

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS JABOTICABAL**

**PROTEÍNAS VEGETAIS SOBRE O PROCESSO DE
EXTRUSÃO, DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES,
PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO, CARACTERÍSTICAS
URINÁRIAS E PALATABILIDADE EM ALIMENTOS PARA
GATOS**

Caroline Alves Garcia

Zootecnista

2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS JABOTICABAL**

**PROTEÍNAS VEGETAIS SOBRE O PROCESSO DE
EXTRUSÃO, DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES,
PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO, CARACTERÍSTICAS
URINÁRIAS E PALATABILIDADE EM ALIMENTOS PARA
GATOS**

Discente: Caroline Alves Garcia

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

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

G216p Garcia, Caroline Alves
Proteínas vegetais sobre o processo de extrusão,
digestibilidade dos nutrientes, produtos de fermentação,
características urinárias e palatabilidade em alimentos para
gatos / Caroline Alves Garcia. -- Jaboticabal, 2024
82 f. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

1. Zootecnia. 2. Gatos. 3. Proteínas na nutrição animal. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta pesquisa poderá impactar as indústrias *pet food* auxiliando os formuladores a decidirem por ingredientes que sejam mais sustentáveis para o meio ambiente sem perda da qualidade nutricional das rações para gatos. Além disso, proteínas vegetais contribuem com a extrusão e formação dos *kibbles*, especialmente o concentrado proteico de soja. Os glútenos de trigo e de milho obtiveram aproveitamento da proteína mais altos que a proteína de origem animal empregada no estudo. No entanto, o concentrado proteico de soja mostrou valores semelhantes a farinha de vísceras de frango, porém induziu uma maior fermentação pelos microrganismos do cólon, podendo ser benéfica a saúde intestinal, sendo uma estratégia nutricional interessante para o uso na indústria.

POTENCIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research may impact the pet food industries by assisting formulators in choosing ingredients that are more environmentally sustainable without compromising the nutritional quality of cat diets. Additionally, plant proteins contribute to the extrusion and formation of kibbles, especially soy protein concentrate. Wheat and corn gluten achieved higher protein utilization than the animal-origin protein used in the study. However, soy protein concentrate showed similar values to poultry by-product meal but induced greater fermentation by colon microorganisms, potentially benefiting intestinal health. It represents an interesting nutritional strategy for use in the industry.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

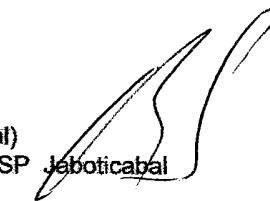
TÍTULO DA TESE: PROTEÍNAS VEGETAIS SOBRE O PROCESSO DE EXTRUSÃO, DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO, CARACTERÍSTICAS URINÁRIAS E PALATABILIDADE EM ALIMENTOS PARA GATOS

AUTORA: CAROLINE ALVES GARCIA

ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

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

Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal



Prof. Dr. DALTON JOSÉ CARNEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal



Pós-Doutoranda CAMILA GOLONI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
CAMILA GOLONI
Data: 20/10/2023 12:52:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. ANANDA PORTELLA FÉLIX (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Curitiba/PR



Documento assinado digitalmente
ANANDA PORTELLA FELIX
Data: 23/10/2023 15:48:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RICARDO SOUZA VASCONCELLOS (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Estadual de Maringá (UEM) - Maringá/PR



Documento assinado digitalmente
RICARDO SOUZA VASCONCELLOS
Data: 25/10/2023 05:45:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 20 de outubro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Caroline Alves Garcia, nascida em 02 de maio de 1991 na cidade de Araraquara – SP. Em 2012 ingressou no curso de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal. Durante a graduação foi membro bolsista e voluntária do Programa de Educação Tutorial – PET e bolsista de iniciação científica da FAPESP. Graduou-se em março de 2017 e ingressou no mesmo mês no curso de Mestrado em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, sob orientação do professor doutor Aulus Cavaliere Carciofi e coorientação da doutora Bruna Agy Loureiro na área de Nutrição de Cães e Gatos. Concluiu o curso de Mestrado em março de 2019 e ingressou no mesmo mês no curso de Doutorado na mesma instituição e sob orientação do mesmo pesquisador. Durante os cursos de Mestrado e Doutorado foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Atualmente é Analista de Pesquisa e Desenvolvimento na Special Dog Company.

“Wubba lubba dub dub!”

Rick Sanchez, 2013

Dedico

Aos meus pais, à minha avó Nadir e meu
esposo Thomaz, por todo amor e cuidado

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as oportunidades e pela maior delas, de estar nesse plano e poder evoluir.

Aos Orixás e ao meu Anjo Guardião que me ajudam nessa caminhada me protegendo e dando forças.

A todos os espíritos de luz que me ajudam e me protegem, especialmente à Vovó Bastiana, à Vovó Maria e ao Pai Tobias. Obrigada por todas as vezes que se fizeram presentes na minha vida!

Aos meus pais nessa vida, Vera e Ricardo, muito obrigada por tornarem meus sonhos possíveis e serem minha luz. Tive sorte de ter vocês comigo nessa jornada e agradeço à Deus por isso! Amo vocês incondicionalmente!

Ao meu marido Thomaz. Nunca imaginei que passaríamos por tanta coisa em tão pouco tempo. Obrigada por estar ao meu lado segurando minhas mãos em todos os momentos por pior que eles fossem, por ter me escolhido para caminhar ao seu lado, por ser cuidadoso, carinhoso e amoroso. Só nós sabemos tudo que passamos para chegarmos até aqui. Você é minha melhor escolha! Espero que em breve a nossa casa esteja cheia de “bacuris” que tenham seus olhinhos curiosos e que eu continue fazendo você rir todos os dias da minha vida! Amo você Ninoca!

Ao meu irmão Guilherme pela parceria de uma vida. Te amo Xulindo!

Aos meus filhos peludos Maui, Moana, Pina, Rayka e Thor que transformam meus dias ruins em dias mais suportáveis. Vocês foram um dos motivos que me deram forças para vencer todas as batalhas que enfrentei. Nunca deixarei de amar cada um de vocês!

Aos meus tios Marco e Jane por todo carinho e amor! Amo muito vocês!

Aos meus sogros Ivanilde e Irso, por terem colocado no mundo uma das pessoas mais especiais da minha vida. Tenho sorte de ter vocês na minha família!

Aos meus amigos Ana Flávia, Ana Paula, Caio, Fernanda, Lara, Ludmilla, Lucas, Luiz Henrique, Mariana e Mayara que estiveram nos bons e maus momentos. Levarei vocês no coração por toda vida!

Ao meu orientador Prof. Aulus pela oportunidade de desenvolver esse trabalho e por todo aprendizado que me proporcionou nesses 7 anos de convivência.

Os professores: Ananda, Camila, Dalton e Ricardo pela disponibilidade e contribuição na melhoria do trabalho.

Aos gatinhos que tornaram esse trabalho possível: Bel, Charlie, Chopp, Crepúsculo, Frida, Ice, Kate, Lady, Luana, Mia, Milk, Pitika, Tata, Tequila, Tico, Tigrão, Tina e Tom, minha gratidão e carinho por cada um.

Aos meus companheiros de pós-graduação pelas trocas que tivemos e toda ajuda durante o experimento. Todos foram parte essencial para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos estagiários do laboratório, em especial à minha “fiel escudeira” Isabel, muito obrigada por toda ajuda, por ser tão responsável e querida! Tenho certeza de que colherá os frutos de toda sua dedicação!

Aos funcionários do laboratório, cada um foi importante em uma determinada etapa do meu caminho nesses 7 anos, agradeço imensamente por toda ajuda, conversas, risadas e pipocas.

Aos funcionários da fábrica de rações pela ajuda na fabricação das rações.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela bolsa de estudos concedida (Processo 141786/2019-1)

À Cargill pelo apoio financeiro tornando possível a realização desse projeto.

As empresas BRF Pet, BRF Ingredients e Adimax Pet pelo suporte financeiro ao Laboratório.

À Manzoni Industrial S. A. pela doação da extrusora.

À Special Dog Company e ao time de P&D que me acolheu com tanto carinho na reta final desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Sustentabilidade.....	4
2.2 Ingredientes proteicos.....	5
2.2.1. Farinha de Vísceras de Frango.....	6
2.3. Fontes proteicas vegetais.....	8
2.3.1. Concentrado Proteico de Soja.....	9
2.3.2. Glúten de Milho.....	10
2.3.3. Glúten de Trigo.....	11
2.4. Implicações das proteínas vegetais no processo de extrusão.....	12
2.5. Influência das fibras presentes em proteínas vegetais.....	13
2.6. Influência da fonte proteica nas características urinárias.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Dietas e tratamentos experimentais.....	16
3.2 Processamento das rações e características reológicas.....	22
3.3 Experimento “ <i>in vivo</i> ”.....	24
3.3.2 Delineamento experimental.....	25
3.3.3 Manejo dos Animais.....	26
3.3.4 Ensaio de digestibilidade balanço hídrico e balanço de nitrogênio.....	27
3.3.5 Características urinárias, excreção renal de uréia e produtos de fermentação microbiana nas fezes.....	27
3.4 Palatabilidade.....	29
3.5 Análise dos resultados.....	29

4. RESULTADOS.....	31
5. DISCUSSÃO.....	44
6. CONCLUSÃO.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



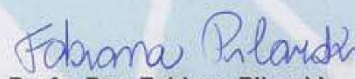
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado “**Avaliação de fontes proteicas vegetais sobre o processo de extrusão, digestibilidade aparente dos nutrientes, produtos de fermentação nas fezes e palatabilidade de alimentos para gatos adultos**”, protocolo nº 1044/21, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 13 de maio de 2021.

Vigência do Projeto	15/05/2021 a 01/10/2021
Espécie / Linhagem	Felina
Nº de animais	24
Peso / Idade	4Kg / 3 a 5 anos
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos "Prof. Dr. Flávio Prada" - Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária (DCCV) - FCAV/UNESP

Jaboticabal, 13 de maio de 2021.


Profa. Dra. Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

**PROTEÍNAS VEGETAIS SOBRE O PROCESSO DE EXTRUSÃO,
DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO,
CARACTERÍSTICAS URINÁRIAS E PALATABILIDADE EM ALIMENTOS PARA
GATOS**

RESUMO – Por questões de sustentabilidade, custo e nutricionais, proteínas vegetais são parte da oferta de aminoácidos em alimentos para felinos. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da substituição de farinha de vísceras de frango (FVF) por proteína concentrada de soja (CS), glúten de milho 60 (GM) e glúten de trigo (GT) em formulação para gatos sobre os parâmetros de extrusão, formação dos *kibbles*, digestibilidade dos nutrientes, características fecais e urinárias, balanços de nitrogênio e hídrico, e palatabilidade das dietas. Uma ração controle contendo somente FVF como fonte proteica foi formulada e desdobrada em nove dietas testes nas quais CS, GM e GT substituíram 20, 40 e 60% da PB da dieta. A amperagem do motor aumentou com a inclusão de CS e GM, e diminuiu com o GT ($p < 0,05$). A pressão de extrusão aumentou nas dietas com CS e GT ($p < 0,05$). A energia mecânica específica aumentou com o aumento de CS e GM ($p < 0,05$) e reduziu com o aumento de GT ($p < 0,05$). A densidade aparente do extrusado diminuiu com o aumento de todas as fontes proteicas vegetais ($p < 0,05$). As inclusões de CS e GT aumentaram a expansão radial ($p < 0,05$), mas o comprimento específico aumentou nas dietas com CS e diminuiu nas com GT ($p < 0,05$). No estudo *in vivo* foi utilizada a ração FVF como dieta controle e as formulações com 60% de substituição da PB: CS60, GM60 e GT60. Foram utilizados 24 gatos adultos, distribuídos em dois blocos com 12 animais, 4 rações e três repetições por ração, totalizando seis repetições por dieta. Cada bloco incluiu 10 dias de adaptação, 12 dias de coleta total de fezes e urina, para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), balanços de nitrogênio e hídrico, características urinárias e concentração de produtos de fermentação das fezes dos animais. Os maiores CDA para MS, MO, PB e EB foram para as dietas GT60 e GM60 ($p < 0,001$). A dieta CS60 proporcionou as menores digestibilidades para MO, amido e EB ($p < 0,001$). O pH da urina foi maior nos gatos alimentados com CS60 ($7,44 \pm 0,06$) e menor para GM60 ($6,06 \pm 0,06$; $p < 0,001$). O CS aumentou os produtos de fermentação microbiana ($p < 0,001$), em contrapartida,

a FVF foi responsável pelas menores produções desses compostos. As proteínas vegetais contribuíram com a extrusão e formação dos *kibbles*. Os GT e GM apresentaram digestibilidade da proteína mais altos que a proteína de origem animal empregada no estudo. O CS apresentou digestibilidade proteica semelhante a farinha de vísceras de frango, porém induziu maior fermentação no cólon devido a seu maior teor de fibra. Em função de sua concentração de macromelementos, CS aumentou e GM reduziu o pH da urina dos gatos.

Palavras-chave: nutrição, felino, sustentabilidade

VEGETABLE PROTEINS IN THE EXTRUSION PROCESS, NUTRIENT DIGESTIBILITY, FERMENTATION PRODUCTS, URINARY CHARACTERISTICS AND PALATABILITY IN CAT FOOD

ABSTRACT – For sustainability, cost and nutritional reasons, vegetable proteins are part of the amino acids supply of diets for felines. The objective of the present study was to evaluate the effects of replacing poultry by-product meal (PBM) by soy protein concentrated (SPC), corn gluten meal (CG) and wheat gluten meal (WG) in a formulation for cats on the extrusion parameter's, *kibble* formation, nutrient digestibility, fecal and urinary characteristics, nitrogen and water balance, and the palatability of diets. A control diet containing only PBM as a protein source was formulated and divided into nine test diets in which SPC, CG and WG replaced 20, 40 and 60% of the CP of the diets, respectively. Motor amperage increased with the inclusion of SPC and CG and decreased with WG ($p < 0.05$). Extrusion pressure increased in diets with SPC and WG ($p < 0.05$). Specific mechanical energy increased with increasing SPC and CG ($p < 0.05$) and reduced with WG additions ($p < 0.05$). The apparent *kibble* density decreased with the increase of all vegetable protein sources ($p < 0.05$). SPC and WG inclusions increased radial expansion ($p < 0.05$), but specific length increased for SPC and decreased for WG diets ($p < 0.05$). For the *in vivo* study, the PBM diet was used as a control and compared with the formulations with 60% CP replacement by the vegetable protein sources, respectively SPC60, CG60 and WG60. Twenty-four adult cats were used, distributed in two blocks with 12 animals, 4 diets and three repetitions per diet, totaling six repetitions per treatment. Each block included 10 days of adaptation, 12 days of total collection of feces and urine, to determine digestibility, nitrogen and water balances, urine characteristics, and the fecal concentration of fermentation products. The highest apparent total tract digestibility coefficients of DM, OM, CP, and GE were verified for WG60 and CG60 diets ($p < 0.001$). The SPC60 diet provided the lowest digestibility for OM, starch and GE ($p < 0.001$). The urine pH was highest for cats fed SPC60 (7.44 ± 0.06) and lowest for CG60 (6.06 ± 0.06 ; $p < 0.001$). The intake of SPC60 increased microbial fermentation products on feces ($p < 0.001$), while PBM reduced their concentration in comparison to the other treatments. Vegetable proteins contributed to the extrusion process and *kibble* formation. Wheat and corn gluten showed higher protein digestibility than the

animal protein used in the study. Soy protein concentrated showed protein digestibility similar to poultry by-product meal but induced greater fermentation in the colon due to its higher fiber content. Due to its macroelement composition SPC increased, and CG reduced the urine pH of the cats.

Keywords: nutrition; feline; sustainability

LISTA DE ABREVIATURAS

CG – Corn gluten meal

CP – Crude protein

CS – Concentrado Proteico de Soja

DM -Dry matter

EB – Energia bruta

FVF – Farinha de Vísceras de Frango

GE – Gross energy

GM – Glúten de milho

GT – Glúten de trigo

MO – Matéria orgânica

MS – Matéria Seca

N - Nitrogênio

OM – Organic matter

PB – Proteína Bruta

PBM – Poultry by-product meal

SPC – Soy protein concentrated

WG – Wheat gluten meal

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química analisada das fontes proteicas empregadas no experimento.....	18
Tabela 2. Composição de ingredientes e química das dietas experimentais para gatos com diferentes fontes de proteína. Composição analisada antes do recobrimento com gordura de aves ou palatilizante.....	19
Tabela 3. Composição química analisada das dietas experimentais com diferentes fontes de proteína utilizadas no experimento <i>in vivo</i>	20
Tabela 4. Aminas biogênicas presentes nos ingredientes proteicos e rações experimentais.....	21
Tabela 5. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos <i>kibbles</i> de rações para gatos com diferentes inclusões de Concentrado Proteico de Soja.....	33
Tabela 6. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos <i>kibbles</i> de rações para gatos com diferentes inclusões de Glúten de Milho.....	34
Tabela 7. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos <i>kibbles</i> de rações para gatos com diferentes inclusões de Glúten de Trigo.....	35
Tabela 8. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos <i>kibbles</i> de rações para gatos com diferentes inclusões de proteínas vegetais.....	36
Tabela 9. Ingestão e coeficientes de digestibilidade aparente em trato digestório total dos nutrientes e da energia de dietas extrusadas para gatos com diferentes fontes de proteína de origem vegetal.....	40
Tabela 10. Características e produtos de fermentação nas fezes de gatos alimentados com dietas extrusadas com diferentes fontes de proteína de origem vegetal.....	41
Tabela 11. Características urinárias, excreção de ureia, balanço hídrico e balanço de nitrogênio de gatos alimentados dietas extrusadas com diferentes fontes de proteína de origem vegetal.....	42

Tabela 12. Resultados de primeira escolha e palatabilidade de dietas extrusadas com diferentes fontes de proteína de origem vegetal..... 43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxo produtivo da farinha de vísceras de frango.....	8
Figura 2. Fluxo produtivo do concentrado proteico de soja.....	10
Figura 3. Fluxo produtivo do glúten de milho.....	11
Figura 4. Micrografia eletrônica de varredura em campo dos tratamentos FVF e CS20.....	37
Figura 5. Micrografia eletrônica de varredura em campo dos tratamentos CS40 e CS60.....	37
Figura 6. Micrografia eletrônica de varredura em campo dos tratamentos GM20 e GM40.....	37
Figura 7. Micrografia eletrônica de varredura em campo dos tratamentos GM60 e GT20.....	37
Figura 8. Micrografia eletrônica de varredura em campo dos tratamentos GT40 e GT60.....	37

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A indústria *pet* do Brasil segue em expansão, no ano de 2022 faturou a quantia de 41,96 bilhões de reais, sendo o seguimento alimentar responsável por 80% desse valor, representando um crescimento de 17,20% em relação ao ano anterior. Esses números refletem o aumento da quantidade de *pets* no país, principalmente de gatos, espécie que obteve maior crescimento de sua população, bem como o aumento de valor dos produtos, relacionados à “premiunização” ou elevação da qualidade das rações *pet*, que ocorre em todo o mundo (Abinpet, 2022). Alia-se a isto a crescente preocupação dos proprietários com a saúde, bem-estar e longevidade dos seus animais, que atualmente são considerados membros da família.

Dentro do segmento *pet food* destaca-se o aumento de decisões de formulação com base em princípios de sustentabilidade, responsabilidade ambiental e social. Em grande parte das indústrias essas premissas já são realidade, impulsionando tendência de lançamentos de produtos que aliem valor nutricional, palatabilidade e composição de ingredientes que não compitam com o ser humano, e que sejam sustentáveis à médio e longo prazo (Swanson et al., 2013).

Proteínas são ingredientes críticos neste cenário. De um lado estas apresentam grande impacto comercial, pois existe a percepção dos proprietários que alimentos com elevada proteína sejam melhores tanto para cães quanto para gatos, mesmo que isto não seja nutricionalmente verdadeiro. Assim, no segmento *superpremium* e *premium* as rações apresentam teores proteicos que excedem o necessário à manutenção desses animais. Por outro lado, elevar o teor de proteína da ração eleva em muito o impacto ambiental e a possível competição potencial do setor *pet food* com os alimentos destinado ao ser humano, o que não é desejável (Swanson et al., 2013).

Além da quantidade de proteína ser questão relevante para a sustentabilidade, responsabilidade ambiental e social, os ingredientes proteicos empregados apresentam, também, forte peso no impacto ecológico e possível competição entre o setor *pet food* e a indústria de alimentação humana (Swanson et al., 2013). Devido ao crescente antropomorfismo de cães e gatos, há propensão de grande parte dos

tutores escolherem alimentos com composição de ingredientes que se assemelhem à sua dieta. O uso de ovos, leite e carnes frescas, como peixes, frango e bovinos, alimentos que são apropriados ao consumo do homem, impacta diretamente este cenário, preocupando a sociedade principalmente quanto à perspectiva futura de escassez de alimentos no mundo, conforme previsões da FAO et al. (2020). Assim, alternativas como proteínas de origem vegetal podem apresentar menor impacto ambiental, com menor pegada de carbono, e não competirem diretamente com a alimentação humana, além de possuírem composição química e digestibilidade que as caracterizem como ingredientes adequados à composição de rações para felinos (Carciofi et al., 2009; Golder et al., 2020).

A flexibilização no emprego de fontes proteicas vegetais tem aumentado, inclusive entre os proprietários de felinos (Dodd et al., 2019). A indústria *pet food* já utiliza em suas formulações proteínas de origem vegetal, devido as suas características reológicas, que auxiliam a formação dos *kibbles* (Venturini et al., 2018), e, também visando o correto balanceamento de minerais, isso porque os ingredientes de origem animal geralmente apresentam alta quantidade de matéria mineral, devido a inclusão variável de ossos (Acuff et al., 2021; Kawauchi, 2012). O excesso de minerais prejudica a saúde, provocando ressecamento das fezes, além do desbalanceamento de cátions e ânions na dieta alterarem o equilíbrio ácido-básico, podendo predispor os animais a formação de urólitos no trato urinário (Jeremias et al., 2013; Markwell et al., 1998). Porém, um ponto importante que deve ser avaliado ao adicionar as fontes proteicas vegetais em altas quantidades nas fórmulas são as possíveis deficiências nutricionais, alguns estudos com dietas comerciais utilizando exclusivamente proteínas de origem vegetal para cães e gatos demonstraram que essa situação é frequente, principalmente em relação à aminoácidos e vitaminas (Gray et al., 2004; Kanakubo et al., 2015; Zafalon et al., 2020). Com isto, fica evidenciado que são necessários estudos e pesquisas sobre a influência desses ingredientes no metabolismo dos animais, para que seu uso possa ser seguro quando empregados em maiores quantidades nas formulações.

Dessa forma, esse estudo objetivou avaliar o efeito da substituição de farinha de vísceras de frango por concentrado proteico de soja, glúten de milho e glúten de trigo sobre os parâmetros do processo de extrusão, formação dos *kibbles*, palatabilidade,

digestibilidade aparente dos nutrientes, produtos de fermentação nas fezes, balanço de nitrogênio, balanço hídrico e características da urina de gatos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sustentabilidade

A indústria *pet food* possui o desafio de desenvolver produtos que sejam nutricionalmente ótimos aos animais, promovendo saúde, longevidade e qualidade de vida, além de serem sustentáveis para o planeta, incluindo suas embalagens, que necessitam ser compostas por materiais facilmente reciclados e/ou biodegradáveis.

Sustentabilidade pode ser definida como ações de desenvolvimento capazes de suprir as necessidades da geração atual sem comprometer as futuras, ou seja, sem esgotar os recursos naturais do planeta (ONU, 1983). Nesse aspecto, os alimentos possuem impactos consideráveis. As dietas baseadas em carnes e produtos cárneos requerem maiores quantidades de energia, solo e água, além de serem responsáveis por maiores emissões de gases do efeito estufa quando comparadas aos vegetais (Tilman et al., 2011).

No estudo de Pedrinelli et al. (2022) foram observadas diferenças nas emissões de equivalentes de dióxido de carbono (CO_{2eq}), que representam uma medida para mensuração dos gases do efeito estufa, sendo as dietas contendo maiores quantidades de proteína de origem animal as responsáveis por maiores emissões. Devido a isso, os alimentos úmidos foram os que obtiveram maiores resultados, pela alta inclusão de carnes e produtos cárneos presentes nessas formulações.

A produção de carne bovina chega a emitir 125 vezes mais CO_{2eq} que a proteína de ervilha. Para produzir 100 g da proteína de ervilha são emitidos em média 0,4 kg CO_{2eq} , enquanto para produzir a mesma quantidade de carne bovina são emitidos em média 50,0 kg CO_{2eq} (Poore e Nemecek, 2018). Assim, reduzir o consumo de carnes e sua inclusão nos alimentos para *pets* é uma forma de se mitigar a emissão desse gás e contribuir para o desenvolvimento global sustentável. Por outro lado, a maioria das proteínas de origem animal utilizadas na indústria *pet* são coprodutos, assim há uma redução do impacto ambiental desses alimentos, devido ao aproveitamento de partes que seriam consideradas resíduos da indústria alimentícia humana.

Em alguns trabalhos sobre esse tema são aplicados aos coprodutos as mesmas taxas de emissões de CO_{2eq} , uso de terras e água, por kg de produto que os

produtos cárneos com maior valor comercial, aumentando o resultado do impacto das rações contendo maiores quantidades de produtos de origem animal (Okin; 2017; Su et al., 2018; Su e Martens, 2018). No estudo de Alexander et al. (2020), com alimentos secos extrusados, os autores utilizaram um método visando a correção dessas taxas pelo valor econômico, encontrando valores 2,3 vezes menores para emissões de CO_{2eq} para os coprodutos de origem animal. Apesar disso, concluíram que os alimentos para animais de estimação desempenham um papel importante nas emissões de gases e utilização de terras, que chega a ser o dobro da área do Reino Unido, indicando a necessidade de que sejam adotadas estratégias nutricionais baseadas em proteínas vegetais e um uso sustentável dos recursos agrícolas.

Outro ponto importante a ser discutido quando se fala sobre sustentabilidade em *pet food* são as formulações que fornecem excesso de nutrientes, principalmente de proteína, promovendo desperdício de recursos. De acordo com as recomendações do FEDIAF (2021) a quantidade de proteína para cães inativos é de 21g por 100g de alimento, e para gatos inativos é de 33,3g por 100g de ração, porém os produtos encontrados no mercado, principalmente na categoria “superpremium”, apresentam teores bem mais elevados desse nutriente, devido a necessidade da indústria em utilizar “claims” que conquistem os proprietários, que erroneamente associam maiores quantidades de proteína com melhor qualidade do alimento. Portanto é também necessário que haja ações voltadas à conscientização da população sobre esse tema.

2.2 Ingredientes Proteicos

As proteínas desempenham diversas funções no organismo como: estruturais, bioquímicas, imunológicas e endócrinas. São compostas por polímeros de aminoácidos unidos por ligações peptídicas. Esse nutriente é necessário na dieta para cães e gatos, primeiramente porque fornecem os aminoácidos que esses animais não conseguem sintetizar, considerados essenciais, e porque os que são considerados não essenciais, ou seja sintetizados pelo organismo, são importantes para fornecer carbono para a gliconeogênese e energia, além de nitrogênio e componentes estruturais necessários para síntese de bases nitrogenadas, hormônios, neurotransmissores e outros (Nelson e Cox, 2014).

Os gatos apresentam particularidades em relação a necessidade proteica. Isso por não regularem com a eficiência de outros animais o funcionamento das transaminases e aminotransferases, e de outras enzimas envolvidas no catabolismo das proteínas, ocorrendo assim atividade constante da gliconeogênese, resultando em maior perda obrigatória de nitrogênio (Reche e Pimenta, 2015). Os aminoácidos considerados essenciais para esses animais são: arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, taurina, treonina, triptofano e valina (FEDIAF, 2021).

A arginina é especialmente importante para os felinos, pois não são capazes de sintetizá-la a partir do glutamato e glutamina. Esse aminoácido participa do ciclo da ornitina, transformando amônia em ureia, assim, sua falta acarreta hiperamonemia, podendo levar o animal a morte (Zaghini e Biagi, 2005). Portanto é necessário que as dietas para gatos possuam além de quantidades adequadas de proteínas, um perfil de aminoácidos adequado, para que não haja deficiência nutricional, garantindo a saúde desses animais.

2.2.1 Farinha de Vísceras de Frango

O principal ingrediente proteico utilizado pela indústria pet food no mundo é a farinha de vísceras de frango, um coproduto resultante da cadeia produtiva desses animais, contendo bom perfil de aminoácidos, boa digestibilidade aparente e palatabilidade (Carciofi et al., 2006; Laflamme et al., 2014; Murray et al., 1998).

No entanto, esse ingrediente possui composição mineral, digestibilidade e qualidade muito variáveis de acordo com seu processamento e inclusão de componentes da carcaça, assim é frequente o recebimento de lotes com estabilidade oxidativa deficiente, possuindo altos índices de peróxido, e muitas vezes concomitante contaminação microbiológica, comprometendo a qualidade das rações (Carciofi, 2008; Carciofi et al., 2009; Dozier et al., 2003; Ribeiro et al., 2019; Zarei et al., 2014).

Devido a inclusão variável de ossos, que por vezes por ser excessiva, em formulações com alta proteína para felinos pode se tornar um desafio o atendimento da necessidade de aminoácidos respeitando-se o correto balanceamento de macroelementos. Inclusões elevadas de farinha de vísceras de frango podem resultar em excesso de minerais, como cálcio, fósforo e magnésio nas rações (Acuff et al.,

2021; Kawauchi, 2012). A elevação indevida de minerais, em especial de fósforo e magnésio pode comprometer a saúde do trato urinário dos felinos, especialmente por predispor os animais à formação de urólitos de estruvita (Markwell et al., 1998) e pelo elevado fósforo ser deletério à função renal, acelerando a progressão de doenças renais, sugerindo que esse mineral está envolvido na origem da Doença Renal Crônica (Elliot et al., 2000; Dobenecker et al., 2018; Polzin et al., 2000). Além disso, elevada inclusão de tecidos com ossos resulta na alcalinização do pH da urina, tornando os animais mais susceptíveis às urolitíases (Funaba et al., 2005; Jeremias, et al., 2013).

O processo de obtenção desse produto ocorre após a trituração e cocção nos digestores, por aproximadamente 90 minutos a temperaturas elevadas, variando entre 115 °C e 180 °C, das partes das aves que não são aproveitadas no consumo humano como: cabeça, pés, vísceras, gorduras viscerais, carcaças desclassificadas, entre outros (ABINPET, 2019; Miltenburg, 2021). Em seguida a massa formada passa pelo percolador para retirada de uma parte da gordura, seguindo para a prensa, visando sua separação do óleo restante, sendo depois moída, peneirada e finalmente tornando-se a farinha de vísceras de frango (Ferroli et al., 2000). A Figura 1 ilustra o processo produtivo dessa farinha.

Importante ressaltar que não é aceita a inclusão intencional de penas, sangue, resíduos de incubatório e outros materiais estranhos à sua composição. Em média sua composição compreende de 57% de proteína bruta, 14% de gordura e 15,19% de matéria mineral, sendo 4,34% de cálcio, 2,54% de fósforo e 0,16% de magnésio (Rostagno, 2011). Porém, atualmente há segmentação do produto de acordo com o nível de inclusão de partes ósseas, assim a ABINPET (2019) classifica as farinhas de vísceras como *High Ash* os produtos em que são incluídos cabeça e pés, e como *Low Ash* os que tem baixas inclusões de partes ósseas. Os parâmetros segurança e qualidade do ingrediente contidos no “Manual *Pet Food Brasil*” atuam como um guia para as indústrias e limitam o mínimo de proteína bruta e máximo de minerais, que são respectivamente 60% e 19% para as farinhas *High Ash* e, 70% e 11% para as farinhas *Low Ash*, respectivamente.

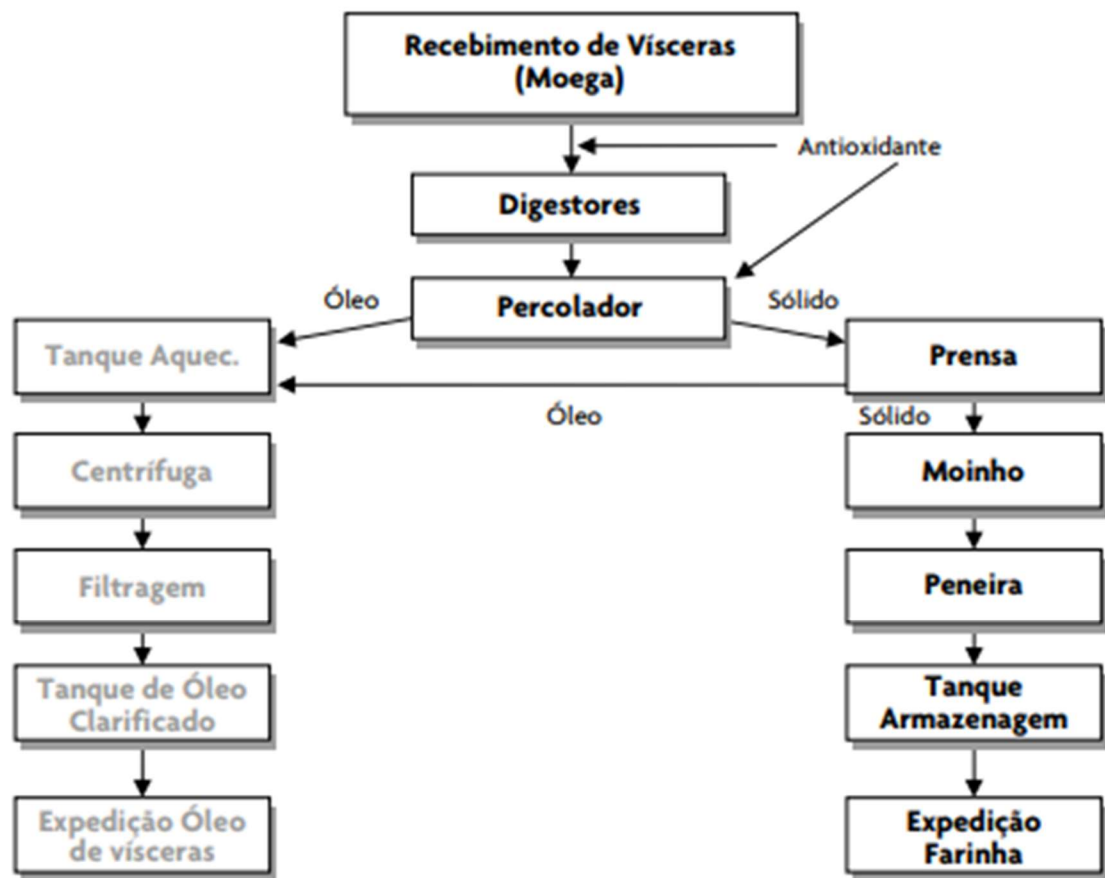


Figura 1. Fluxo produtivo da farinha de vísceras de frango. (Fonte: Abinpet, 2019)

2.3 Fontes Proteicas Vegetais

A indústria *pet food* já emprega comumente em suas formulações proteínas de origem vegetal em combinação com as de origem animal, devido à importância de se controlar a quantidade de matéria mineral dos alimentos para felinos, como mencionado anteriormente. Ao contrário da farinha de vísceras de frango e outras fontes proteicas animais, a matéria prima vegetal apresenta composição química mais uniforme entre fornecedores e lotes (Carciofi, 2008), além de possuir alta relação proteína bruta: matéria mineral (Félix, 2011), o que possibilita sua maior inclusão nas formulações, sem que haja excesso de minerais.

Proteínas vegetais purificadas apresentam elevada digestibilidade para cães (Carciofi et al., 2006; Félix et al., 2012; Maria et al., 2017; Peres, 2018) e gatos

(Carciofi et al., 2009; Funaba et al., 2001). Estes ingredientes podem inclusive ser mais digestíveis que a farinha de vísceras de frango, destacando-se o glúten de milho que teve efeito positivo na digestibilidade da proteína com aumento de sua inclusão na dieta (Golder et al., 2020). Porém, deve-se ter precaução com a utilização desses ingredientes, pois alguns podem apresentar fatores antinutricionais que devem ser levados em consideração na formulação e fabricação de alimentos, mas boa parte destes são inativados na extrusão (Case et al., 2011). Um último aspecto da inclusão de proteínas de origem vegetal nas formulações é seu efeito positivo em relação ao processamento por extrusão, favorecendo o desenvolvimento de viscosidade, transferência de energia mecânica e expansão dos *kibbles*, como será abordado mais adiante.

2.3.1 Concentrado Proteico de Soja

Os derivados da soja são boas fontes de proteína, utilizadas nas dietas de animais de produção e também nas formulações para cães e gatos (Brunetto et al., 2011; Carciofi et al., 2006; Cavalari et al., 2006; Donadelli et al., 2019; Félix, 2011; Venturini et al., 2018). Esse grão possui quantidade relativa menor de metionina, demandando cuidado na formulação dos aminoácidos da dieta (Case et al., 2011). Outras questões são os fatores antinutricionais que afetam a digestão e absorção dos nutrientes, dentre eles os inibidores de proteases (tripsina e quimiotripsina), mas por serem termolábeis são inativados eficientemente durante tratamentos térmicos, como a extrusão (Carciofi, 2008; Liener, 1981; Souza, 2013).

Dentre estes ingredientes, o concentrado proteico de soja é fonte proteica vegetal com características interessantes. Com teor de proteína bruta em torno de 63,07% (Rostagno, 2011) é obtido após separação das cascas, retirada do óleo dos grãos com hexano, e posterior extração de oligossacarídeos e polissacarídeos não amiláceos solúveis com álcool etílico, água com pH ácido (4,5), ou com desnaturação por calor e lixiviação com água, sendo mais tradicionalmente utilizado o primeiro método (Coon et al., 1990; Riaz, 2011; Thrane et al., 2017), como observado na Figura 2. A extração dos oligossacarídeos e polissacarídeos não amiláceos não é total, resultando em um produto com quantidades consideráveis de carboidratos fibrosos fermentáveis, que em concentrações adequadas são extremamente

benéficos aos animais devido à maior produção de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico no intestino grosso, reduzindo o pH intestinal e, conseqüentemente, diminuindo a formação de compostos putrefativos, por reduzir a população de microrganismos proteolíticos (Felix, 2011; Yamka et al., 2006), sendo uma estratégia nutricional interessante para a saúde intestinal.

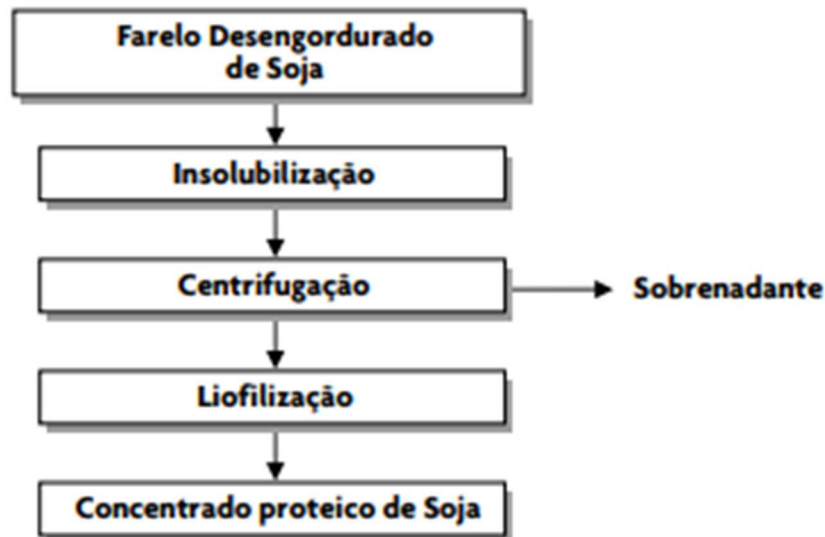


Figura 2. Fluxo produtivo do Concentrado Proteico de Soja (Fonte: Abinpet, 2019).

Estudos com cães demonstraram que a digestibilidade da proteína bruta de alimentos à base de concentrado proteico de soja é bastante elevada (Félix et al., 2013; Venturini et al., 2018).

2.3.2 Glúten de Milho

A fonte proteica de origem vegetal mais rotineiramente empregada pela indústria *pet food*, especialmente para alimentos para felinos é o glúten de milho 60, matéria prima com boas quantidades de metionina, fenilalanina e arginina (Rausch e Belyea, 2006). Em estudos com cães (Carciofi et al., 2006; Golder et al., 2020; Peres, 2018; Venturini et al., 2018; Yamka et al., 2004) e gatos (Carciofi et al., 2009; Funaba et al., 2001, 2002; Golder et al., 2020) sua digestibilidade se mostrou bastante elevada, superior à da farinha de vísceras de frango. Este é mais pobre em lisina e triptofano, necessitando-se atenção na formulação de aminoácidos da ração.

É um produto composto principalmente por proteínas e polissacarídeos não amiláceos (Venturini et al., 2018), obtido a partir do processamento do milho em via úmida separando o amido, o gérmen e as porções fibrosas, visando a concentração da proteína (Rosentrater e Evers, 2017), com aproximadamente 61% de proteína bruta (Rostagno, 2011). Abaixo podemos observar mais detalhadamente o processo produtivo visando a obtenção do glúten de milho (Figura 3).

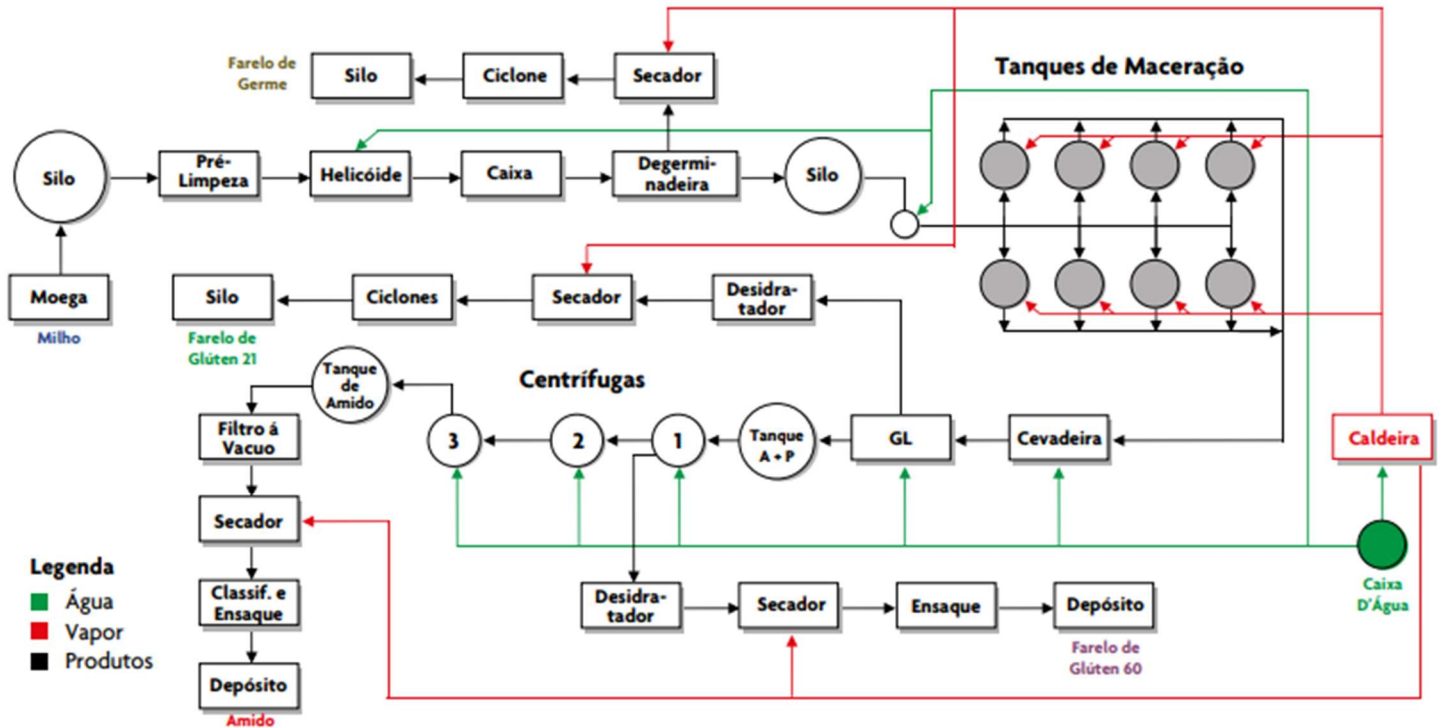


Figura 3. Fluxo produtivo do Glúten de Milho. (Fonte: Abinpet, 2019)

2.3.3 Glúten de Trigo

O glúten de trigo é outro ingrediente de origem vegetal rotineiramente empregado nas formulações, no entanto, há escassez de informações sobre seus efeitos em cães (Nery et al., 2010) e gatos (Rodríguez et al., 2016). Provavelmente isto se deva ao fato de sua principal aplicação ser apenas como aglutinante em “pedaços de carne” (Day, 2011), mais conhecidos como “sachês” no Brasil, alimentos que, em geral, ainda são vistos como petiscos devido ao seu custo mais elevado. Este

é menos comumente empregado como fonte de proteína em formulações de ração seca extrusada.

A obtenção desse produto baseia-se na mistura da farinha de trigo com água para que a hidratação origine os aglomerados de proteínas (glúten). Ocorre, então, separação do amido através de centrifugação ou peneiramento (Day, 2011). Esse processo remove as fibras insolúveis e o amido, concentrando as proteínas do trigo e obtendo-se ingrediente com no mínimo 75% de proteína bruta. Esta é constituída, principalmente, por gliadinas e gluteninas, responsáveis, respectivamente, pela viscosidade e elasticidade presentes nesse ingrediente (Apper-Bossard et al., 2013; Day, 2011; Móscicki e Wójtowicz, 2011; Wieser, 2007).

2.4 Implicações das proteínas de origem vegetal no processo de extrusão

De acordo com Smith (1975) citado por Riaz (2011) “o cozimento por extrusão é um processo no qual materiais umedecidos e expansíveis amiláceos e/ou proteicos sofrem transformação em um tubo através da combinação de umidade, pressão, calor e cisalhamento mecânico”, ocorrendo assim a gelatinização do amido e a desnaturação e realinhamento das estruturas proteicas (Rokey, 2000).

A escolha dos ingredientes da formulação impacta consideravelmente a eficiência de processamento, modulando a aplicação de energia mecânica específica, cozimento do amido e a estrutura, textura e uniformidade dos *kibbles* (Venturini et al. 2018). Este aspecto, considerando sua relevante implicação econômica, deve ser considerado em conjunto com o custo das matérias primas durante a formulação das rações, pois determinará a viabilidade econômica da fórmula. O amido gelatinizado aumenta a viscosidade da massa, enquanto as proteínas podem alterar a elasticidade e adesividade através da desnaturação e reestruturação das moléculas, causadas pela energia mecânica e térmica aplicadas, contribuindo assim para o desenvolvimento de uma massa coesa (Camire, 2000; Riaz, 2011; Rokey, 2000).

Neste aspecto, alguns materiais proteicos com baixa solubilidade em água, considerados dispersores de fase (Guy, 2001), apresentam piores propriedades funcionais ocasionando dificuldades na formação de estrutura dos *kibbles* e impacto econômico negativo na extrusão (Rokey, 2000). Este é o caso das proteínas de origem

animal, que possuem baixos índice de dispersibilidade de proteína e absorção de água (Rokey, 1994). Esses materiais diminuem a eficiência do processo de extrusão por não expandirem e serem insolúveis, ao contrário do que ocorre com algumas proteínas de origem vegetal. Este pior comportamento em processo das proteínas de origem animal é agravado quanto estas são termicamente processadas antes da extrusão, como é o caso da farinha de vísceras de frango que é cozida no digestor na graxaria. Quando cruas e intactas, ou seja, não desnaturadas termicamente, proteínas de origem animal apresentam melhores características reológicas favorecendo a extrusão e formação dos *kibbles*, mas isto se perde com o tratamento térmico prévio do ingrediente (Rokey, 1994).

Em geral as proteínas de origem vegetal colaboram na transferência de energia mecânica específica e formação estrutural de extrusados com altas concentrações proteicas, isso porque suas proteínas, apesar de possuírem menor tamanho em comparação aos polímeros de amido, podem ligar-se entre si durante sua passagem pela extrusora resultando em formação de estrutura mais complexa e de alta viscosidade, que irão reter parte do vapor de água e propiciar expansibilidade à massa à saída da extrusora (Venturini, et al., 2018). Durante o resfriamento da massa ocorre a evaporação da água formando estrutura alveolar sem que ocorra seu encolhimento (Guy, 2001), contribuindo para a crocância do produto.

Isto pôde ser evidenciado na pesquisa de Venturini et al. (2018), de nosso grupo de pesquisa. Em formulações para cães, os autores substituíram a farinha de vísceras de frango por concentrado proteico de soja, nas proporções de 15%, 30% e 45%, resultando em aumento da transferência de energia mecânica específica durante a extrusão, sinalizando maior viscosidade conferida à massa pela proteína concentrada de soja. Esta maior transferência de energia mecânica ocasionou melhor formação de estrutura celular e expansão, com redução expressiva da densidade, promovendo assim a formação de *kibbles* mais crocantes (Venturini et al., 2018). Neste contexto, apesar de alguns dados estarem disponíveis sobre as implicações da proteína de soja na extrusão, não existem muitas informações sobre as implicações do glúten de milho e especialmente do glúten de trigo sobre a extrusão e formação dos *kibbles* de alimentos para gatos.

2.5 Influência das fibras presentes em proteínas vegetais

Além das propriedades viscoelásticas encontradas nos produtos de origem vegetal, os oligossacarídeos e polissacarídeos não amiláceos contidos nesses ingredientes podem aumentar a viscosidade da digesta, diminuir a digestibilidade dos nutrientes e aumentar o volume fecal (Félix et al., 2012; Yamka et al., 2003). No entanto, nas quantidades corretas podem ser benéficos a saúde intestinal, atuando como prebióticos por diminuírem o pH no lúmen devido a produção de ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta por bactérias que utilizam carboidratos, inibindo assim o desenvolvimento de bactérias proteolíticas, que produzem compostos putrefativos (Yamka et al., 2006).

O estudo de Maria et al. (2017), de nosso grupo de pesquisa, demonstrou benefícios em dietas formuladas com farelo de soja, em comparação a dieta controle a base de farinha de vísceras de frango e fibra insolúvel não fermentável (fibra de cana). A proteína do farelo de soja demonstrou-se digerível e seus oligossacarídeos fermentáveis, resultaram em elevação de ácidos graxos de cadeia curta e de espermina, amina biogênica com importantes ações fisiológicas. Com isto, cães alimentados com a ração à base de farelo de soja apresentaram maior secreção de IgA no intestino. Assim, além das características benéficas de processamento, bom perfil de aminoácidos e facilitar melhor balanceamento de minerais do alimento, alguns carboidratos presentes em ingredientes vegetais podem favorecer a saúde intestinal de cães, porém, há escassez desse tipo de informação disponíveis para gatos.

2.6 Influência da fonte proteica nas características urinárias

Os gatos são reconhecidamente susceptíveis às urolitíases em razão da elevada concentração de sua urina. Esses animais evoluíram em locais com escassez de água e quando alimentados com dietas contendo baixos teores de umidade, como os alimentos extrusados secos, podem não aumentar a ingestão de água no bebedouro de modo suficiente e acabam por manter o balanço hídrico por meio da redução da excreção renal de água (Anderson, 1982; Zoran, 2002; Wellman et al., 2007). Além disso, a composição da dieta influencia a composição da urina e o risco da formação

de urólitos no trato urinário, por alterarem características como saturação, volume, densidade e o pH da urina (Garcia et al., 2021; Jeremias et al., 2013; Mendonça et al., 2018).

A ação do alimento sobre o pH urinário ocorre devido à composição de macroelementos, especificamente pelo balanço de cátions e ânions metabolizáveis (Markwell et al., 1998; Allen e Kruger, 2000). Os aminoácidos sulfurados encontrados em abundância em carnes e produtos cárneos atuam como acidificantes, pois sua oxidação resulta em excreção de sulfato causando diminuição no pH da urina (Case et al., 2011). No entanto, como a proteína de origem animal empregada pela indústria contém ossos, como a farinha de vísceras de frango que apresenta boa quantidade de cálcio, fósforo e magnésio, existe predominância da carga de cátions resultando em alcalinização urinaria.

A influência das fontes proteicas vegetais no pH da urina varia em função de sua composição de macroelementos. Os derivados de soja são ricos em potássio, que por ser um cátion tende a alcalinizar a urina. Já o glúten de milho, por apresentar elevada quantidade de aminoácidos sulfurados e enxofre, contribui para a acidificação urinária (Case et al., 2011; Funaba et al., 2001, 2002). Neste contexto, não existem informações sobre o efeito do glúten de trigo nas características da urina. Assim, avaliar os efeitos da ingestão de proteínas de origem animal e vegetal sobre o pH urinário é informação importante para emprego destes ingredientes em formulações para felinos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fábrica de Rações e no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, pertencentes à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal (FCAV/UNESP). Todos os procedimentos experimentais com animais foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta mesma instituição (Protocolo nº1044/21).

3.1 Dietas e tratamentos experimentais

Os ingredientes foram comprados, armazenados, amostrados e analisados antes da formulação das rações. A composição química das fontes proteicas em estudo se encontra na Tabela 1. Com base nos valores analisados, uma dieta controle com apenas farinha de vísceras de frango (FVF) como fonte de proteína foi formulada para apresentar 35% de proteína bruta. A partir desta, 9 dietas testes foram formuladas para que o concentrado proteico de soja (CS), glúten de milho (GM) ou glúten de trigo (GT) representassem 20%, 40% ou 60% da proteína total da dieta. Desta forma, o experimento de extrusão incluiu, no total, 10 formulações (Tabela 2). Considerando que as rações são extrusadas sem a gordura de aves e o palatabilizante, que são incluídos por cobertura na etapa de recobrimento, na Tabela 2 são apresentadas as composições analisadas das rações como extrusadas, antes das adições de gordura de aves e palatabilizante.

Dentre as dietas produzidas, 4 foram utilizadas no experimento *in vivo* com gatos: a controle e as dietas com substituição de 60% da proteína (FVF, CS60, GM60, GT60). Todos os alimentos foram balanceados para terem teores semelhantes de proteína bruta e extrato etéreo, e suas composições nutricionais atenderam as recomendações de nutrientes para gatos adultos da European Pet Food Industry Federation (FEDIAF, 2021). A composição química analisada das rações empregadas

no estudo com gatos, após o recobrimento com gordura de aves e palatabilizante está apresentada na Tabela 3.

Para melhor entendimento dos teores de amins biogênicas nas fezes foram analisadas as quantidades desses compostos nos ingredientes proteicos utilizados e nos alimentos completos extrusados fornecidos aos gatos (Tabela 4).

Tabela 1. Composição química analisada das fontes proteicas empregadas no experimento. Valores apresentados na matéria natural.

Item	Ingredientes ¹			
	FVF	CS	GM	GT
<i>Composição química (%)</i>				
Matéria Seca (%)	94,38	93,36	89,52	90,93
Matéria Mineral (%)	11,45	3,03	1,95	1,40
Sódio	0,52	0,15	0,08	0,05
Cloro	0,24	0,04	0,001	0,001
Magnésio	0,12	0,30	0,03	0,03
Enxofre	0,60	0,36	0,64	0,60
Potássio	0,68	1,99	0,10	0,06
Cálcio	3,27	0,11	0,24	0,28
Fósforo	2,23	0,70	0,47	0,16
Proteína bruta	68,22	60,93	64,81	77,68
Matéria orgânica	88,55	96,97	98,05	98,6
Extrato etéreo em hidrólise ácida	13,55	1,10	4,84	3,86
Fibra bruta	1,02	4,01	0,69	0,40
<i>Perfil de aminoácidos (%)</i>				
Arginina	4,93	4,87	2,30	2,87
Histidina	1,62	1,60	1,25	1,43
Isoleucina	2,49	2,82	2,68	2,71
Leucina	4,72	5,06	10,91	5,50
Lisina	4,56	4,31	1,36	1,44
Metionina	1,44	0,84	1,34	1,24
Fenilalanina	2,45	3,14	4,04	3,90
Treonina	2,75	2,64	2,31	2,07
Triptofano	0,67	1,00	0,33	0,48
Valina	3,08	2,81	2,99	2,89
Taurina	0,37	<0,01	<0,01	<0,01
Serina	3,08	3,61	3,67	4,27
Glicina	6,34	2,47	1,66	2,43
Ácido Aspártico	5,67	7,35	4,54	2,47
Ácido Glutâmico	9,11	11,85	15,10	28,79
Alanina	4,35	2,84	5,88	1,99
Prolina	4,26	3,12	5,91	10,03
Tirosina	2,17	2,38	3,34	2,69
Cistina	0,64	0,78	0,85	1,31
Hidroxiprolina	2,35	<0,01	<0,01	<0,01

¹ - FVF: farinha de vísceras de frango; CS: concentrado proteico de soja; GM: glúten de milho; GT: glúten de trigo

Tabela 2. Composição de ingredientes e química das dietas experimentais para gatos com diferentes fontes de proteína. Composição analisada antes do recobrimento com gordura de aves ou palatabilizante (valores sobre a matéria natural).

Item	Dietas ¹									
	FVF	CS			GM			GT		
		20%	40%	60%	20%	40%	60%	20%	40%	60%
Farinha de vísceras de frango	44,43	34,67	24,91	15,20	34,66	24,90	15,20	34,41	24,38	14,44
Arroz quirera	14,31	11,63	8,94	5,74	11,66	9,01	5,74	13,90	13,48	12,36
Milho grão	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00
Concentrado proteico de soja	-	11,53	23,06	34,60	-	-	-	-	-	-
Glúten de Milho	-	-	-	-	11,35	22,69	34,04	-	-	-
Glúten de Trigo	-	-	-	-	-	-	-	9,27	18,54	27,81
Gordura de Aves	7,98	9,21	10,44	11,66	8,99	9,99	10,98	9,07	10,16	11,24
Fibra de Cana	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Palatabilizante em pó	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Premix mineral e vitamínico ²	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Cloreto de potássio	0,63	0,31	-	-	0,70	0,77	0,84	0,71	0,78	0,86
Sal comum	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Cloreto de colina	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcico	-	-	-	0,15	-	-	0,55	-	-	0,64
Taurina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante ⁴	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
<i>Composição química analisada (%)</i>										
Matéria seca	96,80	96,41	96,82	97,14	97,13	97,03	97,52	95,68	96,09	95,40
Matéria mineral	8,94	7,89	7,81	7,21	8,12	6,81	5,99	7,65	6,84	6,03
Proteína bruta	36,67	37,35	38,35	39,19	37,06	37,24	39,35	36,26	36,69	36,92
Extrato etéreo em hidrólise ácida	10,48	9,18	7,95	6,79	10,20	8,91	8,68	8,84	8,53	7,14
Amido	28,39	27,72	24,88	22,03	29,48	29,30	28,00	27,31	28,59	29,80
Fibra Bruta	3,02	2,90	3,98	4,71	2,38	2,72	2,49	2,93	2,79	2,32
Energia bruta (kcal/g)	4,46	4,34	4,41	4,32	4,51	4,57	4,63	4,47	4,42	4,42
Índice de gelatinização do amido	75,24	71,49	80,25	84,71	72,82	75,95	79,07	81,81	79,68	78,92
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica	85,04	82,24	80,03	78,64	82,19	81,05	78,79	82,37	85,67	82,73

¹ - FVF: farinha de vísceras de frango; CS: concentrado proteico de soja; GM: glúten de milho; GT: glúten de trigo. ² - Adição por quilograma de produto: Ferro 100mg, Cobre 10mg, Manganês 10mg, Zinco 150mg, Iodo 2mg, Selênio 0,3mg, Vitamina A 18000UI, Vit. D 1200UI, Vit. E 200UI, Tiamina 6mg, Riboflavina 10mg, Ácido pantotênico 40mg, Niacina 60mg, Piroxidina 6mg, Ácido fólico 0,30mg, Vit. B12 0,1mg. ³ - Antifúngico (Mold Zap): propionato de amônio, propanodiol, ácido propiônico, ácido acético, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido fórmico, sorbato de potássio, veículo q.s.p - Alltech do Brasil Agro. Ltda, Curitiba, PR, Brasil. ⁴ - RENDOX AT 20. Kemlin Nutrisurance Nutrição animal: BHA. BHT e óleo vegetal.

Tabela 3. Composição química analisada das dietas experimentais com diferentes fontes de proteína utilizadas no experimento *in vivo*. Valores analisados das dietas completas, após recobrimento com gordura de aves e palatabilizante (valores na matéria natural).

Item	Dietas ¹				Recomendação
	FVF	CS60	GM60	GT60	Fediaf 2021 (75 kcal EM/ kg ^{0,67})
<i>Composição química (%)</i>					
Matéria seca	96,09	96,58	97,11	95,57	-
Matéria mineral	9,34	7,21	6,44	6,18	-
Sódio	0,84	0,80	0,72	0,65	0,10
Cloro	0,56	0,50	0,39	0,73	0,15
Magnésio	0,08	0,15	0,07	0,08	0,05
Enxofre	0,34	0,29	0,43	0,33	-
Potássio	0,72	0,92	0,66	0,63	0,80
Cálcio	1,73	0,88	0,82	0,92	0,53
Fósforo	1,47	1,04	0,98	0,72	0,35
Proteína bruta	36,44	37,62	38,38	36,20	33,3
Fibra bruta	1,82	3,01	1,78	1,72	-
Fibra Dietética Total	11,31	20,25	13,64	15,14	-
Amido	23,50	18,50	23,03	24,90	-
Extrato etéreo em hidrólise ácida	14,46	15,18	16,56	15,10	9,00
Energia bruta (Kcal/kg)	4,72	4,88	5,05	4,94	-
<i>Perfil de aminoácidos (%)</i>					
Arginina	2,56	2,75	1,89	1,93	1,30
Histidina	0,85	0,91	0,83	0,76	0,35
Isoleucina	1,35	1,56	1,59	1,35	0,57
Leucina	2,79	3,04	5,40	2,96	1,36
Lisina	2,28	2,33	1,38	1,33	0,45
Metionina	0,74	0,59	0,77	0,69	0,23
Fenilalanina	1,37	1,71	2,04	1,76	0,53
Treonina	1,45	1,54	1,48	1,23	0,69
Triptofano	0,41	0,46	0,25	0,33	0,17
Valina	1,67	1,75	1,80	1,56	0,68
Taurina	0,36	0,26	0,26	0,25	0,13
Serina	1,66	1,97	2,11	1,98	-
Glicina	3,02	2,06	1,73	1,94	-
Ácido Aspártico	3,06	3,83	2,91	2,01	-
Ácido Glutâmico	5,02	6,60	7,60	10,82	-
Alanina	2,33	2,01	3,17	1,66	-
Prolina	2,23	2,20	3,15	3,90	-
Tirosina	1,17	1,34	1,77	1,30	-
Cistina	0,36	0,42	0,44	0,36	-
Hidroxiprolina	1,03	0,39	0,32	0,39	-

¹ - FVF: farinha de vísceras de frango; CS60: 60% da proteína proveniente do concentrado proteico de soja; GM60: 60% da proteína proveniente do glúten de milho; GT60: 60% da proteína proveniente do glúten de trigo

Tabela 4. Aminas biogênicas presentes nos ingredientes proteicos e rações experimentais.

Item	Ingredientes ¹				Dietas ²			
	FVF	CS	GM	GT	FVF	CS60	GM60	GT60
<i>Aminas biogênicas (mg/kg)</i>								
Putrescina	198,43	11,53	4,73	0,22	70,41	36,81	20,16	29,87
Cadaverina	-	12,83	3,18	-	95,42	47,01	26,33	41,95
Tiramina	67,08	-	3,50	-	30,73	14,37	9,64	14,29
Histamina	38,46	-	2,19	-	15,05	7,64	6,01	6,45
Serotonina	7,90	-	-	-	12,17	-	6,94	7,72
Agmatina	9,88	12,23	5,19	-	3,70	4,94	1,61	2,18
Espermidina	82,48	153,39	4,56	5,90	39,28	64,24	20,34	14,43
Feniletilamina	3,97	-	5,66	-	1,17	-	4,16	-
Espermina	246,42	-	-	-	256,02	-	-	-
Triptamina	-	2,31	-	-	-	0,45	-	10,31

¹ - FVF: farinha de vísceras de frango; CS: concentrado proteico de soja; GM: glúten de milho; GT: glúten de trigo.

² - FVF = dieta contendo somente farinha de vísceras de frango; CS60 = dieta com substituição de 60% da proteína por concentrado proteico de soja; GM60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de milho; GT60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de trigo

3.2 Processamento das rações e características reológicas

As matérias primas foram misturadas e moídas em moinho de martelos (Sistema Tigre de Mistura e Moagem, Moinhos Tigre Ltda, São Paulo, Brasil), em peneira com furos de 1,0 mm. O diâmetro geométrico médio das matérias primas após moagem foi de $257 \pm 4,7 \mu\text{m}$, determinados de acordo com Zanotto e Belaver (1996). Após moagem estas foram extrusadas em extrusora de rosca simples (Mex-250, Manzoni Industria Ltda, Campinas, Brasil) com capacidade de processamento de 250 kg/h. A rosca extrusora foi configurada com as seguintes características: Primeira seção - helicóide simples sem *shear lock*; Segunda seção - helicóide simples com *shear lock* pequeno; Terceira seção - helicóide duplo com *shear lock* pequeno; Quarta seção - helicóide duplo com *shear lock* médio; Quinta seção - rosca cônica com helicóide duplo contínuo. A matriz extrusora foi configurada para um furo redondo de 5 mm, com área aberta de $19,6 \text{ mm}^2$. A sistema apresenta condicionador de duplo eixo com diâmetro diferencial, com tempo médio de residência da massa de 150 segundos. A massa é aquecida pela aplicação de vapor direto.

As dietas foram produzidas uma única vez, de modo sequencial. A dieta controle foi produzida inicialmente e os parâmetros variáveis de processamento taxa de alimentação de ração moída, adição de água no condicionador e canhão extrusor, adição de vapor no condicionador, velocidade de rotação da rosca extrusora e velocidade de rotação das facas de corte foram estabelecidos. Estes não foram alterados nos demais tratamentos com inclusões de proteínas de origem vegetal, visando avaliar e quantificar o impacto destes ingredientes nas características de extrusão e formação dos *kibbles*. De acordo com os parâmetros de operação estabelecidos, considerando todos os tratamentos produzidos, a temperatura média da massa na saída do condicionador foi de $91,7 \pm 0,34 \text{ }^\circ\text{C}$, enquanto a umidade dos *kibbles* no interior da extrusora de $30,2 \pm 0,6\%$. A vazão média de produto à saída da extrusora foi de $202,1 \pm 0,45 \text{ kg/hora}$, o que resultou numa área de vazão média de $97,4 \pm 0,21 \text{ mm}^2/\text{tonelada/hora}$.

A cada tratamento, após o sistema atingir estabilidade, foram aguardados 30 minutos e as condições de processamento foram registradas a cada 15 minutos, no mínimo 4 vezes para: velocidade da rosca de alimentação (rpm); fluxo de água e de vapor no pré-condicionador (kg/h); temperatura da massa à saída do pré-

condicionador (°C); velocidade da rosca da extrusora (rpm); carga do motor (A); temperatura (°C) e pressão (bars) da massa antes da matriz extrusora; velocidade da faca de corte (rpm) e pressão do vapor (psig). A densidade aparente dos *kibble* após a extrusão e após a secagem (g/L) foi registrada a cada tempo de amostragem (intervalo de 15 minutos) medindo-se o peso do alimento correspondente ao volume de 1L. Ainda, a taxa de fluxo de massa da extrusora foi mensurada diretamente em um balde, pesando-se a produção correspondente a 1 minuto e multiplicando-se o resultado por 60 para se ter a produção horária. A cada tempo de observação, amostras de alimentos foram coletadas do pré-condicionador, da extrusora e do secador. As amostras de alimento foram armazenadas a -20 °C para análise posterior. Após a extrusão, os *kibbles* foram secos em secador de ar forçado a 110 °C por aproximadamente 25 minutos.

A energia mecânica específica (EME) transferida para a massa foi calculada para cada tratamento de acordo com Riaz (2000), através da equação:

$$EME \left(\frac{\text{kwh}}{\text{t}} \right) = \frac{((\sqrt{3} \times \text{Voltagem} \times (\text{At} - \text{Av}) \times (\cos \text{Fi})))}{M}$$

Onde:

Voltagem = voltagem do motor (220v);

At = Amperagem de trabalho do motor;

Av = Amperagem do motor ligado vazio;

$\cos \varphi$ = cosseno de Fi (0,80)

M = Fluxo de ração (kg/h)

Para se estudar a macroestrutura dos *kibbles*, o comprimento, o diâmetro e a massa de 20 extrudados de cada tratamento foram medidos e usados para se obter a razão de expansão radial (ER), o comprimento específico (Cesp) e a densidade (D), como descrito abaixo:

$$ER = \frac{d^2}{dm^2} \qquad Cesp_{(\text{mm/g})} = \frac{c}{m} \qquad Dk_{(\text{kg/m}^3)} = \frac{m}{\pi \cdot c \cdot \frac{d^2}{2}} \cdot 1000$$

Onde:

d = diâmetro dos extrudados (mm)

dm = diâmetro da abertura da matriz da extrusora (mm)

c = comprimento dos extrusados (mm)

m = massa dos extrusados (g)

Além disso, a dureza dos *kibbles* foi analisada, para isso 15 extrudados de cada tratamento foram equilibrados à mesma umidade, e a força de corte medida com um analisador de textura (TA-XT2, Stable Micro Systems, Godalming, UK). O grau de gelatinização do amido das dietas foi determinado pelo método da amiloglucosidase, representando medida objetiva do grau de cozimento das rações, de acordo com Sá et al. (2013). Adicionalmente, foram avaliadas as digestibilidades *in vitro* da matéria orgânica (MO) das rações sem recobrimento por gordura e palatabilizantes, de acordo com método proposto por Hervera et al. (2007).

Micrografias eletrônicas de amostras de *kibbles* dos tratamentos experimentais foram obtidas em microscópio eletrônico por emissão de campo de varredura (JEOL, JSM-7500F; Miaka, Tóquio, Japão), ajustado para 1.00 kV. As análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia Avançada do Instituto de Química da UNESP (campus Araraquara). Os *kibbles* foram cortados no sentido medial para a avaliação interna. Todas as análises de imagem foram qualitativas e não submetidas a avaliação estatística.

3.3 Experimento “*in vivo*”

No experimento *in vivo* foram avaliadas 4 dietas, a dieta controle à base de farinha de vísceras de frango (FVF) e sem fonte proteica de origem vegetal, mais as dietas constituídas por 60% de concentrado proteico de soja (CS60), glúten de milho (GM60) e glúten de trigo (GT60). Para isso foram utilizados vinte e quatro gatos adultos, com idade média de $4,9 \pm 0,2$ anos, peso corporal médio de $3,90 \pm 0,14$ kg, sem raça definida, castrados. Todos os animais foram considerados saudáveis após exame clínico e de laboratório conduzido por médico veterinário, desverminados e vacinados, provenientes do gatil experimental do referido laboratório.

3.3.2 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em blocos casualizados, contendo dois blocos, cada um com doze gatos e três repetições por tratamento (dietas experimentais), totalizando seis repetições por dieta. Os blocos duraram 23 dias: dias 01 a 10 para adaptação dos animais às dietas experimentais; dias 11 a 17 para coleta total de urina e fezes para digestibilidade, balanço de nitrogênio e balanço hídrico; e dias 18 a 23 para coleta total de urina e fezes frescas (máximo de 10 minutos após a eliminação) para a determinação das características urinárias (pH, densidade e volume), produtos de fermentação (ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico) e pH das fezes.

3.3.3 Manejo dos animais

Durante a adaptação ao experimento os gatos permaneceram 16 horas (das 16:00h às 08:00h) em gaiolas individuais de INOX (0,80 x 0,80 x 1,0m) com aparato para colheita separada de urina e fezes, seguidos por 8h (das 08:00h às 16:00h) soltos em gatil coletivo com 50m² para a prática de exercício e socialização. Durante a coleta de fezes e urina os animais ficaram restritos permanentemente as gaiolas. As gaiolas metabólicas foram lavadas diariamente, sendo enxaguadas com água destiladas e secas. Os gatos eram previamente adaptados a permanecer nas gaiolas, apresentando enriquecimento ambiental e contato com pessoas ao menos três vezes ao dia, para serem alimentados, as gaiolas limpas e escovados.

Para controlar o consumo alimentar, o alimento foi disponibilizado somente quando os animais estavam nas gaiolas individuais. A energia metabolizável do alimento foi estimada a partir de sua composição química e, de início, os gatos receberam quantidades individualmente calculadas de ração com base nas recomendações para manutenção de felinos de 85 kcal/kg^{0,67}/dia (FEDIAF, 2021). O alimento foi fornecido em uma refeição diária durante a adaptação, as 16 horas, e durante as coletas, disponibilizadas às 8 horas e as 16 horas. As quantidades oferecida e recusada foram pesadas diariamente, calculando-se o consumo. Os animais foram pesados semanalmente e a quantidade de alimento fornecida ajustada de modo que estes mantivessem o peso corporal constante durante o ensaio. Água de bebida foi disponibilizada *ad libitum*.

3.3.4 Ensaio de digestibilidade, balanço hídrico e balanço de nitrogênio

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes em trato digestório total e a energia digestível das rações foram determinados pelo método da coleta total de fezes, segundo protocolo e procedimentos de cálculo recomendados pela FEDIAF (2021). Fezes e urina foram recolhidas no momento das refeições ou sempre que observadas. A urina foi recolhida em potes plásticos contendo 1 ml de ácido sulfúrico 1 N para evitar crescimento de bactérias e perda de nitrogênio, colocados sob o funil coletar das gaiolas. As fezes eram pesadas e congeladas (-15 °C).

Ao final do período de colheita, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra por animal e período, secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C (320-SE, Fanem, São Paulo, Brasil) por 72h. As amostras de fezes secas e rações foram moídas em moinho tipo faca (Mod 340, Art Lab, São Paulo, Brasil), com peneira de 1 mm, para as análises laboratoriais.

Rações e fezes foram analisadas, de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (2010) para matéria seca (método 934.01), matéria mineral (método 942.05), proteína bruta (método de Kjeldahl 954.01) e extrato etéreo em hidrólise ácida (método 954.02). A quantidade de amido foi determinada de acordo com Miller (1959) e Hendrix (1993). O conteúdo de energia bruta das dietas e fezes foi determinado por calorimetria em bomba calorimétrica (IKA calorimeter, C200; IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany). A quantidade de fibra bruta e de fibra dietética total das rações utilizadas no experimento *in vivo* foram determinadas de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (2010), métodos 962.09 e 991.43, respectivamente. A matéria orgânica foi calculada subtraindo-se a quantidade de matéria mineral da matéria seca. Todas as análises foram conduzidas em duplicata e repetidas se verificado coeficiente de variação maior de 5%.

A qualidade das fezes foi avaliada subjetivamente, empregando-se escore com notas de 0 a 5 (Carciofi *et al.*, 2008), sendo: 0 – fezes líquidas; 1 – fezes pastosas e sem forma; 2 – fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente; 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, mas duras e ressecadas. Consideram-se normais fezes com escore 4.

Para cômputo do balanço hídrico, as quantidades oferecidas e as sobras de água foram pesadas permitindo ser calculado o consumo. Para quantificar a perda de água do bebedouro por evaporação, foi feito um branco. Em um bebedouro idêntico ao fornecido aos gatos foi colocado o mesmo volume de líquidos e pelo mesmo tempo de exposição ao ambiente, a diferença de peso deste ao início e final representou a água evaporada, que foi descontada para o cálculo da ingestão hídrica. Foi computada a ingestão de água via alimento, ingestão de água potável, água metabólica e o consumo total de água (obtido pela soma dos três primeiros itens). A água metabólica produzida pelos animais foi calculada multiplicando-se a quantidade de proteína digestível consumida por 0,396, os carboidratos digestíveis consumidos por 0,566 e a gordura digerível consumida por 1,071 de acordo com Buffington e Chew (1999). Foram computadas as excreções de água fecal e urinária. A diferença entre a água total ingerida menos a água das fezes mais urina foi calculada como perdas insensíveis, o que corresponde à soma das perdas cutânea, por respiração e salivar (Carciofi *et al.*, 2005).

O balanço de nitrogênio foi determinado simultaneamente aos ensaios de digestibilidade e balanço hídrico. Para isto a quantidade de nitrogênio presente nas amostras de alimento, fezes e urina foram determinadas através do método de Kjeldahl (AOAC, 2010; método 954.01). O cômputo do balanço de nitrogênio foi realizado considerando-se o nitrogênio ingerido através do alimento e o excretado pelas fezes e pela urina, através da seguinte equação:

$$N_{\text{retido}} (\text{mg/kg}^{0,67}/\text{dia}) = N_{\text{ingerido}} (\text{mg/kg}^{0,67}/\text{dia}) - (N_{\text{fecal}} (\text{mg/kg}^{0,67}/\text{dia}) + N_{\text{urinário}} (\text{mg/kg}^{0,67}/\text{dia}))$$

3.3.5 Características urinárias, excreção renal de uréia e produtos de fermentação microbiana nas fezes

Nos dias 18 a 23 as fezes foram coletadas em no máximo 10 minutos após a excreção. Para isto as gaiolas foram continuamente monitoradas. A urina foi coletada em recipientes plásticos contendo 100mg de Timol como conservante. A coleta foi realizada no mínimo três vezes ao dia e a urina armazenada em garrafas plásticas identificadas, mantidas refrigeradas (4 °C).

A urina produzida no período de 24 horas foi homogeneizada e foram aferidos o volume em proveta graduada, a densidade em refratômetro digital (Atago, PAL-USG (CAT), São Paulo, Brasil) e o pH em pHmetro digital (Digimed DM20, Digicrom Analítica, São Paulo, Brasil). As urinas de 24h de cada gato foram na sequência congeladas (-20 °C). Após descongelamento das amostras, a ureia urinária foi determinada através de um kit comercial (Ref. 104; Labquest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, Brasil), utilizando um espectrofotômetro (Labquest, Labtest Diagnostica S.A, Lagoa Santa, MG, Brasil).

Nas amostras de fezes recém eliminadas foram analisados os ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, propiônico e butírico), ácidos graxos de cadeia ramificada (isobutírico, valérico e isovalérico), ácido láctico, amônia, pH e aminas biogênicas. Para a análise dos ácidos graxos voláteis e amônia uma amostra de fezes foi homogeneizada em ácido fórmico 4,2N na proporção 1:3 (p/v) e centrifugada à 5000rpm, 5 °C por 15 minutos. O procedimento foi repetido por 4 vezes, mantendo-se o sobrenadante, este foi identificado e armazenado em freezer à -15 °C para posterior análise da amônia. Depois foi conduzida uma quinta centrifugação do extrato, por 1 hora à 14000rpm e 5 °C, armazenando-se o sobrenadante à -15 °C para análise. A obtenção dos valores dos ácidos graxos de cadeia curta e ramificada ocorreu através de cromatografia gasosa (Finningan, modelo 9001, Finningan Corporation, San Jose, EUA) de acordo com Erwin et al. (1961). A análise de amônia foi realizada conforme descrito por Vieira (1980)

Para análise de ácido láctico, uma amostra de fezes foi diluída em água destilada na proporção 1:3 (p/v), mantida sob refrigeração por um dia, e, então, centrifugada por três vezes a 4500 G à 5 °C, por 15 minutos, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. A leitura de ácido láctico foi realizada de acordo com Pryce (1969), em espectrofotômetro (Quick-Lab, Drake, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil). O valor do pH das fezes foi obtido pela homogeneização de 2g de fezes em 6ml de água miliQ (1:2 p/v) e análise em pHmetro de precisão (DM20, Digicrom Analítica Ltda, São Paulo, Brasil).

Para determinar a concentração de aminas biogênicas nas fezes, ingredientes proteicos e rações, 5g de amostras foram homogeneizadas e misturadas com 7ml de ácido tricloroacético 5% por 3 minutos utilizando-se vórtex. Estes foram

posteriormente centrifugados a 10.000 G a 4 °C por 20 minutos. O sobrenadante foi filtrado em filtro de papel qualitativo e o resíduo extraído por 2 vezes com 7 e 6 ml de ácido tricloroacético 5%. Em seguida, os sobrenadantes foram filtrados e combinados. O volume final obtido foi registrado e congelado. As concentrações de amina biogênica foram determinadas no sobrenadante por HPLC (HPLC modelo LC-10AD; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), de acordo com metodologia descrita por Vale e Glória (1997).

3.4 Palatabilidade

A palatabilidade das dietas foi comparada através da preferência alimentar, pela metodologia *versus* que consiste em apresentar em modo simultâneo 2 tigelas de ração a cada animal, em um painel qualificado de no mínimo 30 gatos adultos, machos e fêmeas, de raças variadas. O teste foi realizado com base em duas refeições, com uma troca de posição dos produtos entre as refeições, o que permitiu evitar eventuais influências relacionadas a posição do comedouro. Os teores de umidade e gordura das rações foram previamente ajustados para que não houvesse influência desses fatores.

Essa análise foi realizada na Panellis Latin America (Descalvado, São Paulo, Brasil). Três testes de preferência foram realizados:

FVF vs. CS60

FVF vs. GM60

FVF vs. GT60

3.5 Análise estatística dos resultados

O estudo de extrusão foi analisado em delineamento inteiramente casualizado. A unidade experimental foi o tempo de amostragem a cada intervalo de 15 minutos durante a extrusão, com quatro repetições por tratamento. Após verificadas as pressuposições de homoscedasticidade das variâncias e normalidade dos erros, os dados foram submetidos a análise de variância e se detectadas diferenças pelo teste F os efeitos dos níveis de inclusão de cada ingrediente da proteína foram comparados por contrastes polinomiais. Quatro níveis de inclusões foram considerados na análise estatística: zero (FVF), 20%, 40% e 60% de substituição de cada proteína vegetal (CS,

GM, GT). As comparações entre os ingredientes estudados foram realizadas por contrastes ortogonais pré-estabelecidos: CS x GM (CS20% + CS40% + CS60% versus GM 20% + GM40% +GM 60%); CS x GT (CS20% + CS40% + CS60% versus GT20% + GT40% + GT60%); GM x GT (GM20% + GM40% + GM60% versus GT20% + GT40% + GT60%).

Para análise estatística do experimento *in vivo* foram verificadas as pressuposições de homocedasticidade das variâncias e normalidade dos erros e posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância, em delineamento em blocos ao acaso. Quando diferenças foram verificadas ao teste F, médias foram comparadas pelo teste Tukey. Para as comparações de palatabilidade foram determinadas as razões de ingestão e estas foram avaliadas empregando-se o teste-T para amostras pareadas, adicionalmente foi utilizado o Perform Exact Sign Test para avaliação do teste de primeira escolha. Para todos os testes foi considerada significância de 5%. As análises foram realizadas com o software estatístico SAS versão 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA)

4. RESULTADOS

As dietas foram devidamente processadas sem intercorrências. As quantidades de proteína bruta foram semelhantes, havendo somente uma pequena variação entre as rações. A dieta FVF apresentou maior quantidade de matéria mineral que as demais, como esperado, por conta da inclusão de componentes da carcaça na farinha de vísceras. O teor de extrato etéreo em hidrólise ácida também foi maior na dieta FVF, em função de sua composição química, e diminuiu com a inclusão das proteínas de origem vegetal. Conforme aumentou a substituição da proteína de origem animal por concentrado proteico de soja, ocorreu aumento na quantidade de fibra bruta das dietas, como pode ser observado na Tabela 3. Os parâmetros da extrusão e análise dos extrusados estão apresentados nas Tabelas 5 a 8.

Na tabela 5 é possível observar que a inclusão de CS resultou em aumento quadrático da amperagem do motor, pressão, temperatura da massa e da energia mecânica específica ($p < 0,01$). Com isto houve redução quadrática da densidade aparente dos *kibbles* ($p < 0,001$). Como resultado da maior aplicação de energia houve aumento quadrático na expansão radial e comprimento específico ($p < 0,01$) e diminuição quadrática da densidade específica e aparente dos *kibbles* após secagem ($p = 0,005$). A resistência dos *kibbles* à quebra aumentou, pois, a força de ruptura praticamente dobrou na dieta CS60 em comparação com a dieta FVF ($p < 0,001$).

A inclusão de GM alterou de maneira mais discreta que o CS os parâmetros de extrusão (Tabela 6). Houve aumento quadrático na amperagem do motor e da transferência de energia mecânica específica ($p < 0,05$). Na densidade do extrusado ocorreu uma redução quadrática dos valores ($p < 0,05$), sem alterar, no entanto, a pressão e temperatura da massa no canhão extrusor. Novamente se observou redução quadrática da densidade dos *kibbles* com a substituição de FVF pela proteína de origem vegetal ($p < 0,01$). Analisando os *kibbles*, não houve influência significativa do GM na expansão radial ($p > 0,05$), porém a densidade específica e aparente apresentaram reduções quadráticas ($p < 0,05$) e o comprimento específico aumento linear e a força de ruptura aumento quadrático ($p < 0,05$).

Na Tabela 7 encontram-se os resultados referentes ao GT. Os dados de amperagem se comportaram de forma cúbica ($p < 0,05$), mas esta tendeu a ser menor com a inclusão de GT em oposição ao verificado nas fontes proteicas vegetais

anteriores. Houve aumento quadrático da pressão e temperatura da massa ($p < 0,05$). A densidade aparente dos *kibbles* à saída da extrusora diminuiu linearmente com o aumento da inclusão de GT, de $431 \pm 2,49$ g/L para $419 \pm 1,25$ g/L ($p < 0,001$). Por fim, a aplicação de energia mecânica específica diminuiu de forma quadrática ($p < 0,05$), acompanhando a redução da amperagem. Apesar do aumento quadrático na expansão radial ($p = 0,002$), houve redução linear do comprimento específico ($p < 0,001$), resultando em aumento quadrático na densidade específica ($p = 0,001$), em oposição ao CS e GM. A força de ruptura aumentou de forma quadrática ($p < 0,001$) atingindo $85,52 \pm 1,99$ N na ração GT60, sendo 2,4 vezes maior em relação a ração FVF.

Por meio de contrastes ortogonais pré-estabelecidos foram comparados entre si o CS (CS20 + CS40 + CS60), GM (GM20 + GM40 + GM60) e o GT (GT20 + GT40 + GT60), como apresentado na Tabela 8. O CS foi a fonte proteica vegetal que induziu maior elevação da transferência de energia mecânica específica, seguindo pelo GM e por fim pelo GT, com o menor valor ($p < 0,01$). A partir desta maior aplicação de energia, CS induziu maior expansão, verificada pela menor densidade aparente dos *kibbles*, seguido pelo GM e por fim GT, com menor valor ($p < 0,01$). A pressão da massa no extrusor foi maior para GM ($p < 0,01$) e semelhante para CS e GT ($p > 0,05$), enquanto a temperatura da massa maior para CS, intermediária para GT e menor para GM ($p < 0,01$). Assim, o efeito das diferentes fontes proteicas sobre a viscosidade e resistência da massa ao fluxo não foi uniforme para todos os parâmetros avaliados. Diferenças também foram observadas na expansão radial, menor para CS que os demais ($p < 0,05$), comprimento específico, que foi menor para GT em comparação aos demais ($p < 0,05$) e força de ruptura, que foi semelhante entre CS e GM, mas maior em GT do que nos demais ($p < 0,05$).

Tabela 5. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos *kibbles* de rações para gatos com diferentes inclusões de Concentrado Proteico de Soja

Item	Dietas ¹				EPM ²	p-valor	Contraste Polinomial ³	
	FVF	CS20	CS40	CS60			Linear	Quadrático
<i>Extrusão</i>								
Amperagem do motor (A)	39,20	39,08	41,05	44,38	0,574	<0,001	<0,001	<0,001
Pressão da massa (bars)	21,53	18,24	20,31	24,19	0,708	0,008	0,041	0,003
Temperatura da massa (°C)	122,50	123,25	133,75	147,25	2,650	<0,001	<0,001	<0,001
Densidade do extrusado úmido (g/L)	431	401	365	358	7,667	<0,001	<0,001	<0,001
Energia Mecânica Específica (kw-h/ton)	11,90	11,55	14,50	19,50	0,859	<0,001	<0,001	<0,001
<i>Macroestrutura do kibble</i>								
Expansão radial	2,77	2,54	2,8636	3,15	0,060	<0,001	<0,001	0,001
Densidade específica (kg/m ³)	0,48	0,50	0,43	0,41	0,010	<0,010	<0,001	0,005
Comprimento específico (mm/g)	38,01	40,25	41,32	39,62	0,353	<0,001	<0,005	<0,001
Força de ruptura (N)	35,36	62,49	68,63	71,93	1,170	<0,001	<0,001	<0,001
Densidade aparente (g/L)	402	375	353	342	5,897	<0,001	<0,001	0,005

¹ - FVF = dieta contendo somente farinha de vísceras de frango; CS20 = dieta com substituição de 20% da proteína por concentrado proteico de soja; CS40 = dieta com substituição de 40% da proteína por concentrado proteico de soja; CS60 = dieta com substituição de 60% da proteína por concentrado proteico de soja.

² - EPM = Erro Padrão da Média (n=4).

³ - Efeito linear ou quadrático da inclusão do nível de concentrado proteico de soja

Tabela 6. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos *kibbles* de rações para gatos com diferentes inclusões de Glúten de Milho

Item	Dietas ¹				EPM ²	p-valor	Contraste Polinomial ³	
	FVF	GM20	GM40	GM60			Linear	Quadrático
DGM (μm)	284 \pm 1,48	258 \pm 1,32	248 \pm 1,40	276 \pm 1,44				
<i>Extrusão</i>								
Amperagem do motor (A)	39,20	39,33	39,70	41,68	0,294	<0,001	<0,001	0,013
Pressão da massa (Bars)	21,53	21,77	24,12	22,98	0,550	0,365	-	-
Temperatura da massa ($^{\circ}\text{C}$)	122,50	125,00	121,75	120,75	0,747	0,226	-	-
Densidade do extrusado úmido (g/L)	431	398	392	377	5,125	<0,001	<0,001	<0,001
Energia Mecânica Específica (kw-h/ton)	11,90	11,73	12,43	15,18	0,423	0,001	<0,001	0,013
<i>Macroestrutura do kibble</i>								
Expansão radial	2,77	2,95	2,96	2,87	0,034	0,156	-	-
Densidade específica (kg/m^3)	0,48	0,44	0,43	0,43	0,006	0,003	0,001	0,029
Comprimento específico (mm/g)	38,01	39,30	40,11	40,99	0,340	0,002	<0,001	0,631
Força de ruptura (N)	35,36	32,89	55,52	61,66	1,021	<0,001	<0,001	<0,001
Densidade aparente (g/L)	402	379	364	348	5,140	<0,001	<0,001	0,042

¹ FVF = dieta contendo somente farinha de vísceras de frango; GM20 = dieta com substituição de 20% da proteína por glúten de milho 60; GM40 = dieta com substituição de 40% da proteína por glúten de milho 60; GM60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de milho 60. ²EPM = Erro Padrão da Média (n=4). ³Efeito linear ou quadrático da inclusão do nível de glúten de milho

Tabela 7. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos *kibbles* de rações para gatos com diferentes inclusões de Glúten de Trigo

Item	Dietas ¹				EPM ²	p-valor	Contraste Polinomial ³	
	FVF	GT20	GT40	GT60			Linear	Quadrático
DGM (µm)	284±1,48	246±1,41	259±1,37	257±1,40				
<i>Extrusão</i>								
Amperagem do motor (A)	39,20	37,68	38,78	38,08	0,206	0,019	0,126	0,208
Pressão da massa (Bars)	21,53	19,54	22,33	23,11	0,418	0,003	0,008	0,023
Temperatura da massa (°C)	122,50	124,25	127,00	125,25	0,544	0,010	0,008	0,042
Densidade do extrusado úmido (g/L)	431	432	426	419	1,684	0,002	<0,001	0,072
Energia Mecânica Específica (kw-h/ton)	11,90	8,96	11,00	9,93	0,329	<0,001	0,035	0,026
<i>Macroestrutura do kibble</i>								
Expansão radial	2,77	2,60	2,99	3,19	0,061	<0,001	<0,001	0,002
Densidade específica (kg/m ³)	0,48	0,53	0,51	0,51	0,005	<0,001	0,004	0,001
Comprimento específico (mm/g)	38,01	36,96	33,36	31,43	0,702	<0,001	<0,001	0,191
Força de ruptura (N)	35,36	76,12	83,53	85,52	1,542	<0,001	<0,001	<0,001
Densidade aparente (g/L)	402	412	393	386	2,604	<0,001	<0,001	<0,001

¹ FVF = dieta contendo somente farinha de vísceras de frango; GT20 = dieta com substituição de 20% da proteína por glúten de trigo; GT40 = dieta com substituição de 40% da proteína por glúten de trigo; GT60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de trigo. ²EPM = Erro Padrão da Média (n=4). ³Efeito linear ou quadrático da inclusão do nível de glúten de trigo

Tabela 8. Parâmetros de extrusão e macroestrutura dos *kibbles* de rações para gatos com diferentes inclusões de proteínas vegetais.

Item	Valores médios ¹			Contrastes Ortogonais ²		
	CS	GM	GT	CSxGM	CSxGT	GMxGT
<i>Extrusão</i>						
Amperagem do motor (A)	41,50	40,23	38,18	<0,001	<0,001	<0,001
Pressão da massa (Bars)	20,91	22,96	21,66	<0,001	<0,001	0,099
Temperatura da massa (°C)	134,75	122,50	125,50	<0,001	<0,001	0,005
Densidade do extrusado úmido (g/L)	375	389	426	<0,001	<0,001	<0,001
Energia mecânica específica (kw-h/ton)	15,18	13,11	9,96	<0,001	0,002	<0,001
<i>Macroestrutura do kibble</i>						
Expansão radial	2,85	2,93	2,93	-	0,023	-
Densidade específica (kg/m ³)	0,45	0,43	0,52	<0,001	<0,001	<0,001
Comprimento específico (mm/g)	40,40	40,14	33,92	-	<0,001	<0,001
Força de ruptura (N)	67,68	50,02	81,72	-	<0,001	<0,001
Densidade aparente (g/L)	357	364	397	<0,001	<0,001	<0,001

¹ Resultados médios dos valores obtidos para as dietas contendo as três inclusões (20%, 40% e 60%) de concentrado proteico de soja (CS), glúten de milho (GM) e glúten de trigo (GT). ² Comparação entre as fontes proteicas ($p < 0,05$).

Fotomicrografias eletrônicas dos *kibbles* foram tomadas para avaliação subjetiva da estrutura celular. Em comparação com FVF, é possível se observar que a inclusão de CS e de GM induziu aumento progressivo das estruturas celulares, que foram se tornando mais uniformes e com paredes mais delgadas (Figuras 4 a 7). Já a inclusão de GT resultou em aumento do número e tamanho das células até a inclusão de 40%, tendo as células aparentemente reduzido e apresentando paredes mais espessas na inclusão de 60% de GT (Figuras 7 e 8).



Figura 4. Micrografias eletrônicas de varredura em campo dos tratamentos FVF e CS20. Área interna (aumento de 66 vezes).

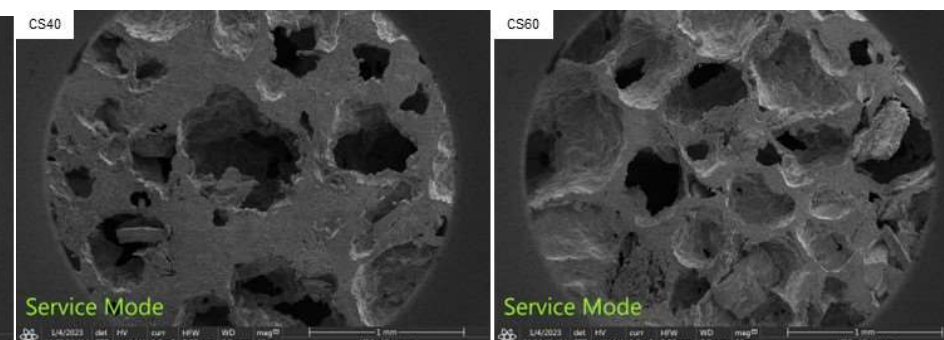


Figura 5. Micrografias eletrônicas de varredura em campo dos tratamentos CS40 e CS60. Área interna (aumento de 66 vezes).

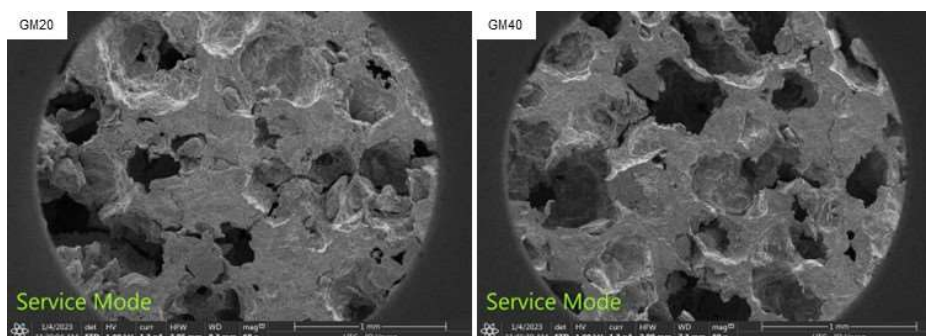


Figura 6. Micrografias eletrônicas de varredura em campo dos tratamentos GM20 e GM40. Área interna (aumento de 66 vezes).



Figura 7. Micrografias eletrônicas de varredura em campo dos tratamentos GM60 e GT20. Área interna (aumento de 66 vezes).



Figura 8. Micrografias eletrônicas de varredura em campo dos tratamentos GT40 e GT60. Área interna (aumento de 66 vezes).

Experimento *in vivo*

Todos os animais consumiram adequadamente as dietas experimentais. Não houve episódios de vômitos, diarreia ou rejeição alimentar durante os 23 dias de experimento. Na Tabela 9 encontram-se os dados referentes ao consumo e digestibilidade aparente em trato digestório total das dietas experimentais. A ingestão de matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta, amido, fibra alimentar e energia bruta diferiram entre os tratamentos ($p < 0,01$). Fato que ocorreu em função dos diferentes pesos metabólicos dos animais e, no caso da fibra e amido, devido às diferentes composições das rações. As dietas GM60 e GT60 apresentaram maiores digestibilidades da matéria seca e proteína bruta que CS60 e FVF ($p < 0,01$). A digestibilidade da matéria orgânica, amido e energia bruta foi menor em CS60, intermediária para FVF e maiores para GT60 e GM60 ($p < 0,01$).

Acompanhando sua menor digestibilidade da matéria orgânica, gatos alimentados com a ração CS60 apresentaram fezes com menor teor de matéria seca e maior produção de fezes na matéria natural que os demais tratamentos ($p < 0,01$), como apresentado na Tabela 10. Ainda, as fezes dos gatos do tratamento CS60 apresentaram menor pH, seguido de GM60 e por fim FVF e GT, com maiores valores ($p < 0,01$), sugerindo diferenças na fermentação de matéria orgânica no colón dos animais. Assim, acetato, propionato, butirato, ácidos graxos de cadeia curta totais, isobutirato, isovalerato, valerato e ácidos graxos de cadeia ramificada totais tiveram, todos, maiores concentrações nas fezes dos gatos alimentados com CS60 do que os demais tratamentos ($p < 0,01$). Gatos alimentados com FVF, por sua vez, tiveram menores concentrações fecais de butirato, isobutirato, valerato, ácidos graxos voláteis totais e lactato do que os alimentos com dietas contendo as fontes proteicas vegetais ($p < 0,01$).

Os teores de amônia das fezes foram maiores nos gatos alimentados com GM60, intermediários para CS60 e GT60, e menores para FVF ($p < 0,01$). Foram ao todo detectadas 10 aminas biogênicas nas fezes dos gatos. Poucas diferiram entre tratamentos, incluindo maior concentração de espermidina e triptamina nas fezes de gatos alimentados com a dieta GM60 em relação aos demais tratamentos ($p < 0,01$).

A concentração fecal de espermina foi maior em GM60 em comparação com CS60 e GT60, apresentando os alimentados com FVF valores intermediários ($p < 0,05$).

Não houve diferença na densidade da urina ($p > 0,05$), porém houve no pH, maior nos gatos alimentados com CS60, intermediário e semelhante entre si para FVF e GT60, e menor nos que receberam o tratamento GM60 ($p < 0,01$), como apresentado na Tabela 11. No balanço hídrico, por se tratar de rações secas, apesar das diferenças verificadas entre tratamentos ($p < 0,05$) o consumo de água via alimentos foi muito baixo para ter impacto significativo nos resultados. O consumo de água no bebedouro e a ingestão total de água foram maiores nos gatos alimentados com CS60 ($p < 0,01$), provavelmente para compensar a maior excreção de água via fezes nos gatos alimentados com esta dieta ($p < 0,01$). Em relação à excreção de urina, esta foi menor nos gatos alimentados com GM60 do que CS60 e GT60 ($p < 0,01$), tendo os alimentos com FVF apresentado valores intermediários. A excreção renal de ureia em $\text{mg/kg}^{0,67}/\text{dia}$ foi menor nos gatos alimentados com FVF do que GT60 ($p < 0,05$), tendo os demais apresentados valores intermediários. Quanto a excreção de ureia foi calculada com base na ingestão de proteína bruta, menor excreção (mg/g PB ingerida) foi verificada para gatos alimentados com CS60 em comparação a GT60 e GM60 ($p < 0,05$), tendo a dieta FVF apresentado valores intermediários. Por fim, ao balanço de nitrogênio maior ingestão de N foi verificada para gatos alimentados com CS60 em relação à GM60 ($p < 0,05$). A excreção de N via fezes foi menor em gatos alimentados com GT60 e GM60 ($p < 0,05$), resultado condizente com as maiores digestibilidades aparentes da proteína bruta destas dietas em comparação a FVF e CS60. Não houve diferenças, no entanto, no N retido ou absorvido.

Tabela 9. Ingestão e coeficientes de digestibilidade aparente em trato digestório total dos nutrientes e da energia de dietas extrusadas para gatos com diferentes fontes de proteína de origem vegetal.

Item	Dietas ¹				EMP ²	p-valor
	FVF	CS60	GM60	GT60		
<i>Ingestão (g/kg^{0,67}/dia)</i>						
Matéria seca	19,47 ^a	20,12 ^a	16,56 ^b	20,64 ^a	0,387	<0,001
Matéria orgânica	18,29 ^a	19,28 ^a	15,92 ^b	20,20 ^a	0,385	<0,001
Extrato etéreo em hidrólise ácida	2,93 ^a	3,01 ^a	2,46 ^b	3,12 ^a	0,060	<0,001
Proteína bruta	7,38 ^a	7,59 ^a	6,21 ^b	7,87 ^a	0,152	<0,001
Amido	4,57 ^a	4,70 ^a	3,85 ^b	4,87 ^a	0,094	<0,001
Fibra dietética total ³	5,32 ^c	9,94 ^a	5,84 ^c	7,99 ^b	0,423	<0,001
Energia bruta (kcal/gato/dia)	0,96 ^a	0,98 ^a	0,81 ^b	1,02 ^a	0,019	<0,001
<i>Coefficiente de digestibilidade aparente (%)</i>						
Matéria seca	79,80 ^b	78,22 ^b	84,51 ^a	85,76 ^a	0,741	<0,001
Matéria orgânica	85,09 ^b	80,97 ^c	87,03 ^{ab}	88,63 ^a	0,662	<0,001
Extrato etéreo em hidrólise ácida	89,43	92,59	91,45	91,86	0,451	0,072
Proteína Bruta	86,68 ^b	87,08 ^b	90,56 ^a	91,98 ^a	0,549	<0,001
Amido	99,91 ^a	99,65 ^c	99,85 ^b	99,81 ^b	0,019	<0,001
Energia bruta	85,91 ^b	82,93 ^c	87,6 ^{ab}	88,82 ^a	0,523	<0,001

¹ FVF = dieta contendo somente farinha de vísceras de frango como fonte proteica; CS60 = dieta com substituição de 60% da proteína por concentrado proteico de soja; GM60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de milho; GT60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de trigo.
²EPM = Erro padrão médio (n=6 gatos por tratamento); ³ Fibra dietética total só foi avaliada no alimento, portanto não foi calculada sua digestibilidade; a, b, c – Médias nas linhas com uma letra em comum são semelhantes pelo teste Tukey

Tabela 10. Características e produtos de fermentação nas fezes de gatos alimentados com dietas extrusadas com diferentes fontes de proteína de origem vegetal.

Item	Dietas				EMP	p-valor
	FVF	CS60	GM60	GT60		
Matéria seca (%)	44,2 ^a	32,32 ^b	40,59 ^a	42,77 ^a	1,189	<0,001
Escore	4,00	4,00	4,00	4,00	0,114	0,949
g de fezes (MN)/gato/dia	20,18 ^b	33,87 ^a	17,28 ^b	16,79 ^b	1,710	<0,001
g de fezes (MS)/gato/dia	9,05 ^{ab}	10,79 ^a	6,83 ^b	7,12 ^b	0,433	<0,001
pH das fezes	6,55 ^a	5,81 ^c	6,3 ^b	6,42 ^{ab}	0,057	<0,001
<i>Produtos de Fermentação (mmol/g MS)</i>						
Acetato	132,09 ^b	283,61 ^a	170,14 ^b	163,81 ^b	13,405	<0,001
Propionato	51,17 ^b	102,54 ^a	63,99 ^b	65,49 ^b	4,423	<0,001
Butirato	36,42 ^c	56,51 ^a	47,50 ^b	51,63 ^{ab}	1,869	<0,001
Total AGCC	219,68 ^b	442,66 ^a	281,64 ^b	280,93 ^b	19,084	<0,001
Ácido Isobutírico	13,44 ^c	21,01 ^a	18,70 ^{ab}	16,36 ^{bc}	0,695	<0,001
Ácido Isovalérico	16,63 ^c	24,40 ^a	21,26 ^{ab}	19,75 ^{bc}	0,702	<0,001
Ácido Valérico	31,61 ^c	48,90 ^a	40,73 ^b	39,94 ^b	1,502	<0,001
Total AGCR	61,69 ^c	94,31 ^a	80,70 ^b	76,05 ^b	2,864	<0,001
Total Ácidos Graxos Voláteis	281,37 ^b	536,97 ^a	362,34 ^b	356,98 ^{bc}	21,655	<0,001
Lactato (mmol/kg MS)	4,95 ^b	10,98 ^a	8,47 ^{ab}	9,96 ^a	0,641	<0,001
Amônia (mmol/kg MS)	149,97 ^b	165,84 ^{ab}	204,96 ^a	175,97 ^{ab}	6,798	0,021
<i>Aminas biogênicas (mg/kg)</i>						
Putrescina	134,98	263,58	318,54	341,26	31,740	0,089
Cadaverina	757,97	946,91	1163,10	1162,57	94,148	0,390
Tiramina	11,54	11,86	45,33	74,28	9,640	0,420
Histamina	89,82	184,24	146,68	136,73	14,890	0,303
Serotonina	1,14	0,40	1,39	2,03	0,370	0,365
Agmatina	0,57	0,74	31,56	0,82	6,790	0,385
Espermidina	41,87 ^b	40,12 ^b	68,16 ^a	39,14 ^b	4,560	0,003
Feniletilamina	0,87	0,64	4,20	0,81	1,113	0,538
Espermina	13,08 ^{ab}	10,10 ^b	18,11 ^a	13,90 ^{ab}	0,840	0,002
Triptamina	7,69 ^{ab}	1,15 ^c	27,54 ^a	3,63 ^{bc}	0,939	< 0,001

¹ FVF = dieta contendo somente farinha de vísceras de frango como fonte proteica; CS60 = dieta com substituição de 60% da proteína por concentrado proteico de soja; GM60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de milho; GT60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de trigo.²EPM = Erro padrão médio (n=6 gatos por tratamento); a, b, c – Médias nas linhas com uma letra em comum são semelhantes pelo teste Tukey

Tabela 11. Características urinárias, excreção de ureia, balanço hídrico e balanço de nitrogênio de gatos alimentados dietas extrusadas com diferentes fontes de proteína de origem vegetal.

Item	Dietas				EMP	p-valor
	FVF	CS60	GM60	GT60		
<i>Características da urina</i>						
Densidade	1.056	1.054	1.059	1.054	0,001	0,326
pH	6,76 ^b	7,44 ^a	6,06 ^c	6,79 ^b	0,098	<0,001
<i>Balanço hídrico (ml/kg^{0,67}/dia)</i>						
Consumo de água via alimento	0,79 ^b	0,72 ^c	0,49 ^d	0,96 ^a	0,036	<0,001
Consumo de água via bebedouro	31,07 ^b	41,04 ^a	33,27 ^b	29,68 ^b	1,171	<0,001
Água metabólica	7,75 ^{ab}	8,09 ^{ab}	6,89 ^b	9,04 ^a	0,224	0,002
Ingestão total de água	39,62 ^b	49,85 ^a	40,65 ^b	39,67 ^b	1,167	<0,001
Excreção de água fecal	4,59 ^b	9,95 ^a	3,60 ^b	4,15 ^b	0,595	<0,001
Excreção urinária	20,02 ^{ab}	21,18 ^a	17,26 ^b	21,35 ^a	0,479	0,001
Perdas insensíveis	15,01	18,72	19,79	14,18	0,927	0,076
<i>Excreção renal de ureia</i>						
Excreção (mg/gato/dia)	3438,64	3759,45	3968,68	4248,19	117,86	0,072
Excreção (mg/kg ^{0,67} /dia)	1470,65 ^b	1533,83 ^{ab}	1537,46 ^{ab}	1731,26 ^a	33,759	0,022
Excreção (mg/g PB ingerida)	200,77 ^{ab}	193,95 ^b	222,86 ^a	221,85 ^a	4,076	0,009
<i>Balanço de nitrogênio (mg/kg^{0,67}/dia)</i>						
Consumo de N	1181,18 ^{ab}	1267,36 ^a	1084,82 ^b	1213,27 ^{ab}	23,778	0,037
Excreção urinária de N	880,97	902,61	844,02	1002,55	24,650	0,123
Excreção fecal de N	148,83 ^a	163,59 ^a	105,77 ^b	100,24 ^b	6,893	<0,001
N absorvido	1032,35	1103,77	979,051	1113,02	21,796	0,082
N retido	151,38	201,15	135,03	110,47	20,227	0,486

¹FVF = dieta contendo somente farinha de vísceras de frango como fonte proteica; CS60 = dieta com substituição de 60% da proteína por concentrado proteico de soja; GM60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de milho; GT60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de trigo. ²EPM = Erro padrão médio (n=6 gatos por tratamento); a, b, c – Médias nas linhas com uma letra em comum são semelhantes pelo teste Tukey

Apesar do estudo *in vivo* realizado dentro laboratório não ter apresentado diferenças nos consumos dos alimentos, sendo todos ingeridos de forma adequada e satisfatória, no estudo de palatabilidade foram detectadas diferenças de preferência entre as rações (Tabela 11). Ao teste de primeira escolha houve maior consumo inicial de GM60 em comparação à FVF ($p = 0,16$), com resultados similares para os outros desafios. A razão de ingestão foi maior, no entanto, para FVF quando comparada com CS60 ($P < 0,01$) e GT60 ($p < 0,01$), mas foi similar quanto FVF foi comparado a GM60.

Tabela 12. Resultados de primeira escolha e palatabilidade de dietas extrusadas com diferentes fontes de proteína de origem vegetal.

Desafio ¹	Primeira Escolha ²			Razão de Ingestão ³		
	A	B	p-valor	A	B	p-valor
FVF vs. CS60	0,57	0,43	0,321	0,72	0,28	0,001
FVF vs. GM60	0,34	0,66	0,016	0,42	0,58	0,076
FVF vs. GT60	0,62	0,38	0,092	0,70	0,30	0,001

¹FVF = dieta contendo somente farinha de vísceras de frango como fonte proteica; CS60 = dieta com substituição de 60% da proteína por concentrado proteico de soja; GM60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de milho; GT60 = dieta com substituição de 60% da proteína por glúten de trigo.

² A versus B, Perform Exact Sign Test

³ Razão de Ingestão: A = ingestão da dieta A (g) / Total ingerido de ambas as dietas (g); B = ingestão da dieta B (g) / Total ingerido de ambas as dietas (g)

5. DISCUSSÃO

O processo de extrusão dos alimentos para cães e gatos altera sua qualidade nutricional devido as modificações físicas e químicas que ocorrem durante a aplicação da pressão, umidade e energias mecânica e térmica (Rokey, 2000; Bordoloi e Ganguly, 2014).

A viscosidade da massa é uma das modificações mais importantes a ser observada, sendo influenciada diretamente pela composição de ingredientes da formulação. Geralmente é concedida em maior parte pelo amido, porém alguns ingredientes proteicos também possuem esse poder, isso porque as moléculas de proteína podem ligar-se entre si durante sua passagem pela extrusora, formando uma estrutura mais complexa e viscosa, que retém parte do vapor de água e proporciona expansibilidade à massa (Guy, 2001; Fellows, 2002). Fato que explica o aumento da amperagem e consequentemente da aplicação de energia mecânica nas dietas contendo CS e GM. Além disso, na saída pela matriz da extrusora ocorre a expansão dos *kibbles* devido ao processo de *flash-off*, que aumenta as bolhas de ar devido evaporação da umidade retida, formando uma estrutura alveolar (Moraru e Kokini, 2003).

Esse mesmo padrão de resposta foi observado na pesquisa de Veturini et al. (2018), os autores relataram aumentos na amperagem e energia mecânica específica, com redução expressiva da densidade dos *kibbles* devido ao aumento da expansão com a inclusão de concentrado proteico de soja e glúten de milho em formulações para cães. Peres (2018) ao substituir a farinha de vísceras de frango pelo concentrado proteico de soja notou aumento da amperagem do motor, assim como da energia mecânica específica, o que corrobora com o encontrado nesse estudo, porém ao incluir o glúten de milho houve diminuição na amperagem e energia mecânica. A expansão das rações nesses dois trabalhos também aumentou com a inclusão das duas proteínas vegetais, devido a diminuição da densidade específica do *kibble* com concomitante aumento na expansão radial.

Após o resfriamento do produto e perda de grande parte da umidade, a estrutura formada no *kibble* não encolheu, o que contribuiu para crocância do alimento, observado com o aumento da dureza das rações contendo CS e GM em comparação à ração contendo somente FVF como fonte proteica. Esse resultado não

corroborar com o encontrado nos estudos de Venturini et al. (2018) e Peres (2018), que observaram diminuição na força de corte, e, portanto, redução na dureza das rações contendo CS.

Ao observarmos os resultados das rações contendo GT identificamos que a inclusão desse ingrediente nas rações causou diminuição na amperagem do motor da extrusora e conseqüentemente queda na energia mecânica específica aplicada. Provavelmente isso ocorreu devido à diminuição da viscosidade da massa, por uma menor capacidade de retenção de água dessa farinha, que diminuiu a expansão longitudinal dos *kibbles*, observado pela diminuição de seu comprimento específico em relação à dieta controle. Essas repostas se assemelham ao encontrado em um estudo em que o GT substituiu o CS em dietas para peixes, causando diminuição da energia mecânica específica aplicada à massa (Draganovic et al., 2012). Outra pesquisa de Draganovic et al. (2011) mostrou efeitos semelhantes. Ao utilizarem essa proteína em substituição à farinha de peixe em rações extrusadas para salmões em crescimento, os autores ressaltaram a diminuição do torque do motor da extrusora, além de uma menor capacidade de retenção de água em comparação com o concentrado proteico de soja, que proporcionou efeito contrário, com aumento no torque e na capacidade de retenção de água. Esses resultados corroboram com os encontrados nesse estudo e explicam o efeito dessas duas proteínas nos parâmetros de extrusão.

A inclusão de glúten de trigo e de milho proporcionaram melhores aproveitamentos dos nutrientes, com exceção do amido, em que tiveram uma menor digestibilidade em relação à dieta controle, porém com valores acima de 99,8%, assim podemos afirmar que essas fontes proteicas são bem aproveitadas pelos gatos, apesar destes serem animais considerados estritamente carnívoros (Zoran 2002). Esses dois ingredientes são restritos em lisina e triptofano (tabela 1), apesar disso não houve deficiência de aminoácidos nas dietas (tabela 3), porém é importante salientar que as formulações desse estudo não são livres de produtos de origem animal, devido a todas as rações incluírem a farinha de vísceras de frango.

Efeito semelhante foi observado no estudo de Nery (2009) em cães alimentados com dietas contendo glúten de trigo, com maior digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, gordura, minerais e energia em relação a ração controle, em que

foi utilizada farinha de vísceras de frango como fonte proteica ($p < 0,001$). Além disso, o ingrediente de origem vegetal foi responsável por diminuir a quantidade de água eliminada através das fezes e, por consequência, melhorar a consistência fecal desses animais, fato que não foi observado nos gatos do presente estudo, uma vez que os resultados de matéria seca fecal e excreção de água através das fezes foram semelhantes entre as dietas controle (FVF) e GT60.

O glúten de milho é um ingrediente amplamente empregado nas formulações para gatos, porém há divergência na literatura quanto seu aproveitamento por estes animais, os valores de digestibilidade da matéria seca variam de 71,6% até 81% (Carciofi et al., 2009; Funaba et al., 2001; Funaba et al., 2002; Funaba et al., 2005), sendo o valor mais baixo, 12,9% menor que o observado nesse estudo. A digestibilidade da proteína na dieta GM60 (90,56%), foi maior do que na FVF (86,68%), corroborando com o estudo de Golder et al. (2020), em que foi observado melhora no aproveitamento do alimento com o aumento da inclusão de glúten de milho.

O concentrado proteico de soja, apesar de ter proporcionado valores de digestibilidade menores para matéria orgânica e energia, mostrou-se boa fonte proteica para felinos, assim como já observado para cães (Venturini et al., 2018). O consumo da dieta contendo esse ingrediente aumentou a quantidade de fezes produzidas, bem como diminuiu a porcentagem de matéria seca, porém sem alterar o escore fecal. Isso se deve pela quantidade de fibras presente nesse ingrediente, que possui alta capacidade de retenção de água, porém sem que haja piora no escore fecal, que se manteve dentro do considerado ideal (escore 4).

Essa fração fibrosa provocou aumento na fermentação no cólon, evidenciado pela maior quantidade de produtos de fermentação encontrados nas fezes dos animais que se alimentaram da dieta CS60, tanto dos ácidos graxos de cadeia curta, quanto do lactato ($p < 0,001$), causando diminuição no pH do lúmen intestinal ($p < 0,001$), possivelmente contribuindo para diminuição da proliferação de bactérias patogênicas, que utilizam como substrato as proteínas e aminoácidos não absorvidos pelo animal, produzindo compostos putrefativos como cadaverina e putrescina (Hooper et al., 2001; Zentek et al., 2003; Neish, 2009; Maria et al., 2017). Um fato controverso desse estudo, foi que não houve diferença entre as dietas ao analisarmos

a maioria das aminas biogênicas, porém essa ausência de alteração pode ter ocorrido devido à grande variação individual dos dados.

Além disso, os ácidos graxos de cadeia curta, especialmente o butirato, são essenciais para a manutenção do epitélio intestinal, fornecendo energia aos colonócitos, fortalecendo a mucosa intestinal e assim, reduzindo o risco de translocação bacteriana e septicemia (Flint et al., 2015). Em condições saudáveis, há um equilíbrio homeostático das bactérias, sem crescimento excessivo de microrganismos potencialmente patogênicos. Essa condição é denominada eubiose, porém quando ocorre um distúrbio na homeostase, ocorre a proliferação de bactérias patogênicas desequilibrando a microbiota, causando, portanto, a disbiose (Mondo et al., 2019), que pode estar associada a obesidade, doenças metabólicas, câncer, disfunções neurológicas e outras doenças (Pilla e Suchodolski, 2021). Os fatores dietéticos, como a quantidade de proteína e fibras, influenciam o perfil da população microbiana do trato gastrointestinal (Badri et al., 2021; Hussein et al., 1999), podendo causar disbiose no animal. Essa é uma limitação desse estudo, visto que não foi possível realizar a análise da microbiota dos animais.

As proteínas vegetais induziram maiores concentrações de amônia e ácidos graxos de cadeia ramificada, o que não era esperado, devido a estudos anteriores demonstrarem que proteínas de origem animal geralmente causam esse aumento (Zentek et al., 2003; Maria et al., 2017). A quantidade de nitrogênio excretado via fezes dos gatos que ingeriram as dietas GM60 e GT60 foram menores que a FVF e CS60, isso possivelmente devido à maior fermentação microbiana no cólon das proteínas e aminoácidos não digeridos, corroborando com o aumento da quantidade de amônia fecal, que não seria desejável, pois esse composto, juntamente com os ácidos graxos de cadeia ramificada, aminas biogênicas, indóis e fenóis, são considerados os principais responsáveis pelo mau odor nas fezes (Swanson et al., 2002).

As diferentes fontes proteicas influenciaram algumas características urinárias, como o pH, que foi menor nos gatos alimentados com a dieta GM60, produzindo urina ácida ($6,06 \pm 0,06$), e maior nos alimentados com a dieta CS60 ($7,44 \pm 0,06$) ($p < 0,001$). Esses resultados mostram que é possível a modulação do pH utilizando diferentes fontes de proteínas nas formulações, visando atingir a faixa considerada ideal, entre 6,2 a 6,8, minimizando o risco de formação dos urólitos mais encontrados

na rotina veterinária, o oxalato de cálcio e a estruvita (Allen e Kruger, 2000), isso devido as quantidades de cátions e ânions presentes nos ingredientes, que afetam o balanço catiônico-aniônico da dieta como um todo (Jeremias et al., 2013; Mendonça et al., 2018).

Em geral as fontes proteicas vegetais tendem a alcalinizar a urina por conterem maiores concentrações de cátions, como o concentrado proteico de soja, que contém elevada quantidade de potássio (19,9 g/kg). O glúten de milho é uma exceção, isso porque esse ingrediente possui elevadas quantidades de aminoácidos sulfurados e enxofre elementar, que acidificam a urina (Funaba et al., 2001; Funaba et al., 2002; Funaba et al., 2005). Essa característica torna essa fonte proteica uma interessante estratégia para formulações visando dissolução de urólitos de estruvita, que se associam a um pH urinário alcalino, podendo ser dissolvidos em pH ácido (<6,1) (Forrester et al., 2010; Wael, 2012).

Em relação ao balanço hídrico, os felinos que se alimentaram da dieta contendo concentrado proteico de soja (CS60) produziram fezes mais úmidas, devido a maior retenção de água pelas fibras presentes no alimento, por conta disso houve compensação na ingestão de água voluntária, com maior quantidade de água consumida via bebedouro ($p < 0,001$). Resultados semelhantes foram encontrados em gatos alimentados com proteína isolada de soja (Zentek e Schulz, 2004).

A dieta GT60 foi a que induziu menor consumo de água voluntária, sendo 11,36 ml/kg^{0,67}/dia menor que no tratamento CS60 ($p < 0,001$), porém a eliminação através da urina foi semelhante entre as essas duas rações. O alto volume de urina produzido pelos animais que ingeriram o tratamento contendo glúten de trigo pode ser explicado pela maior excreção de nitrogênio e de ureia pelos rins, esse último é um composto resultante do metabolismo das proteínas através da desaminação que ocorre no fígado (Reece, 2006; Klein, 2014). Aproximadamente 66,7% da quantidade de soluto renal é representada pela ureia, assim a quantidade de proteína eleva a carga de soluto renal (Burguer et al., 1980; Wellman et al., 2012), causando aumento da osmolalidade e hipertonicidade no fluido tubular, conseqüentemente diminuindo a reabsorção de água pelos rins, acarretando sua maior eliminação através da urina, em compensação há indução de maior ingestão de água, ou menor excreção pelas fezes, mantendo assim o balanço hídrico (Garcia et al., 2021; Hashimoto et al., 1995).

Durante o período experimental não foi constatado nenhuma intercorrência em relação a palatabilidade dos alimentos, não havendo diferença no consumo entre eles, porém ao realizarmos o teste de palatabilidade com um painel qualificado de animais houve preferência pelo tratamento controle em detrimento aos contendo concentrado proteico de soja e glúten de trigo. A palatabilidade de rações para gatos está atrelada a vários fatores, como a umidade, crocância, cheiro, sabor, composição de ingredientes e composição de nutrientes (Hall et al., 2018; Pekel et al., 2020; Salaun et al., 2016). Estudos mostram que há preferência desses animais por proteínas ao invés de carboidratos, e, entre as fontes proteicas, existe predileção pelas de origem animal (Pekel et al., 2020; Zaghini e Biagi, 2005), portanto era esperado que houvesse essa diferença entre os alimentos. Apesar disso, pode-se utilizar hidrolisado de fígado suíno para aumentar a palatabilidade dos alimentos contendo altas inclusões de proteínas vegetais.

6. CONCLUSÃO

As proteínas vegetais contribuem com a extrusão e formação dos *kibbles*, aumentando a transferência de energia mecânica específica e causando maior expansão, especialmente o concentrado proteico de soja. Os glútenos de trigo e de milho apresentaram digestibilidade da proteína mais altos que a proteína de origem animal empregada no estudo. O concentrado proteico de soja apresentou digestibilidade proteica semelhante a farinha de vísceras de frango, porém induziu uma maior fermentação no cólon, sendo sugerido para formulações suplementadas em fibra. As proteínas vegetais também modificaram as características urinárias. O glúten de milho promoveu acidificação, enquanto o concentrado proteico de soja alcalinizou a urina dos felinos, além disso interferiram no balanço hídrico dos animais. Em relação a palatabilidade, com exceção ao glúten de milho, as fontes vegetais mostraram-se menos palatáveis que a farinha de vísceras de frango empregada no estudo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABINPET (2019) Manual Pet Food Brasil. 568 p.

ABINPET (2022) Mercado pet Brasil. Disponível em: <<https://abinpet.org.br/dadosde-mercado>> . Acesso em março de 2023

Acuff HL, Dainton NA, Dhakal J, Kiprotich, S, Aldrich G (2021) Sustainability and Pet Food: Is There a Role for Veterinarians? **Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice** 51:563–581. doi:10.1016/j.cvsm.2021.01.010

Alexander P, Berri A, Moran D, Reay D (2020) Rounsevell, M. D. A. The global environmental paw print of pet food. **Global Environmental Change** 65: 102153, 2020.

Allen TA, Kruger JM (2000) Feline lower urinary tract disease. In: Hand MS, Tatcher CD, Remillard RL and Roudebush P (4th ed) **Small Animal Clinical Nutrition**. Missouri: Mark Morris Institute 689-724

Anderson RS (1982) Water balance in the dog and cat. **Journal of Small Animal Practice** 588–598.

AOAC (2010) Official methods of analysis (18th Ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Apper-Bossard E, Feneuil A, Wagner A, Respondek F (2013) Use of vital wheat gluten in aquaculture feeds. **Aquatic Biosystems** 9:21-34. doi: 10.1186/2046-9063-9-21

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS (2010) Official Publication 2010. Association of American Feed Control Officials, Atlanta.

Badri DV, Jackson MI, Jewell DE (2021) Dietary protein and carbohydrate levels affect the gut microbiota and clinical assessment in healthy adult cats. **The Journal of Nutrition** 151: 3637-3650.

Bordoloi R, Ganguly S (2014) Extrusion technique in food processing and a review on its various technological parameters. **Indian Journal of Science and Technology** 2:1-3.

Brunetto MA, De Souza DF, Fernandes JP, De Oliveira LD (2011) Emprego Da Soja E Seus Derivados Na Alimentação De Cães E Gatos. 1–18

Buffington CAT, Chew DJ (1999). Diet therapy in cats with lower urinary tract disorders. **Veterinary Medicine** 94: 626-630.

Burger IH, Anderson RS, Holme DW (1980) Nutritional factors affecting water balance in the dog and cat. In: Anderson RS **Nutrition of the dog and cat**. Oxford: Pergamon Press.

Camire ME (2000) Chemical and nutritional changes in food during extrusion. In: Riaz MR (Ed.) **Extruders in food applications**. Boca Raton: CRC Press.

Carciofi AC (2008) Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia** 37:28–41.

Carciofi AC, Bazolli RS, Zanni A, Kihara LRL, Prada F (2005) Influence of water content and the digestibility of pet foods on the water balance of cats. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** 42:429–434.

Carciofi AC, De-Oliveira LD, Valério AG, Borges LL, De Carvalho FM, Brunetto MA, Vasconcellos RS (2009) Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal Feed Science and Technology** 151:251–260.33

Carciofi AC, Pontieri R, Ferreira CF, Prada F (2006) Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia** 35:754–760.

Carciofi AC, Takakura FS, De-Oliveira LD, Teshima E, Jeremias JT, Brunetto MA, Prada F (2008) Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and postprandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 92:326–336.

Case LP, Daristotle L, Hayek MG, Raasch MF (2011) Canine and Feline Nutrition: A resource for Companion Animal Professionals. Missouri: Elsevier 562p.

Cavalari APDM, Donzele JL, Viana JA, De Abreu MLT, De Oliveira ALS, De Freitas LS, Pereira AA, Carciofi AC (2006) Determinação do valor nutritivo de alimentos energéticos e protéicos utilizados em rações para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35:1985–1991.

COON CN, LESKE KL, AKAVANICHAN O, CHENG TK (1990) Effect of oligosaccharide-free soybean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poultry science** 69:787–793.

Day L (2011) Wheat gluten: production, properties and application. Woodhead Publishing Limited, 267–288p.

Dobenecker B, Webel A, Reese S, Kienzle E (2018) Effect of a high phosphorus diet on indicators of renal health in cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery** 20:339–343.

Dodd SAS, Cave NJ, Adolphe JL, Shoveller AK, Verbrugghe A (2019) Plant-based (vegan) diets for pets: A survey of pet owner attitudes and feeding practices. **PLoS One** 14:1–19.

Donadelli RA, Aldrich CG, Jones CK, Beyer RS (2019) The amino acid composition and protein quality of various egg, poultry meal by-products, and vegetable proteins used in the production of dog and cat diets. **Poultry Science** 98:1371–1378. doi:10.3382/ps/pey462

Dozier WA, Dale NM, Dove CR (2003) Nutrient Composition of Feed-Grade and PetFood-Grade Poultry By-Product Meal. **Journal of Applied Poultry Research** 12:526– 530. doi:10.1093/japrr/12.4.526.

Draganovic V, Van der Goot AJ, Boom R, Jonkers J (2011) Assessment of the effects of fish meal, wheat gluten, soy protein concentrate and feed moisture on extruder system parameters and the technical quality of fish feed. **Animal Feed Science and Technology**, 165: 238-250.

Draganovic, V, Van der Goot, AJ, Boom R, Jonkers J (2013) Wheat gluten in extruded fish feed: effects on morphology and on physical and functional properties. **Aquaculture Nutrition** 19: 845-859.

Erwin ES, Marco GJ, Emery EM (1961) Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science** 44:1768-1771.

FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO (2020) The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. Transforming food systems for affordable healthy diets. Rome, FAO.

FEDIAF - European Pet Food Industry Federation (2021) Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. Bruxelles: FEDIAF.34

Félix AP (2011) **Avaliação nutricional de derivados protéicos de soja para cães**. 168 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Do Paraná.

Félix AP, Carvalho MP, Alarça LG, Brito CBM, Oliveira SG, Maiorka A (2012) 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** 174:182–189.

Félix AP, Rivera NLM, Sabchuk TT, Lima DC, Oliveira SG, Maiorka A (2013) The effect of soy oligosaccharide extraction on diet digestibility, faecal characteristics, and intestinal gas production in dogs. **Animal Feed Science and Technology** 184:86–93. doi:10.1016/j.anifeedsci.2013.05.013

Fellows PJ (2002) Food processing technology: principles and practice. Woodhead publishing, p 483-500.

Feroli PCM, Fiod Neto M, Casarotto Filho N, Castro JEE (2000) Fábricas de subprodutos de origem animal: a importância do balanceamento das cargas dos digestores de vísceras. **Production** 10:05-20.

Flint HJ, Duncan SH, Scott KP, Louis P (2015). Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism. **Proceedings of the Nutrition Society** 74: 13-22.

Forrester SD, Kruger JM, Allen TA (2010) Feline lower urinary tract diseases. Small animal clinical nutrition (5th Ed.) Topeka, Kan: Mark Morris Institute.

Forrester SD, Roudebush P (2007) Evidence-based management of feline lower urinary tract disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 37: 533-558.

Funaba M, Matsumoto C, Matsuki K, Gotoh K, Kaneko M, Iriki T, Hatano Y, Abe M (2002) Comparison of corn gluten meal and meat meal as a protein source in dry foods formulated for cats. **American Journal of Veterinary Research** 63:1247–1251.

Funaba M, Oka Y, Kobayashi S, Kaneko M, Yamamoto H, Namikawa K, Iriki T, Hatano Y, Abe M (2005) Evaluation of meat meal, chicken meal, and corn gluten meal as dietary sources of protein in dry cat food. **Canadian Journal of Veterinary Research** 69:299–304.

Funaba M, Tanaka T, Kaneko M, Iriki T, Hatano Y, Abe M (2001) Fish Meal vs. Corn Gluten Meal as a Protein Source for Dry Cat Food. **Journal of Veterinary Medical Science** 63:1355–1357.

Garcia CA, Loureiro BA, Peres FM, Goloni C, Di Santo LG, Mendonça FS, Carciofi AC (2020) Effects of crude protein and sodium intake on water turnover in cats fed extruded diets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 105: 95-105, 2021.

Golder C, Weemhoff JL, Jewell DE (2020) Cats have increased protein digestibility as compared to dogs and improve their ability to absorb protein as dietary protein intake shifts from animal to plant sources. **Animals** 10:1–11.

Gray CM, Sellon RK, Freeman LM (2004) Nutritional adequacy of two vegan diets for cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 225:1670–1675.

Guy R (2001) Raw materials for extrusion cooking. In Guy R (Ed.) **Extrusion cooking: technologies and applications**, Cambridge: Woodhead Publishing Ltd

Hall JA, Vondran JC, Vanchina MA, Jewell DE (2018) When fed foods with similar palatability, healthy adult dogs and cats choose different macronutrient compositions. **Journal of Experimental Biology** 221: jeb173450.

Hashimoto M, Funaba M, Abe M, Ohshima S (1995) Dietary protein levels affect water intake and urinary excretion of magnesium and phosphorus in laboratory cats. **Experimental animals** 44: 29-35.

Hendrix DL (1993) Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science** 25:1306-1311.

Hervera M, Baucells MD, Blanch F, Castrillo C (2007) Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. **Journal of Animal Nutrition** 91: 205-209

Hooper LV, Gordon JI (2001) Commensal host-bacterial relationships in the gut. **Science** 292: 1115-1118.

Hussein HS, Flickinger EA, Fahey Jr GC (1999) Petfood applications of inulin and oligofructose. **The Journal of Nutrition** 129: 1454S-1456S.

Jeremias JT, Nogueira SP, Brunetto MA, Pereira GT, Loureiro BA, Ferreira CS, Gomes MOS, Carciofi AC (2013) Predictive formulas for food base excess and urine pH estimations of cats. **Animal Feed Science and Technology** 182: 82-92.

Kanakubo K, Fascetti AJ, Larsen JA (2015) Assessment of protein and amino acid concentrations and labeling adequacy of commercial vegetarian diets formulated for dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 247:385–392.

Kawauchi IM (2012) **Valor nutricional e parâmetros de qualidade de subprodutos de origem animal para cães**. 115 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Unesp, Jaboticabal.

Klein BG (2015) **Cunningham: Tratado de Fisiologia Veterinária** (5th Ed.) Brasil, Elsevier.

Laflamme D, Izquierdo O, Eirmann L, Binder S (2014) Myths and misperceptions about ingredients used in commercial pet foods. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice** 44:689–698 doi:10.1016/j.cvsm.2014.03.002

Liener IE (1981) Factors affecting the nutritional quality of soya products. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 58:406–415.

Maria APJ, Ayane L, Putarov TC, Loureiro BA, Neto BP, Casagrande MF, Gomes MOS, Glória MBA, Carciofi AC (2017) The effect of age and carbohydrate and protein sources on digestibility, fecal microbiota, fermentation products, fecal IgA, and immunological blood parameters in dogs. **Journal of Animal Science** 95:2452–2466.

Maria APJ, Ayane L, Putarov TC, Loureiro BA, Neto BP, Casagrande MF, Gomes MOS, Glória MBA, Carciofi AC (2017) The effect of age and carbohydrate and protein sources on digestibility, fecal microbiota, fermentation products, fecal IgA, and immunological blood parameters in dogs. **Journal of animal science** 95: 2452-2466.

Markwell PJ, Buffington CT, Smith BHE (1998) The Effect of Diet on Lower Urinary Tract Diseases in Cats. **The Journal of Nutrition** 128:2753S-2757S.

Mendonça FS, Pedreira RS, Loureiro BA, Putarov TC, Monti M, Carciofi AC (2018) Hydroxyproline and starch consumption and urinary supersaturation with calcium oxalate in cats. **Animal Feed Science and Technology** 246:72-81, doi:10.1016/j.anifeedsci.2018.10.001

Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry** 31:426-428.

Miltenburg TZ (2021) **Propriedades nutricionais e funcionais de farinha de vísceras de aves obtida por hidrólise enzimática na dieta de gatos**. 90 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá.

Mondo E, Marliani G, Accorsi PA, Cocchi M, Di Leone A (2019) Role of gut microbiota in dog and cat's health and diseases. **Open Veterinary Journal** 9: 253-258.

Moraru CI, Kokini JL (2003). Nucleation and expansion during extrusion and microwave heating of cereal foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 2, 147-165. doi: 10.1111/j.1541-4337.2003.tb00020.x

MOS, Carciofi AC (2013) Predictive formulas for food base excess and urine pH estimations of cats. **Animal Feed Science and Technology** 182:82–92. doi:10.1016/j.anifeedsci.2013.04.003

Moscicki L, Wójtowicz A (2011) Raw materials in the production of extrudates. In L. Moscicki (Ed.) **Extrusion-cooking techniques: applications, theory and sustainability**, Weinheim: Wiley.

Murray SM, Patil AR, Fahey GC, Merchen NR, Hughes DM (1998) Raw and rendered animal by-products as ingredients in dog diets. **Journal of Nutrition** 128:2497–2505.

Neish A (2009) Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. **Gastroenterology** 136: 65-80.

Nelson DL, Cox MM (2014). Oxidação de aminoácidos e produção de ureia. In: Nelson DL, Cox MM (6th ed) **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, p. 695-730.

Nery J, Biourge V, Tournier C, Leray V, Martin L, Dumon H, Nguyen P (2010) Influence of dietary protein content and source on fecal quality, electrolyte concentrations, and osmolarity, and digestibility in dogs differing in body size. **Journal of Animal Science** 88:159–169.

Okin GS (2017) Environmental impacts of food consumption by dogs and cats. **PLoS One** 12: e0181301.

Pekel AY, Mülazımoğlu SB, Acar N (2020) Taste preferences and diet palatability in cats. **Journal of Applied Animal Research** 48: 281-292.

Peres FM (2018) **Fontes proteicas de origem vegetal sobre o processo de extrusão e a digestibilidade aparente de dietas para cães**. 72 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Unesp, Jaboticabal.

Pilla R, Suchodolski JS (2021) The gut microbiome of dogs and cats, and the influence of diet. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, 51: 605-621.

Poore J, Nemecek T (2018) Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. **Science** 360: 987-992.

Pryce JD (1969) A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. **Analist** 94: 1121-1151.

Rausch KD, Belyea RL (2006) The future of coproducts from corn processing. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 128:47–86.

Reche JR, A, Pimenta, MM (2015) Alimentação de Gatos: necessidades nutricionais do carnívoro. Informativo Científico **Farmina Vet Research**.

Reece WO (2006) *Dukes: fisiologia dos animais domésticos (12th Ed.)* São Paulo, Guanabara.

Riaz MN (2000) *Extruders in food applications*, Boca Raton: CRC Press.

Riaz MN (2011) *Texturized vegetable proteins*. Woodhead Publishing Limited p. 395-418.

Ribeiro LB, Bankuti FI, Da Silva MU, Ribeiro PM, Silva JM, Sato J, Bortolo M, Vasconcellos RS (2019) Oxidative stability and nutritional quality of poultry by product meal: An approach from the raw material to the finished product. **Animal Feed Science and Technology** 255:114226. doi:10.1016/j.anifeedsci.2019.114226

Rodríguez C, Saborido N, Ródenas J, Polo J (2016) Effects of spray-dried animal plasma on food intake and apparent nutrient digestibility by cats when added to a wet pet food recipe. **Animal Feed Science and Technology** 216:243–250. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.03.026

Rokey JG (1994) Petfood and fishfood extrusion. In N. D. Frame (Ed.) **The technology of extrusion cooking**, London: Blackie Academic & Professional.

Rokey JG (2000) Single-screw extruders. In M. R. Riaz (Ed.) **Extruders in food applications**, Lancaster: Technomic Publishing.

Rosentrater KA, Evers AD (2017) Wet milling: separating starch, gluten (protein) and fibre. In: Rosentrater KA, Evers AD (5th Ed.) **Kent's technology of cereals: an introduction for students of food science and agriculture** (5th Ed.) Oxford: Woodhead Publishing.

Rostagno HS (2011) Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa p. 252.

Sá FC, Vasconcellos RS, Brunetto MA, Filho FOR, Gomes MOS, Carciofi AC (2013) Enzyme use in *kibble* diets formulated with wheat bran for dogs: Effects on processing and digestibility. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 97:51–59.

Salaun F, Blanchard G, Le Paih L, Roberti F, Niceron C (2017) Impact of macronutrient composition and palatability in wet diets on food selection in cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 101: 320-328.

Souza DF (2013) **Soja crua em dietas extrusadas para gatos**. 81 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Unesp, Jaboticabal.

Su B, Martens P (2018) Environmental impacts of food consumption by companion dogs and cats in Japan. **Ecological Indicators** 93:1043-1049.

Su B, Martens P, Enders-Slegers MA (2018) neglected predictor of environmental damage: The ecological paw print and carbon emissions of food consumption by companion dogs and cats in China. **Journal of Cleaner Production** 194:1-11.

Swanson KS, Carter RA, Yount TP, Aretz J, Buff PR (2013) Nutritional sustainability of pet foods. **Advances in Nutrition** 4:141–150.

Swanson KS, Grieshop CM, Flickinger EA, Bauer LL, Healy HP, Dawson KA, Merchen NR, Fahey Jr GC (2002) Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. **The Journal of Nutrition** 132: 980-989.

Thrane M, Paulsen PV, Orcutt MW, Krieger TM (2017) Soy Protein: Impacts, production and applications. In: Nadathur SR, Wanasundara JPD, Scanlin L (Ed.) **Sustainable protein sources**. Academic Press

Tilman D, Balzer, C, Hill, J, Befort, BI (2011) Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the national academy of sciences** 108: 20260-20264.

Vale SR, Glória MBA (1997) Determination of biogenic amines in cheese. **Journal of AOAC International** 80: 1006-1012.

Venturini KS, Sarcinelli MF, Baller MA, Putarov TC, Malheiros EB, Carciofi AC (2018) Processing traits and digestibility of extruded dog foods with soy protein concentrate. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 102:1077–1087.

Vieira PF (1980) **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 98 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Wael MK (2012) Clinical Survey and Selection of Therapeutic Approach for Emergent Feline Urological Syndrome. **Life Science Journal** 9: 151-156.

Wellman ML, DiBartola SP, Kohn CW (2012) Applied physiology of body fluids in dogs and cats. In: DiBartola SP (4th ed.) **Fluid, electrolyte and acid-base disorders in small animal practice**. Missouri: Elsevier Saunders.

Wieser H (2007) Chemistry of gluten proteins. **Food Microbiology** 24:115–119.

Yamka RM, Harmon DL, Schoenherr WD, Khoo C, Gross KL, Davidson SJ, Joshi DK (2006) In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Research** 67:88–94.

Yamka RM, Jamikorn U, True AD, Harmon DL (2003) Evaluation of soyabean meal as a protein source in canine foods. **Animal Feed Science and Technology** 109:121–132.

Yamka RM, Kitts SE, True AD, Harmon DL (2004) Evaluation of maize gluten meal as a protein source in canine foods. **Animal Feed Science and Technology** 116:239–248.

Zafalon RVA, Risolia LW, Vendramini THA, Rodrigues RBA, Pedrinelli V, Teixeira FA, Rentas MF, Perini MP, Alvarenga IC, Brunetto MA (2020) Nutritional inadequacies in commercial vegan foods for dogs and cats. **PLoS One** 15:1–17.

Zaghini G, Biagi G (2005) Nutritional peculiarities and diet palatability in the cat. **Veterinary Research Communications** 29: 39-44.

Zanoto DL, Bellaver C (1996) Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Comunicado Técnico, EMBRAPA.

Zarei A, Mohammadi M, Hemmati B (2014) Metabolizable energy and chemical composition of poultry by-product meal. **Iranian Journal of Applied Animal Science** 4:849–853.

Zentek J, Marquart B, Pietrzak T, Ballèvre B, Rochat F (2003) Dietary effects on bifidobacteria and *Clostridium perfringens* in the canine intestinal tract. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 87: 397–407.

ZENTEK J, SCHULZ A (2004) Urinary composition of cats affected by the source of dietary protein. **Journal of Nutrition** 134: 2162-2165.

Zoran DL (2002) The carnivore connection to nutrition in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 221:1559–1567.