulometria elevada

ITEM	DIETAS ¹				EPM ²	Contraste ³	
	FVF	CPSge 15	CPSge 30	CPSge 45		Linear	Quadrático
DGM1, Peneiras (µm)	219±1,5	229±1,3	233±1,4	225±1,4	-	-	-
<i>Parâmetros de extrusão</i>							
Produtividade (kg/h)	284,3	267,3	281	281,3	3,80	0,0359	ns
Amperagem do motor principal (A)	42,2	42,4	45,5	48,1	1,40	<0,0001	ns
Temperatura de extrusão (°C)	117,8	130,5	135,0	140,3	4,80	0,0004	ns
Pressão de extrusão (Bars)	36,7	32,3	38,3	40,8	1,79	<0,0001	ns
Energia Mecânica Específica (kW-h/ton)	12,4	13,4	16,0	18,6	1,39	<0,0001	ns
Índice de gelatinização do amido (%)	74,3	80,1	81,6	80,8	1,66	0,0004	ns
<i>Macroestrutura dos kibbles</i>							
Densidade aparente, úmido (g/L) ³	412	399	364,3	335,5	17,30	<0,0001	0,0259
Densidade específica (g/mm ³)	0,46	0,46	0,43	0,40	0,01	<0,0001	ns
Expansão radial (mg/g)	1,5	1,55	1,52	1,6	0,02	0,0093	0,0017
Comprimento específico (cm/g)	1,15	1,13	1,22	1,26	0,03	<0,0001	ns
Força de ruptura, kgf	4,66	4,95	4,42	5,05	0,14	ns	0,0042
Digestibilidade in vitro da MO (%)	85,01	83,19	83,6	82,8	0,48	ns	ns

¹– Controle: com farinha de vísceras de frango; CPSge15 – substituição de 15% da proteína por CPS com granulometria elevada; CPSge30 – substituição de 30% da proteína por CPS com granulometria elevada; CPSge 45 – substituição de 45% da proteína por CPS com granulometria elevada.

²- EMP = erro padrão da média (n=4 repetições por tratamento)

³– Efeito linear ou quadrático da inclusão do ingrediente em estudo

Tabela 6. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos kibbles de ração para cães com diferentes inclusões de Concentrado Proteico de Soja com granulometria reduzida

ITEM	DIETAS ¹				EPM ²	Contraste ³	
	FVF	CPSgr 15	CPSgr 30	CPSgr 45		Linear	Quadrático
DGM1, Peneiras (µm)	219±1,5	259±1,4	287±1,4	231±1,5	-	-	-
<i>Parâmetros de extrusão</i>							
Produtividade (kg/h)	284,3	274,8	273,5	270,1	3,04	ns	ns
Amperagem do motor principal (A)	42,2	44,7	45,5	45,4	0,77	ns	ns
Temperatura de extrusão (°C)	117,8	125,3	134	135,3	4,09	0,0003	ns
Pressão de extrusão (Bars)	36,7	38,5	35,5	32,3	1,26	0,0013	ns
Energia Mecânica Específica (kW-h/ton)	12,4	15,5	16,4	16,5	0,96	ns	ns
Índice de gelatinização do amido (%)	74,3	80,2	85,2	88,8	3,15	ns	ns
<i>Macroestrutura dos kibbles</i>							
Densidade aparente, úmido (g/L) ³	412,0	384,5	359,3	377,7	10,93	ns	0,0005
Densidade específica (g/mm ³)	0,46	0,43	0,41	0,42	0,01	ns	ns
Expansão radial (mg/g)	1,5	1,47	1,62	1,59	0,04	<0,0001	<0,0001
Comprimento específico (cm/g)	1,15	1,27	1,2	1,2	0,02	0,0091	ns
Força de ruptura, kgf	4,66	4,94	4,78	5,83	0,27	0,001	0,0065
Digestibilidade in vitro da MO (%)	85,01	85,36	83,79	83,72	0,42	ns	ns

¹– Controle: com farinha de vísceras de frango; CPSgr15 – substituição de 15% da proteína por CPS com granulometria reduzida; CPSgr30 – substituição de 30% da proteína por CPS com granulometria reduzida; CPSgr 45 – substituição de 45% da proteína por CPS com granulometria reduzida.

²– EMP = erro padrão da média (n=4 repetições por tratamento)

³– Efeito linear ou quadrático da inclusão do ingrediente em estudo

Tabela 7. Comparação dos efeitos de diferentes fontes proteicas alternativas sobre os parâmetros de extrusão e macroestrutura dos kibbles

ITEM	DIETAS ¹					valor de p ³
	FVF	GM	CPSge4 5	CPSgr4 5	EPM ²	
DGM1, Peneiras (µm)	219±1, 5	285±1, 4	224±1,4	231±1,5	-	-
<i>Parâmetros de extrusão</i>						
Produtividade (kg/h)	284,3 ^b	296 ^a	281,3 ^{bc}	270,1 ^c	5,32	0,0002
Amperagem do motor principal (A)	42,2 ^c	45,4 ^b	48,1 ^a	45,4 ^b	1,21	<0,001
Temperatura de extrusão (°C)	117,8 ^b	120 ^b	140,3 ^a	135,3 ^a	5,57	0,0002
Pressão de extrusão (Bars)	36,7 ^b	35,5 ^b	40,8 ^{ab}	32,3 ^b	1,72	0,0132
Energia Mecânica Específica (kW-h/ton)	12,4 ^c	15,1 ^b	18,6 ^a	16,5 ^b	1,30	<0,001
Índice de gelatinização do amido (%)	74,3 ^c	74,8 ^c	80,8 ^b	88,8 ^a	3,38	<0,001
<i>Macroestrutura dos kibbles</i>						
Densidade aparente, úmido (g/L)	412,0 ^a	391,7 ^b	335,5 ^c	377,7 ^b	16,2 1	<0,001
Densidade específica (g/mm ³)	0,46 ^a	0,46 ^a	0,40 ^b	0,42 ^b	0,02	<0,001
Expansão radial (mg/g)	1,50 ^b	1,50 ^b	1,59 ^a	1,59 ^a	0,03	<0,001
Comprimento específico (cm/g)	1,15 ^b	1,17 ^b	1,26 ^{ab}	1,20 ^b	0,02	0,012
Força de ruptura, kgf	4,66 ^b	4,95 ^b	4,38 ^b	4,83 ^a	0,12	<0,001
Digestibilidade in vitro da MO (%)	85,01	84,51	82,8	83,72	0,48	ns

¹– Controle - FVF: com farinha de vísceras de frango; CPSge45 – substituição de 45% da proteína por CPS com granulometria elevada; CPSgr 45 – substituição de 45% da proteína por CPS com granulometria reduzida e GM - substituição de 45% da proteína por Glúten de Milho 60.

² - EMP = erro padrão da média (n=4 repetições por tratamento)

³.b,c – médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

Tabela 8. Ingestão e coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes das dietas experimentais para cães com inclusão de concentrado proteico de soja

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	CPSGE 45% PB	CPSGR 45% PB		
Ingestão (g/cão/dia)						
Matéria seca	185,59 ^a	162,60 ^b	162,78 ^b	174,46 ^{ab}	3,95	0,0477
Matéria orgânica	171,56	151,80	151,51	160,05	3,94	0,1873
Extrato etéreo em hidrólise ácida	19,40	18,97	18,08	17,41	0,44	0,5562
Proteína Bruta	57,96 ^a	49,53 ^b	46,98 ^b	49,47 ^b	2,39	0,0182
Amido	66,95	70,86	63,28	68,50	1,59	0,3306
Energia bruta	954,80	1075,70	1058,48	1050,40	27,20	0,2464
Coeficiente de digestibilidade aparente (%)						
Matéria seca	82,47	83,26	81,59	82,23	0,29	0,4529
Matéria orgânica	86,09 ^{ab}	86,56 ^a	84,65 ^b	85,66 ^{ab}	0,27	0,0425
Extrato etéreo em hidrólise ácida	90,72	92,07	91,42	92,61	0,40	0,2332
Proteína Bruta	87,96 ^b	89,75 ^a	87,27 ^b	88,05 ^{ab}	0,52	0,0427
Amido	99,78 ^a	99,76 ^{ab}	99,75 ^{ab}	99,74 ^b	0,008	0,0427
Energia bruta	83,78	84,35	84,49	84,26	0,15	0,7948

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; CPSGE- concentrado proteico de soja 600 – 45%PB; CPSGR - 45% PB – concentrado proteico de soja 200.²EPM = erro padrão da média, a, b, c – médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

Tabela 9. Produção e escore fecal das fezes de cães mediante consumo das dietas experimentais com inclusão de concentrado proteico de soja

Item	Dietas ¹				EPM ²	Valor de p
	FVF	GM	CPSGe 45% PB	CPSGr 45% PB		
Matéria seca fecal (%)	41,83 ^a	41,85 ^a	35,05 ^b	41,00 ^a	1,64	0,0005
Escore fecal	3,97 ^a	3,72 ^b	3,92 ^a	3,97 ^a	0,06	0,0486
g fezes /cão/dia (MN)	77,67 ^a	65,70 ^b	86,01 ^a	74,91 ^a	4,19	0,0120
g fezes /cão/dia (MS)	32,11	27,10	30,10	30,65	1,05	0,2600
mMol/kg de MS						
Ácido láctico	4,49	4,21	4,50	4,09	0,22	0,8727
mMol de NH₃/g de MS fecal						
Amônia fecal	0,11	0,11	0,09	0,11	0,01	0,6767

¹ FVF – Farinha de vísceras de frango; GM –Glúten de milho 60%; CPSGe- concentrado proteico de soja 600 – 45%PB; CPSGr - 45% PB – concentrado proteico de soja 200.²EPM = erro padrão da média, a, b, c – médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de tukey.

Figura 1 – Primeira escolha dos cães na ingestão das dietas experimentais com diferentes fontes de proteína. FVF - Farinha de vísceras de frango; CPSge 45%-concentrado proteico de soja 45% de inclusão; GM – Glúten de Milho 60%. * diferença entre rações.

Figura 2 - Comparações das porcentagens de ingestão das dietas experimentais para cães com diferentes fontes de proteína. FVF - Farinha de vísceras de frango; CPS600 45%-concentrado proteico de soja 45% de inclusão; GM – Glúten de Milho 60%. * diferença entre rações.