

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FARINHA DE VÍSCERAS HIDROLISADA EM DIETAS
EXTRUSADAS PARA GATOS**

**Lucas Bassi Scarpim
Biólogo**

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FARINHA DE VÍSCERAS HIDROLISADA EM DIETAS
EXTRUSADAS PARA GATOS**

Lucas Bassi Scarpim

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp,
Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Zootecnia**

S286f Scarpim, Lucas Bassi
Farinha de vísceras hidrolisada em dietas extrusadas para
gatos / Lucas Bassi Scarpim. -- Jaboticabal, 2021
64 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Jaboticabal

Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

1. Hidrolisados de proteína. 2. Processo de extrusão. 3.
Ácidos graxos. 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.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: FARINHA DE VÍSCERAS HIDROLISADA EM DIETAS EXTRUSADAS PARA GATOS

AUTOR: LUCAS BASSI SCARPIM

ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

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

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

Profa. Dra. THAILA CRISTINA PUTAROV (Participação Virtual)
Universidade Brasil/Campus Descalvado. / Descalvado/SP

Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 29 de setembro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Lucas Bassi Scarpim, nascido em 30 de abril de 1994, na cidade de Araraquara – SP, ingressou no curso de Ciências Biológicas da Faculdade de Educação São Luís, Jaboticabal -SP, graduando-se em dezembro de 2018. Atualmente é aluno de mestrado no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais “Prof. Dr. Flávio Prada” na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Jaboticabal na área de nutrição de cães e gatos, pelo programa de Zootecnia, sob orientação do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi.

“Lembre-se que as pessoas podem tirar tudo de você, menos o seu conhecimento.”

Albert Einstein

*A minha família pelo apoio e amor incondicional.
Aos grandes companheiros que me auxiliaram durante essa jornada.
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS por ter me dado o dom da vida e me guiar a boas escolhas e caminhos corretos.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal, por toda infraestrutura fornecida para elaboração dessa tese.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, que ofereceu todo suporte científico e administrativo necessários para conclusão dessa tese, em especial aos professores, que tanto contribuíram para minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo apoio para realização do presente trabalho

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, muito obrigado por acreditar no meu potencial, pela confiança, pelo apoio em todos os momentos e muito obrigado por sempre proporcionar oportunidades para meu crescimento profissional e pessoal.

Aos animais do laboratório, pelo carinho e momentos de alegria que me proporcionaram em especial a Filó, Charlie, Chopp, Tico, Luana, Lady, Nina, Vampiro, Kate, Gin, Coquetel, Ice, Tequila, Pitica, George, Milk, Lennon e Tina vocês foram fundamentais para que esse projeto acontecesse.

A minha mãe Adriana e meu pai Donizeti, por serem um exemplo em minha vida, por sempre acreditarem e apostarem em mim. Agradeço imensamente todo o esforço que fizeram para que eu me tornasse a pessoa que sou hoje. Agradeço todos os dias por terem cobrado esforço e dedicação e me ensinando que com esforço conseguimos chegar longe. Hoje essa dissertação que estou entregando é na realidade o resultado do amor de vocês por mim, amo vocês.

Agradeço a minha irmã Leticia, por estar sempre disposta a me ajudar com tudo. Sendo um exemplo de dedicação, perseverança, cuidado, esforço e respeito. Te amo irmãzinha querida.

Agradeço aos meus avós por sempre auxiliarem meus pais na minha criação, nunca medindo esforços para cuidar de mim, muito obrigado!

A minha companheira Alini, por acreditar em mim, me auxiliar em tudo e ser o meu porto seguro. Agradeço a Deus por ter te colocado em minha vida, obrigado por estar sempre ao meu lado. Amo você!

A minha grande amiga Thaila Putarov, por sempre acreditar em meu potencial e ser um exemplo profissionalmente e como pessoa. Obrigado por sempre insistir que eu iniciasse no mestrado, parte desta conquista não aconteceria sem seu auxílio, não sei como agradecer todas as dúvidas respondidas, correções, aulas de inglês e todo o tempo que disponibilizou para me ensinar, sempre me motivando a ir mais longe. Muito Obrigado!

Aos meus eternos amigos e companheiros de trabalho Hélio (*In memorian*) e Batista (*In memorian*), obrigado por sempre terem tido paciência comigo, por terem me recebido de braços abertos e por me ensinarem que todo o esforço é válido. Nunca esquecerei de quando estava em semana de prova e trabalhos e vocês faziam as refeições sozinhos, e sempre falavam “essa semana você só vai estudar e não aceito nota menor que 8”, “Pode ficar tranquilo Lucas, vai fazer tudo o que você precisa e deixa o resto com a gente”. Nossos momentos de conversas e risadas sempre estarão guardados no meu coração, sinto saudades, meus grandes e eternos amigos.

A meu amigo e sempre parceiro de trabalho Edson Cunha, muito obrigado por me ensinar a valorizar o trabalho, por me auxiliar no processamento das minhas refeições e por me ensinar que vencer sempre é possível.

Aos funcionários do laboratório de Nutrição de Cães e Gatos, Kelly, Diego, Elaine e Cláudia, por me auxiliarem em meu experimento, por toda paciência e ensinamento, pelos momentos de apoio, pelos sorrisos, pelas conversas e cafés. Muito obrigado!

A Daniela Gomes da Silva por me auxiliar e me ensinar sempre com muito carinho e paciência.

Aos meus amigos Laboratório, pelas oportunidades, ensinamentos, conversas e pelas alegrias.

Aos professores da Unesp de Jaboticabal que ajudaram a formar os resultados desse trabalho.

A BRF Ingredients por ter financiado meu experimento.

A Affinity Pet Care, Campinas, pelo financiamento do Laboratório de Pesquisas em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”.

A Manzoni Industrial Ltda pela doação da extrusora na qual este experimento foi realizado.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	xii
ADENDO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT -	xv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. História do uso das rações na alimentação dos animais de estimação	2
2.2. Mercado <i>pet</i> atual.....	3
2.3. Tipos de alimentos para cães e gatos	3
2.4. Principais fontes de proteína na alimentação dos animais de companhia.....	4
2.5. Necessidade proteica de gatos	5
2.6. Características da farinha de vísceras de frango.....	6
2.7. Processamento da farinha de vísceras de frango	7
2.8. Hidrolisado proteico.....	9
2.9. Processo de extrusão	11
2.10. Etapas do processo de extrusão.....	12
2.11. Efeito da extrusão sobre as proteínas.....	13
3. HIPÓTESE	15
4.OBJETIVO.....	15
5. REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO 2 –Hydrolyzed poultry by-product meal in extruded diets for cats ¹	24
1. Introduction.....	27
2. Material and Methods.....	28
3. Results	37
4. Discussion	43
5. Conclusion.....	47
6. References	47
CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"

CÂMPUS DE JABOTICABAL

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“Farinha de vísceras hidrolisada como fonte de proteína e seus efeitos no processo de extrusão, digestibilidade, características fecais e palatabilidade em ração para gatos”**, protocolo nº 3401/20, 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 23 de junho de 2020.

Vigência do Projeto	24/06/2020 a 31/07/2020
Espécie / Linhagem	Felinos /SRD
Nº de animais	24
Peso / Idade	4,5 Kg / 8 anos
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”

Jaboticabal, 23 de junho de 2020.


Profª Drª Fabiana Pilarski
 Coordenadora – CEUA

ADENDO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DECLARAÇÃO

Declaramos que o trabalho de pesquisa intitulado “Farinha de vísceras hidrolisada como fonte de proteína e seus efeitos no processo de extrusão, digestibilidade, características fecais e palatabilidade em ração para gatos”, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi e Certificado CEUA protocolo nº 3401/2020, aprovado em reunião ordinária em 23 de junho de 2020, teve o número de animais alterado de 24 para 30 gatos adultos e o seu título alterado para “Inclusão de farinha de vísceras hidrolisada em dietas extrusadas para gatos”.

Solicitação aprovada em reunião ordinária de 13 de maio de 2021

Jaboticabal, 13 de maio de 2021.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Paola Moraes", is written over a light blue geometric background.

Profa. Dra. Paola Castro Moraes
Vice-Coordenadora – CEUA

FARINHA DE VÍSCERAS HIDROLISADA EM DIETAS EXTRUSADAS PARA GATOS

RESUMO - A demanda por nutrição de alta qualidade para cães e gatos faz com que a indústria *pet food* busque por novos ingredientes para atender a esse mercado cada vez mais exigente. Os gatos, por serem considerados carnívoros restritos, possuem maior exigência proteica em relação aos demais mamíferos onívoros. Com isso, as fontes proteicas de origem animal são as mais utilizadas em formulações *pet*, por apresentarem boa digestibilidade, palatabilidade e disponibilidade comercial. Dentre as matérias primas de origem animal, a farinha de vísceras de frango é a mais utilizada em dietas para cães e gatos. Os hidrolisados proteicos vêm ganhando espaço em formulações *pet* devido a seu alto teor proteico, alta digestibilidade e presença de peptídeos bioativos. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da substituição da farinha de vísceras de frango convencional por farinhas de vísceras de frango hidrolisada como fonte proteica em dietas para gatos, avaliando seus efeitos sobre a digestibilidade aparente de nutrientes e da energia, características das fezes e produtos de fermentação microbiana, balanço de nitrogênio e metabolismo de uréia de gatos. Foram utilizados 30 gatos com $4,18 \pm 0,86$ kg e $4,17 \pm 1,38$ anos, distribuídos em cinco tratamentos experimentais: Controle (CO, a base de farinha de vísceras de frango convencional) e quatro níveis de inclusão de farinha de vísceras de frango hidrolisada (FVH): 5%, 10%, 20% e 30%. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando detectadas diferenças no teste F, os efeitos foram comparados por contrastes polinomiais ($P < 0,05$) de acordo com a inclusão de FVH. Durante o estudo, não houve episódios de recusa, vômito ou diarreia. A ingestão, digestibilidade aparente dos nutrientes, balanço de nitrogênio e energia metabolizável foi semelhante entre os tratamentos ($P > 0,05$). A inclusão de 30% de farinha de vísceras hidrolisada resultou em menor gelatinização do amido, aproximadamente 21% menor em comparação a dieta CO, mas não afetou a digestibilidade dos nutrientes do alimento. As fezes produzidas pelos gatos apresentaram escore $3,9 \pm 0,02$ não diferindo entre os tratamentos. A concentração de amônia fecal foi semelhante entre os tratamentos ($P > 0,05$). A inclusão de FVH aumentou de modo quadrático as concentrações de ácido graxo isobutírico, isovalérico, valérico e do total de ácidos graxos de cadeia ramificada, com aumento linear da concentração de lactato ($P < 0,05$). Os dados de volume, pH e densidade urinários, bem como a excreção renal de uréia foram similares entre os tratamentos ($P > 0,05$). A inclusão de até 30% de FVH é segura quanto aos parâmetros avaliados e pode ser considerada em formulações *pet food* sem afetar a digestibilidade dos nutrientes e características das fezes e urina dos gatos.

Palavras-chave: ácidos graxos de cadeia ramificada, digestibilidade, balanço de nitrogênio, proteína hidrolisada

HYDROLYZED POULTRY BY-PRODUCT MEAL IN EXTRUDED DIETS FOR CATS

ABSTRACT - The demand for high quality *pet food* has driven the industry to search for new ingredients, with superior quality. Cats, as strict carnivores, have high protein requirements in comparison to omnivorous mammals. Due to this, animal protein sources are the most used in pet food formulations because of their high digestibility, palatability and commercial availability. Among these ingredients, poultry by-product meal is the most used protein source for cats and dog foods. In the recent years the interest on hydrolyzed proteins have been risen, due to their high protein content, elevated digestibility and presence of bioactive peptides. The aim of the present study was to evaluate the effects of the substitution of conventional poultry by-product meal by hydrolyzed poultry by-product meal as a protein source for cat diets, studying its effects on the total tract apparent digestibility of nutrients and energy, fecal characteristics and microbial fermentation products, nitrogen balance and urea metabolism of cats. Thirty cats with 4.18 ± 0.86 kg and 4.17 ± 1.38 years old were distributed in five experimental treatments: Control (CO, based on conventional poultry by-product meal) and four inclusion levels of hydrolyzed poultry by-product meal (HPBM) 5%, 10%, 20% and 30%. Data were submitted to analysis of variance, and when differences were detected by the F test, the effects were compared using polynomial contrasts according to HPBM inclusion level ($P < 0.05$). During the study no episodes of food refusal, vomiting or diarrhea were observed. Nutrient intake, apparent digestibility of nutrients, nitrogen balance and the metabolizable energy did not differ among treatments ($P > 0.05$). The inclusion of 30% HPBM reduced starch gelatinization approximately 21% in relation to CO diet, but it did not affect nutrient digestibility. The feces produced by the cats presented score $3,9 \pm 0,02$ did not differing among treatments. The ammonia concentration was similar on cat feces for all treatments ($P > 0.05$). The HPBM inclusion resulted in a quadratic increase on isobutyric, isovaleric, valeric, and total branched-chain fatty acids, and a linear increase in lactate fecal concentrations ($P < 0.05$). Urine volume, pH, density and urea renal excretion were similar among treatments ($P > 0.05$). Considering the evaluated parameters, the inclusion up to 30% of hydrolyzed poultry by-product meal is safe and could be considered in *pet food* formulations without interfering on nutrient digestibility and feces and urine characteristics of cats.

Key words: branched-chain fatty acids, digestibility, hydrolyzed protein, nitrogen balance.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A população atual de animais de estimação no Brasil é de aproximadamente 141,6 milhões, estes números fazem com que o país ocupe o quarto lugar no faturamento mundial do mercado *pet* (Abinpet, 2019). Os animais de companhia desempenham papel importante na qualidade de vida de seus proprietários, sendo o vínculo entre homem e animal fator determinante para impulsionar crescentes mudanças no setor *pet*, principalmente em relação a qualidade e segurança de seus alimentos (Borges et al., 2003; Gazzotti et al., 2015). Diante da constante pauta sobre a nutrição adequada para cães e gatos, o alimento que antes era fornecido com o intuito de saciar o animal, hoje é ofertado como dieta balanceada capaz de suprir as necessidades nutricionais e fisiológicas do animal (Brasil, 2009).

Os gatos, por serem considerados carnívoros restritos e apresentarem em seu metabolismo gliconeogênese constante, possuem maior exigência proteica em relação aos demais mamíferos onívoros. O teor proteico da dieta deve suprir a necessidade de aminoácidos essenciais, não essenciais e outros compostos nitrogenados, com isso, as fontes proteicas de origem animal são as mais utilizadas nas formulações de alimentos para gatos.

A farinha de vísceras de frango, dentre as matérias-primas de origem animal, é a mais utilizada em formulações para cães e gatos por apresentar quantidades adequadas de proteína, gordura e matéria mineral em sua composição além de um ótimo balanço de aminoácidos essenciais, boa palatabilidade e disponibilidade comercial (Kawauchi et al., 2014). Novos ingredientes e tecnologias vem sendo estudados e aplicados em formulações *pet* visando proporcionar ingredientes de alta qualidade nutricional e diferentes funções biológicas.

A farinha de vísceras de frango hidrolisada é um ingrediente novo, obtido pela hidrólise enzimática de vísceras, miúdos e carne de frango desossada. O processo de hidrólise libera peptídeos de diferentes tamanhos (poli, tri e dipeptídeos) e aminoácidos livres, resultando em produto que apresenta elevada digestibilidade,

baixo peso molecular e presença de peptídeos bioativos (Hou et al., 2017). Os hidrolisados proteicos apresentam diferentes funções biológicas como atividade antioxidante e antimicrobiana, controle da pressão arterial e ampla aplicação em dietas hipoalergênicas (Saadi et al., 2015; Hou et al., 2017; Zóia Miltenburg et al., 2021). No entanto, estudos relacionados a inclusão de hidrolisados proteicos em dietas para gatos ainda são muito escassos.

Desta forma, esta dissertação teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão de farinha de vísceras de aves hidrolisada em substituição de farinha de vísceras de aves convencional como fonte proteica, estudando seus efeitos sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes e da energia, características, formação e produtos de fermentação microbiana nas fezes, balanço de nitrogênio e metabolismo de uréia de gatos alimentados com ração extrusada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. História do uso das rações na alimentação dos animais de estimação

A interação entre seres humanos e animais de estimação ocorre há séculos e desenhos antigos em paredes de cavernas demonstram que os animais já faziam parte do grupo de convívio dos seres humanos (Dotti, 2014). Antes da domesticação, a alimentação dos animais era baseada em restos de carne crua e sobras da alimentação humana. O primeiro alimento comercial destinado para alimentação de cães foi criado por James Spratt em 1860; um produto feito à base de farinha, carne e vegetais que ficou conhecido como biscoitos Spratt (Cowell et al., 2000; Case et al., 2011).

No ano de 1922 a primeira comida enlatada autoclavada foi produzida nos Estados Unidos da América (EUA), pelos irmãos Chappel e Rockford. Em 1957, a primeira ração seca extrusada foi lançada pela Purina Dog Chow, tornando-se a ração mais vendida nos EUA (Case et al., 1998; Addleman, 2005). As rações semiúmidas foram lançadas logo em seguida, em 1960 (Mathias, 2009). Entre as décadas de 1960 e 1970 teve início a fabricação de rações específicas para a idade e o estágio

fisiológico dos animais de estimação, mas somente a partir de 1996 é que houve uma grande evolução das dietas para cães e gatos (Case et al., 2011).

Mais recentemente, as indústrias começaram a modificar as rações comerciais de acordo com as exigências e expectativas dos proprietários, o que impulsionou o surgimento de novas empresas no ramo *pet food* e contribuiu para grande diversificação de produtos, criação de abordagens nutricionais específicas, ampliação do uso de ingredientes e diferenciação de princípios técnicos, éticos e estratégias de marketing (Kelly, 2012).

2.2. Mercado *pet* atual

Atualmente o Brasil possui uma população de 141,6 milhões de animais de estimação. Desse montante, os gatos representam 17,44% dos animais. Entre os anos de 2018 e 2019 a população de felinos domésticos teve crescimento de 3%, ficando atrás apenas do número de répteis e de pequenos mamíferos que tiveram crescimento de 4% (ABINPET, 2019).

Nesse período, o mercado *pet food* brasileiro teve crescimento de 8,4% e faturamento de 16,3 bilhões, somente no ano de 2019. O volume produzido de alimentos *pet food* apresentou crescimento de 3,9% em relação ao ano de 2018, passando de 2,74 para 2,85 milhões de toneladas. O Brasil ocupa a 4ª colocação no ranking mundial de faturamento do mercado de produtos *pet*. Em 2019, o valor de exportações foi de 295 milhões de dólares, valor 13% maior quando comparado com o ano de 2018 (ABINPET, 2019). As importações também tiveram crescimento significativo em relação ao ano de 2018, passando de 7,5 para 8,7 milhões de dólares em 2019, crescimento acumulado de 16% (ABINPET, 2019).

2.3. Tipos de alimentos para cães e gatos

Os alimentos necessitam ser balanceados para suprir as necessidades fisiológicas dos animais (BRASIL, 2009). No Brasil, o setor de alimentação de cães e gatos passou a ser regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento – MAPA, que estabelece as boas práticas de fabricação, obrigatoriedade e procedimentos de registro dos produtos e empresas que atuam em alimentação *pet*.

A classificação dos alimentos comerciais para cães e gatos é mais relacionada ao mercado que a nutrição e não garantem necessariamente melhor nutrição final dos animais. As empresas *pet food* levam em consideração alguns fatores como digestibilidade dos componentes, quantidade de proteína bruta, valor nutricional, seleção de ingredientes, preço por tonelada e embalagem para a classificação de seus alimentos comerciais, porém não existe uma legislação ligada a classificação dos alimentos comerciais. Os felinos são mais exigentes que cães quanto inclusão proteica em suas dietas, uma vez que os gatos são classificados como carnívoros estritos e possuem maior necessidade de vitamina B6, aminoácidos como: taurina, niacina e arginina, e ácidos graxos essenciais como o ácido araquidônico, além de apresentarem menor capacidade digestiva com implicações na seleção de matérias primas e processamento das rações (Carciofi, 2008a; Bernasconi, 2009;).

Quanto ao processamento, as rações são classificadas em secas, úmidas e semiúmidas (Case et al., 2011). Os alimentos secos possuem entre 6 a 12% de umidade, os alimentos semiúmidos, 15 a 30% e os úmidos, 72 a 85% de umidade (Case et al., 2007; Wortinger, 2009). As dietas secas possuem maior teor de nutrientes e energia quando comparadas com as úmidas e as semiúmidas e a sua densidade calórica varia de 3.000 a 4.500 kcal de EM/kg. As dietas destinadas aos gatos possuem maior densidade calórica quando comparada às dietas para cães. Quando devidamente embaladas e alojadas, as dietas secas possuem uma vida de prateleira de 12 a 18 meses devido à baixa umidade e a adição de antioxidantes, acidificantes e antifúngicos no seu processo de fabricação (Case et al., 2007; Wortinger, 2009; Carciofi e Jeremias, 2010). Os alimentos semiúmidos e úmidos são mais palatáveis em relação aos alimentos secos e seus métodos de conservação estão baseados no uso de umectantes, sais, glicerol, antioxidantes, baixo pH e antifúngico e processos industriais que aplicam altas temperaturas e pressão, visando maior vida de prateleira e a destruição ou inativação de bactérias patogênicas (Case et. Al., 1997).

2.4. Principais fontes de proteína na alimentação dos animais de companhia

As fontes de proteína utilizadas na fabricação das rações comerciais são usualmente classificadas em dois grupos: de origem animal e de origem vegetal. O grupo de fontes de proteínas de origem animal é composto por produtos e subprodutos frescos ou processados, como frango, carne mecanicamente separada, vísceras como fígado, rins, pulmão, ovo em pó, leite em pó, farinha de carne e ossos, farinha de vísceras de frango, farinha de vísceras de frango hidrolisada, farinha de peixes, farinha de carne e ossos de ovinos, plasma suíno ou bovino, proteína de suínos, dentre outros. Os produtos e subprodutos que compõem o grupo classificado como de origem vegetal mais comumente utilizados são: farelo de soja, glúten de milho, glúten de trigo, proteína concentrada de soja, entre outros (Seixas et al., 2003; Case et al., 2008; ABINPET, 2019).

As proteínas de origem vegetal possuem menor variação de composição química em relação às fontes de origem animal, mas alguns fatores antinutricionais, como lectinas, fitato e tanino, podem afetar negativamente a disponibilidade de seus nutrientes para monogástricos. Quando submetidos a tratamentos térmicos e industriais como: extrusão, cozimento, esterilização entre outros, os ingredientes de origem vegetal apresentam melhora da qualidade da matéria-prima e redução ou inativação de alguns desses fatores antinutricionais (Seixas et al., 2003; Bednar, 2008; Carciofi, 2008).

As proteínas de origem animal apresentam grande variabilidade na composição química e qualidade nutricional; essa variabilidade está relacionada à qualidade da matéria-prima, ao processamento a que são submetidas e ao conteúdo de cinzas, que podem causar a redução da digestibilidade do alimento (Carciofi, 2008). Para Aldrich (2009), as carnes frescas seriam a matéria-prima ideal para cães e gatos, mas os diversos fatores relacionados à sua aplicabilidade prejudicam a sua utilização nas dietas. Portanto, o conhecimento dos ingredientes proteicos e a sua aplicabilidade, de acordo com o resultado desejado, torna-se necessário para a definição das melhores matérias primas na formulação das dietas para os animais de companhia (Bellaver, 2001).

2.5. Necessidade proteica de gatos

As proteínas são compostos orgânicos formados por unidades denominadas aminoácidos. Estes, por sua vez, são constituídos principalmente por nitrogênio, carbono, hidrogênio e oxigênio, podendo ainda apresentar enxofre. As proteínas apresentam diversas funções no organismo animal, destacando sua participação nas estruturas celulares e dos tecidos, importante função no sistema imunológico participando da formação dos anticorpos, constituintes de enzimas, dentre outros (Nelson e Cox, 2014).

Por serem considerados carnívoros restritos, os gatos domésticos possuem maior necessidade proteica quando comparado com os mamíferos onívoros (Piechota et al., 1995; NRC, 2006). Esta maior necessidade pode ser explicada por fatores metabólicos particulares desta espécie, que possui elevada necessidade de nitrogênio para manutenção, dependem dos aminoácidos para glicogênese, apresentam limitações na regulação de enzimas catabólicas do metabolismo de aminoácidos, não sintetizam niacina a partir do triptofano e a inabilidade de converter cisteína em taurina (MacDonald 1984; Roger e Morris, 1984; Eisert, 2011)

Uma dieta adequada deve fornecer, então, a quantidade proteica necessária para suprir a necessidade de aminoácidos essenciais, não essenciais e outros compostos nitrogenados. Estas necessidades comumente são atendidas nas dietas através da inclusão de proteínas intactas (Peachey et al., 1999; Case et al., 2011)

2.6. Características da farinha de vísceras de frango

As graxarias ou recicladoras são empresas responsáveis pelo processamento de subprodutos e resíduos oriundos de abatedouros e frigoríficos, incluindo sangue, material ósseo, materiais cárneos e penas, usados na fabricação das farinhas de origem animal que são amplamente utilizadas na nutrição animal (Basso, 1994; Ferrolí, 1999).

A farinha de vísceras de aves é composta por vísceras, cabeças, pés, pele e gordura visceral, porém não deve conter penas e resíduos de incubatório, como casca de ovos (AAFCO, 2017; Bellaver, 2002b; Bellaver, 2005; Silva, 2012; Alvarez et al., 2015; Brandelli et al., 2015). Estas matérias primas são submetidas a processos de

cocção, fritura, extração de óleo e moagem, obtendo-se a farinha de vísceras de aves. A farinha de víscera comumente conhecida como “low ash” possui baixo teor de matéria mineral em sua composição de 6 a 11% e é obtida pela não inclusão de resíduos de carne mecanicamente separada e outros materiais ósseos, como pés e cabeças na sua produção (SINDIRAÇÕES, 2009; AAFCO, 2017).

A farinha de vísceras de frango caracteriza-se por ser a fonte de proteína mais comumente utilizada nas dietas para cães e gatos, porém sua composição e digestibilidade apresentam grandes variações (Han e Parsons, 1990; Johnson et al., 1998, Dozier et al., 2003). Constantemente, a indústria de alimentos para animais de companhia tem buscado farinhas com padrões de qualidade elevados, favorecendo assim a segmentação do mercado (Johnson et al., 1998; Dozier et al., 2003; Carciofi, 2008; Kawauchi, 2012). Após avaliar amostras de farinhas de vísceras de aves na região sudeste dos EUA, Dozier et al. (2003) observaram que o teor de proteína bruta variou de 63% a 69%, o teor de extrato etéreo variou de 10,9% a 15,1% e o teor de matéria mineral de 10,7% a 18,5%. Crammer et al. (2007), ao avaliarem diferentes fontes proteicas de origem animal, verificaram que a farinha de vísceras “low ash” apresentou teor médio de matéria seca de 954 g/kg e valores de 719 g/kg de proteína bruta, 149 g/kg de extrato etéreo e 111g/kg de matéria mineral. Também observaram valores de 726 g/kg de proteína bruta, 129 g/kg de extrato etéreo e 125 g/kg de matéria mineral na farinha de vísceras convencional com valores expressos em teor de matéria seca de 951 g/kg. Em estudo sobre a composição química da FVF comercializada no Estado de São Paulo foi verificado 952±13,5 g/kg de matéria seca, 797±26,3 g/kg de matéria orgânica, 637±35,7 g/kg de proteína bruta, 123±27,7 g de colágeno/kg de proteína, 143±13,8 g/kg de extrato etéreo hidrólise ácida, 36,5±8,21 g/kg de cálcio, 23,7±4,25 g/kg de fósforo, 357±180,7 ppm de ferro e 20,70±0,87MJ/kg de energia bruta (Kawauchi, 2012).

2.7. Processamento da farinha de vísceras de frango

A obtenção da farinha de víscera de frango inicia-se com a coleta e a separação de resíduos que não são utilizados na alimentação humana, porém isentos de microrganismos patogênicos e materiais estranhos a sua composição, nos

abatedouros, açougues ou frigoríficos. Os estabelecimentos processadores de farinhas são classificados, de acordo com a via de transporte dos materiais coletados, em processadores interligados ou coletores. Em unidades consideradas interligadas, todo o conteúdo destinado à produção de farinha de vísceras de aves é direcionado rapidamente para a unidade processadora que está interligada ao frigorífico. Nas unidades coletoras, o material destinado ao processamento é carregado em caçambas e o transporte é realizado via caminhão, de forma contínua, à medida que as vísceras são produzidas. Indiferentemente do tipo de unidade processadora, todo o conteúdo que será processado é armazenado em silos denominados tolva e, muitas vezes, recebe aspensão de antioxidantes e ácidos orgânicos. (Ferroli, 1999; Ockerman e Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Bellaver, 2010).

O material armazenado na tolva é levado ao digestor para a realização do processo de cocção e fritura. A cocção é realizada em digestores com ou sem pressão e por tempo variado, de acordo com o método empregado. No início do cozimento pode ser feita a adição de óleo de vísceras (Ferroli, 1999; Ockerman e Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Bellaver, 2010). Obtido o ponto de fritura, que em muitos casos é feito de forma empírica e visual pelo operador, toda a massa envolta em óleo é retirada do digestor e enviada ao percolador. Este é composto por uma rosca que tem a função de realizar, de forma grosseira, a separação inicial da farinha e do óleo de vísceras. O óleo é então separado do resíduo cárneo por meio de prensagem, centrifugação ou drenagem. O resíduo sólido seco é moído na forma de farinha, sendo permitida a inclusão de quantidades variáveis de ossos (Figura 1). Visando a obtenção de farinha com textura e granulometria adequadas, a farinha não deve apresentar retenção em peneira de (3,36 mm), a taxa de retenção máxima em peneira (2,38 mm) deve ser de 3 % e a taxa de retenção máxima em peneira (1,68 mm) deve ser de 10% (Ferroli, 1999; Ockerman e Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Bellaver, 2002a; Bellaver, 2010). Assim, pelo processo se obtém duas matérias primas importantes, como fonte de proteína a farinha de vísceras de frango e como fonte de gordura o óleo de frango, também largamente empregado nas formulações para gatos.

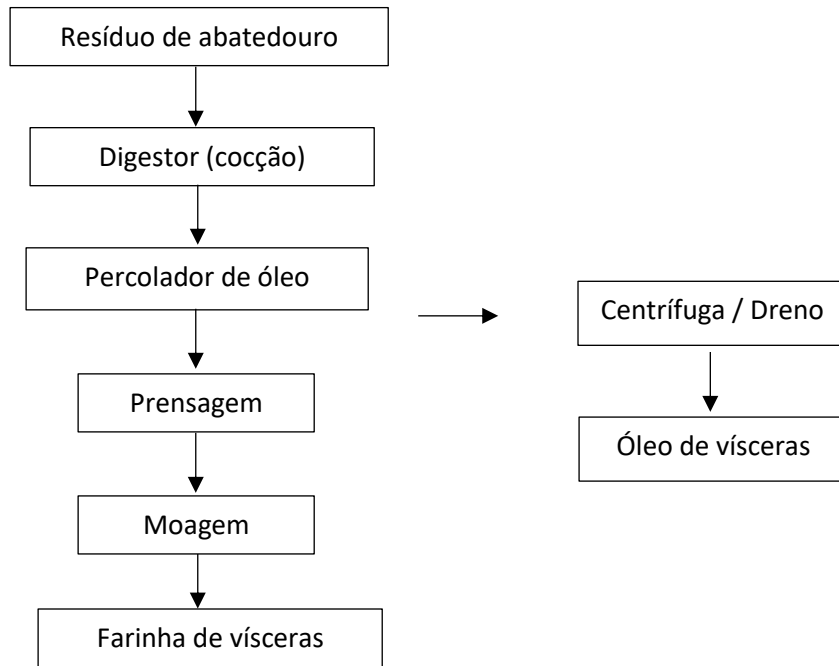


Figura 1. Fluxograma do processo de obtenção de farinha de vísceras de aves. Adaptado de ABINPET (2017).

2.8. Hidrolisado proteico

Os hidrolisados proteicos tiveram seu início de produção nos anos 40 e são aplicados para várias finalidades como: proteínas hipoalergênicas, palatilizantes, (Oetterer, 2001). Os hidrolisados proteicos apresentam elevada concentração de proteínas com bom valor nutricional, o que os tornam um produto diferenciado (Giese, 1994). A hidrólise da proteína é obtida por meio do processo de clivagem de suas ligações peptídicas, que pode ser realizada por três métodos: hidrólise ácida, alcalina e enzimática ou a combinação desses métodos. O método e o tempo de duração da hidrólise são determinados de acordo com a matéria-prima a ser processada, objetivos finais e aplicação pretendida para o produto (Figura 2). A clivagem da proteína libera peptídeos de diferentes tamanhos (poli, tri e dipeptídeos) e aminoácidos livres (Adler-Nissen, 1986; Abert e Kneifel, 1993; Frokjaer, 1994; Lahl e Braun, 1994; Saadi et al., 2015). O processo de hidrólise enzimática apresenta algumas vantagens em relação as demais hidrólises, como maior controle do processo e maior especificidade de ação (Zavareze et al., 2009; Lasekan et al., 2013;

Dieterich et al., 2014). O produto obtido após o processo de hidrólise possui baixo peso molecular, devido às cadeias curtas de aminoácidos, o que facilita sua digestão e sua passagem através da membrana intestinal dos animais (Aksnes et al., 2006; Wilson e Castro, 2010; Zheng et al., 2012; Sinhorini, 2013).

Os hidrolisados proteicos apresentam várias propriedades funcionais e, devido a essas características, se tornaram motivo de muitas pesquisas. Diversos trabalhos demonstraram distintas aplicações e funções biológicas para os hidrolisados proteicos, como flavorizantes, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana e melhora do sistema imunológico. Essas funções estão associadas à presença de peptídeos bioativos, de baixo peso molecular que são constituídos por conjunto de 2 a 20 aminoácidos (Weir, 1986; Bui et al., 2014; Dieterich, 2014; Khosravi et al., 2015; Martínéz-Alvarez et al., 2015; Saadi et al., 2015; Hou et al., 2017; Villamil et al., 2017).

Segundo Stanley (1981) e Pedersen (1994), o diferencial da utilização das proteínas hidrolisadas é seu alto conteúdo proteico, maior solubilidade em água, alta digestibilidade e maior tempo de prateleira, tornando-as, assim, promissoras para utilização na nutrição, tanto em finalidade terapêutica como na fabricação de produtos em geral. Como exemplo, indivíduos com problemas digestivos ou síndrome de má absorção e que receberam hidrolisados proteicos na dieta apresentaram maior eficiência de absorção quando comparadas a proteínas intactas (Frenhani e Burini, 1999).

Estudos recentes com gatos apontam quem a farinha de vísceras hidrolisada apresentou digestibilidade da proteína acima de 90% além de propriedades anti-hipertensivas devido a presença de peptídeos bioativos (Miltenburg et al., 2021). Em estudo com cães alimentados com dieta contendo hidrolisado de salmão a

digestibilidade da proteína foi superior a 80% (Tjernsbekk et al., 2017).

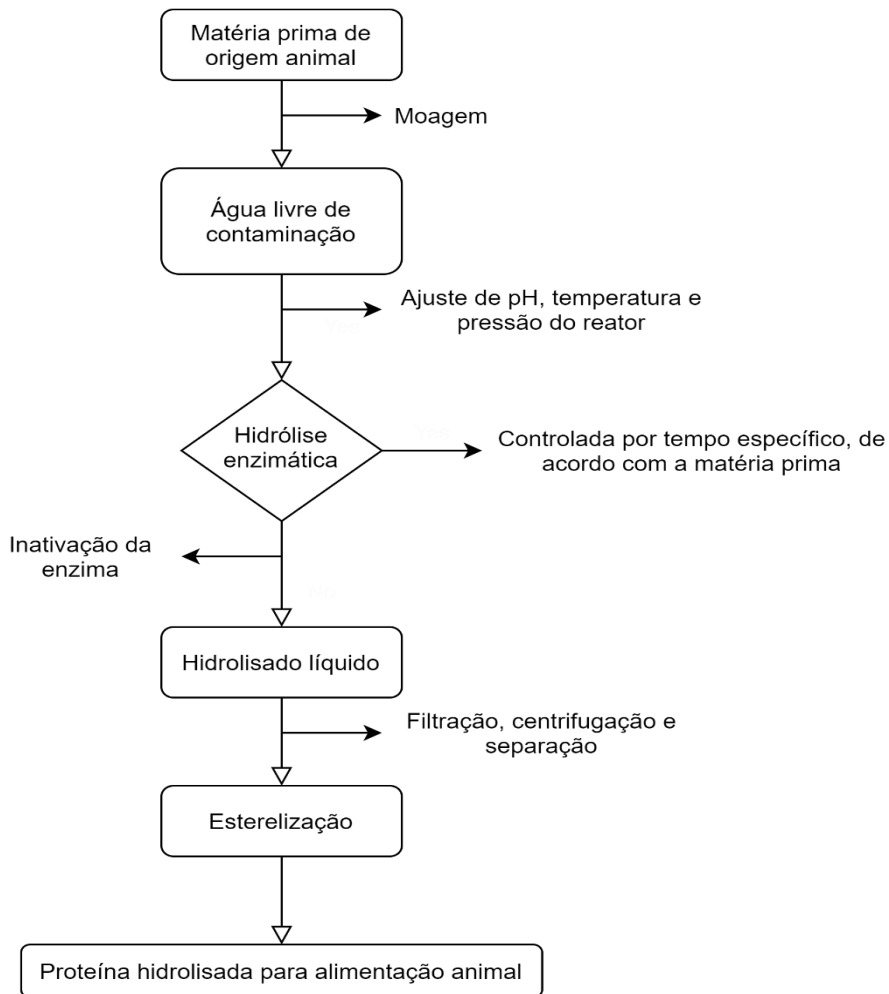


Figura 2. Processo de hidrólise enzimática de matéria-prima animal. Adaptado de Lasekan (2013) e Hou et al. (2017).

2.9. Processo de extrusão

O processo de extrusão é ferramenta altamente versátil e de alta produtividade que surgiu nos anos 40 (Correia et al., 2008). Este pode ser aplicado em diversos processos industriais, como na fabricação de polímeros termoplásticos e processos alimentícios, como na alimentação animal (Riaz, 2007).

A combinação de umidade, pressão, temperatura e cisalhamento gera transferência de energia térmica e mecânica, conferindo ao processo de extrusão a capacidade de cozinhar, formatar, sanitizar e texturizar uma massa homogênea de

ingredientes de forma rápida e contínua, sob baixa umidade relativa (Correia et al., 2008). Essas condições resultam em alterações físicas e químicas do produto final, proporcionando o elevada da produtividade e qualidade final, com baixos custos relativos de produção (Riaz, 2007).

2.10. Etapas do processo de extrusão

O processo de produção de alimentos para cães e gatos é composto por diversas etapas, sendo a primeira a moagem e mistura dos ingredientes. A redução das partículas e a mistura homogênea das matérias-primas são fundamentais para a obtenção de processo constante e uniforme (Moscicki, 2011b).

Após a moagem, a mistura homogeneizada segue uma sequência no processo de extrusão, sendo a etapa de condicionamento a subsequente ao processo de mistura e moagem. O equipamento onde é realizado o condicionamento da mistura a ser extrusada chama-se condicionador. Neste equipamento, adiciona-se energia térmica à massa, pela injeção direta de vapor e água. Outros líquidos também podem ser adicionados no condicionador, dependendo do processo a ser realizado. O condicionador é composto por eixos com barras cilíndricas, com pás dispostas radialmente que giram em velocidade variável, sendo responsável por homogeneizar a mistura e transformá-la em uma massa uniforme (Bazolli, 2007). Na etapa de condicionamento a adição de água e vapor tem por objetivo aumentar a umidade (que pode variar de 15% a 35%) e a temperatura da massa (que pode variar de 64°C a 99°C), favorecendo a hidratação dos grânulos de amido e plasticização da massa. Desta forma, a umidade e a temperatura auxiliam no aumento da estabilidade e produtividade da extrusora, cozimento do amido, texturização do produto e diminui o desgaste das peças da extrusora (Pacheco et al., 2018).

A etapa subsequente ao condicionamento é a etapa de extrusão propriamente dita. A massa sai do condicionador e vai para o canhão extrusor, podendo alcançar temperatura e pressão acima de 130°C e 40 bars, respectivamente. O canhão extrusor é composto por um sistema de rosca sem fim, podendo ser simples ou dupla, que gira em velocidade variável (Riaz, 2012). Para a produção de alimentos pets, as extrusoras de rosca simples são as mais utilizadas (Moscicki e Van Zuilichem, 2011).

A rosca extrusora é montada sobre um eixo que promove sua circunvolução. Desta maneira adiciona-se energia mecânica pela compressão e cisalhamento da massa contra seus componentes internos e matriz no final do tubo. Toda essa energia adicionada no condicionador e canhão extrusor torna possível, em poucos segundos e com baixo teor de umidade, o cozimento adequado do amido e a desnaturação das proteínas (Gibson e Alavi, 2013).

Por fim vem o sistema de corte, composto por facas que giram em rotação variável, localizado no final do canhão extrusor, após a matriz. O sistema de corte é responsável por cortar a massa para a formatação desejada dos kibbles. Os kibbles extrusados são submetidos, então, ao processo de secagem para reduzir a umidade para valores entre 5% e 12% e atividade de água abaixo de 0,6 com o objetivo de alcançar estabilidade microbiológica (Riaz, 2000).

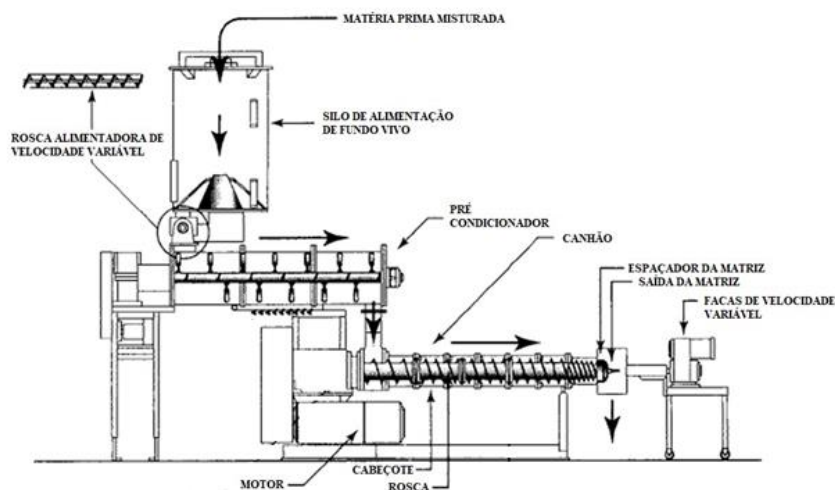


Figura 3. Componentes e fluxograma de uma extrusora de rosca simples. Adaptado de Riaz (2000).

2.11. Efeito da extrusão sobre as proteínas

O processo de extrusão pode apresentar tanto efeitos benéficos quanto prejudiciais aos ingredientes proteicos, dependendo da intensidade e energia total

aplicada. Um dos benefícios é a inativação de fatores antinutricionais proteicos. Esta inativação se dá pela desnaturação e destruição da integridade da estrutura das proteínas, evitando sua ação antinutricional (Van der Poel et al., 1990; Alonso et al., 2000). Outros benefícios, citados por Cheftel (1986) e Hendriks e Sritharan (2002), relativos à desnaturação das proteínas e as tornam mais suscetíveis às enzimas digestivas, aumentando a digestibilidade, e a inativação de enzimas que causam efeitos deteriorantes durante armazenagem, prolongando assim a vida de prateleira do alimento.

Reações indesejáveis às proteínas também podem ocorrer durante o tratamento termomecânico, podendo ocasionar danos às suas estruturas, levando à perda do valor nutricional. Dentre essas reações, estão incluídas a destruição de aminoácidos e uma série de reações químicas, tais como as de Maillard, de reticulação proteína-proteína e a formação de complexos proteína-lipídeo e proteína-carboidrato (Björck e Asp, 1983). Para minimizar os efeitos indesejáveis durante o processo de extrusão sobre as proteínas dos alimentos destinados aos animais, a temperatura do produto deve ser mantida abaixo de 180°C (Cheftel, 1986). Ainda, o teor de umidade da massa no canhão extrusor é importante, e maiores teores de umidade protegem as estruturas proteicas de cisalhamento excessivo, preservando sua qualidade nutricional (Baller et al., 2018)

As reações de Maillard foram primeiramente relatadas em 1912 por Louis Camille Maillard (Finot, 2005). Segundo Hodge (1953) esse conjunto de reações é classificado em 3 diferentes estágios. No primeiro estágio ocorre a formação de glicosaminas pela condensação da carbonila de um açúcar redutor com um grupamento amina proveniente de aminoácidos livres ou proteínas. Os aminoácidos mais reativos são lisina, arginina, triptofano e histidina, devido a seu grupamento amina estar livre em suas cadeias laterais. Os produtos formados nesta primeira etapa são conhecidos como produtos de Amadori. Estes não possuem cor, fluorescência ou absorção característica na região do ultravioleta. (Morales e van Boekel, 1997, Nursten, 2005; van Boekel, 2006).

Na segunda etapa estes produtos originam compostos dicarbonílicos, redutonas e derivados de furfural, podendo ainda apresentar produtos de degradação de aminoácidos (produtos de degradação de Strecker). Apresentam nesta fase ocorre

o desenvolvimento de fluorescência e de absorção no ultravioleta. Na última etapa ocorre a formação de melanoidinas a partir de reações de desidratação, fragmentação e polimerização, ocasionando o aumento da geração de compostos fluorescentes. Durante esta fase também são formados compostos voláteis como cetonas e aldeídos, conferindo odor característico aos produtos termicamente processados (Morales e van Boekel, 1997; van Boekel, 2006). Poucos estudos estão disponíveis para cães e gatos sobre as condições de extrusão que favorecem ou controlam a ocorrência destas reações, sobre os efeitos fisiológicos nos animais do consumo destes compostos e mesmo de suas implicações quanto ao valor proteico do alimento (van Rooijen et al., 2015; Gupta et al., 2018).

3. HIPÓTESE

A hipótese avaliada na presente pesquisa foi que os gatos alimentado com farinha de vísceras de frango hidrolisada apresentarão digestibilidade dos nutrientes e energia similar aos animais alimentados com a farinha de vísceras de aves convencional e adequada formação de fezes.

4.OBJETIVO

Os objetivos do presente estudo foram avaliar os efeitos da substituição de farinha de vísceras de aves convencional por farinha de vísceras de aves hidrolisada como fonte proteica para gatos, estudando seus efeitos sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes e da energia, características, formação e produtos de fermentação microbiana nas fezes, balanço de nitrogênio e metabolismo de uréia de gatos alimentados com rações extrusadas.

5. REFERÊNCIAS

AAFCO (2017) Association of American Feed Control Officials Official Publication.

Abert T, Kneifel W (1993) Physicochemical and functional properties of casein hydrolysates obtained by treatment with different enzymes. In: IDF (Inter. Dairy Fed.) Sem. Prot. Fat Glob Modif., p. 97-105.

ABINPET (2017) Manual Pet Food do Brasil. 9 ed. p.162-163.

ABINPET. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (2019) Caderno especial ABINPET. **Agro Analysis** 35:35–40.

Addleman R (2005) **The history of dog food**. Disponível em: <http://www.animalfixer.com/articles/historydogfood.html>. Acesso em: 03 mar 2021.

Adler-Nissen J (1986) Enzimic hydrolysis of food proteins. London: Elsevier Applied Science Publishers, 427p.

Aksnes A et al. (2006) Inclusion of size fractionated fish hydrolysate in high plant protein diets for Atlantic cod, *Gadus morhua*. **Aquaculture** 261:1102-1110.

Aldrich G (2009) USA poultry meal: quality issues and concerns in pet foods. Topeka: Pet Food & Ingredient Technology. Disponível em: <http://www.petfoodindustry.com/uploadedFiles/Petfood_Industry/Petfood_Industry_Articles/0811PETeditQuality.pdf>. Acesso em: 10/04/2021.

Alonso R, Aguirre A, Marzo F (2000) **Effects of extrusion and traditional processing methods on anti-nutrients and in-vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans**. Food Chemistry 68:159-165.

Alvarez MO, Chamorro S, Brenes A (2015) Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International** 73:204–212.

ANFALPET. ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO (2008) Manual do programa integrado de qualidade pet. 2.ed. São Paulo, 238p.

Baller MA, Pacheco PD, Peres FM, Monti M, Carciofi AC (2018). The effects of in-barrel moisture on extrusion parameters, kibble macrostructure, starch gelatinization, and palatability of a cat food. **Animal feed science and technology**, 246, 82-90.

Basso LJ (1994) Tratamento de águas residuárias. In: Abate e Processamento de Frangos. Coleção FACTA.

Bazolli RS (2007) **Influência do grau de moagem de ingredientes amiláceos utilizados em rações extrusadas sobre os aspectos digestivos e respostas metabólicas em cães.** 82 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Unesp, Jaboticabal.

Bednar GE, Murray SM, PATIL AR et al. (2000) Selected animal and plant protein sources affect nutrient digestibility and fecal characteristics of ileally cannulated dogs. **Archives of Animal Nutrition** 53:127-140.

Bell LN (1997) Peptide stability in solids and solutions. **Biotechnology Progress** 13:342-346.

BELLAYER, Claudio. Segurança dos alimentos e controle de qualidade no uso de ingredientes para a alimentação animal. In: Conferencia Virtual de Suínos e Aves. **Anais...** Santa Catarina: Snpsa: Embrapa. 2001. p. 1-10.

Bellaver C (2002) Resíduos industriais (farinhas, óleos e sebos), onde colocá-los frente às restrições de mercado? In: IV SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA INDUSTRIALIZAÇÃO DA CARNE. **Anais...** Chapecó: Mercoagro. Palestra

Bellaver C (2002b) Uso de resíduos de origem animal a alimentação de frangos de corte. In: IV III SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais...** Chapecó. Palestra.

Bellaver C (2010) Processamento de farinhas de origem animal e sua relação com digestibilidade e palatabilidade do produto final. In: II CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO E IX SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Anais...** Campinas.

Bernasconi M (2006) **Estrutura e gestão dos canais de distribuição na indústria de alimentos para cães e gatos (petfood).** Universidade Federal de São Carlos. 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Federal de São Carlos.

Björck I, Asp NG (1983) The effects of extrusion cooking on nutritional value, a literature review. **Journal of Food Engineering** 2:281-308.

Brandelli A, Sala L, Kalil SJ (2015) Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. **Food Research International** 73:3–12.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (2019) Seção Suínos e Aves. Rio de Janeiro. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>. Acesso em: 02/05/2021

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2009) Instrução Normativa nº30. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

Bui HTD, Khosravi S, Ournier V, Herault M, Lee K (2014) Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. **Aquaculture** 418-419:11-16.

CARCIOFI, AC. Alimentos Industrializados para cães e gatos. 1º Ciclo de educação continuada em medicina veterinária. Curso de nutrição básica com enfoques clínicos para cães e gatos. São Paulo, FUMVET, p.09-22, 2004.

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

Carciofi AC, Jeremias JT (2010) Progresso científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia** 39:35–41.

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 post-prandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 92:326-336.

Case LP, Carey DP, Hirakawa DA (1998) Nutrição canina e felina. 2 ed. Lisboa: Harcourt Brace, p.424.

Case LP, Carey DP, Hirakawa DA, Daristotle L (2011) **History and regulation of pet foods. Canine and feline nutrition**. 3rd ed. St. Louis: Mosby, p.121-129.

Cheftel JC (1986) Nutritional effects of extrusion-cooking. **Food chemistry** 20:263-283.

Correia LFM, Faraoni A S, Pinheiro-Sant'ana HM (2008) Efeitos do processamento industrial de alimentos sobre a estabilidade de vitaminas. **Alimentos e Nutrição** 19:83-95.

Cowell CS, Stout NP, Brinkmann MF (2000) Making commercial pet foods. In: Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL et al. (eEds.). **Small animal clinical nutrition**. 4. ed. Kansas: Mark Morris Institute, p.127-146.

Cramer KR, Greenwood MW, Moritz JS, Beyer RS, Parsons CM (2007) Protein quality of various raw and rendered by-product meals commonly incorporated into companion animal diets. **Journal of Animal Science** 85:3285-3293.

Dieterich F (2014) **Desenvolvimento, avaliação físico-química e biológica de hidrolisado proteico de resíduos agroindustriais para surubim**. 88 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Unesp, Jaboticabal.

Dieterich F, Boscolo WR, Pacheco MTB, Silva VSN, Gonçalves GS, Vidotti RM (2014) Development and characterization of protein hydrolysates originated from animal agro industrial byproducts. **Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research** 1:1-7.

Dotti J (2014) **Terapia & animais**. Editora Livrus, p 304.

Dozier WA, Dale NM, Dove CR (2003) Nutrient composition of feed-grade and pet-food-grade poultry by-product meal. **Journal of Applied Poultry Research** 12:526-530.

Frenhani PB, Burini RB. 1999. Mecanismos de absorção de aminoácidos e oligopeptídeos. *Arquivos de Gastroenterologia*, v. 36, n. 4, p. 227-237,

Ferrolí PCM (1999) **Balanceamento do sistema produtivo de farinhas e óleos: Fábrica de subprodutos de origem animal**. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Ferrolí 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** 10:5-20.

Finot PA (2005) Historical perspective of the Maillard reaction in food science. *Ann. New York Academic Science*. 1043:1-8

Frokjaer S (1994) Use of hydrolysate for protein supplementation. **Food Technology** 48:86-88.

Gibson M, Alavi S (2013) Pet food processing-understanding transformations in starch during extrusion and baking. **Cereal Foods World** 58:232-236.

Giese J (1994) Proteins as ingredients: types, functions, applications. **Food Technology** 48:50-60.

Gupta RK, Gupta K, Sharma A, Das M, Ansari IA, Dwivedi PD (2018). Maillard reaction in food allergy: Pros and cons. **Critical reviews in food science and nutrition**, 58(2), 208-226.

Han Y, Parsons CM (1990) Determination of available amino acids and energy in alfalfa meal, feather meal, and poultry byproduct meal by various methods. **Poultry Science** 69:1544-1552.

Hendriks WH, Sriharan K (2002) Apparent ileal and fecal digestibility of dietary protein is different in dogs. **Journal of Nutrition** 132:1692-1694.

Hodge JE. 1953 . Chemistry of browning reactions in models systems. **Journal of Agriculture Food Chemistry**. 1(15):928-943

Hou Y, Wu Z, Dai Z, Wang G, Wu G (2017) Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 8:1-13. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>.

Johnson ML, Parsons CM, Fahey GC, Merchen NR, Aldrich CG (1998) Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ileally cannulated dogs. **Journal of Animal Science** 76:1112-1122.

Kawauchi IM (2012) **Valor nutricional e parâmetros de qualidade de subprodutos de origem animal para cães**. 100 f.Tese (Doutorado em Medicina Zootecnia) - Unesp, Jaboticabal.

Kawauchi IM, Sakomura NK, Pontieri CF, Rebelato A, Putarov TC, Malheiros, EB, Carciofi AC. 2014. Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. **Journal of nutritional science**, 3.

Kelly RE (2012) Feeding the modern dog: An examination of the history of the commercial dog food industry and popular perceptions of canine dietary patterns. Michigan State University. 99 f. Tesis (Master Degree) - Michigan State University - Michigan

Khosravi S, Rahimnejad S, Herault M, Fournier V, Lee C, Bui H, Jeong J, Lee K (2015) Effects of protein hydrolysates supplementation in low fishmeal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*. **Fish & Shellfish Immunology** 45:858-868.

Lahl WJ, Braun SD (1994) Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. **Food Technology** 48:68-71.

Lasekan A, Bakar FA, Hashim D (2013) Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. **Waste Management** 33:552-565.

Martínez-Alvarez O., Chamorro, S, Brenes A (2015) Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International** 73:204-212.

Mathias, C. (2009). Extrusão a história. Revista Pet Brasil, 1(1), 28.

Meeker D, Meisinger J. 2015. Companion Animals Symposium: rendered ingredients significantly influence sustainability, quality, and safety of pet food. **Journal of Animal Science**. 93:835–847.

Morales FJ, van Boekel MAJS (1997). A study on advanced Maillard reaction in heated casein sugar solution, **International Dairy Journal**. 7:675-83.

Moscicki L (2011b) Pet Food and Aquafeed. In: Moscicki, L. Extrusion-cooking techniques: applications, theory and sustainability. Weinheim: **WileyVCH**, p.139-149.

Moscicki L, Van Zuilichem DJ (2011) Extrusion-cooking and related technique In: Moscicki L. Extrusion-cooking techniques: applications, theory and sustainability. Weinheim: **WileyVCH**, p.1-24.

Nursten H (2005). The maillard Reaction: Chemistry, biochemistry and implications. Cambridge: The Royal society of Chemistry.

Ockerman HW, Hansen CL (1999) Animal by-product processing & utilization. CRC Press, 511 p.

Oetterer M (2001) Produtos obtidos por interferência na fração protéica do pescado. Piracicaba: ESALQ: Piracicaba, 2001.

Oliveira J, Marchini JS (1998) Ciências nutricionais. São Paulo: Sarvier, 403p.

Pedersen B (1994) Removing bitterness from protein hydrolysates. **Food Technology** 48:96-99.

Pacheco PD, Putarov TC, Baller MA, Peres FM, Loureiro BA, Carciofi AC (2018) Thermal energy application on extrusion and nutritional characteristics of dog foods. **Animal Feed Science and Technology**, 243, 52-63.

Peachey SE, Dawson JM, Harper EJ: The effect of ageing on nutrient digestibility by cats fed beef tallow, sunflower oil, or olive oil-enriched diets, **Growth Dev Aging** 63:49–58, 1999.

Riaz MN (2000) Extruders in food applications. In: Riaz MN. **Introduction to extruders and their principles**. CRC Press, p.1-23.

Riaz MN (2007) Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds. Agrimedia: Clenze, p.400.

Riaz MN (2012) Cereal extrusion technology for small food processing enterprises. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods** 4:156-156.

Saadi S, Saari N, Anwar F, Hamid AA, Mohd-Ghazali H (2015) Recent advances in food biopeptides: Production, biological functionalities and therapeutic applications. **Biotechnology Advances** 33:80–116.

Seixas JRC, Araújo WA, Feltrin CA et al. (2003) Fontes protéicas para alimentos pet. In: 3º SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal Campinas, p.97-116.

Sgarbieri VC (1996) Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 517p.

Silva LM (2012) **Avaliação de substâncias com propriedades colagógicas durante o jejum pré-abate em frangos de corte**. 75 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Pelotas.

Sinhorini MR (2013) **Processo de produção de farinha de penas hidrolisadas: Estudos de otimização do teor proteico e do valor de digestibilidade da proteína**. 110 f. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica do Paraná, Londrina.

Stanley DW (1981) Non-bitter protein hydrolysates. **Journal of the Canadian Institute Food Science Technology** 14:49-52.

Tjernsbekk MT, Tauson AH, Kraugerud OF, Ahlstrøm, Ø (2017). Raw mechanically separated chicken meat and salmon protein hydrolysate as protein sources in extruded dog food: effect on protein and amino acid digestibility. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 101, n. 5, p. e323-e331, 2017.

Van Boekel MARJS (2006). Formation of flavour compounds in the maillard reaction. **Biotechnology Advances**. 24(2): 230-233.

Van der Poel AFB, Blonk J, Van Zuilichem DJ, Van Oort MG (1990) Thermal inactivation of lectins and trypsin inhibitor activity during steam processing of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and effects on protein quality. **Journal of Science Food Agriculture** 53:215-228.

van Rooijen C, Bosch G, van der Poel AF, Wierenga PA, Alexander L, Hendriks WH (2013). The Maillard reaction and pet food processing: effects on nutritive value and pet health. **Nutrition research reviews**, 26(2), 130-148.

Villamil O, Váquiro H, Solanilla JF (2017) Fish viscera protein hydrolysates: Production, potential applications and functional and bioactive properties. **Food Chemistry** 224:160-171, 2017.

Weir GSD (1986) Protein hydrolysates as flavourings in developmentin. **Food Protein** 4:175-217.

Wilson JM, Castro LFC (2010) Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In: Martin Grosell APF e Colin JB (Eds.). **Fish physiology**. Academic Press, p.1-55.

Wortinger A (2009) **Nutrição para cães e gatos**. Editora Record. 359 p.

Zavareze ER, Silva CM, Salas-Mellado M, Prentice-Hernandez C (2009) Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*Prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas. **Química Nova** 32:1739-1743.

Zheng K et al. (2012) Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture Nutrition** 18:297–303.

Zóia Miltenburg T, Uana da Silva M, Bosch G, Vasconcellos RS. (2021). Effects of enzymatically hydrolysed poultry byproduct meal in extruded diets on serum angiotensin-converting enzyme activity and aldosterone in cats. **Archives of Animal Nutrition**, 75(1), 64-77.

CAPÍTULO 2 –Hydrolyzed poultry by-product meal in extruded diets for cats¹

¹Artigo redigido conforme as normas de publicação *Archives of Animal Nutrition*, exceto o posicionamento das tabelas.

HYDROLYZED POULTRY BY-PRODUCT MEAL IN EXTRUDED DIETS FOR CATS

ABSTRACT- Hydrolyzed proteins have been shown as promising ingredients in diets for pets due to high digestibility and presence of active peptides. The present study evaluated the effects of the substitution of conventional low ash poultry by-product meal (PBM) by hydrolyzed poultry by-product meal (HPBM) as protein source in extruded cat diets. Commercially available PBM and HPBM were used in the study. Five diets with similar nutrient contents were formulated: a control (CO) diet based on PBM, broken rice, maize, and poultry fat and 4 diets with different inclusions of HPBM, respectively 5%, 10%, 20%, and 30% (on as-fed basis). Total tract apparent digestibility of nutrients (CTTAD), faecal characteristics and microbial fermentation products, urine production and pH, nitrogen balance and urea renal excretion were evaluated using 30 health cats (15 males and 15 females; 4.18 ± 0.86 kg; 4.17 ± 1.38 years old), with 6 cats per food in a complete randomized block design. When significant differences were found on the F test, the effects were evaluated by polynomial contrasts according to HPBM inclusion ($P < 0.05$). The CTTAD of DM ($89 \pm 0.41\%$), CP ($90 \pm 0.36\%$), fat ($93 \pm 0.41\%$) and gross energy ($90 \pm 0.33\%$) were similar among treatments ($P > 0.05$). The faeces production, score, short-chain fatty acids and ammonia concentration were similar among treatments ($P > 0.05$). Isobutyric, isovaleric, valeric, total branched-chain fatty acid increased quadratically ($P < 0.05$), with a highest level on diet with 20% HPBM, and lactate concentration on faeces increased linearly with the inclusion of HPBM ($P < 0.05$). Urine characteristics, nitrogen balance and urea renal excretion did not differ among treatments ($P > 0.05$). By conclusion, the inclusion up to 30% of HPBM could be considered in formulations to

cats, without affecting nutrient digestibility, nitrogen metabolism and faecal characteristics.

Key words: branched-chain fatty acids, digestibility, nitrogen balance, felines

1. Introduction

The demand for high quality cat and dog foods has been driven pet food companies to use high-quality raw materials, properly studied and characterized. Domestic cats, as strict carnivores, require diets formulated with good sources of animal derived proteins, that are palatable, digestible, available and safe (de-Oliveira et al., 2012; Kerr et al., 2012). Currently, poultry by-product meal is the main source of animal protein used in the pet food industry, due to the good balance of essential amino acids, adequate ratio among protein, fat and minerals, good palatability and commercial availability (Carciofi, 2008; Kawauchi et al., 2014; Meeker and Meisinger, 2015).

In the 1940s, hydrolysate proteins started to be produced and tested for various applications in the food industry as protein supplements, stabilizers and flavor enhancers (Kristinsson and Rasco, 2000). The protein hydrolysis can be obtained by the cleavage process of its peptide bonds by three methods: acidic, alkaline and enzymatic hydrolysis; as well by the combination of these methods (Saadi et al., 2015). The hydrolyzes process releases peptides of different sizes (poly, tri and dipeptides) and amino acids in different ratios, resulting the products of different physical and biological properties (Saadi, et al., 2015). It is usually considered that hydrolysates have high digestibility, due to it short chains of amino acids and low molecular weight, facilitating luminal hydrolysis and intestinal absorption in comparison to intact proteins (Lasekan et al., 2013; Dieterich et al., 2014). In addition to be considered a highly amino acid source, other biological functions or properties have been investigated in protein hydrolysates, including antioxidant and antimicrobial activity (Saadi et al.,

2015; Hou et al., 2017), capacity to inhibit angiotensin-converting enzyme (Zóia Miltenberg et al., 2021), anticoagulant activity (Nasri et al., 2012) and be an reliable protein source for hypoallergenic diets (Martínéz-Alvarez et al., 2015). The hydrolyzed poultry by-product meal is a novel ingredient obtained through the enzymatic cleavage process of poultry by product raw materials, including the viscera and deboned body parts not suitable to human consumption. Despite some publications to dogs (Urrego et al., 2017 Verlinden et al., 2006), it is little investigated in cats (Zóia Miltenberg et al., 2021). Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of the substitution of conventional low ash poultry by-product meal by hydrolyzed poultry by-product meal as a protein source in cat diets, accessing their effects on the total tract apparent digestibility of nutrients and energy, feces characteristics and microbial fermentation products, nitrogen balance and urea metabolism in cats fed extruded foods.

2. Material and Methods

The study was conducted at the Laboratory of Research in Nutrition and Nutritional Diseases of Dogs and Cats "Prof. Dr. Flávio Prada ", Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brazil. All experimental procedures were previously approved by the Ethics and Animal Welfare Committee (Protocol number: 3401/20).

2.1. Experimental design and animals

Thirty mixed breed cats were used with 4.17 ± 1.38 years old, being 15 males and 15 females, weighing 4.18 ± 0.86 kg and with a body condition score of 5.06 ± 0.64 , on a scale from 1 to 9 (Laflamme, 1997). The animals belonged to the experimental cattery of the laboratory and were de-wormed, vaccinated and considered clinically healthy after a physical examination by a veterinarian.

The study followed a complete randomized block design with two blocks of 15 cats each, 5 diets and 3 cats per diet in each block, totaling six cats per diet. The blocking factor was time, due to impossibility to test all cats simultaneously. The cat was considered the experimental unit. Each block lasted 20 days, from day 1 to 10 was the adaptation period, from day 11 to 17 urine and faeces were quantitatively collected to evaluate total tract apparent digestibility, urine characteristics, nitrogen balance, and urea renal excretion, and from day 18 to 20 faeces were collected immediately after defecation to determine pH and fermentation products.

During the adaptation period cats were kept for 16h (from 4pm to 8am) in stainless steel metabolic cages with apparatus to separate collection of feces and urine, with dimensions of 65 x 85 x 65 cm. During the day, from 8am to 4pm they were released in a collective cattery for exercise and socialization. During the days of urine and faeces collection, cats were permanently restricted to metabolic cages. The metabolic cages were washed daily, rinsed with distilled water and dried.

Food was provided to animals only when they were individually housed in the metabolic cages. The metabolizable energy content of diets was estimated from their chemical composition and the amount of food offered to cats was calculated as $75 \text{kcal/BW}^{0.67}/\text{day}$ (FEDIAF, 2019). The metabolizable energy content of diets was estimated from their chemical composition established based on the metabolizable

energy value of the diets, which $75\text{kcal}/\text{BW}^{0.67}/\text{day}$ (FEDIAF, 2019). The cats were fed twice a day, at 9am and 4pm, and distilled water was provided *ad libitum*. The offered food and leftovers were recorded daily to calculate food intake. Animals were weighed weekly to avoid weight gain or loss and if one of them was noticed the amount of food was adjusted. The place where the animals remained in the metabolic cages had natural and artificial lighting, maintaining a light: dark cycle of 12: 12 hours, respectively.

2.2. Ingredients and experimental diets

In the study a conventional low ash poultry by-product meal was used as a reference protein source and compared with graded substitution levels of hydrolyzed poultry by-product meal (Table 1). To this, a control diet for cat maintenance was formulated (FEDIAF, 2019) based on conventional low ash poultry by-product meal, broken rice, maize, and poultry fat (Table 2), and 4 inclusion levels of hydrolyzed poultry by-product meal was evaluated: 5%, 10%, 20%, and 30%. To achieve diets similar in nutrient composition, adjustments to poultry by-product meal, broken rice, and poultry fat were applied, and calcium carbonate and dicalcium phosphate added to balance Ca and P levels. The other ingredients remained unchanged.

Table 1. Evaluated chemical composition of the conventional and hydrolyzed poultry by-product meal used on the study. Values on as-fed basis.

	Poultry by-product meal	
	Conventional	Hydrolyzed
Chemical composition (%)		
Moisture	2.6	5.1
Acid-hydrolyzed fat	14.3	6.3
Ash	7.9	4.9
Calcium	1.9	0.2
Phosphorus	1.3	1.2
Crude Protein	68.9	77.6
Indispensable amino acids		
Arginine	4.5	4.9
Histidine	1.7	1.8
Isoleucine	2.9	3.3
Leucine	4.9	5.4
Lysine	4.9	6.1
Methionine	1.6	1.8
Methionine + Cystine	2.9	2.8
Phenylalanine	2.8	3.0
Phenylalanine + Tyrosine	5.1	5.5
Threonine	2.7	3.1
Valine	3.6	3.9
Tryptophan	0.4	0.6
Taurine	0.4	0.5
Dispensable amino acids		
Alanine	4.4	4.8
Aspartic acid	5.6	6.5
Glutamic acid	8.7	10.2
Glycine	6.0	6.1
Hydroxyproline	1.4	1.5
Proline	4.0	4.2
Serine	2.8	3.1
Total amino acids	66.9	74.3

Table 2. Ingredient composition of the experimental diets for cats.

Composition (% as fed basis)	Experimental diets ¹				
	CO	5%	10%	20%	30%
Conventional poultry by-product meal	37.1	31.7	26.1	15.1	5.6
Hydrolyzed poultry by-product meal ²	-	5.0	10.0	20.0	30.0
Broken rice	27.6	27.7	27.9	27.7	26.6
Maize, grain	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Poultry fat	8.1	8.4	8.8	9.6	10.1
Maize gluten meal	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Beet pulp	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Palatant enhancer ³	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral and vitamin supplement ⁴	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Potassium Chloride	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Common Salt	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Choline Chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Taurine	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Mold inhibitor ⁵	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Antioxidant ⁶	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Calcium carbonate	-	-	-	-	0.9
Dicalcium phosphate	-	-	-	0.4	0.5

¹ - CO = control diet. without hydrolyzed poultry by-product meal; 5% hydrolyzed poultry by-product meal; 10% hydrolyzed poultry by-product meal; 20% hydrolyzed poultry by-product meal; 30% hydrolyzed poultry by-product meal

² -BRF S.A. Rua Senador Atílio Fontana. 86 Concórdia/SC – Brasil

³ - Palasurance 50 cat dry. Kemin Nurisurance Nutrição animal . Vargeão. Sc - Brazil

⁴ - Added per kg of food: iron 63 mg. Copper 7.2 mg. Manganese 7.1 mg. Zinc 63 mg. Iodine 1.3 mg. Selenium 0.7 mg. Vitamin A 19600 UI. Vitamin D3 3920 UI. Vitamin E 350 UI. Thiamine 7.7 mg. Riboflavin 5.6 mg. Pantothenic acid 10 mg. Niacin 42 mg. Piroxidine 5.6 mg. Folic acid 1.45 mg. Vitamin B12 0.03 mg.

⁵ - Mold Zap Citrus: Ammonium dipropionate. acetic acid. sorbic acid and benzoic acid. Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda.

⁶ - RENDOX AT 20. Kemin Nurisurance Nutrição animal: BHA. BHT and vegetable oil.

Prior to diet manufacturing, the conventional and hydrolyzed poultry by-product meal was analyzed for dry matter, ash, and crude protein and the formulas adjusted. The ingredients were then weighted, mixed and ground in a hammer mill (Sistema Tigre de Mistura e Moagem Moinhos Tigre Ltda, São Paulo, Brazil) using a screen

sieve size of 1.0 mm. The diets were extruded in a single-screw extruder (Mex-250. Manzoni Industrial Ltda, Campinas, Brazil) with a capacity of 250 kg/h, with the following screw profile typical for pet foods: first section – single flight screw and no steam lock; second section – single flight screw and small steam lock; third section – double flight uncut screw and small steam lock; fourth section – double flight uncut screw and medium steam lock; fifth section – double flight cut cone screw.

During operation, steam and water were implemented only on preconditioner with a discharge mass temperature of approximately 84.1 ± 0.9 °C. The extruder screw was fixed at 622 rpm. A circular die with one opening of 4.5 mm in diameter was used, resulting in a mean extruder open area of 15.9 mm²/ton/h. After a stable processing condition (approximately 30 min), the extrusion motor amperage and kibble bulk density (the weigh in grams corresponded to 1 L volume) were measured at 15 min intervals to achieve consistent processing for each treatment. After extrusion the extrudates were dried in a dual pass dryer at 110 °C for 24 min and coated with poultry fat and liquid palatant.

Diets were analyzed (AOAC, 2010) by oven-drying for dry matter (DM) (method 934.01), muffle furnace incineration for ash content (method 942.05), by the Kjeldahl method for crude protein (method 954.01), crude fiber (991.43), and fat content after acid-hydrolysis (954.02). Starch content was determined according to the method of Hendrix (1993). To evaluate the extrusion processing starch gelatinization degree was determined by the amyloglucosidade method (Sá et al., 2013a). The amino acid profile was analyzed according to Hagen and Frost (1989). Tryptophan content was determined according to Lucas and Sotelo (1980). All analyses were carried out in

duplicate and repeated when the coefficient of variation between replicates was higher than 5%.

The evaluated chemical composition of the diets is presented on Table 3. Based on diets and ingredients compositions, the procedure resulted on the replacement of 11.7%, 23.5%, 47.0% and 70.5% of the dietary protein by the protein of the hydrolyzed poultry by-product meal.

2.3. Total tract apparent digestibility, faeces characteristics and fermentation products, urine production, nitrogen balance and urea renal excretion

The coefficient of total tract apparent digestibility (CTTAD) of nutrients, and the metabolizable energy content of diets were determined according to FEDIAF (2019) by the method of total collection of faeces and urine. Food intake was recorded daily, weighing the offered and refused quantities at each meal. Faeces were quantitatively collected twice a day for 7 days, at 8am and 4pm, weighed and stored in individual plastic bags in a freezer (-15°C) for later analysis.

At the end of the collection period, the fecal samples were thawed, homogenized, and pooled making up a single sample per animal and period. Before laboratory analysis, the fecal samples were dried in a forced ventilation oven (Model 320-SE, FANEM, São Paulo-SP) at 55 °C, for 72 hours. Pre-dried feces and diets were ground in a knife mill (Model MOD 340, ART LAB, São Paulo-SP), with a 1mm screen sieve, and analyzed as previously described for DM, ash, fat, and starch. The gross energy contents of diets and faecal matter were determined using a calorimeter bomb (IKA calorimeter, C200; IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany). All analyses

were carried out in duplicate and repeated when the coefficient of variation between replicates was higher than 5%.

The quality of the feces was assessed during collection through the following score (Carciofi et al., 2008): 0= watery liquid that can be poured; 1= soft, unformed; 2 = soft, malformed stool that assumes the shape of its container; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = well-formed and consistent stool that does not adhere to the floor; and 5 = hard, dry pellets, which are small and hard masses.

To evaluate urine characteristics, nitrogen balance, urinary energy loss, and urea renal excretion, total urine collection was performed together feces collection. In the first 4 days urine were collected in plastic bottles placed under the collecting funnel of the metabolic cage, containing 1 mL of H₂SO₄ (1N) as a preservative in order to avoid nitrogen volatilization. Samples were stored refrigerated (4° C) and the 24-hour period production homogenized, had its volume determined and a composite sample stored (-20° C) for latter analysis of nitrogen and gross energy, as previously described. In the acidified urine samples urea were determined according to an enzymatic-colorimetric method in a spectrophotometer (Atago, PAL-USG (CAT), Fukaya, Japan). In the following 3 days of total urine collection, samples were collected in plastic bottles with 100 mg of thymol (Synth, Vila Mary, Diadema, São Paulo) as a preservative, and each 24-hours pool used to measure volume, specific gravity in a refractometer (Labtest Bio -2000, Bio-Plus, Lagoa Santa, MG, Brasil) and pH in a pH meter (DM20, Digimed Analítica Ltda., São Paulo, Brazil).

To evaluate fermentation products, recently eliminated feces were used. To this, cages were continuously monitored during 3 consecutive days, and feces collected as produced. Fecal pH was measured in a pH meter (DM20, Digimed Analítica Ltda., São

Paulo, Brazil) immediately after collection by mixing 2 g of feces with 6 ml of ultrapure water (1:3 w/v). For short-chain fatty acids (SCFA) and branched-chain fatty acids (BCFA) analyses, 10 g of feces was mixed in 30 ml of formic acid solution at 4.2 N (1:3 w/v) and precipitated at 4 °C for 72 h, and the supernatant was centrifuged three times (5000 G at 15 °C for 15 min). The supernatant was transferred to an Eppendorf tube and underwent a new centrifugation at 14,000 revolutions per minute for 15 minutes at 4 °C for subsequent freezing. At the time of analysis, samples were thawed and analyzed by gas chromatography (GC-Plus 2010, Shimadzu chromatography, Japan) according to Namysl (2019). The amount of ammonia nitrogen in the feces was determined in the extract prepared to SCFA, using the Kjeldahl method but excluding the digestion step. The extracts were thawed at room temperature and then 2 mL aliquots were transferred to assay tubes, diluted in 13 mL distilled water, and subjected to distillation in a nitrogen distiller (Tecnal T-036/1, Piracicaba, Brazil). Distillation was performed with 5 mL potassium hydroxide (KOH 2 mol/L1) and the nitrogen was collected in an Erlenmeyer flask containing 10 mL solution (boric acid 0.97 N). Subsequently, a titration with HCL (0.005 N) was carried out. Lactic acid was measured according to Pryce (1969) by mixing 3 g of feces with 9 ml of ultrapure water (1:3 w/v) and subsequent evaluation with a colorimetric method (Spectrophotometer Quick-Lab, Drake, Sao José do Rio Preto, Brazil).

2.4. Calculations and statistical analysis

The CTTAD of nutrients and energy, and the food metabolizable energy content were calculated by the total collection of feces and urine method, following the recommendations and calculation procedures recommended by FEDIAF (2019).

Nitrogen balance was established computing nitrogen intake minus nitrogen excretion in feces and urine. Data were analyzed in a completely randomized block design. The experimental unit was one cat, with six repetitions per diet. Models sums of square were separated on diet and block effects. When significant differences for nutrient intake, urine and fecal characteristic or CTTAD were found on F test, the effects were evaluated by polynomial contrasts according to the hydrolyzed poultry by-product meal inclusion levels. All data were found to comply with the assumptions of the analysis of variance and were analyzed using the MIXED procedure of the SAS software (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Values of $P < 0.05$ were considered significant and values of $P < 0.10$ were considered a tendency.

3. Results

The diets chemical composition was adequate to adult cats, and the treatments presented similar nutritional composition as planned. The extrusion process was more difficult on the diet with 30% hydrolyzed poultry by-product meal due the HPBM be a hydrophilic ingredient which led to an interrupted mass flow during the extrusion, and the starch gelatinization was lower on this diet (Table 3). During the study cats readily ate the diets, without episodes of refusal, vomiting or diarrhea. On the digestibility study, the food and nutrient intake were similar, not differing among treatments ($P > 0.05$; Table 4). Diets presented in general elevated CTTAD of nutrients and energy, and the observed values was similar among diets ($P > 0.05$). The metabolizable energy content was also similar among treatments ($P > 0.05$).

The feces produced by the cats presented adequate score, and no differences among cats fed the experimental diets was observed on feces production or characteristics ($P > 0.05$; Table 5). The SCFA and ammonia concentration in feces also

did not differ ($P>0.05$), but after the increase on hydrolyzed poultry by-product meal on diets, the feces of cats presented a quadratic increase on isobutyric, isovaleric, valeric, total BCFA ($P<0.05$), and lactate concentrations increased linearly ($P<0.05$).

Regarding urine parameters, the volume, specific gravity, and pH did not differ between cats fed the experimental diets ($P>0.05$; Table 6). Urea renal excretion was also similar among treatments ($P>0.05$). On the nitrogen balance, the initial and final body weight of the cats were similar ($P>0.05$), as well the parameters nitrogen intake, excretion and balance ($P>0.05$).

Table 3. Evaluated chemical composition of the diets after coating (DM-basis)

Item	Diets ¹				
	CO	5%	10%	20%	30%
Chemical composition, (%)					
Dry Matter	95.6	95.7	95.7	96.3	97.0
Ash	6.0	5.6	5.4	5.5	6.0
Acid-hydrolyzed fat	16.1	16.0	15.9	15.8	15.8
Starch	36.8	36.3	36.4	36.2	36.0
Crude fiber	1.8	1.8	1.7	1.7	1.7
Crude protein	35.9	36.0	36.0	35.9	36.0
Calcium and phosphorus content (g/100g diet)					
Ca	0.64	0.69	0.62	0.62	0.64
P	0.82	0.76	0.78	0.81	0.76
Amino acids profile (g/100g crude protein)					
Indispensable amino acids					
Arginine	2.1	2.0	2.1	2.0	2.0
Histidine	0.9	0.8	0.9	0.8	0.8
Isoleucine	1.5	1.4	1.5	1.6	1.5
Leucine	2.9	2.9	2.9	3.0	3.0
Lysine	2.0	2.0	2.1	2.3	2.2
Methionine	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8
Methionine + Cystine	1.3	1.3	1.3	1.4	1.4
Phenylalanine	1.5	1.5	1.5	1.6	1.5
Phenylalanine + Tyrosine	2.6	2.6	2.7	2.7	2.7
Threonine	1.3	1.3	1.4	1.4	1.3
Valine	1.8	1.7	1.7	1.9	1.8
Tryptophan	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3
Taurine	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Dispensable amino acids					
Alanine	2.3	2.2	2.3	2.5	2.4
Aspartic acid	2.7	2.7	2.7	2.9	2.7
Glutamic acid	4.9	4.7	4.9	5.1	5.4
Glycine	2.6	2.5	2.5	2.7	2.4
Hydroxyproline	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Proline	2.1	2.1	2.1	2.3	2.1
Serine	1.4	1.4	1.4	1.5	1.4
Total amino acids	33.6	32.8	33.7	34.8	34.4
Starch Gelatinization degree (%)	99.6	99.1	99.3	96.0	78.7

¹ - CO = control diet. without hydrolyzed poultry by-product meal; 5% hydrolyzed poultry by-product meal; 10% hydrolyzed poultry by-product meal; 20% hydrolyzed poultry by-product meal; 30% hydrolyzed poultry by-product meal

Table 4. Nutrient intake, and coefficients of total tract apparent digestibility of experimental diets to cats with increased inclusion levels of hydrolyzed poultry by-product meal

Item	Diets ¹					SEM ²	P value
	CO	5%	10%	20%	30%		
Food Intake (g/kg ^{0.67} /day)							
Dry Matter	17.4	16.9	16.8	16.5	15.3	0.54	0.588
Organic Matter	16.4	14.6	15.8	15.5	14.3	0.51	0.493
Crude Protein	6.2	5.5	6.0	5.7	5.4	0.19	0.365
Acid-hydrolysed fat	2.5	2.5	2.5	2.6	2.5	0.08	0.801
Starch	6.3	6.3	6.3	6.2	6.2	0.19	0.323
Coefficient of total tract apparent digestibility (%)							
Dry matter	88.6	89.0	89.6	87.4	87.4	0.41	0.565
Organic matter	90.7	91.6	91.3	90.5	90.4	0.38	0.699
Crude Protein	90.4	90.8	91.2	90.3	90.2	0.36	0.743
Acid-hydrolysed fat	91.8	93.8	93.4	92.8	92.8	0.41	0.362
Starch	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9	0.01	0.508
Gross energy	90.5	91.2	91.2	92.5	89.6	0.33	0.517
Metabolizable energy (kcal/g of DM)	3.96	4.07	4.08	3.95	3.94	0.04	0.181

¹ - CO = control diet, without hydrolyzed poultry by-product meal; 5% hydrolyzed poultry by-product meal; 10% hydrolyzed poultry by-product meal; 20% hydrolyzed poultry by-product meal; 30% hydrolyzed poultry by-product meal

² - Standard error of the mean (n = 6 cats per diet).

Table 5. Fecal characteristics and fermentation products concentration in cats fed experimental diets with increased inclusion levels of hydrolyzed poultry by-product meal.

Item	Diets ¹					SEM ²	P value	Contrast ³	
	CO	5%	10%	20%	30%			Linear	Quad
Faeces									
g/kg ^{0.67} /day, as-is basis	4.9	4.0	4.4	5.4	4.0	0.24	0.262	-	-
g/kg ^{0.67} /day, dry matter basis	2.2	1.7	1.9	2.1	1.9	0.09	0.297	-	-
Dry matter, g/kg	456.0	432.9	432.1	429.2	474.1	1.07	0.093	-	-
Score ⁴	4.0	3.9	3.9	3.9	4.0	0.02	0.143	-	-
pH	6.4	6.4	6.3	6.4	6.4	0.05	0.729	-	-
Fermentation products (mMol/g of faecal DM)									
Acetic acid	204.4	299.4	314.8	286.4	241.0	26.12	0.082	-	-
Propionic acid	59.9	86.5	96.8	93.7	70.9	6.92	0.196	-	-
Butyric acid	19.2	30.0	28.2	30.2	27.7	2.8	0.080	-	-
Total SCFA ⁵	283.5	416.0	439.8	410.3	339.5	34.37	0.060	-	-
Isobutyric acid	6.4	9.1	9.1	10.8	6.9	0.65	0.024	0.445	0.020
Isovaleric acid	9.6	18.0	12.8	15.1	12.4	1.09	0.007	0.169	0.015
Valeric acid	15.5	28.2	20.4	24.6	24.5	2.23	0.024	0.354	0.043
Total BCFA ⁶	31.5	55.3	42.4	50.5	43.9	3.2	0.008	0.458	0.049
Total volatile fatty acids	315.1	471.3	482.2	460.9	383.4	37.49	0.093	-	-
Ammonia (mMol/Kg of fecal DM)	170.1	171.1	157.8	173.9	151.1	12.05	0.742	-	-
Lactate (mMol/Kg of fecal DM)	2.0	3.1	3.1	3.2	3.2	0.14	<.001	<0.001	0.013

¹ - CO = control diet, without hydrolyzed poultry by-product meal; 5% hydrolyzed poultry by-product meal; 10% hydrolyzed poultry by-product meal; 20% hydrolyzed poultry by-product meal; 30% hydrolyzed poultry by-product meal

² - Standard error of the mean (n = 6 cats per diet).

³ - Linear or quadratic effects of hydrolyzed poultry by-product meal inclusion

⁴ - According to the following system: 0= watery liquid that can be poured; 1= soft, unformed; 2 = soft, malformed stool that assumes the shape of its container; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = well-formed and consistent stool that does not adhere to the floor; and 5 = hard, dry pellets, which are small and hard masses

⁵ - SCFA = short-chain fatty acids

⁶ - BCFA = branched-chain fatty acids

Table 6. Urine production, nitrogen balance, and urea renal excretion in cats fed experimental diets with increased inclusion levels of hydrolyzed poultry by-product meal.

Item	Diets ¹					SEM ²	P value
	CO	5%	10%	20%	30%		
Urine							
ml/kg ^{0.67} /day	5.0	4.2	4.0	4.0	4.5	0.26	0.624
Specific gravity	1.058	1.054	1.060	1.059	1.057	0.01	0.103
pH	6.2	6.2	6.1	6.1	6.2	0.03	0.112
Urea concentration (mg/dL)	8772.0	8333.5	8975.5	8935.2	8779.0	181.83	0.744
Urea renal excretion (mg/kg ^{0.67} /d)	1676.0	1788.2	1641.7	1972.8	1841.0	115.87	0.695
Nitrogen balance							
Initial body weight (kg ^{0.67})	2.6	2.7	2.4	2.4	2.5	0.097	0.268
Final body weight (kg ^{0.67})	2.7	2.8	2.5	2.5	2.6	0.101	0.373
Intake (mg/kg ^{0.67} /d)	1012.6	978.3	966.7	987.9	858.9	18.31	0.640
Excretion in feces (mg/kg ^{0.67} /d)	97.9	110.6	88.10	108.0	88.14	4.17	0.482
Excretion in urine (mg/kg ^{0.67} /d)	775.1	708.7	717.8	751.9	640.9	24.23	0.590
Nitrogen Retention (mg/kg ^{0.67} /d)	139.5	158.9	160.8	127.9	129.82	31.48	0.083
Nitrogen Retention (%)	13.8	16.2	16.6	12.9	15.11	31.48	0.083

¹ - CO = control diet, without hydrolyzed poultry by-product meal; 5% hydrolyzed poultry by-product meal; 10% hydrolyzed poultry by-product meal; 20% hydrolyzed poultry by-product meal; 30% hydrolyzed poultry by-product meal

² - Standard error of the mean (n = 6 cats per diet).

4. Discussion

All diets presented elevated CTTAD of nutrients and energy, with values greater than 87% for all nutrients analyzed. Digestibility of OM, gross energy and crude protein were particularly elevated, with values greater than 90% in all diets, indicating good processing and the high quality of the utilized ingredients. Nevertheless, although it was expected that diets with HBPM had higher protein digestibility, this was not observed in the present study. Similar results were observed by Zóia Miltenburg et al., (2021) in cats, in their study diets with approximately 25% of inclusion of HPBM also presented similar protein digestibility than the control PBM treatment (90.2% and 90.7%, respectively). However, not all cat foods formulated with PBM have so high CTTAD of protein, and usually values between 80.5 and 84% have been reported (de-Oliveira et al., 2008; Fischer et al., 2012 Loureiro et al., 2017; Mendonça et al., 2018). This need to be considered in results presentation, and depending on the control food ingredient matrix digestibility, HPBM inclusion might increase crude protein digestibility of the diet.

The similar digestibility values between intact and hydrolyzed PBM may not only be related to a high quality of raw material selection and PBM processing on rendering, but also to the fact that extrusion may promotes protein denaturation in intact proteins, making them more susceptible to digestive enzymes, favoring intestinal absorption and may increasing their digestibility (Hendriks and Sritharan, 2002). On the other hand, the extrusion process can also promote negative effects to proteins, van Rooijen et al., (2014) and Tjernsbekk et al., (2017) observed that hydrolyzed proteins due the presence of poly, tri, dipeptides and free amino acids in their composition can be more susceptible to crosslinking reactions, as Maillard reactions during the extrusion

process. Considering that the HPBM used in the current study can present free amino acid in its composition, induced carbohydrate-protein links may possibly limit its digestibility in some extent, what could be evaluated in more details. One limitation to this hypothesis is that furosine, melanoidines, hydroxymethylfurfural, carboxymethyllysine, acrylamides or other protein damage compounds (Erbersdobler et al., 2007; van Rooijen et al., 2014) were not measured in diets of the current study. Moreover, the diet with 30% HPBM presented lower starch gelatinization degree due to technical difficulties along its processing but did not present altered CTTAD of crude protein or other nutrients in relation to the remaining treatments, making uncertain if the extrusion processing really interfered on apparent digestibility of nutrients in diets with HPBM.

The animal's intrinsic efficiency in digest and absorb the ingested protein is another important aspect related to protein digestibility results interpretation. Studies in humans that compared the efficiency of amino acid absorption in diets based on intact proteins, hydrolyzed proteins composed by small peptides, or diets based on free amino acids showed no advantage to protein hydrolysates (or similar digestibility) in individuals with moderate alteration or normal intestinal function, however, hydrolyzed proteins presented greater absorption efficiency in individuals with severe impairment of gastrointestinal function (Adibi and Morse, 1971; Webb, 1990; Frenhani and Burini, 1999). Due to this, as the cats on the current study were healthy, it is possible that the luminal phase of digestion did not limit the hydrolysis and absorption of the intact dietary protein, with similar results than for HPBM. However, to translate these results to animals with impaired gastrointestinal function, additional evaluations on cats affected by gastrointestinal diseases are necessary.

The feces production was similar, as expected since the CTTAD of nutrients were similar among treatments. Feces score was also similar and adequate, as previously found in dogs (Verlinden et al. 2006) and cats fed diets containing HPBM (Zóia Miltenburg et al., 2021). Only a tendency to high moisture content on feces of cats fed 5%, 10%, and 20% HPBM diets were observed. The feces of cats fed these same diets presented also higher BCFA and lactate, and tended to have higher acetate, butyrate and total volatile fatty acids. All together this signalizes higher fermentation activity on the colon of cats, related to a possible higher flow of undigested organic matter from small intestine to hindgut on treatments with HPBM (Muir et al., 1996; Hendriks and Sritharan, 2002). The SCFA are normally related to carbohydrate fermentation, although, studies in humans have shown routes of formation of butyrate, propionate and indirect formation of lactate from free amino acid and peptides fermentation, being the peptides preferred than free amino acid by gut bacteria (Dai et al., 2011; Louis and Flint, 2017). In relation to acetate formation, under normal condition, the gut microbiota cultures have the capacity to metabolized D- and L-lactate into acetate and others SCFA (Halperin and Kamel, 1996; Duncan et al., 2004; belenguer et al., 2007). One limitation to interpret this possibility is the lack of information on ileal digestibility, as only total tract apparent digestibility was measured.

Regarding metabolites of protein fermentation, BCFA are originated from peptides and amino acids microbial degradation in the large intestine (Hussein et al., 1999). Their quadratic increase may be related to amino acids and peptides degradation and crosslinking reactions promoted by extrusion process (van Rooijen et al. 2014; Camire, 1991). The quadratic response to HPBM inclusion might be explained by the implications of this raw material to extrusion efficiency, in the diet with

30% HPBM the starch cooking was lower, and this may induce lower complexation of amino acids, may explaining the quadratic responses of the cats to the diets. However, ammonia concentration did not change on feces, suggesting a possible no alteration on protein fermentation on colon. As other compounds of amino acid fermentation were not measured, such as biogenic amines, indoles, or phenols (Nery et al., 2012) the implications of HPBM intake, or the combination of HPBM and extrusion processing on protein complexation cannot be fully elucidated. Anyhow, as ammonia is considered harmful to the health, as it may cause a reduction in the height of the intestinal villi and is related to the production of tumors (Willians et al., 2001) the lack of HPBM intake effect on this fecal metabolite is interesting.

To evaluate protein utilization after absorption, urine characteristics, N balance and urea renal excretion were studied, and no effect of HPBM intake was observed. Urea is the final product of protein catabolism and is excreted in the urine. Increases in protein intake or digestibility may results in increase of urea renal excretion (Tomé and Bos, 2000; Hashimoto et al., 1995). In cats, urine production and specific density are intrinsically related to urea renal excretion, consequently influencing water metabolism (Hashimoto et al., 1995; Lekcharoensuk et al., 2001). Urinary pH is more related to the dietary balance of macroelements than the protein inclusion or its digestibility (Jeremias et al., 2013). As HPBM have very low Ca and P levels, after 20% inclusion dicalcium phosphate needed to be included and with the 30% calcium carbonate need to be added to diets present similar Ca and P contents (data not shown). After balance these two macroelements cats' urine pH was similar, in the range of 6.1 to 6.2.

Diets were formulated to be complete and balanced, and all presented positive nitrogen balance. A positive nitrogen balance is only possible with an adequate energy and protein intake and an adequate balance of absorbed essential amino acids (Hendriks et al., 1997). In fact, the amino acid composition was very similar among convention and hydrolyzed PBM, as well as between the experimental diets. This is explained by the use of similar raw material source for both ingredients evaluated. The same parts of poultry, inedible to humans but obtained with good hygiene procedures and safety were used to produce the conventional and hydrolyzed PBM. It is interesting to observe, however, that the intake of diets with 5% and 10% of HPBM tended to induce higher N retention in cats ($P=0.083$), with values approximately 15% greater than the obtained with the intake of the CO food. This, if confirmed, might signalize positive differences on post-absorbed amino acid utilization by cats fed the HPBM, whose implications to protein metabolism and health might be further investigated.

5. Conclusion

The inclusion of HPBM did not alter the digestibility of dietary nutrients, and fecal characteristics, but up to 10% of inclusion tended to increase nitrogen retention of cats. The highest inclusion of HPBM limited starch gelatinization on extrusion, but it did not affect nutrient digestibility. The inclusion of up to 30% HPBM is safe considering the parameters evaluated and can be used in formulation to cats. More studies on the implications of extrusion effects on HPBM are needed to clarify the possible unavailability and fermentation on colon of amino acids.

6. References

Adibi SA, Morse EL. 1971. Intestinal transport of dipeptides in man: relative importance of hydrolysis and intact absorption. **The Journal of clinical investigation**, 50(11), 2266-2275.

AOAC: Association of Official Analytical Chemistry (2010) Official Methods of Analysis of AOAC International. Washington. DC. USA. 18th ed.

Belenguer A, Duncan SH, Holtrop G, Anderson SE, Lobley GE, Flint HJ. 2007. Impact of pH on lactate formation and utilization by human fecal microbial communities. **Applied and environmental microbiology**, 73(20), 6526-6533.

CAMIRE ME. 1991. Protein functionality modification by extrusion cooking. *Journal of American Oil Chemists Society* 68:200-205

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 post prandial glucose and insulin response. **Journal of Physiology and Animal Nutrition**. 92. 326–336.

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

Cummings JH, Macfarlane GT. 1991. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon: A review. **Journal of Applied Bacteriology**, v.70, p.443-459.

de-Oliveira LD, de Carvalho Picinato MA, Kawauchi IM, Sakomura NK, Carciofi AC. 2012. Digestibility for dogs and cats of meat and bone meal processed at two different temperature and pressure levels. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, 96(6), 1136-1146.

Dai ZL, Wu G, Zhu WY. 2011. Amino acid metabolism in intestinal bacteria: links between gut ecology and host health. **Frontiers in Bioscience** 16: 1768–1786

de-Oliveira LD, Carciofi AC, Oliveira MCC, Vasconcellos RS, Bazolli RS, Pereira GT, Prada F. 2008. Effects of six carbohydrate sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin responses in cats. **Journal of Animal Science**, 86(9), 2237-2246.

Dieterich F, Boscolo WR, Pacheco MTB, Silva VSN, Gonçalves GS, Vidotti RM. 2014. Development and characterization of protein hydrolysates originated from animal agro industrial byproducts. **Journal of Dairy Veterinary & Animal Research** 1:1-7.

Duncan SH, Louis P, Flint HJ. 2004. Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. **Applied and environmental microbiology**, 70(10), 5810-5817.

Erbersdobler HF, Somoza V. 2007. Forty years of furosine – Forty years of using Maillard reaction products as indicators of the nutritional quality of foods. *Molecular nutrition and food research*, 51, 423-430.

EUROPEAN PET FOOD INDUSTRY FEDERATION (FEDIAF). Nutritional guidelines for cats and dogs. <http://www.fediaf.org/self-regulation/nutrition.html>. Acesso em: 14 jun. de 2020.

Fischer MM, Kessler AM, De Sá LRM., Vasconcellos RS, Filho FR, Nogueira SP, Carciofi AC. 2012. Fiber fermentability effects on energy and macronutrient digestibility, fecal traits, postprandial metabolite responses, and colon histology of overweight cats. *Journal of animal science*, 90(7), 2233-2245.

Frenhani PB, Burini RB. 1999. Mecanismos de absorção de aminoácidos e oligopeptídeos. *Arquivos de Gastroenterologia*, v. 36, n. 4, p. 227-237.

Hagen Sr, Frost B, Augustin J. 1989. Precolumn Phenylisothiocyanate Derivatization And Liquid-Chromatography of Amino-Acids in Food. *Journal of The Association of Official Analytical Chemists* 72 (6): 912-916.

Halperin ML, Kamel KS. 1996. D-Lactic acidosis: Turning sugar into acids in the gastrointestinal tract. *Kidney International* 49: 1-8.

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

Hendriks WH, Moughan PJ, Tarttelin MF. 1997. Urinary Excretion of Endogenous Nitrogen Metabolites in Adult Domestic Cats Using a Protein-Free Diet and the Regression Technique. *Journal of Nutrition*, v.127, p.623-629.

Hendriks WH, Sritharan K. 2002. Apparent ileal and fecal digestibility of dietary protein is different in dogs. *Journal of Nutrition* 132:1692-1694.

Hendrix DL. 1993. Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Science*. 33(6):1306–1311

Hou Y, Wu Z, Dai Z, Wang G, Wu G. 2017. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 8:1-13.

Hussein HS, Flickinger EA, Fahey GCJr. 1999. Petfood Applications of Inulin and Oligofructose. *Journal of Nutrition*, v.129, p.1454-1456.

Jackson, AA. 1995. Salvage of urea-nitrogen and protein requirements. *Proceedings of the Nutrition Society*, 54(2), 535-547.

Jeremias JT, Nogueira SP, Brunetto MA, Pereira GT, Loureiro BA, Ferreira CS, Carciofi AC. 2013. Predictive formulas for food base excess and urine pH estimations of cats. **Animal feed science and technology**, 182(1-4), 82-92.

Kawauchi IM, Sakomura NK, Pontieri CF, Rebelato A, Putarov TC, Malheiros, EB, Carciofi AC. 2014. Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. **Journal of nutritional science**, 3.

Kerr KR, Vester Boler BM, Morris, CL, Liu KJ, Swanson KS. 2012. Apparent total tract energy and macronutrient digestibility and fecal fermentative end-product concentrations of domestic cats fed extruded, raw beef-based, and cooked beef-based diets. **Journal of animal science**, 90(2), 515-522.

Kristinsson HG, Rasco BA. 2000. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 40, n. 1, p. 43-81.

Laflamme DP. 1997. Development and validation of a body condition score system for cats: A clinical tool. **Feline Practice** 25:13-17.

Lasekan A, Bakar FA, Hashim D. 2013. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. **Waste Management** 33:552-565.

Lekcharoensuk C, Osborne CA, Lulich JP, Pusoonthornthum R, Kirk CA, Ulrich LK, Koehler LA, Carpenter KA, Swanson LL. 2001. Association between dietary factors and calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate urolithiasis in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 219:1228–1237.

Louis P, Flint HJ. 2017. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental microbiology**, v. 19, n. 1, p. 29-41, 2017.

Loureiro BA, Sakomura NK, Vasconcellos RS, Sembenelli G, Gomes MOS, Monti M, Carciofi AC. 2017. Insoluble fibres, satiety and food intake in cats fed kibble diets. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, 101(5), 824-834.

Martínez-Alvarez O, Chamorro S, Brenes A. 2015. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International** 73:204-212.

Meeker D, Meisinger J. 2015. Companion Animals Symposium: rendered ingredients significantly influence sustainability quality and safety of pet food. **Journal of Animal Science**. 93:835–847.

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.

- Moens F, Van den Abbeele P, Basit AW, Dodoo C, Chatterjee R, Smith, B, Gaisford S. 2019. A four-strain probiotic exerts positive immunomodulatory effects by enhancing colonic butyrate production in vitro. **International journal of pharmaceutics**, 555, 1-10.
- Muir HE, Murray SM, Fahey Jr GC, Merchen NR, Reinhart GA. 1996. Nutrient digestion by ileal cannulated dogs as affected by dietary fibers with various fermentation characteristics. **Journal of animal science**, 74(7), 1641-1648.
- Namysl S, Pelucchi M, Herbinet O, Frassoldati A, Faravelli T, Battin-Leclerc F. 2019. A first evaluation of butanoic and pentanoic acid oxidation kinetics. **Chemical Engineering Journal**, 373, 973-984.
- Nasri R, Amor IB, Bougatef A, Nedjar-Arroume N, Dhulster P, Gargouri J, Nasri M. (2012). Anticoagulant activities of goby muscle protein hydrolysates. **Food Chemistry**, 133(3), 835-841.
- Nery J, Goudez R, Biourge V, Tournier C, Leray, V Martin, Dumon, H. 2012. Influence of dietary protein content and source on colonic fermentative activity in dogs differing in body size and digestive tolerance. **Journal of animal science**, 90(8), 2570-2580.
- NRC—National Research Council. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC: National Academy Press, 2006.
- Roediger WE. 1980. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. **Gut**, 21, 793–798.
- 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**, v.97, p.51-59.
- Saadi S, Saari N, Anwar F, Hamid AA, Mohd-Ghazali H. 2015. Recent advances in food biopeptides: Production, biological functionalities and therapeutic applications. **Biotechnology Advances** 33:80–116.
- Santos JPF, Aquino AA, Glória MBA, Avila-Campos MJ, Oba PM, Santos KDM, Brunetto MA. 2018. Effects of dietary yeast cell wall on faecal bacteria and fermentation products in adult cats. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**. 102(4). 1091-1101.
- Tomé D, Bos C. 2000. Dietary Protein and Nitrogen Utilization. **The Journal of Nutrition** 130: 1868S-1873S.
- Urrego MIG, Matheus LFDO, de Melo Santos, K, Ernandes MC, Monti M, de Souza DF, Brunetto MA. 2017. Effects of different protein sources on fermentation metabolites and nutrient digestibility of brachycephalic dogs. **Journal of nutritional science**, 6.

van Rooijen C, Bosch G, van der Poel AFB, Wierenga PA, Alexander L, Hendriks WH. 2014. Quantitation of Maillard reaction products in commercially available pet foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 62:8883–8891.

Verlinden A, Hesta M, Hermans JM, Janssens GPJ. 2006. The effects of inulin supplementation of diets with or without hydrolysed protein sources on digestibility, faecal characteristics, haematology and immunoglobulins in dogs. **British Journal of Nutrition**, 96(5), 936-944.

Webb Jr KE. 1990. Intestinal absorption of protein hydrolysis products: a review. **Journal of Animal Science**, 68(9), 3011-3022.

White JA, Hart RJ, Fry JC. 1986. An Evaluation of The Waters Pico-Tag System For The Amino-Acid-Analysis of Food Materials. **Journal of Automatic Chemistry** 8(4): 170-177.

Willians BA, Verstegen MW, Tamminga S. 2001. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. **Nutrition Research Reviews**, v. 14, p. 207-227.

Zóia Miltenburg T, Uana da Silva M, Bosch G, Vasconcellos RS. 2021. Effects of enzymatically hydrolysed poultry byproduct meal in extruded diets on serum angiotensin-converting enzyme activity and aldosterone in cats. **Archives of Animal Nutrition**, 75(1), 64-77.

CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A indústria pet food busca por novos ingredientes e tecnologias para atender o mercado consumidor. Os hidrolisados proteicos em geral apresentam grande apelo comercial devido sua alta digestibilidade, alto teor proteico, presença de peptídeos bioativos além de ser uma fonte proteica que pode ser utilizada em dietas hipoalergênicas. Entretanto, informações sobre a farinha de vísceras hidrolisada são necessárias para que nutricionistas possam ter informações precisas a respeito do ingrediente em uso. A farinha de vísceras hidrolisada é um ingrediente novo, porém poucos estudos demonstram sua eficiência de aplicação, tanto econômica quanto nutricional, em alimentos para gatos.

Devido a escassas publicações sobre o uso de hidrolisados proteicos em dietas extrusadas para cães e gatos, pouco sabe-se sobre as condições necessárias para processamento deste ingrediente e se há efeitos benéficos ou adversos relacionados ao processamento deste ingrediente, sendo assim, estudos avaliando os efeitos da inclusão dos hidrolisados proteicos sobre os parâmetros de extrusão tornam-se necessários para determinar as condições ideais de processamento do ingrediente, a fim de evitar perdas nutricionais desnecessárias.

Como foi apresentado previamente, a inclusão de até 30% de farinha de vísceras hidrolisada em dietas para gatos se mostrou uma fonte proteica segura para os parâmetros avaliados. A inclusão máxima substituiu 70,5% da proteína bruta da dieta, estudos realizando a utilização da farinha de vísceras de frango como única fonte proteica em dietas para gatos ainda são necessárias. Em dietas para cães, o hidrolisado de frango já é utilizado em dietas comerciais hipoalergênicas, mas para gatos seu uso ainda não é amplamente explorado comercialmente. Diante dos pontos apresentados, estudos relacionados a utilização dos hidrolisados proteicos em dietas petfood são interessantes e necessários de modo a se obter informações primordiais deste ingrediente que já vem sendo explorado comercialmente.