CECILIA SARTORI ZARIF HUDSON

Avaliação nutricional da fibra de mandioca em alimento extrusado para gatos

São Paulo

2019

CECILIA SARTORI ZARIF HUDSON

Avaliação nutricional de fibra de mandioca em alimento extrusado para gatos

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre/Doutor em Ciências.

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Profa. Dra. Márcia de Oliveira Sampaio Gome

De acordo: Márcia de O S Gomes

Orientador

São Paulo
2019

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

VERSÃO CORRIGIDA

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3803
FMVZ

Hudson, Cecilia Sartori Zarif
Avaliação nutricional da fibra de mandioca em alimento extrusado para gatos / Cecilia Sartori Zarif Hudson. – 2019.
70 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2019.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes.

1. Digestibilidade. 2. Palatabilidade. 3. Microbiota. 4. Ácido siálico. 5. Felinos. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação nutricional da fibra de mandioca em alimento extrusado para gatos", protocolada sob o CEUA nº 8373141118 (ID 002010), sob a responsabilidade de **Ricardo Souza Vasconcellos** *e equipe; Cecília Sartori Zarif Hudson* - 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 - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) na reunião de 10/12/2018.

We certify that the proposal "Nutritional evaluation of cassava fiber in extruded diets for cats ", utilizing 36 Cats (males and females), protocol number CEUA 8373141118 (ID 002010), under the responsibility of **Ricardo Souza Vasconcellos** *and team; Cecília Sartori Zarif Hudson* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the State University of Maringá (CEUA/UEM) in the meeting of 12/10/2018.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 01/2019 a 01/2020 Área: Dzo-Zootecnia

Origem:	Fazenda Experimental de Iguatemi						
Espécie:	Gatos	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	4 a 5 anos	N:	36
Linhagem:	SRD			Peso:	2500 a 7000 g		

Local do experimento: O referido laboratório encontra-se na Fazenda Experimental Iguatemi, pertencente à Universidade Estadual de Maringá. Este local é distante pelo menos 200 m de outras criações de animais e possui barreiras naturais. Conta com um laboratório para a manipulação de amostras e processamento, uma sala de armazenamento de alimentos e quarentena de animais, uma sala de gaiolas metabólicas e um gatil coletivo. Os pisos e paredes são revestidos em piso cerâmico branco para facilitar a higienização e a área coletiva de manutenção dos animais conta com enriquecimento ambiental.

Maringá, 18 de janeiro de 2019

Profa. Dra. Tatiana Carlesso dos Santos
Coordenadora da CEUA/UEM
Universidade Estadual de Maringá

Dr. Claudemir Martins Soares
Coordenador Adjunto da CEUA/UEM
Universidade Estadual de Maringá

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação nutricional da fibra de mandioca em alimento extrusado para gatos", protocolada sob o CEUA nº 5833181218 (ID 006182), sob a responsabilidade de **Márcia de Oliveira Sampaio Gomes** *e equipe; Cecilia Sartori Zarif Hudson* - 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 - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 20/02/2019.

We certify that the proposal "Nutritional evaluation of cassava fiber in extruded diets for cats", utilizing 36 Cats (males and females), protocol number CEUA 5833181218 (ID 006182), under the responsibility of **Márcia de Oliveira Sampaio Gomes** *and team; Cecilia Sartori Zarif Hudson* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 02/20/2019.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 01/2019 a 01/2020 Área: Clínica Médica Veterinária

Origem:	Animais provenientes de outros projetos						
Espécie:	Gatos	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	4 a 5 anos	N:	36
Linhagem:	sem definição racial			Peso:	2500 a 7000 g		

Local do experimento: O referido laboratório encontra-se na Fazenda Experimental Iguatemi, pertencente à Universidade Estadual de Maringá. Este local é distante pelo menos 200 m de outras criações de animais e possui barreiras naturais. Conta com um laboratório para a manipulação de amostras e processamento, uma sala de armazenamento de alimentos e quarentena de animais, uma sala de gaiolas metabólicas e um gatil coletivo. Os pisos e paredes são revestidos em piso cerâmico branco para facilitar a higienização e a área coletiva de manutenção dos animais conta com enriquecimento ambiental.

São Paulo, 09 de março de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: HUDSON, Cecilia Sartori Zarif

Título: **Avaliação nutricional da fibra de mandioca em alimento extrusado para gatos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

DEDICATÓRIA

Ao Kenner, meu marido e grande amor da minha vida por ser meu companheiro que me dá a força de todos os dias e é meu porto seguro. À minha família de sangue e de coração. A todos os animais que passaram pela minha vida e que me fizeram ter a certeza de estar no caminho certo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sua presença em minha vida e por estar sempre no meu caminho e nas pessoas que me cercam, por nunca me faltar com sua força e amparo em todos os momentos que preciso.

À minha família de sangue e coração que acompanham todos os meus passos e sempre ficam na torcida pelo meu sucesso. Conceição, Marcos, Fernando, Janaína, Lara, Helena e Theo que são o que tenho de mais valioso nessa vida. Kenner, amor da minha vida e marido exemplar, pela sua eterna paciência comigo e por ter participado desse projeto ao meu lado. Alice que está para chegar e que vem para fortalecer ainda mais o amor da minha família.

À minha orientadora Professora Márcia Gomes pelo seu exemplo profissional, dedicação e principalmente pela paciência, compreensão e apoio. Professor Ricardo Vasconcellos que além dos ensinamentos, me recebeu literalmente como parte de sua família maravilhosa. Professora Ananda Félix pelo suporte e por ter tornado esse projeto capaz de ser realizado.

Aos amigos que carrego comigo da vida e aos amigos encontrados na jornada da pós-graduação. Natalia, minha irmã de mestrado, por além de me acompanhar nas disciplinas, dividiu comigo as conquistas, risos, lágrimas, conselhos e uma amizade que vou carregar sempre. Cássia, Caio, Mariana, Vivian, Fábio e Andressa que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional e por dividirem comigo os momentos divertidos e caóticos que passamos juntos. Aos novos amigos de Maringá (PR), Mônica, Tânia, Mayara e João, por toda a ajuda e suporte que recebi e por terem tornado esse período mais leve. Camilla e Gislaine (UFPR-PR) pelo auxílio na fabricação das rações e análises laboratoriais. À Angélica (UEM-PR) e Clara (FMVZ-USP) pelo auxílio e suporte no laboratório permitindo a realização das análises do projeto. Ao Professor André Gimenes pelo auxílio com as análises estatísticas. Aos alunos de graduação por toda a ajuda física e pelas dúvidas que me fazem estudar e contribuem para o meu crescimento.

A todos os animais que justificam o prazer da profissão e que conseguem demonstrar a beleza e a simplicidade da vida com um abanar de rabo ou um simples ronronar. Aos que passaram pela minha vida deixando seus ensinamentos, Baubau,

Teca e Tuti, e ao Paquetá que me adotou em Maringá (PR) mostrando que o coração sempre tem espaço para amar novamente um bichinho de estimação.

À ©Kemin Industries, Inc. por proporcionar e financiar o projeto. Ao CNPq pela bolsa de mestrado (133266/2017-6) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Entenda os seus medos, mas nunca deixe que eles sufoquem os seus sonhos.”

Lewis Carroll

RESUMO

HUDSON, C. S. Z. **Avaliação nutricional da fibra de mandioca em alimento extrusado para gatos**. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

A indústria de alimento para cães e gatos busca por formulações que contenham ingredientes de boa qualidade e que atendam as demandas nutricionais dos animais. As fibras dietéticas são importantes componentes nos alimentos dos animais e podem promover a saúde intestinal por meio da modificação da microbiota e de seus metabólitos de acordo com a sua capacidade de fermentação. A fibra de mandioca (FM) é um ingrediente ainda pouco explorado pela indústria de alimentos extrusados para cães e gatos e informações sobre a inclusão dessa fibra, seus efeitos na digestibilidade dos nutrientes, microbiota intestinal e características fecais ainda são pouco elucidados. Esse estudo teve por objetivo avaliar os efeitos de diferentes níveis de inclusão da FM em alimento extrusado para gatos sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes, palatabilidade, microbiota, pH, teor de amônia, ácido siálico e escore fecal. Seis alimentos extrusados foram produzidos compondo os tratamentos: dieta controle sem adição de fonte de fibra (CON); três dietas com inclusões crescentes de FM (4; 8 e 12% de matéria seca – resultando em dietas com 5,5; 6,5 e 7,5% de fibra dietética total [FDT], respectivamente); dieta com 6% de polpa de beterraba (PO) e dieta com 4% de celulose (CEL). As quantidades da polpa de beterraba e celulose adicionados a dieta foram correspondentes para atingir a mesma quantidade de FDT da dieta com 12% de FM (aproximadamente 7,5% de FDT). O estudo foi conduzido em um delineamento em blocos casualizados no tempo, com três blocos de 12 animais cada e seis repetições por tratamento. Os resultados foram comparados pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade e análise de regressão polinomial foi realizada para avaliar os efeitos de inclusão crescente da FM. Foi observado diferença entre os tratamentos para o coeficiente de digestibilidade para matéria orgânica (MO), fibra bruta (FB), extrativo não nitrogenado (ENN) e energia metabolizável (EM) ($p < 0,05$). Não houve diferença das características fecais exceto para a MS fecal ($p = 0,02$). A microbiota fecal diferiu entre as dietas onde observou-se maior abundância dos gêneros *Bifidobacterium*, *Blautia* e *Peptoclostridium* nos grupos FM 12%, PO e CON e menor

gênero de *Helicobacter* em todos os grupos quando comparado ao CON. A FM de mandioca foi a última escolha no teste de palatabilidade. O estudo mostra que a inclusão de FM no alimento extrusado de gatos pode ser utilizado em até 12% na matéria seca como uma fonte de fibra sem que prejudique a digestibilidade dos nutrientes e as características fecais.

Palavras-chave: digestibilidade, palatabilidade, microbiota, ácido siálico, felinos.

ABSTRACT

HUDSON, C. S. Z. **Nutritional evaluation of cassava fiber in extruded diets for cats**. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

The dog and cat food industry searchs for formulations that contain good quality ingredients that meet the nutritional demands of the animals. Dietary fibers are important components in animal feed and can promote intestinal health by modifying the microbiota and its metabolites according to their fermentation capacity. Cassava fiber (CF) is an ingredient still little explored by dog and cat food industry and information on the inclusion of this fiber, its effects on nutrient digestibility, intestinal microbiota and fecal characteristics are still poorly understood. This study aimed to evaluate the effects of different levels of inclusion of CF in extruded cat food on apparent nutrient digestibility, palatability, microbiota, pH, ammonia content, sialic acid and fecal score. Six extruded foods were produced composing the treatments: control diet without added fiber source (CON); three diets with increasing CF inclusions (4, 8 and 12% dry matter [DM] - resulting in diets with 5.5, 6.5 and 7.5% total dietary fiber [TDF], respectively); diet with 6% beet pulp (BP) and diet with 4% cellulose (CEL). The amounts of beet pulp and cellulose added to the diet were matched to achieve the same amount of TDF as the 12% FM diet (approximately 7.5% TDF). The study was conducted in a randomized block design with three blocks of 12 animals each and six replications per treatment. Results were compared by the 5% probability Duncan test and polynomial regression analysis was performed to evaluate the effects of increasing inclusion of CF. Differences were observed between treatments for digestibility coefficient for organic matter (OM), crude fiber (CF), non-nitrogenous extractive (NNE) and metabolizable energy (ME) ($p < 0.05$). There was no difference in fecal characteristics except for fecal DM ($p = 0.02$). Faecal microbiota differed between diets where there was greater abundance of genera *Bifidobacterium, Blautia and Peptoclostridium* in CF 12%, BP and CON groups and smaller genus of *Helicobacter* in all groups when compared to CON. CF was the last choice in the palatability test. The study shows that the inclusion of CF in extruded cat food can be used up to 12% in DM as a fiber source without impairing nutrient digestibility and fecal characteristics.

Keywords: digestibility, palatability, microbiota, sialic acid, feline

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Procedimentos realizados em cada etapa dos períodos experimentais 32
Figura 2 - Distribuição dos gêneros mais abundantes por tratamento 46
Figura 3 - Diferença na presença de *Peptoclostridium* entre os tratamentos 47
Figura 4 - Diferença na presença de *Helicobacter* entre os tratamentos 48
Figura 5 - Diferença na presença de *Bifidobacterium* entre os tratamentos 48
Figura 6 - Diferença na presença de *Clostridium* entre os tratamentos 49
Figura 7 - Análise dos componentes principais (PCA) dos gêneros das comunidades bacterianas por tratamento 50
Figura 8 - Indicadores da biodiversidade das comunidades bacterianas de cada tratamento 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fórmula e composição química analisada das dietas experimentais 35
Tabela 2 - Média das variáveis de extrusão e características das dietas experimentais
..... 36
Tabela 3 - Área total, área média dos poros e número de poros das dietas experimentais 36
Tabela 4 - Resumo das sequências usadas na classificação taxonômica 39
Tabela 5 - Peso e ingestão diária de nutrientes durante o ensaio de digestibilidade 44
Tabela 6 - Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (kcal/MS) das dietas experimentais 45
Tabela 7 - Características fecais e urinárias dos gatos nos diferentes tratamentos 52
Tabela 8 - Resultados do teste de palatabilidade 53

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Fibras dietéticas utilizadas na formulação de alimento extrusado para cães e gatos e seus respectivos grau de solubilidade e fermentabilidade 22
Quadro 2 - Composição química de diferentes fontes de fibras avaliadas (g/kg ingerido) 22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19
2 REVISÃO DE LITERATURA 20
2.1 Propriedades físico químicas das fibras 20
2.2 Microbiota intestinal 24
2.3 Produtos de fermentação 26
2.4 Ácido siálico 30
3 MATERIAIS E MÉTODOS 32
3.1 Animais e delineamento experimental 32
3.2 Dietas experimentais 33
3.3 Parâmetros avaliados 37
3.3.1 Coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes, produção e qualidade fecal 37
3.3.2 Avaliação da microbiota fecal 38
3.3.3 Avaliação das características fecais 39
3.3.3.1 Determinação pH fecal 40
3.3.3.2 Determinação da concentração fecal de amônia 40
3.3.3.3 Determinação de ácido siálico 41
3.3.4 Teste de palatabilidade 41
3.4 Análise estatística 42
4 RESULTADOS 42
4.1 Digestibilidade aparente dos nutrientes, ingestão de alimento e variáveis fecais 43
4.2 Microbiota fecal 46
4.3 Características das fezes 52
4.4 Teste de palatabilidade 53
5 DISCUSSÃO 54
6 CONCLUSÕES 59
REFERÊNCIAS 60

1 INTRODUÇÃO

O aumento na população de cães e gatos domésticos com o passar dos anos, trouxe também uma mudança de comportamento em relação aos proprietários quanto à escolha da alimentação de seus *pets*. É perceptível o aumento da conscientização frente aos benefícios do alimento industrializado (HÁFEZ, 2002). A procura por produtos de melhor qualidade auxilia o desenvolvimento e produção de alimentos com maior valor agregado pela indústria (AMBROZINI, 2007).

A indústria de alimentos para cães e gatos busca por formulações que contenham ingredientes de boa qualidade e que atendam as demandas nutricionais. Os objetivos para as recomendações nutricionais envolvem aspectos como idade, porte, raça, estilo de vida, longevidade, estado imunológico, beleza da pele e pelos, função digestiva, saúde oral e prevenção e tratamento de doenças nutricionais e metabólicas. Nesse aspecto, os nutrientes e ingredientes ganharam destaques, inclusive coprodutos agroindustriais que conquistam cada vez mais espaço no mercado *pet food*.

Os carboidratos são importantes componentes nos alimentos dos animais e sua capacidade de fermentação pode promover a saúde intestinal através da modificação da microbiota e seus metabólitos. Algumas fibras alimentares podem ser classificadas como alimento funcional devido a sua capacidade de interferir de maneira positiva em uma ou mais função do organismo (ROBERFROID, 2000). A manipulação da composição nutricional e escolha dos ingredientes de um alimento é capaz de modular a composição da microbiota intestinal, sua atividade metabólica e a formação dos produtos de fermentação, como por exemplo, os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Essas mudanças podem aumentar a saúde gastrointestinal desses animais e promover saúde e bem-estar (GOMES, 2013).

A fibra de mandioca é um ingrediente ainda pouco explorado pela indústria de alimentos extrusados para cães e gatos e informações sobre a inclusão dessa fibra e seus efeitos na saúde do trato gastrointestinal destas espécies ainda são pouco elucidados. A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é consumida por aproximadamente 500 milhões de pessoas no mundo. Mais de 80 países produzem mandioca e o Brasil participa com mais de 15% da produção mundial (MATSUURA; FOLEGATTI, 2003). A produção da mandioca no Brasil é a sétima em área cultivada

e a primeira em importância social por gerar renda e emprego, além disso, está presente na agricultura de todos os estados brasileiros (BRABO, 2017).

A cultura da mandioca foi amplamente disseminada devido a fatores como facilidade de cultivo, não exigência de solos muito férteis e técnicas sofisticadas, diversidade genética, resistência a pragas, capacidade de regeneração, elevada tolerância a períodos de estiagem e possibilidade de cultivo junto a outras culturas (MATSUURA; FOLEGATTI, 2003). O processamento deste tubérculo para a produção de alimentos para humanos gera elevada quantidade de subprodutos industriais ricos em fibra, como é o caso da raspa de mandioca, um resíduo gerado a partir da extração da fécula. A mandioca apresenta uma composição química com teores de 60 a 70% de umidade, 25 a 35% de amido, 1 a 2% de fibras e 0,5% de lipídeos (ABREU; MATTIETTO, 2016). Após a colheita da mandioca ocorre a recepção das raízes, seguidas pelas etapas de lavagem, descascamento, desintegração (onde são obtidas as fibras grandes), extração da fécula e obtenção das fibras pequenas, purificação, secagem e acondicionamento (ABREU; MATTIETTO, 2016).

Dessa maneira o objetivo desse estudo foi avaliar o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes, palatabilidade as características fecais através do pH, concentração de amônia, ácido siálico e composição da microbiota fecal de gatos alimentados com alimentos extrusados contendo diferentes inclusões de fibra de mandioca.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Propriedades físico-químicas das fibras

A composição da fibra apresenta uma estrutura química única, assim como propriedades físicas características. Essas propriedades possuem influência sobre a ingestão do alimento, tempo de trânsito intestinal, volume fecal, capacidade de retenção de água, fermentabilidade, absorção de nutrientes e microbiota intestinal. Essas características determinam o comportamento biológico e consequentemente o impacto sobre o sistema gastrointestinal através da modulação de componentes nocivos no lúmen do cólon, contribuição na manutenção do equilíbrio da microbiota

do intestino grosso e na integridade da mucosa intestinal (ZENTEK, 1996; BROWNLEE, 2011). Por outro lado, as fibras na dieta também podem influenciar na redução da palatabilidade e ocasionar desordens intestinais, como flatulências e diarreias (NRC, 2006).

As principais fontes de carboidratos fermentáveis na alimentação de cães e gatos são oriundos de cereais, leguminosas e outros ingredientes vegetais. As fontes e a solubilidade dos carboidratos fermentáveis são os principais fatores na determinação da fermentabilidade (NRC, 2006). As fibras solúveis são fermentáveis, embora em proporções diferentes, e tendem a ser melhor substrato energético para os microorganismos gastrointestinais, quando comparado as fibras insolúveis, por apresentarem maior capacidade de fermentação (NRC, 2006). Pectina, beta glucano e inulina, entre outras, representam as fibras solúveis, enquanto as insolúveis incluem principalmente lignina, celulose e hemicelulose (MEYER; TUNGLAND, 2001). A fibras não fermentáveis apresentam um valor calórico de 0 kcal/g, enquanto aquelas de fermentação completa chegam a 2 kcal/g (MEYER; TUNGLAND, 2001).

A celulose, hemiceluloses e lignina também compõem os componentes não viscosos da fibra vegetal, enquanto pectinas e gomas formam os componentes viscosos. Ambos possuem um papel na diluição da dieta, função intestinal e utilização de nutrientes pelos animais monogástricos (FAHEY et al., 1990b). Polissacarídeos viscosos, geralmente possuem alta capacidade de ligação com a água. Quanto maior a capacidade da fibra em se ligar à água, maior a facilidade de degradação pela microbiota (DE BRITO et al., 2008). As fibras solúveis apresentam maior capacidade de hidratação em comparação à menos solúveis, e seu efeito na fisiologia da digestão intestinal ocorre de acordo com a sua composição química e quantidade de fibra dietética presente (ZENTEK, 1996). As fibras insolúveis aumentam a viscosidade do lúmen no intestino (EASTWOOD, 1992) e está associado a um esvaziamento gástrico mais lento, aumento do tempo do trânsito intestinal e redução da absorção de nutrientes (SCHNEEMAN, 1987; EASTWOOD, 1992). Algumas fontes de fibras como goma xantana, pectina e goma guar, podem apresentar características mistas, pois são solúveis e apresentam elevada viscosidade (MEYER; TUNGLAND, 2001). A inulina é uma fibra não viscosa e solúvel com pouco efeito sobre o esvaziamento gástrico, porém apresenta efeito na produção de AGCC, tendo assim influência sobre a microbiota intestinal e modulação do pH intestinal (MEYER; TUNGLAND, 2001). A fibra dietética também

pode apresentar influência sobre o peso das fezes (EASTWOOD et al., 1984) e esse mecanismo se deve a capacidade de retenção da água pela fibra, principalmente pelas não fermentáveis (ROBERTSON; EASTWOOD, 1981; EASTWOOD, 1992).

O quadro 1 apresenta algumas fibras dietéticas comumente utilizadas na formulação de alimento extrusado para cães e gatos e seus respectivos grau de solubilidade e fermentabilidade e o quadro 2 apresenta a composição química e algumas dessas fibras.

Quadro 1. Fibras dietéticas utilizadas na formulação de alimento extrusado para cães e gatos e seus respectivos grau de solubilidade e fermentabilidade.

Tipo de fibra	Solubilidade	Fermentabilidade
Carboximetilcelulose	Alta	Baixa
Celulose	Baixa	Baixa
Farelo de arroz	Baixa	Moderada
Goma arábica	Alta	Moderada
Goma guar	Alta	Alta
Goma xantana	Alta	Baixa
Metilcelulose	Alta	Baixa
Pectina	Alta	Alta
Polpa de beterraba	Baixa	Moderada

Fonte: (REINHART; SUNVOLD, 1996)

Quadro 2. Composição química de diferentes fontes de fibras avaliadas (g/kg ingerido)

Tipo de fibra	MS	PB	EE	MM	FDT	Fibra insolúvel	Fibra solúvel
Carboximetilcelulose	937	-	-	195	740	-	740
Cana-de-açúcar	982	17	13	56	908	908	-
Celulose	936	-	0,4	0,4	920	914	15
Polpa de beterraba	905	75	5,5	64	620	371	245

Fonte adaptada: (CALABRÓ et al., 2013)

A polpa de beterraba como fonte de fibra na dieta de gatos é amplamente utilizada pela indústria e apresenta ótima qualidade. É formada pela combinação de fibras solúveis e insolúveis, sendo considerada uma fonte de fibra de baixa

solubilidade, não viscosa e de fermentabilidade moderada (NRC, 2006). A polpa de beterraba contém entre 60 a 80% de fibra dietética total, sendo aproximadamente 80% desse total insolúvel (FAHEY et al., 1990b; SUNVOLD et al., 1995a, 1995b, 1995c). Essas características resultam na redução do tempo do trânsito intestinal, aumento do volume fecal e redução da digestibilidade na matéria seca (NRC, 2006). No estudo realizado por Fahey e colaboradores (1990b), observou-se que a inclusão de níveis crescentes de polpa de beterraba (0%, 2,5%, 5,0%, 7,5%, 10% e 12,5% de FDT) na dieta de cães resultou em um maior volume de fezes, maior frequência de defecação e redução no tempo de retenção no TGI nos cães alimentados com 12,5%. Nesse mesmo estudo houve redução na digestibilidade da matéria seca conforme o aumento da porcentagem de polpa de beterraba. Dessa forma foi concluído uma aceitação e recomendação da adição de níveis de até 7,5% de polpa de beterraba para a alimentação de cães por não ter apresentado importante redução na digestão dos nutrientes e pouca alteração na qualidade fecal.

A celulose é um dos componentes mais comuns das paredes celulares das plantas. É um polissacarídeo linear composto por unidades de glicose e unidas por ligação do tipo beta, dessa forma são mais resistentes à ação das enzimas digestivas quando comparadas a ligações do tipo alfa. É considerada como fibra de baixa solubilidade e baixa fermentabilidade (CASE et al., 2011). A avaliação dos resultados da fermentação *in vitro* pela microbiota canina mostrou que a celulose foi a menos fermentável quando comparada a outros diferentes tipos de fontes de fibras (SUNVOLD et al., 1995c, 1995b). A capacidade de retenção de água da celulose exerce como efeito redução do tempo de trânsito intestinal e aumento da massa fecal (MEYER; TUNGLAND, 2001). A capacidade de retenção de água aumenta proporcionalmente ao aumento do comprimento das fibras que a compõem.

A celulose é um ingrediente comumente presente nos alimentos extrusados para cães e gatos junto a uma pequena quantidade de lignina, de modo que apenas 50 a 90 % dessa celulose é analisada como fibra bruta (MEYER; TUNGLAND, 2001). Em um estudo realizado por Kienzle e colaboradores (2001), avaliou-se o efeito da celulose adicionadas em três níveis (7, 15 e 20% de fibra bruta na matéria seca) em três diferentes dietas basais (dieta com elevado extrato etéreo, dieta com elevado amido contendo amido cru e dieta com elevado amido contendo amido cozido) sobre a digestibilidade aparente de cães adultos. Os níveis de inclusão de celulose tiveram pouco efeito sobre a digestibilidade aparente do extrato etéreo. Em

contrapartida, a digestibilidade aparente da proteína bruta, energia e de potássio, sódio e cloro foram reduzidas pela celulose em todas as dietas. A excreção de matéria seca fecal aumentou em acordo com o aumento da fibra presente na dieta, e os níveis mais elevados de inclusão de celulose não modificaram o formato das fezes, porém eram menos firmes.

2.2 Microbiota intestinal

Conway (1994) classifica o conceito de “saúde intestinal” como complexo e inclui no mínimo três componentes principais, que são a dieta, a mucosa intestinal e a microbiota intestinal. Semelhante a outros mamíferos, o intestino de cães e gatos apresenta padrão de colonização microbiano. O tubo digestível é estéril ao nascimento e passa a ser colonizado por bactérias presentes no ambiente e obtidas através do contato materno. Fatores como idade, saúde, dieta e ambiente contribuem para mudanças sucessivas no processo de colonização na composição das populações (FAHEY; BARRY; SWANSON, 2008). Através da competição por nutrientes, controle das concentrações de oxigênio, pH e produção de substâncias antimicrobianas, a microbiota intestinal apresenta um importante papel na digestão, metabolismo do hospedeiro e na defesa natural contra patógenos (NRC, 2006).

A população microbiana do TGI de cães e gatos adultos é altamente complexa com grande variabilidade de espécies e interações para manutenção do ecossistema. Inclui bactérias, arqueas, fungos, protozoários e vírus. As bactérias são o grupo mais abundante e metabolicamente ativo. A quantidade total microbiana é estimada entre 10^{12} e 10^{14} organismos, representando uma proporção dez vezes maior que o número de células do próprio hospedeiro (FRANK et al., 2007; HANDL et al., 2011; SUCHODOLSKI, 2011). Os filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes* e *Fusobacteria* compõem em maior parte a microbiota intestinal de cães (aproximadamente 95%), seguido pelo *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, que constituem entre 1 a 5% do total de bactérias identificadas (MIDDELBOS et al., 2010; HANDL et al., 2011). Nos gatos foi observado uma maior prevalência do filo *Firmicutes* seguido por *Actinobacteria* e *Fusobacteria* (HANDL et al., 2011). Ritchie et al. (2008) e Suchodolski et al. (2008) por sua vez, avaliaram diversos segmentos intestinais de cães e gatos saudáveis e encontraram os filos *Firmicutes, Bacteroidetes* e *Proteobacteria* em maiores quantidades. Outros estudos realizados

para avaliação da microbiota de amostras fecais de gatos mostraram que os filos *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* e *Bacteroidetes* são os principais grupos de bactérias presentes em suas fezes (DESAI et al., 2009; RITCHIE et al., 2010), e a ordem *Clostridiales* foi a ordem bacteriana mais prevalente (DESAI et al., 2009; RITCHIE et al., 2010; HANDL et al., 2011). A microbiota analisada nas fezes dos felinos tende a ser mais diversificada por apresentar um maior número de gênero e espécies bacterianas, quando comparado ao cão (HANDL et al., 2011).

A técnica de cultivo bacteriano tradicional foi por muito tempo utilizada na caracterização da composição da microbiota intestinal canina e felina (BENNO et al., 1992; MENTULA et al., 2005), porém apresenta como limitação a incapacidade de cultivo e classificação correta da grande maioria dos microrganismos intestinais (GREETHAM et al., 2002), uma vez que a predominância se dá pelas bactérias anaeróbias e fica mais propenso a danos durante o manuseio da amostra (SUCHODOLSKI, 2011). Outras limitações dessa técnica ocorrem por não haver informações suficientes sobre a necessidade ótima de crescimento da maioria dos microrganismos levando a uma baixa recuperação das bactérias intestinais por cultura, além de que muito dos microrganismos vivem em interações de mutualismo, dificultando assim seu crescimento nesse meio (SUCHODOLSKI, 2011).

As técnicas moleculares atualmente disponíveis permitem uma melhor caracterização do complexo ecossistema do TGI de mamíferos e tornou-se método padrão para investigação da microbiota intestinal de cães e gatos (SUCHODOLSKI, 2011). A hibridização fluorescente *in situ* e o sequenciamento e detecção pelo RNA ribossômico 16S permitem uma maior classificação do microbioma intestinal e, em alguns casos, uma estimativa da quantidade de espécies que anteriormente eram apenas caracterizadas como sendo entéricas (FAHEY; BARRY; SWANSON, 2008). Para a análise molecular, o DNA ou RNA é extraído de amostras do intestino, como fezes, fragmento de biópsia ou conteúdo luminal. A identificação filogenética ou impressão digital molecular, é feita através da amplificação de *primers* universais (bacterianos, fúngicos ou arcaicos) que visam regiões conservadas dentro desses genes e quando sequenciadas permitem a identificação filogenética dos organismos presentes. Na identificação de bactérias e arqueas, o RNA ribossômico 16S (16S rRNA) é o gene comumente utilizado (SUCHODOLSKI, 2011). Embora as técnicas moleculares sejam mais detalhadas, também apresentam limitações. Proporções de grupos bacterianos podem ser superestimados na análise por 16S rRNA ou por

qPCR, sendo necessário uma avaliação mais cuidadosa ao relacionar diretamente resultados moleculares com contagem absoluta de células (SUCHODOLSKI, 2011).

As técnicas de avaliação moleculares, apesar de fornecerem maiores informações sobre a composição do microbioma intestinal, não fornecem informação a respeito de suas propriedades funcionais. A microbiota é diferente em cada espécie e cada animal de forma individual (SIMPSON et al., 2002; SUCHODOLSKI et al., 2004; HANDL et al., 2011). Apesar dessas diferenças filogenéticas, os produtos de fermentação do metabolismo do microbioma intestinal são semelhantes entre os indivíduos. Embora algumas influências ambientais, como por exemplo a dieta, possam levar a alterações nos grupos bacterianos, essas mudanças não estão diretamente associadas a alterações importantes na fisiologia intestinal de animais saudáveis (SUCHODOLSKI, 2011). A fermentação microbiana promove a saúde no cólon, como a inibição do crescimento de patógenos, aumento da absorção mineral e produção de vitaminas (biotina e vitamina K) (MEYER; TUNGLAND, 2001; GROSS et al., 2010).

2.3 Produtos de fermentação

As duas principais funções do intestino são a digestão e absorção de nutrientes e a proteção do corpo. O TGI possui um importante papel imunológico na proteção contra o meio ambiente externo (FERGUSON, 1994; CUNNINGHAM-RUNDLES; LIN, 1998). A mucosa intestinal possui elevadas taxas de proliferação e renovação celular e esse processo pode utilizar de 10 a 20% da necessidade energética e até 50% da necessidade de proteína (ROEDIGER, 1990). Dessa maneira, o fornecimento adequado de nutrientes para o TGI auxilia o desenvolvimento e funcionamento deste órgão durante a vida do animal. A maior parte das bactérias intestinais podem ser divididas em espécies que exercem efeitos prejudiciais (*Staphylococci, Clostridia e Veillonellae*) ou espécies que beneficiam o hospedeiro (*Bifidobacteria, Lactobacilli e Eubacteria*) (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Diarreia, infecção, produtos de putrefação e favorecimento a carcinogênese são exemplos de efeitos patogênicos, enquanto a defesa contra patógenos, prevenção à infecção e redução do colesterol sérico estão entre os efeitos benéficos (MORTENSEN; CLAUSEN, 1996).

As fibras fermentáveis são resistentes a digestão hidrolítica no intestino delgado, chegam ao cólon onde são fermentados pela microbiota local, em que os gases formados (dióxido de carbono, hidrogênio e metano) são excretados, e forma-se um suprimento adequado de matéria orgânica para o intestino grosso (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Além das fibras fermentáveis, o amido resistente, PNAs, células epiteliais desprendidas, muco, enzimas e outras secreções intestinais, também são fontes de substratos à fermentação microbiana (MORTENSEN; CLAUSEN, 1996) (SUCHODOLSKI; SIMPSON, 2013). A fermentação desses compostos pela microbiota resulta na produção dos AGCC, formados por dois a seis átomos de carbono, sendo principalmente acetato, propionato e butirato, e em quantidades menores, isobutirato, valerato, isovalerato e hexanoato. Resultam na redução do pH do cólon e possui influência sobre a composição e a atividade metabólica microbiana (ROEDIGER, 1980; ROBERFROID; GIBSON; DELZENNE, 1993; CAMPBELL; JR FAHEY, 1997). Em algumas situações os produtos de fermentação produzidos por uma espécie de bactéria podem servir como substrato para crescimento de outras espécies (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Os produtos de fermentação produzidos dependem da composição química do substrato disponível para fermentação (VICKERS et al., 2001).

As fibras fermentáveis ao alcançarem o cólon, tornam-se disponíveis para fermentação bacteriana e ao fornecerem a matéria orgânica adequada para o intestino grosso tendem a elevar os níveis de microbiota do gênero *Bifidobacteria* e *Lactobacillus* (BROWNLEE, 2011). A microbiota do cólon interage com o hospedeiro através de seus produtos de fermentação que possuem efeitos positivos e negativos sobre a fisiologia intestinal (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Alguns desses metabólitos, (indóis, amônia e aminas), tendem a prejudicar a mucosa, enquanto outros, como os AGCC e consequente redução do pH apresentam potencial benéfico ao hospedeiro (MORTENSEN; CLAUSEN, 1996; CAMPBELL; JR FAHEY, 1997).

A absorção parece ocorrer principalmente pela parede intestinal por transporte passivo (FLEMING et al., 1991). Esse transporte dos AGCC do lúmen para o interior das células aumenta a concentração luminal de bicarbonato (HCO_3^-), o que possui efeito na manutenção do pH intraluminal (ROBERFROID; GIBSON; DELZENNE, 1993). Os AGCC possuem a capacidade de gerar efeitos tróficos e metabólicos na função intestinal, em especial o butirato (KRIPKE et al., 1989). Os

AGCC são absorvidos para a circulação sanguínea do hospedeiro e são metabolizados pelo fígado. Em ratos, foi demonstrado que o acetato possui a capacidade de modular a permeabilidade das células intestinais de forma benéfica, reduzindo a translocação sistêmica de endotoxinas derivadas da microbiota intestinal (FUKUDA et al., 2012). O propionato é convertido no fígado em succinil coenzima A, enquanto o butirato reduz o dano oxidativo ao DNA, induz apoptose de células danificadas e participa como principal fonte de energia para os colonócitos (ROEDIGER, 1980; FIRMANSYAH; PENN; LEBENTHAL, 1989; SUCHODOLSKI; SIMPSON, 2013), com influência sobre a proliferação celular, diferenciação e metabolismo dessas células (SCHEPPACH et al., 1992). O butirato e o acetato que permanecem no lúmen intestinal possuem a capacidade de aumentar a função da imunoglobulina A, elevar a secreção de mucina e consequentemente reduzir a adesão e translocação de bactérias (BARCELO et al., 2000). Em concentrações extremamente baixas ou elevadas, é esperado que os AGCC elevem o teor de água nas fezes, enquanto concentrações moderadas geralmente reduzem esse teor fecal de água (NRC, 2006).

Os AGCC facilitam a absorção de sódio, cloro e água para o cólon, além de possuir capacidade para alterar a motilidade do cólon em algumas espécies (GROSS et al., 2010). Cherbut et al. (1998), demonstrou em roedores que o fornecimento de altas concentrações de butirato e propionato (níveis maiores que 100mM) resulta em redução da atividade peristáltica e aumento da atividade tônica do cólon. Esses efeitos tendem a beneficiar a absorção epitelial, pois aumentam o tempo de exposição do fluido luminal.

Apesar dos gatos serem carnívoros estritos e o cólon constituir uma proporção muito pequena do comprimento do trato gastrointestinal (< 20%), os gatos mantêm um maior comprimento intestinal e uma maior área de superfície de absorção durante o desenvolvimento intestinal quando comparado aos cães (MALO; BUDDINGTON; REINHART, 2000). Kienzle (1993), demonstrou que os AGCC nessa espécie estão presentes em maiores quantidades nos segmentos intestinais distais em comparação aos proximais, comprovando assim a presença de fermentação microbiana no TGI distal. Sendo assim, fontes de fibras de rápida fermentação são fermentadas em uma região mais proximais do TGI quando comparado a fontes de fermentação mais lenta. Dessa maneira a taxa de fermentação tem influência sobre a porção intestinal em que a fermentação irá ocorrer (SUNVOLD et al., 1995a). O

estudo realizado por Sunvold e colaboradores (1995a), mostrou que certas fontes de fibra podem ser fermentadas no TGI de gatos, resultando em diferentes porções dos AGCC. A composição química dos substratos é determinante para caracterizar a fermentação do substrato. Os diferentes comprimentos dessas fontes de fibra resultam em proporções diferentes da produção de AGCC (SUNVOLD et al., 1995c) e outros metabólitos imunomoduladores.

A quebra da proteína pela microbiota residente envolve a hidrólise de polipetídeos a peptídeos e aminoácidos, que se tornam disponíveis para assimilação ou desaminação para produção de AGCC (incluindo isobutirato e isovalerato), amônia, ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR), fenóis, indóis, aminas biogênicas, dióxido de carbono e hidrogênio (MORTENSEN; CLAUSEN, 1996), e aumentam a quantidade de materiais residuais nitrogenados que entram na corrente sanguínea (SMITH; MACFARLANE, 1997). Os catabólitos da proteína, além de resultarem em mau odor das fezes, também podem ser tóxicos quando em altas concentrações (KUZMUK et al., 2005). A avaliação das características fecais é fundamental quando se trata de um novo ingrediente a ser utilizado na nutrição de cães e gatos. Fezes amolecidas ou excessivamente ressecadas podem ser indicativo de desordem, e podem ocorrer se fontes ou níveis de inclusão de fibras forem usadas de maneira inadequada à dieta.

Os indóis e fenóis fazem parte dos compostos orgânicos voláteis. Os compostos orgânicos são definidos como qualquer composto químico que contenha ao menos um átomo de carbono e um de hidrogênio em sua estrutura. Os compostos orgânicos voláteis (COVs) são definidos como compostos orgânicos que são facilmente vaporizados à temperatura ambiente (NRC, 2002). São gerados pelo metabolismo de microrganismos intestinais como produtos finais dos componentes ingeridos pelo animal (GARNER et al., 2007). As proporções de fenóis e indóis estão relacionadas com o pH fecal, sendo que os fenóis são produzidos em presença de pH baixos, enquanto os fenóis em pH mais elevado (HWANG et al., 2016). O estudo *in vitro* realizado por Bansal e colaboradores (2010), mostrou que o indol derivado de microrganismos possui a capacidade de diminuir a expressão de agentes pró inflamatórios, através da IL-8, induzir a expressão dos genes de mucina e aumentar a expressão gênica que fortalece a resistência das junções oclusivas. Apesar disso, o efeito do indol sobre as células epiteliais do intestino ainda é pouco conhecido.

A formação dos AGCC tem como efeito a protonação de amônia potencialmente tóxica para produzir NH4+ que não é difusível e, consequentemente, reduz os níveis de amônia no sangue. Em humanos, a amônia quando em concentrações elevadas, pode induzir a encefalite hepática e coma hepático nos pacientes com cirrose ou outras alterações do fígado (ARAYA-KOJIMA et al., 1995). O estudo realizado por Araya-Kojima e colaboradores (1995), mostrou que tanto as bifidobactérias quanto bactérias nocivas (Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Clostridium perfringes e algumas Bacteroides), estão envolvidas em mudanças nas concentrações de amônia. Porém, a avaliação realizada no estudo mostrou que a Bifidobacteria produz pequena quantidade quando comparada a produção de amônia pelas bactérias nocivas. A rápida fermentação, principalmente de alguns dissacarídeos, compete com a degradação proteica no cólon e é capaz de alterar a capacidade do intestino grosso de produção de amônia para absorção de amônia e excreção de nitrogênio (MORTENSEN; CLAUSEN, 1996).

2.4 Ácido siálico

A mucosa do TGI está exposta a diversos agentes agressivos, como as próprias enzimas digestivas, toxinas e alimentos e a avaliação de possíveis prejuízos a fisiologia digestiva de cães e gatos é importante para conhecimento de prováveis impactos de novos ingredientes sobre o trato gastrointestinal. A camada de muco que recobre o TGI é formada predominantemente por glicoproteínas sintetizadas e secretadas pelas células caliciformes. A fração de carboidratos presente na camada de muco é composta basicamente por galactose, fucose, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina e ácido siálico (AS). Os AS são uma família de açúcares carboxilados composta por nove carbonos e comumente encontrados como monossacarídeos nas posições terminais de oligossacarídeos (VARKI, 1992).

A produção de AS no lúmen intestinal está associada à produção de muco como mecanismo de defesa e atua no tamponamento e lubrificação do TGI em situações adversas ao ambiente intestinal (JOURDIAN et al., 1971; MERTZ; WALSH, 1991). Está envolvido em diversas funções fisiológicas e contribui para adesão celular, inibição enzimática e função hormonal, entre outros. O aumento da

sua excreção nas fezes frequentemente está associado a uma fragilidade celular, infecções bacterianas e senescência celular (PIRGOZLIEV et al., 2005).

Entende-se que a perda excessiva do AS nas fezes aumenta a perda endógena de nutrientes e prejudica a absorção devido a formação de uma barreira entre o alimento e as enzimas (ROCHA, 2014). O trabalho realizado por Larsen et al. (1993), verificou que o aumento das concentrações de fibras solúveis nas dietas fornecidas para ratos também aumentou as concentrações de AS presente nos conteúdos intestinais. Dessa maneira, pode-se concluir que houve aumento da produção de mucoproteína com o aumento da viscosidade da dieta.

Dessa forma o AS presente nas fezes permite indiretamente a avaliação do quanto um ingrediente pode ser prejudicial à mucosa intestinal, pois sua produção é feita pelo tecido de revestimento das paredes internas dos intestinos e sua liberação ocorre no lúmen intestinal quando essa parede é lesionada (JOURDIAN; DEAN; ROSEMAN, 1971).

A indústria *pet food* tem procurado fontes de fibra para incluir nos alimentos extrusados, uma vez que apesar de não essenciais, as fibras proporcionam benefícios importantes em alimentos para cães e gatos, tais como melhora no trânsito gastrointestinal, efeito na saciedade, melhora na qualidade das fezes, prevenção de distúrbios intestinais inflamatórios ou degenerativos, regulação da microbiota, entre outros. O objetivo da dieta a ser comercializada leva a escolha do tipo de fibra que será utilizada. As fibras que apresentam fermentação moderada tem sido as mais investigadas, uma vez que conseguem aliar os benefícios, sem prejudicar a qualidade fecal ou digestibilidade. No entanto, as fibras de moderada fermentabilidade disponíveis no mercado atualmente são poucas, tais como a polpa de beterraba. Neste sentido, neste estudo será investigado o efeito da fibra de mandioca sobre a digestibilidade dos nutrientes e a palatabilidade de dietas para gatos, assim como seus efeitos sobre a microbiota, pH, amônia e ácido siálico das fezes, visando o desenvolvimento e avaliação de uma nova fonte de fibra a ser empregada em *pet food*.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Felinos Domésticos do Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá (UEM, Maringá – PR). O procedimento experimental teve aprovação da Comissão Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo nº 8373141118), assim como da CEUA da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo (Protocolo nº 5833181218).

3.1 Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 36 gatos sem raça definida, adultos, esterelizados, sendo 18 machos e 18 fêmeas, com peso médio de 4,07 ± 0,20 kg e 4 anos de idade, clinicamente sadios, vacinados e submetidos a controle preventivo periódico para ecto e endoparasitas. Todos os animais foram provenientes do Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Felinos Domésticos localizado na Fazenda Experimental Iguatemi (distrito pertencente a Maringá – PR).

O experimento seguiu o delineamento em blocos casualizados no tempo, composto por três blocos incluindo 12 unidades experimentais (gatos), seis tratamentos (rações) e dois animais por tratamento em cada bloco, de forma a totalizar seis repetições por tratamento. Cada bloco teve a duração de 23 dias onde, do dia 0 ao dia 5 foi realizado período de adaptação às dietas, do dia 6 ao dia 11 executado ensaio de digestibilidade e do dia 20 ao dia 23 feita coleta de fezes frescas para mensuração de pH, amônia, ácido siálico e microbiota (Figura 1).

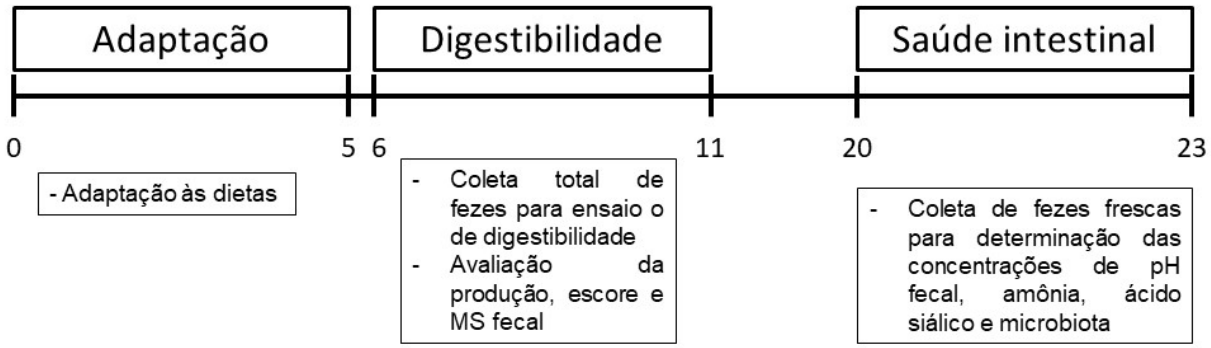

Figura 1. Procedimentos realizados em cada etapa dos períodos experimentais.

Durante todo o experimento, os gatos foram alimentados em dois períodos, manhã (8:00) e tarde (14:00). No período de adaptação, os gatos permaneceram em gaiolas de adaptação individualizadas e o alimento ficou à disposição por uma hora nestes períodos, sendo realizado controle do consumo diário. Após o período de alimentação os animais eram soltos em gatil coletivo com 49 m^2 para a prática de exercício e socialização (24 m^2 de área coberta e 25 m^2 de área de solário). Para o ensaio de digestibilidade, os gatos permaneceram alojados individualmente em gaiolas metabólicas de aço inox com dimensões 0,6 m x 0,5 m x 1 m, equipadas com aparato para coleta separada de fezes e urina. A quantidade total do alimento era dividida em duas refeições diárias e fornecida no horário das 08:00 e 14:00 e o fornecimento de água era *ad libitum*.

A quantidade de ração fornecida foi calculada individualmente de acordo com a energia metabolizável da ração e a necessidade energética do animal através do cálculo 75 x $kg^{0,67}$ para os gatos (MERENDA, 2017; FEDIAF, 2018). Os animais foram pesados semanalmente e a quantidade de ração ajustada quando necessário com objetivo de manter o peso ao longo do estudo.

As sobras eram recolhidas e o consumo registrado. Durante todo o experimento a água foi fornecida à vontade. As fezes foram coletadas de uma a duas vezes ao dia, pesadas, identificadas e armazenadas em freezer (-15ºC).

3.2 Dietas experimentais

Foram produzidas seis dietas experimentais contendo os mesmo ingredientes e valor nutricional semelhante, apenas divergindo na concentração de fibras: dieta controle sem adição de fibra (CON), três dietas com inclusões crescentes de fibra de mandioca (FM - 4%, 8% e 12% na matéria seca – resultando em dietas com 5,5%, 6,5% e 7,5% de FDT respectivamente), uma dieta com inclusão de polpa de beterraba (PO) 6% na matéria seca e a sexta dieta com inclusão de celulose (CEL) a 4%. As dietas com polpa de beterraba e celulose apresentaram o mesmo teor de FDT da dieta FM 12% (aproximadamente 7,5%). A escolha da comparação com polpa de beterraba e celulose se deve ao fato de já serem ingredientes utilizados em alimentos extrusados para gatos e apresentarem fermentabilidade moderada e baixa, respectivamente.

A fibra de mandioca utilizada neste estudo (Fiber Vita MF 125, Kemin Nutrisurance Nutrição Animal Ltda, Vargeão-SC) apresentou 35,01% de FDT sendo 32,42% a fração insolúvel e 2,59% de fibra alimentar solúvel.

As dietas experimentais foram formuladas de acordo com as recomendações nutricionais para gatos adultos da European Pet Food Industry Federation (FEDIAF, 2018) e a composição química está descrita na tabela 1. As rações foram produzidas na Fábrica Danês Alimentos (Apucarana – PR), em extrusora experimental (Inbramaq®) e sistema completo de extrusão, com os mesmos princípios de operação que os equipamentos comerciais e capacidade de produção de 1000kg/h.

Os ingredientes utilizados nas dietas foram misturados e moídos em moinho de martelos, utilizando-se peneira com furos de 0,8 mm. Um lote único de ingredientes foi usado nos seis tratamentos experimentais para minimizar as diferenças. As rações foram processadas em extrusora de rosca simples. O pré-condicionador foi mantido à temperatura de 90ºC. Na sequência as rações foram secas em secador horizontal de duas passagens, operando à temperatura de 105ºC. As fontes de fibras foram incorporadas em todos os tratamentos antes da extrusão. Foram avaliadas a temperatura e adição de água no condicionador. Na extrusora foram mensuradas: velocidade da rosca (Hz), amperagem (A) e produtividade (kg/h). Foi avaliada a densidade dos extrusados (g/l), dureza em durômetro (kgf/cm^2), índice de expansão (IE, largura dos extrusados/diâmetro da matriz) e a friabilidade através do uso do friabilomêtro para avaliação da resistência do kibble a agentes externos como o atrito. Através da microscopia eletrônica de varredura foi realizado a avaliação da porosidade dos extrusados (mm^2), mensurada pelo software ImageJ®. A tabela 2 apresenta a média das variáveis e características do extrusado das dietas experimentais. A área total e área média dos poros e número de poros dos alimentos extrusados encontram-se apresentados na tabela 3.

Tabela 1. Fórmula e composição química analisada das dietas experimentais.

	Fórmula das dietas experimentais					
		FM %				
Ingrediente (%)	**COM**	**4**	**8**	**12**	**PO**	**CEL**
Milho grão	51,45	46,72	42,61	40,99	44,88	47,18
Farinha de vísceras Low Ash	25,00	25,31	25,59	25,70	25,44	25,45
Glúten de milho 60%	6,68	6,68	6,68	6,68	6,68	6,68
Gordura de aves	6,00	6,08	6,15	6,22	6,11	6,05
Concent. proteico de soja	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Fonte de fibra	-	4,35	8,11	11,87	6,04	3,79
Palatabilizante em pó	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Calcário Calcítico	1,16	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15
Premix gatos[1]	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Cloreto de potássio	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de colina 60%	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
L-taurina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Antifúngico	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Antioxidante sintético	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
	Composição química analisada na matéria seca					
Umidade (%)	7,94	8,45	8,40	9,85	8,82	7,18
Proteína bruta (%)	31,03	32,05	31,44	32,22	32,53	31,19
Extrato etéreo (%)	11,55	10,91	10,95	11,14	12,44	10,20
Fibra bruta (%)	1,43	3,15	2,87	3,80	2,80	4,32
Matéria mineral (%)	7,29	7,23	7,34	7,85	7,57	6,90
Extrativo não nitrogenado (%)	40,76	46,66	39,00	35,13	35,85	40,22
Fibra dietética total (%)[2]	-	5,50	6,50	7,50	7,50	7,50
Fibra insolúvel (%)[2]	-	5,09	6,02	6,94	5,87	6,69
Fibra solúvel (%)[2]	-	0,41	0,48	0,56	1,63	0,81
Energia bruta (kcal/g)	4,88	4,67	4,84	4,83	4,88	4,84

[1] Adição por quilograma de produto: Magnésio 110mg, Cobre 16,4mg, Iodo 2,18mg, Ferro 84,78mg, Manganês 11,23mg, Selênio 0,54mg, Zinco 137,37mg, Vitamina A 11892,86UI, Vitamina D 1189,28 UI, Vitamina E 85,63mg, Tiamina 5,47mg, Riboflavina 14,27mg, Niacina 26,16mg, Vitamina B4 2900mg, Ácido pantotênico 23,79mg, Piridoxina 3,57mg, Ácido fólico 430mcg, Vitamina B7 71mcg, Vitamina B12 52,3mcg, Vitamina K 2380,15mcg, Vitamina C 100mg.

[2] Calculado no ingrediente

Tabela 2. Média das variáveis de extrusão e características das dietas experimentais.

Item	CON	FM (%) 4	FM (%) 8	FM (%) 12	PO	CEL
Condicionador						
Temperatura (ºC)	91,40	91,70	90,10	95,90	88,60	92,80
Adição de água (L/h)	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Extrusora						
Amperagem (A)	20,00	25,00	20,00	28,00	30,00	22,00
Velocidade da rosca (Hz)	34,00	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00
Produtividade (kg/h)	95,67	93,00	88,68	93,36	99,24	92,76
Característica do extrusado						
Densidade (g/L)	383,50	341,30	349,10	364,50	369,50	323,80
Índice de expansão	1,51	1,58	1,59	1,59	1,51	1,62
Dureza (kgf/cm^2)	6,39	7,02	6,25	7,16	6,36	7,15
Friabilidade (g/kg)	0,06	0,03	0,11	0,07	0,05	0,07

Tabela 3. Área total, área média dos poros e número de poros das dietas experimentais.

	CON	FM (%) 4	FM (%) 8	FM (%) 12	PO	CEL
Item						
Área total (mm^2/kibble)	46,16	51,70	52,87	52,68	55,01	51,83
Número de poros	27,00	29,00	35,00	36,00	32,00	29,00
Área média dos poros (mm^2)	1,70	1,78	1,51	1,46	1,72	1,79

3.3 Parâmetros avaliados

3.3.1 Coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes, produção e qualidade fecal

O ensaio de digestibilidade foi conduzido pelo método de coleta total de fezes, considerando-se as recomendações da (AAFCO, 2004). As dietas foram oferecidas por um período de adaptação de cinco dias, seguidos de seis dias de coleta total de fezes, obtendo-se um conjunto de fezes e urina de cada animal. A água foi fornecida à vontade. O consumo alimentar foi registrado diariamente, pesando-se as quantidades oferecidas e recusadas de alimento a cada refeição. As fezes foram colhidas integralmente duas vezes ao dia, às 08:00 e 14:00, pesadas e acondicionadas em freezer (-15º C) para posterior análise.

Ao final do período de coleta, as fezes foram descongeladas homogeneizadas, compondo uma amostra única por animal e período, pesadas e secas em estufa de ventilação forçada (320-SE, FANEM, São Paulo) à 55ºC durante 72 horas. As fezes pré-secas e as rações foram, então, moídas em moinho bola e moinho faca com peneira de 1 mm, respectivamente (MOD 340, ART LAB, São Paulo), para proceder-se às análises laboratoriais.

Nas fezes e rações foram determinados, segundo a metodologia descrita pela Association of the Official Analytical Chemists (AOAC, 1995), os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo por hidrólise ácida (EEHA), matéria mineral (MM) e fibra bruta (FB). Para cada uma das análises a avaliação foi feita em duplicata e repetição realizada caso houvesse diferença superior a 5% entre as duplicatas.

A energia bruta (EB) das fezes e rações foram determinadas em bomba calorimétrica isoperibólica (Parr Instrument Company, EUA, modelo 6200). A energia bruta da urina foi estimada utilizando a proteína digestível consumida na dieta multiplicada pelo fator 0,86 (kcal) (FEDIAF, 2018). Os extrativos não-nitrogenados (ENN) foram calculados pela diferença entre MS e a soma da PB, EEHA, FB e MM.

Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, matéria orgânica, extrato etéreo hidrólise ácida, extrativos não-nitrogenandos e fibra bruta das rações. Estes cálculos foram realizados com a seguinte fórmula:

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

Foram avaliadas, também, a produção e qualidade das fezes através do escore fecal durante o ensaio de digestibilidade. O escore das fezes produzidas foram avaliadas sempre pelo mesmo avaliador, segundo a metodologia proposta por CARCIOFI et al. (2008), em que 0 = fezes líquidas; 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e úmidas; 3 = fezes macias, formadas e úmidas que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas, considerando-se normal valores entre 3 e 4. A matéria seca das fezes foi determinada pela seguinte fórmula:

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

1ª MS = matéria seca a 55 ^{o}C das fezes *in natura*

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

3.3.2 Avaliação da microbiota fecal

Para avaliação da microbiota fecal foi empregado o kit comercial “ZR Fecal DNA MiniPrep®” da Zymo Research para extrair o DNA das amostras seguindo-se o protocolo recomendado pelo fabricante. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria a 260nm utilizando-se o espectrofotômetro NanoDrop® 2000 (ThermoScientific). Para avaliar a integridade do DNA extraído, todas as amostras foram corridas por eletroforese em gel de agarose 1%, coradas com uma solução de brometo de etídeo 1% e visualizadas com luz ultravioleta em transiluminador de luz ultravioleta.

Foi amplificado um segmento de 250 bases da região hipervariável V4 do gene ribossomal 16S rRNA utilizando-se os primers universais 515F e 806R e as seguintes condições de PCR: 94°C por 3 min; 18 ciclos de 94°C por 45 seg, 50°C por 30 seg e 68°C por 60 seg; seguido de 72°C por 10 min. A partir destes amplificados foi construída a biblioteca metagenômica utilizando-se o kit comercial

“Nextera DNA Library Preparation Kit” da Illumina®. Os amplificados foram reunidos em pools e posteriormente sequenciados no sequenciador “MiSeq” da Illumina® (DEGNAN; OCHMAN, 2012).

As leituras ou “reads” obtidos no sequenciador foram analisadas na plataforma QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) (CAPORASO et al., 2010, 2011) seguindo-se um fluxo de trabalho desde a remoção de sequências de baixa qualidade, remoção de quimeras e classificação taxonômica. As sequências foram classificadas em gêneros bacterianos através do reconhecimento de unidades taxonômicas operacionais (OTUs), neste caso, a identidade (>97%) entre as sequências quando comparadas contra uma base de dados. Para comparar as sequências foi utilizada a atualização (SILVA 132) do ano 2018 do banco de dados de sequências ribossomais SILVA database (YILMAZ et al., 2014). Para gerar a classificação das comunidades bacterianas por identificação de OTUs, foram utilizadas 10.958 leituras por amostra, isso com a finalidade de normalizar os dados e não comparar amostras com diferente número de leituras, evitando dessa forma um viés na taxonomia.

Um resumo das sequencias utilizadas na classificação taxonômica está detalhada na Tabela 4. A amostra referente ao animal do bloco 2 recebendo a dieta com celulose, não gerou leituras no sequenciamento, assim, foi descartada de análises posteriores.

Tabela 4. Resumo das sequências usadas na classificação taxonômica.

Número de amostras	35
Número de OTUs	6.009
Número de leituras	383.530
Mínimo de leituras por amostra	10.958
Máximo de leituras por amostra	10.958

3.3.3 Avaliação das características fecais

Com o objetivo de verificar as alterações do padrão fermentativo da microbiota frente aos diferentes tratamentos realizados, mensurou-se nas fezes o pH e foram determinadas as concentrações de amônia e ácido siálico.

3.3.3.1 Determinação do pH fecal

Para a determinação do pH das fezes 2 g de amostra fresca foram diluídas em 6 ml de água miliQ (na proporção 1v:3v). O pH fecal foi medido por meio de um pHmêtro digital (pHmêtro Digimed DM 22, São Paulo, SP, Brasil). Esse procedimento foi realizado através da coleta de três dias consecutivos e empregou-se a média das três aferições obtidas.

3.3.3.2 Determinação da concentração fecal de amônia

A concentração de amônia (NH_3) nas fezes foi determinada através de metodologia adaptada por FÉLIX et al. (2013) e realizada no Laboratório de Estudos em Nutrição Canina (LENUCAN) do Departamento de Zootecnia, na Universidade Federal do Paraná (Curitiba - PR). Foram incubadas 3 g de fezes em balão de vidro de 500 ml. Adicionou-se 100 ml de água destilada em cada tubo a cada cinco minutos durante 60 minutos e os tubos foram vedados. Em seguida, para o início da destilação, foi acrescentado à solução três gotas de álcool octilo (1-octanol) e 2 g de óxido de magnésio que foram destilados em aparelho Macro-Kjeldahl e recuperado em Becker contendo 25 ml de ácido bórico. A partir dessa solução contida no Becker a amônia foi titulada através do uso de ácido sulfúrico 0,1 N normalizados. A concentração de amônia fecal foi corrigida para matéria seca (MS) fecal. A avaliação foi realizada em duplicada para cada uma das amostras. A concentração de amônia fecal foi calculada através da equação:

Amoníaco-N (g/kg) = N x fator de correção x 17 x (volume de ácido) / peso da amostra (g)

N = concentração de ácido sulfúrico usado para titulação
Fator de correção = estabelecido no momento da preparação do ácido
17 = peso molecular NH_3
Volume de ácido = volume de ácido necessário para a viragem da titulação

3.3.3.3 Determinação do ácido siálico

Para a avaliação de ácido siálico amostras de fezes frescas foram coletadas e refrigeradas (-15ºC). Para a análise foi realizada a liofilização (Alpha 1-4 LO plus, Christ, Osterodeam Hans, Alemanha) e após esse processo o material foi moído. As amostras pesadas (0,02g) e feitas em duplicatas. Acrescentou-se 0,5ml de água em cada tubo com amostra, foi adicionado 0,1ml da solução de ácido periódico e agitado. Após esse procedimento as amostras permaneceram por 20 minutos na água com gelo e nesse momento foi acrescentado 1,25ml de solução de resorcinol. As amostras foram agitadas, tampadas e permaneceram no gelo por mais 5 minutos. Em seguida foram levadas ao banho maria a 100ºC durante 20 minutos e logo após colocadas imediatamente no isopor com gelo. Foi pipetado 1,25ml de solução metil-2-propanol e novamente agitado. As amostras foram colocadas novamente em banho maria a 37ºC por 3 minutos e em seguida centrifugadas durante 5 minutos a 1500rpm. A mensuração foi feita por espectofotometria e lida em absorbância de 630nm. A absorbância era diretamente proporcional a presença de ácido siálico na alíquota. Foi seguida a metodologia proposta por Jourdian et al. (1971).

3.3.4 Teste de palatabilidade

Para a avaliação da palatabilidade foram usados 30 gatos adultos, sem raça definida, 17 machos e 13 fêmeas, sadios, treinados a escolher entre dois alimentos, sem vícios e alojados individualmente. A palatabilidade foi determinada observando a primeira escolha do animal e a ingestão dos alimentos e comparadas em pares, através de seis comparações (A vs. B): dieta controle x fibra de mandioca 5,5%; dieta controle x fibra de mandioca 7,5%; dieta controle x polpa de beterraba; dieta controle x celulose; dieta fibra de mandioca 7,5% x polpa de beterraba, e fibra de mandioca 7,5% x celulose.

Cada teste de palatabilidade foi realizado em dois dias consecutivos. Os dois alimentos comparados foram oferecidos em dois potes diferentes, porém com cores e tamanhos idênticos, quatro vezes ao dia por um período de 20 minutos (08:00, 10:00, 14:00 e 16:00). A posição do pote foi trocada na terceira oferta do dia,

evitando viés pelo posicionamento. A quantidade da dieta oferecida e residual foram mensuradas utilizando o cálculo de preferência do alimento e a primeira escolha foi determinado pelo registro do primeiro pote ao qual o gato se aproximou no momento que os alimentos foram apresentados.

A razão de ingestão (RI) foi calculada em função da ingestão relativa (quantidade oferecida menos sobras) das dietas A e B: [dieta ingerida g A ou B / total da dieta consumida g (A + B).

3.4 Análise estatística

O experimento foi conduzido segundo delineamento em blocos casualizados no tempo. Os dados foram analisados quanto à pressuposição de normalidade dos erros pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade e a análise de regressão polinomial foi realizada para avaliar os efeitos lineares ou quadráticos da adição de teores crescentes de FM na dieta de gatos (5,5; 6,5 e 7,5%). Essas análises foram realizadas através do programa SAS (versão 9.3).

Para as avaliações da microbiota fecal e determinação de diferença estatística entre os táxons nos tratamentos realizados foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). As análises foram feitas no programa estatístico de metagenômica STAMP: statistical anaylisis of metagenomic profiles (PARKS et al., 2014). As médias referentes à biodiversidade entre tratamentos foram comparadas através do índice de Chao1 e ao número de unidades taxonômicas operacionais observadas (OTUs) pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

4 RESULTADOS

O peso corporal dos animais não apresentou alteração ao longo do estudo e não houve diferença dos pesos apresentados entre os tratamentos (p = 0,9109), dessa forma também não houve necessidade de reajuste da quantidade do alimento fornecido ao longo do experimento. Na pesagem inicial os animais apresentaram peso médio de 4,11kg (±0,20) e na pesagem final foi observado peso médio de 4,04kg (±0,20).

4.1 Digestibilidade aparente dos nutrientes, ingestão de alimento e variáveis fecais

Não houve diferença para a ingestão de nutrientes (g/animal/dia) entre os tratamentos realizados (Tabela 5) para MS, MN, EEA, PB e EB ($p > 0,05$). Foi encontrado diferença entre os tratamentos para os CDAs de MO, FB, ENN e EM ($p < 0,05$) com efeito linear. O efeito quadrático foi encontrado apenas no CDAFB (Tabela 6).

Tabela 5. Peso e ingestão diária de nutrientes durante o ensaio de digestibilidade.

	Dietas									
		FM (%)							Contrastes	
	CON	4	8	12	PO	CEL	CV(%)	p	Linear	Quadrático
Peso corporal (kg)	4,07	4,11	4,01	4,37	4,09	3,81	20,15	0,9109	-	-
	Ingestão de nutrientes (g/animal/dia)									
Matéria seca	49,05	50,79	51,49	50,01	49,80	49,94	13,48	0,9924	0,7688	0,5548
Matéria orgânica	49,39	51,47	52,09	51,12	50,48	50,09	13,49	0,9863	0,6391	0,5817
Proteína bruta	16,53	17,78	17,68	17,88	17,77	16,78	13,55	0,8644	0,3587	0,5811
Extrato etéreo ácido	6,15	6,05	6,16	6,18	6,80	5,49	13,53	0,2217	0,9009	0,8501
Matéria mineral	3,88	4,01	4,13	4,36	4,14	3,71	13,54	0,4346	0,1261	0,8173
Fibra bruta	0,70[c]	1,60[b]	1,48[b]	1,90[a]	1,40[b]	2,16[a]	14,48	<0,0001	<0,0001	0,0119
Extrativos não nitrogenados	21,75[b]	26,53[a]	22,11[b]	19,87[b]	19,66[b]	22,29[b]	13,48	0,0058	0,0680	0,0060
Energia bruta ingerida (kcal)	2,60	2,60	2,72	2,70	2,66	2,60	13,48	0,9802	0,5275	0,9251

[a, b, c] - médias nas linhas sem uma letra em comum diferem pelo teste de Duncan, considerando todos os tratamentos aplicados ($p<0,05$).

Tabela 6. Coeficiente de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (kcal/g MS) das dietas experimentais.

Item (%)	Dietas								Contrastes	
		FM (%)								
	CON	4	8	12	PO	CEL	CV(%)	p	Linear	Quadrático
Matéria seca	84,08	82,71	82,67	80,85	81,80	79,31	4,05	0,2200	0,1096	0,8663
Matéria orgânica	87,65	86,19	85,77	83,66	85,01	82,54	3,42	0,0651	0,0235	0,7814
Proteína bruta	87,26	86,09	86,43	86,21	86,84	84,80	3,87	0,8588	0,6408	0,7272
Extrato etéreo ácido	92,67	91,62	92,81	91,45	91,97	89,29	2,60	0,1660	0,5826	0,8730
Matéria mineral	38,74	38,09	43,57	47,91	42,48	35,74	23,72	0,3291	0,0653	0,5237
Fibra bruta	-4,56[d]	38,68[a]	24,30[ab]	19,94[bc]	5,84[cd]	17,07[bc]	84,80	0,0004	0,0261	0,0002
Extrativos não nitrogenados	89,91[a]	88,48[ab]	87,45[abc]	84,75[c]	86,60[abc]	86,40[bc]	2,99	0,0354	0,0016	0,5585
Energia bruta	88,16	86,11	86,49	84,81	86,02	83,29	3,35	0,0978	0,0598	0,8661
Energia metabolizável	4,06[a]	3,77[c]	3,95[ab]	3,87[bc]	3,95[ab]	3,81[bc]	3,22	0,3345	0,0480	0,0580

[a, b, c, d] - médias nas linhas sem uma letra em comum diferem pelo teste de Duncan, considerando todos os tratamentos aplicados ($p<0,05$).

4.2 Microbiota fecal

A classificação taxonômica identificou 76 gêneros bacterianos em todos os tratamentos. Nos tratamentos PO e CON, os gêneros mais abundantes foram *Peptoclostridium*, *Blautia* e *Collinsella*. Nos tratamentos FM 4%, FM 12% e CEL foram *Collinsella*, *Bifidobacterium* e *Peptoclostridium*. Enquanto para FM 8%, obervou-se maior abundância de *Bifidobacterium*, *Olsenella* e *Collinsella* (Figura 2).

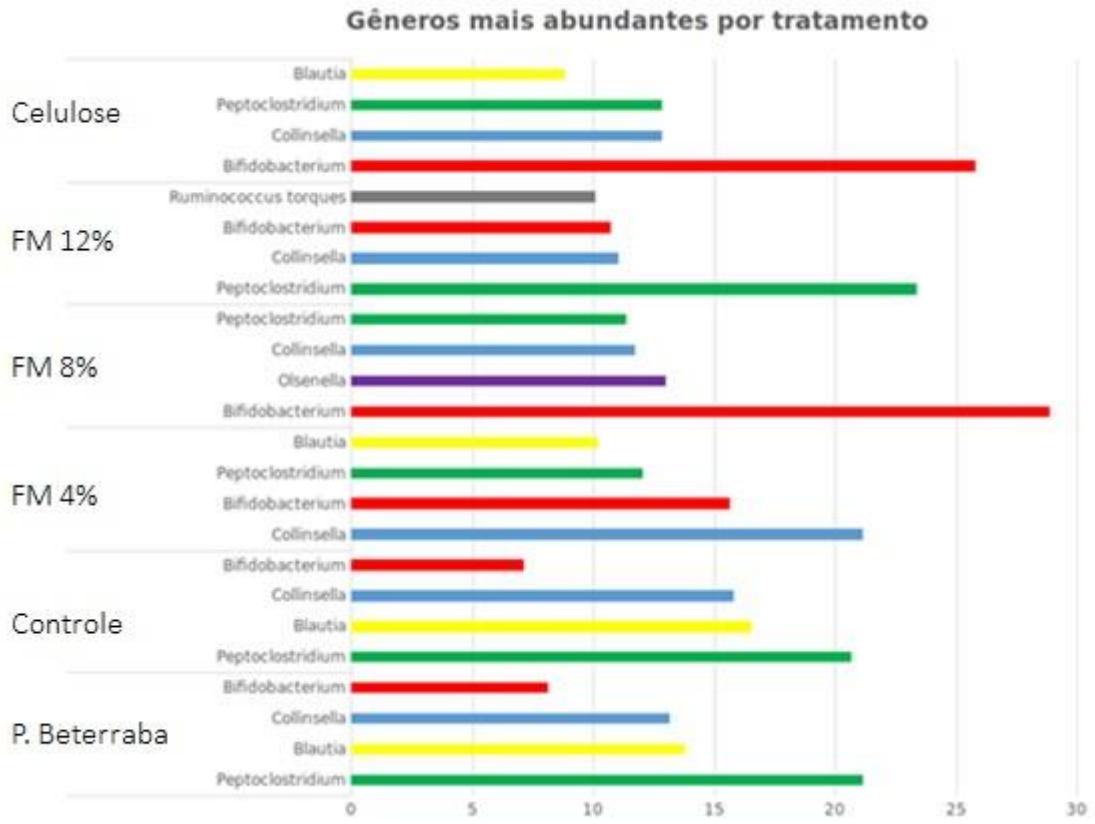

Figura 2. Distribuição dos gêneros mais abundantes por tratamento.

Pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$), foram identificados 30 gêneros com abundância significativamente diferente entre os tratamentos. Essa comparação detalhada mostrou aumento do gênero *Peptoclostridium* nos grupos que receberam como tratamento FM 12%, CON e PO quando comparados aos outros tratamentos (Figura 3). Também foi observado menor abundância do gênero *Helicobacter* em todos os grupos quando comparado com CON (Figura 4). Ao avaliar o gênero *Bifidobacterium* percebe-se menor abundância nas dietas CON e PO (Figura 5),

enquanto para gênero *Clostridium* a abundância foi maior nos tratamentos FM 12% e PO (Figura 6).

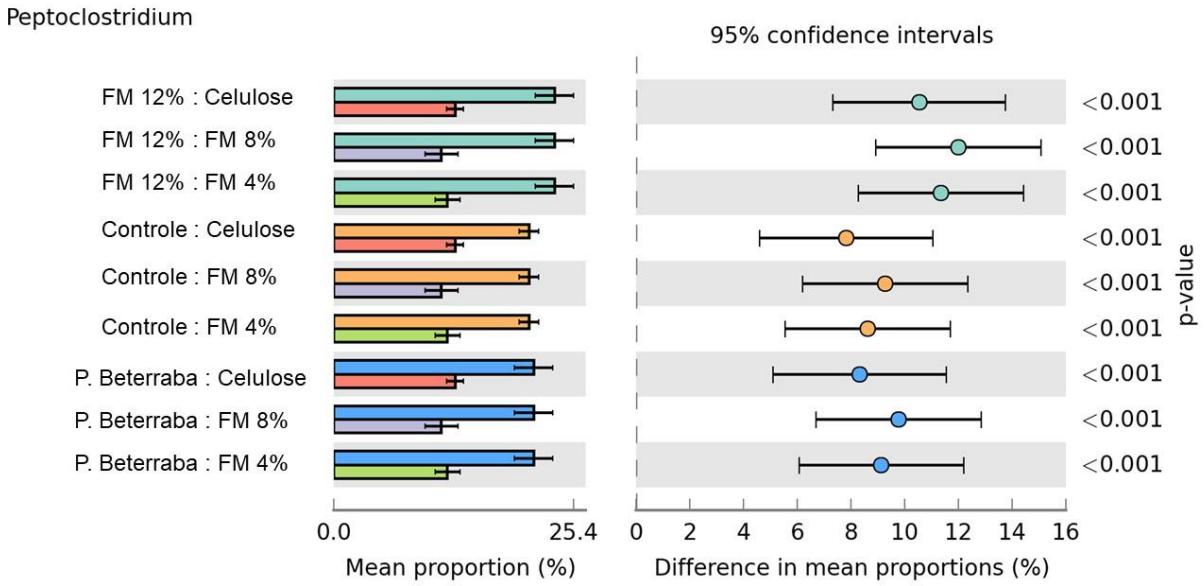

Figura 3 – Diferença na presença de *Peptoclostridium* entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis (*P* < 0,05). São apresentados os valores da média e do desvio padrão.

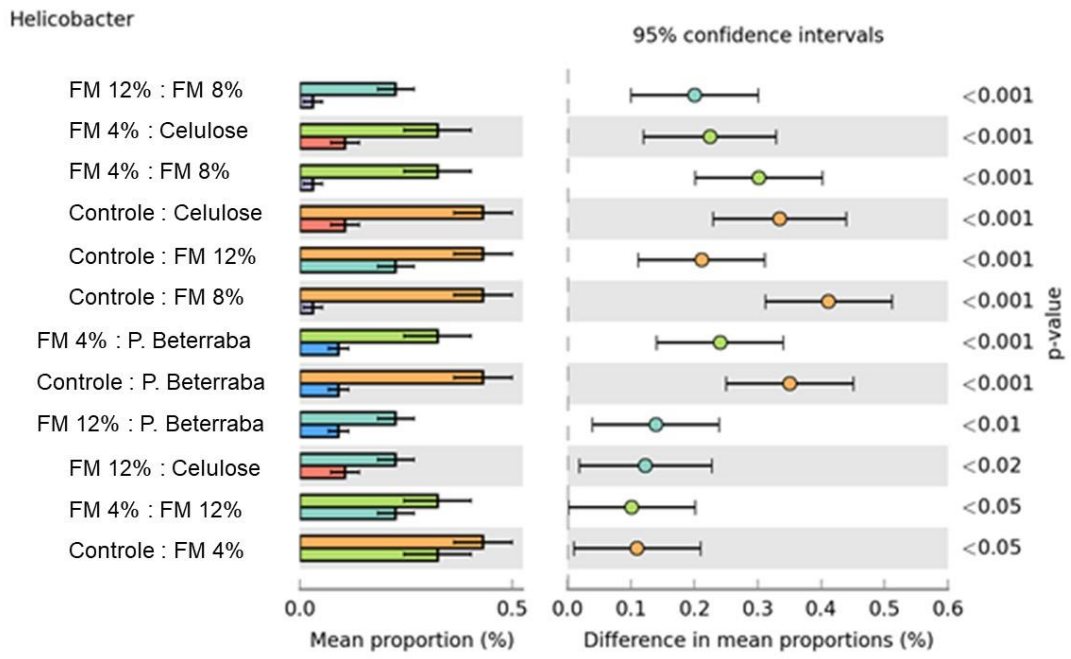

Figura 4 - Diferença na presença de *Helicobacter* entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis (*P* < 0,05). São apresentados os valores da média e do desvio padrão.

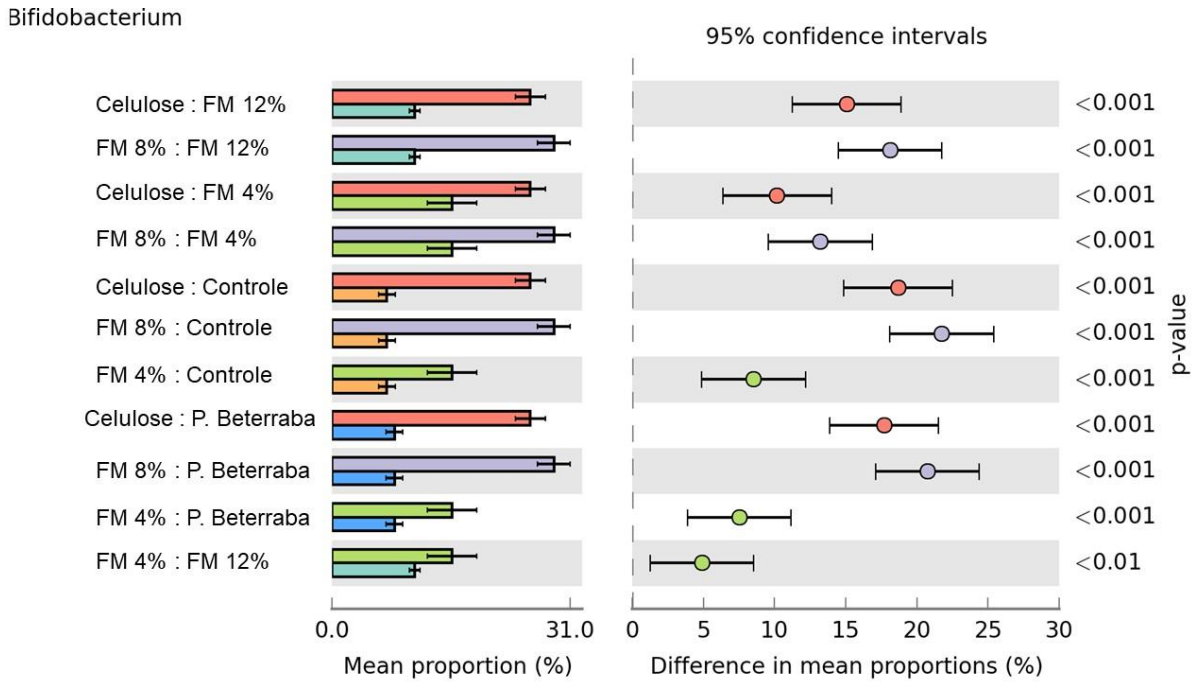

Figura 5 - Diferença na presença de *Bifidobacterium* entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis (*P* < 0,05). São apresentados os valores da média e do desvio padrão.

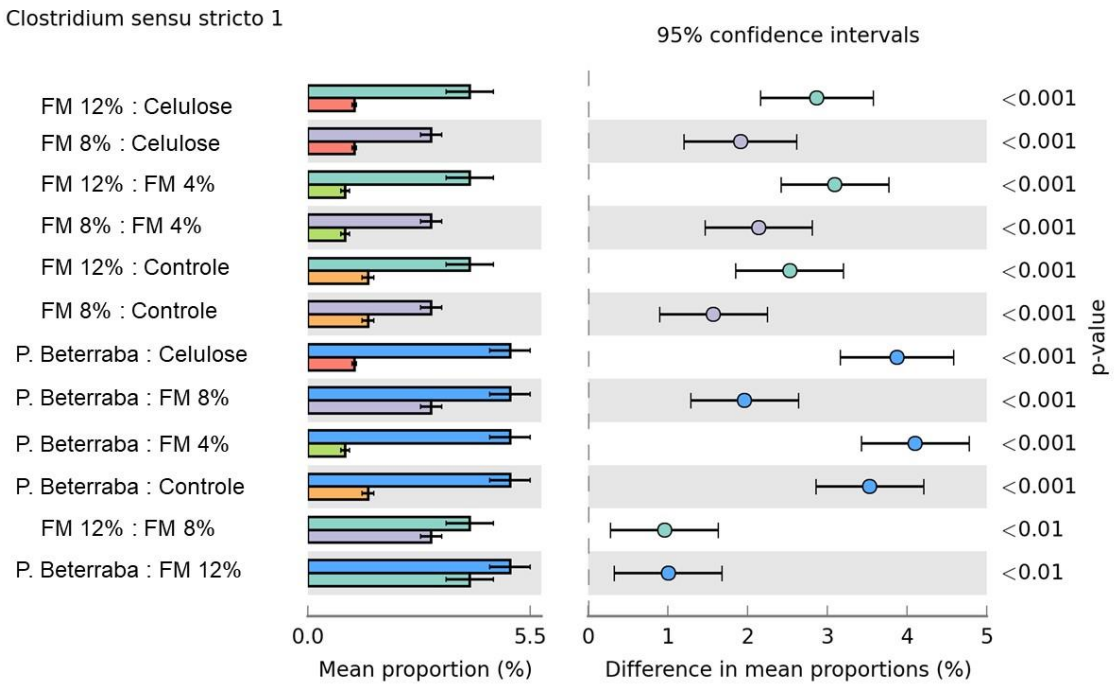

Figura 6 - Diferença na presença de *Clostridium* entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis (P < 0,05). São apresentados os valores da média e do desvio padrão.

Ao avaliar o agrupamento das amostras por tratamento na análise de componentes principais (PCA), foi observado que as amostras das comunidades bacterianas dos grupos PO, CON e FM 12% formaram um grupo mais próximo (Figura 7).

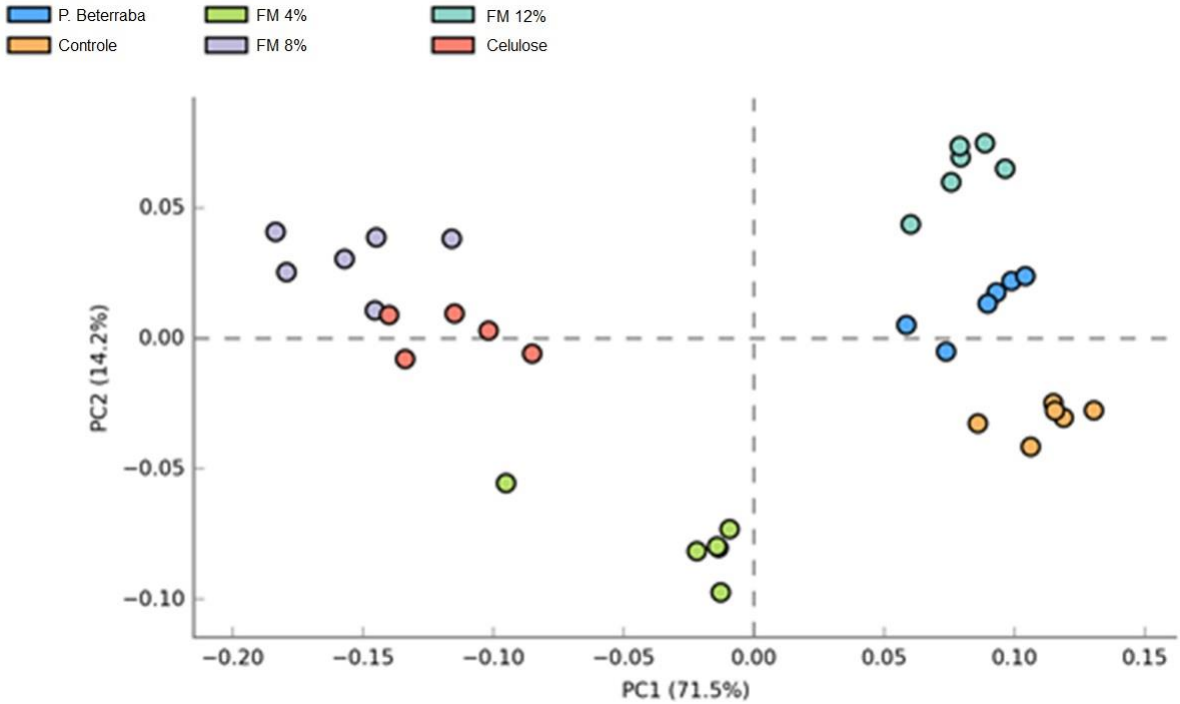

Figura 7 – Análise de componentes principais (PCA) dos gêneros das comunidades bacterianas por tratamento.

Ao avaliar indicadores de biodiversidade (índice de Chao1 e número de OTUs) das comunidades bacterianas, foi observado aumento significativo da biodiversidade do grupo PO nos dois índices quando comparado aos outros grupos (Figura 9).

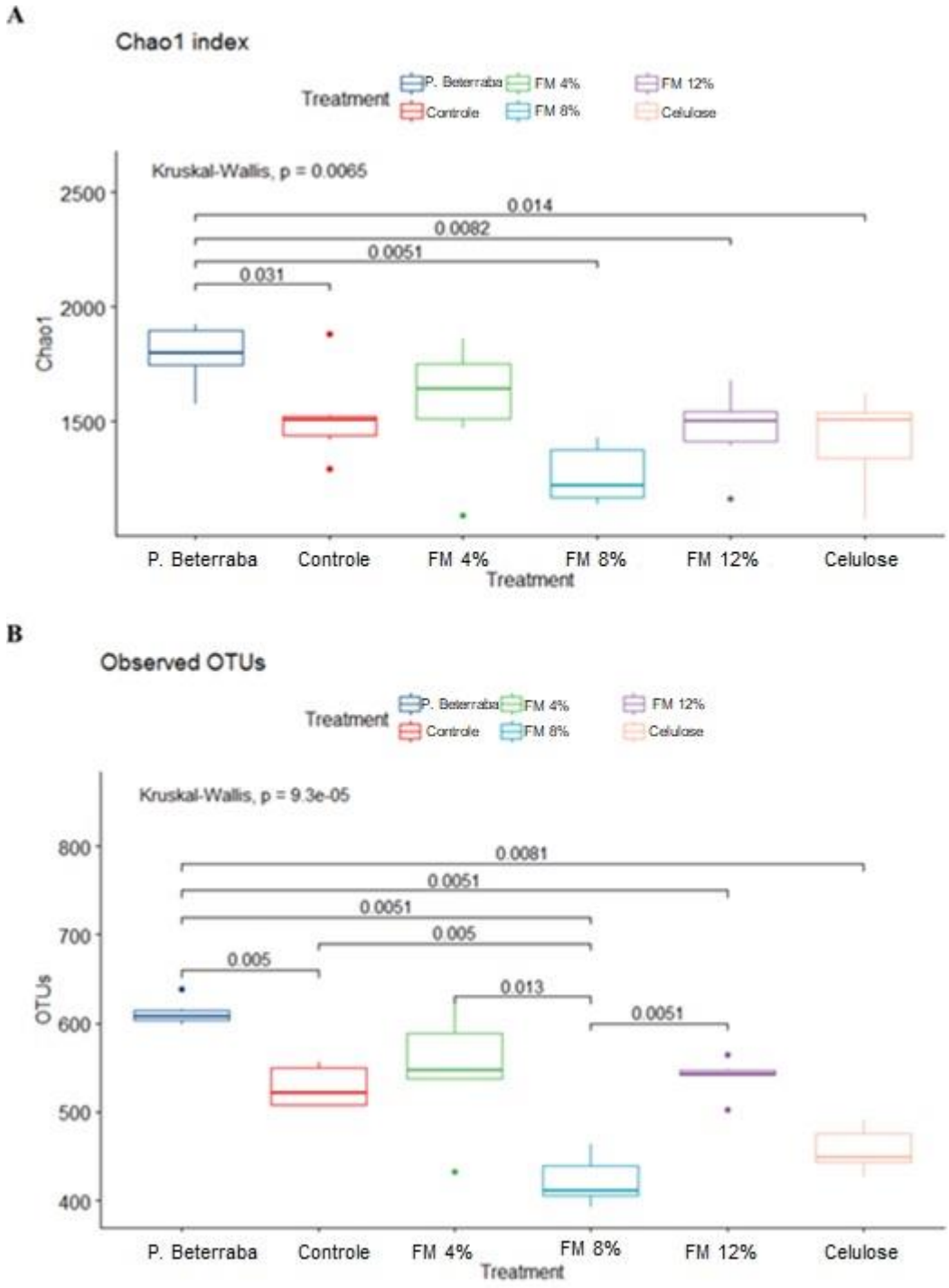

Figura 8 – Indicadores da biodiversidade das comunidades bacterianas de cada tratamento. **A.** Índice de Chao1. **B.** Número de OTUs observados. Teste de Kruskal-Wallis (*P* < 0,05).

4.3 Características das fezes

As características das fezes dos gatos estão apresentadas na tabela 7. Os tratamentos não diferiram entre si em relação ao pH, concentração de amônia na matéria seca, ácido siálico, produção fecal e escore fecal (p > 0,05). Os tratamentos realizados apresentaram diferença para MS fecal (p = 0,0206) também com efeito linear (p = 0,0018), de modo que o aumento da inclusão de fibra resultou em uma redução da MS fecal.

Tabela 7. Características fecais e urinárias dos gatos nos diferentes tratamentos.

Itens	Dietas								
		FM (%)							L
	CON	4	8	12	PO	CEL	CV	p	
pH fecal	6,26	6,33	6,09	6,02	5,88	5,98	5,12	0,1293	0
MS fecal (%)[1]	38,43[a]	38,56[a]	34,80[ab]	30,45[b]	37,55[ab]	33,77[ab]	12,50	0,0206	0
Amônia (mg/kg)[1]	75,00	82,00	63,00	60,00	62,00	52,00	27,47	0,0643	0
Ácido siálico[2]	3,45	4,05	3,81	4,36	4,19	3,84	20,94	0,6549	0
g fezes MS/gato/dia	43,78	47,55	49,02	52,46	50,19	55,62	22,74	0,5745	0
Escore fecal	4,22	4,29	4,21	4,28	4,36	3,72	10,82	0,1951	0
mL urina/ gato/dia	18,90	23,50	21,00	21,88	23,10	14,81	40,59	0,4876	0
Energia bruta urina	6,42	6,60	6,56	6,64	6,62	6,12	14,70	0,9317	0

[a, b, c, d] - médias nas linhas sem uma letra em comum diferem pelo teste de Duncan, considerando todos os tratamentos aplicados (p<0,05).
[1] Na matéria seca; [2]µmol/g amostra

4.4 Teste de palatabilidade

Para a análise dos valores da razão de ingestão (RI) do alimento, os resultados variam de 0 (não houve consumo da dieta) a 1 (consumo total da dieta). Esse estudo levou em consideração que valores entre 0,48 a 0,52 não indicaram preferência expressiva por nenhum dos alimentos, conforme descrito por Félix et al. (2010). Também foi levado em consideração no estudo o primeiro alimento que o animal se aproximou (olfato) e o primeiro alimento ingerido por ele (paladar). Os dados estão descritos na tabela 8.

Tabela 8. Resultado do teste de palatabilidade.

Comparação	Tratamento	Olfato	Paladar	RI[1]	p
CON vs. FM 4,3%	CON	0,58	0,68	0,72	<0,0001
	FM 4,3%	0,42	0,32	0,28	
CON vs. FM 11,9%	CON	0,45	0,72	0,73	<0,0001
	FM 11,9%	0,55	0,28	0,27	
CON vs. PO	CON	0,60	0,38	0,28	<0,0001
	PO	0,40	0,62	0,72	
CON vs. CEL	CON	0,40	0,50	0,41	0,0047
	CEL	0,60	0,50	0,59	
PO vs. FM 11,9%	PO	0,43	0,53	0,62	0,0021
	FM 11,9%	0,57	0,47	0,38	
CEL vs. FM 11,9%	CEL	0,47	0,74	0,83	<0,0001
	FM 11,9%	0,53	0,26	0,17	

[1] RI = razão de ingestão.

5 DISCUSSÃO

5.1 Digestibilidade dos nutrientes

A ingestão de FB e ENN ($p < 0,05$) é resultado da inclusão de fibra na formulação ter correlação inversa a inclusão do milho como ingrediente, resultando assim na redução do amido presente na composição da dieta conforme o aumento da fibra.

A determinação da digestibilidade aparente permite avaliar se determinado nutriente atende às exigências mínimas nutricionais dos animais, entretanto a inclusão de diferentes níveis e tipos de fibras pode ter influência sobre esse coeficiente. No presente estudo o aumento de teor de fibra de mandioca no alimento não prejudicou a digestibilidade da MS, PB, EEA, MM, EB e MO ($p > 0,05$).

O aumento do nível de fibra insolúvel na dieta tende a reduzir a digestibilidade da MS (SUNVOLD et al., 1995c), porém essa redução não foi observada nesse estudo mediante o aumento da inclusão de FM, que possui maior fração de fibra insolúvel na sua composição. Fahey et al. (1990a, 1990b, 1992) observou que cães que consumiam dietas contendo fibra apresentaram uma menor digestibilidade da MS e MO quando comparado aos que consumiram a mesma dieta sem adição de fibra. Sunvold et al. (1995a) também encontrou valores menores na digestibilidade da MS e MO em gatos alimentados com dieta contendo celulose quando comparado a uma dieta sem adição de fibra. Embora o presente estudo não tenha encontrado diferença para CDAMS ($p = 0,2200$), a redução linear para CDAMO está em acordo com os estudos citados anteriormente.

O resultado encontrado no CDA da FB ($p = 0,0004$) mostrou que ao aumentar a concentração de fibra de mandioca houve uma redução na digestibilidade dessa fibra, porém sem afetar o CDA de outros nutrientes. Diferentes metodologias para análise das fibras nas fezes sugerem que os métodos analisam substâncias bastante diferentes, possivelmente incluindo compostos polissacarídeos microbianos e pelos ingeridos em diferentes proporções, levando assim a interferência da análise da fibra nas fezes (DE-OLIVEIRA et al., 2011). Os pelos nas fezes não são solubilizados e são quantificados como fibras (DE-OLIVEIRA et al., 2011).

Além das fontes de fibras, os ingredientes na dieta podem afetar os resultados encontrados nesse estudo. O milho foi o principal ingrediente utilizado para a formulação das dietas e pode ter contribuído para a concentração de FDT da dieta base para a produção das dietas experimentais (BARRY et al., 2010).

5.2 Microbiota fecal

A composição da dieta é capaz de determinar a natureza e a atividade da microbiota intestinal. O alimento pode influenciar a microbiota intestinal de duas formas, sendo a primeira através do fornecimento de microrganismos resistentes a digestão e ao atingir o cólon crescem e se tornam metabolicamente ativos. A segunda maneira é através da inclusão de substratos não digeríveis que alcançam o cólon e servem como fonte de estímulo ao crescimento e metabolismo das bactérias residentes no local (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

No presente estudo, os diferentes tratamentos avaliados levaram a mudanças na composição da microbiota intestinal dos felinos. Os principais gêneros encontrados foram pertencentes aos filos *Firmicutes* (*Blautia*, *Peptoclostridium*, *Helicobacter*, *Clostridium*) e *Actinobacteria* (*Bifidobacterium, Collinsella* e *Olsenella*).

O gênero *Peptoclostridium* apresentou-se em maior quantidade nos grupos FM 12%, CON e PO, o gênero *Helicobacter* no grupo CON, o gênero *Clostridium* nos grupos FM 12% e PO, e houve redução do gênero *Bifidobacterium* nos grupos CON e PO. O aumento da contagem de bactérias do gênero *Bifidobacterium* indica uma maior ocorrência de bactérias benéficas, pois seus produtos de fermentação contribuem para a saúde do trato gastrointestinal (SUCHODOLSKI, 2011). A redução da contagem fecal de bifidobactérias está relacionada ao crescimento de *Clostridium perfringes* no intestino grosso (ZENTEK et al., 2003), o que foi encontrado no tratamento com PO, porém não foi relacionado ao grupo FM 12%.

No trabalho realizado por Middelbos e colaboradores (2007), ao avaliar as fezes de cães, a dieta contendo celulose (2,5% de inclusão) apresentou a menor concentração de bactérias em comparação a dieta controle (sem adição de fibra), polpa de beterraba, frutoligossacarídeos e parede de levedura (todos com inclusão de 2,5% na matéria seca). Nesse mesmo estudo a concentração de bifidobactérias da dieta com polpa de beterraba foi semelhante quando comparado a dieta contendo

frutoligossacarídeos. Esse achado difere do presente estudo em que houve redução do gênero *Bifidobacterium* no grupo PO quando comparado aos demais tratamentos.

Estudos realizados por Tereda al. (1992, 1993) demonstraram que a adição de um oligossacarídeo não digerível e sintético (lactossucrose 1,5g/cão/dia e 175mg/gato/dia) na dieta de cães e gatos, aumentou o número de *Bifidobacteria* e reduziu o número de *Clostridium perfringes* em amostras fecais. Esse resultado sugere que a alteração da atividade fermentativa pela microbiota intestinal pode ocorrer com diferentes quantidades de fibra fermentável.

A inclusão de 12% da FM na formulação levou a um comportamento semelhante quando comparada a PO (fibra de fermentação moderada), porém a semelhança de comportamento com a dieta CON (sem adição de fibra) foi um resultado inesperado encontrado nesse estudo. Ainda assim, por apresentar maior fermentação em comparação as outras fibras, os animais que receberam a alimentação com PO apresentaram uma maior biodiversidade em comparação aos demais tratamentos. Esse aumento da biodiversidade pode ser associado como um indicador geral de saúde intestinal (VALDES et al., 2018).

5.3 Características fecais

Os diferentes tratamentos avaliados nesse estudo, embora apresentassem tipos e concentrações diferentes de fibras, não diferiram entre si em relação as características fecais avaliadas (pH fecal, amônia, ácido siálico, produção fecal, matéria seca fecal e escore fecal) ($p > 0,05$).

Apesar do pH fecal não ter apresentado diferença significativa entres os tratamentos ($p = 0,1293$), a dieta PO apresentou o pH mais baixo, resultado esperado por ser uma fonte de fibra mais fermentável quando comparado aos demais tratamentos. O aumento da fermentação tende a reduzir o pH nas fezes (HERSCHEL et al., 1981).

Não foram observadas diferenças para a concentração de amônia fecal. A amônia é considerada um composto putrefativo que induz aumento do *turnover* das células epiteliais do intestino e apresenta toxicidade aos colonócitos (CUMMINGS et al., 1979). O aumento da concentração de carboidrato da dieta pode reduzir as concentrações de amônia através da estimulação da fermentação do carboidrato

que por sua vez estimula a síntese proteica bacteriana, fazendo uso da amônia produzida nessa via (KUZMUK et al., 2005).

Bastos e colaboradores (2018), avaliaram dados provenientes de experimentos realizados entre 2013 e 2017 que analisaram AS nas fezes de cães e gatos. O estudo observou correlação positiva entre o teor de fibra da dieta e a produção de AS nas fezes de gatos ($p < 0,05$), contrário ao encontrado nesse estudo em que não houve diferença do AS nos tratamentos realizados ($p = 0,6549$). No caso das fibras solúveis, por causarem aumento da viscosidade da digesta, também pode aumentar a secreção de muco proteínas na mucosa intestinal em ratos (LARSEN; MOUGHAN; WILSON, 1993) e consequentemente ter influência sobre a análise do ácido siálico. O *Helicobacter pylori* possui a capacidade de formação de um muco anormal no TGI por ter a característica de digerir o muco gástrico (SLOMIANY et al., 1987) e resultar na redução da viscosidade e aumento da permeabilidade (SAROSIEK; SLOMIANY; SLOMIANY, 1988), porém essa associação não foi encontrada no presente estudo, em que a dieta CON que apresentou maior abundância do gênero *Helicobacter* não apresentou diferença para concentração fecal do ácido siálico.

Em relação a MS fecal ($p = 0,0206$) houve redução do seu teor com o aumento da inclusão de fibra de mandioca e na comparação da dieta CON com os níveis de FM apresentou efeito linear ($p = 0,018$). Resultado semelhante foi encontrado na comparação da inclusão de cana-de-açúcar (7,32% na MS - fibra pouco fermentável) quando comparada a dieta controle (sem adição de fibra), polpa de beterraba (4,31% na MS) e farelo de trigo (4,31% na MS) sobre a o aumento da MS fecal (FISCHER, 2011). O escore fecal não foi afetado com os diferentes tratamentos ($p = 0,1951$).

5.5 Palatabilidade

Os principais métodos de avaliação da palatabilidade dos alimentos são a aceitação e a preferência alimentar (FÉLIX; OLIVEIRA; MAIORKA, 2010). O teste de aceitação permite a avaliação da palatabilidade do alimento de forma suficiente para que o animal o consuma em quantidades satisfatórias e seja capaz de suprir suas necessidades nutricionais e manter a saúde e peso corporal (CRANE; GRIFFIN; MESSENT, 2010). A preferência alimentar é avaliada através do confronto de dois

alimentos e observação da primeira escolha do animal e a quantidade ingerida. Dessa forma entende-se que o primeiro alimento que o animal apresentou interesse e aquele mais consumido é o mais palatável (FÉLIX; OLIVEIRA; MAIORKA, 2010).

Os animais apresentaram maior razão de ingestão da dieta CON, PO e CEL quando comparadas a FM 4% e 12%. A preferência pela PO e CEL foi maior também quando comparada a dieta CON. A maior razão de ingestão da dieta CON quando comparada as FM 4% e 12% pode ser devido a mudanças na propriedade do aroma (KOPPEL et al., 2015) e ao sabor mais amargo que a inclusão de fibra pode ocasionar no alimento, o que não é uma preferência para os gatos que costumam rejeitar esse sabor (BRADSHAW et al., 1996, KOPPEL et al., 2015).

As dietas experimentais utilizadas neste estudo foram isonutricionais e receberam a mesma inclusão de níveis de palatabilizante e gordura, minimizando a interferência de outros fatores além do teor e fonte de fibra utilizadas na sua produção. O efeito da fibra na palatabilidade pode afetar a ingestão. Dietas volumosas, com baixa densidade energética, são na maioria das vezes, menos atraentes do que alimentos mais densos em energia (DREWNOWSKI, 1998). Dessa maneira, os efeitos da diluição de energia pela fibra dietética podem reduzir a ingestão de energia diminuindo a palatabilidade geral da dieta. Além disso as fontes de fibra podem influenciar na aparência, aroma e textura do alimento extrusado devido a sua interação com o amido (ROBIN; SCHUCHMANN; PALZER, 2012).

Ao avaliar as características do extrusado, a inclusão de FM 12% apresentou um maior número de poros em relação as demais dietas, isso pode influenciar na textura do produto e consequentemente na crocância e na mastigação (BASTOS et al., 2019).

É importante considerar a possibilidade de presença do ácido cianídrico, fator antinutricional, na fibra de mandioca usada para formulação dos tratamentos, e uma possibilidade pela não preferência desse tratamento pelos gatos. No presente estudo não foi realizada a análise da presença desse ácido, porém sabe-se que pode estar presente quando o tecido da planta é danificado e o processo de hidrólise que ocorre libera cianeto (MONTAGINAC; DAVIS; TANUMIHARDJO, 2009). Isso acontece principalmente devido ao mau processamento, quando a mandioca e suas partes são moídas ou trituradas permitindo essa reação enzimática (ABREU; MATTIETTO, 2016).

A ausência de protocolos oficiais para ensaios de palatabilidade, faz com que os estudos publicados sobre palatabilidade de alimentos para cães e gatos, utilizem protocolos próprios ou adaptados de outros autores, tornando difícil a comparação dos resultados entre esses estudos (FÉLIX; OLIVEIRA; MAIORKA, 2010).

6 CONCLUSÕES

A inclusão de fibra de mandioca em até 12% da matéria seca não interferiu na ingestão de nutrientes e na digestibilidade dos nutrientes. Apesar dos tratamentos com fibra de mandioca terem apresentado resultados negativos para a palatabilidade, durante o ensaio não houve interferência sobre o consumo alimentar. A avaliação da microbiota fecal sugere a possibilidade de fermentação pela fibra de mandioca, porém com isso ainda permanece inconclusivo devido a ausência da análise dos ácidos graxos de cadeia curta. A fibra de mandioca apresentou resultados semelhantes às fontes de fibras frequentemente utilizadas na nutrição de gatos (polpa de beterraba e celulose), podendo ser considerada adequada como ingrediente para fabricação de alimento extrusado para gatos. Conclui-se que a fibra de mandioca é uma fonte possível de ser utilizada na alimentação de gatos, sendo seu uso seguro com inclusão de até 12%.

REFERÊNCIAS

AAFCO. ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. **Dog and Cat Nutrient Profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated (AAFCO), Oxford, IN, USA**, 2004.

ABREU, L. F.; MATTIETTO, R. A. Procedimentos de fabricação dos derivados de mandioca: recomendações para obtenção de produtos seguros e de qualidade. In: JÚNIOR, M. S. M.; ALVES, R. N. B. **Cultura da Mandioca**. 1 ed. Embrapa: Brasília - DF, 2016. p. 223–241.

AMBROZINI, S. R. Formulação comercial de alimentos para cães e gatos: uma visão a partir da construção do rótulo. **SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO**, v. 6, n. Anais... Campinas: CBNA, p. 67–70, 2007.

AOAC-Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. In: **Official Analytical Chemists**. 16th. ed. [s.l: s.n.]

ARAYA-KOJIMA, T.; YAESHIMA, T.; ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S.; HAYASAWA, H. Inhibitory effects of Bifidobacterium longum BB536 on harmful intestinal bacteria. **Bifidobacteria and Microflora**, v. 14, n. 2, p. 59–66, 1995.

BANSAL, T.; ALANIZ, R. C.; WOOD, T. K.; JAYARAMAN, A. The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 1, p. 228–233, 2010.

BARCELO, A.; CLAUSTRE, J.; MORO, F.; CHAYVIALLE, J.-A.; CUBER, J.-C.; PLAISANCIÉ, P. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. **Gut**, v. 46, n. 2, p. 218–224, 2000.

BARRY, K. A.; WOJCICKI, B. J.; MIDDELBOS, I. S.; VESTER, B. M.; SWANSON, K. S.; FAHEY, G. C. Dietary cellulose, fructooligosaccharides, and pectin modify fecal protein catabolites and microbial populations in adult cats. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 9, p. 2978–2987, 2010.

BASTOS, T. S.; SOUZA, C. M. M.; KAELLE, G. C. B.; FERNANDES, E. L.; BORTOLO, M.; VASCONCELLOS, R. S.; FÉLIX, A. P. Parâmetros de extrusão e características de extrusados de dietas contendo fibras da mandioca. **XVIII**

Congresso CBNA Pet, 2019.

BENNO, Y.; NAKAO, H.; UCHIDA, K.; MITSUOKA, T. Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 54, n. 4, p. 703–706., 1992.

BRADSHAW, J. W. S.; GOODWIN, D.; LEGRAND-DEFRÉTIN, V.; NOTT, H. M. R. Food selection by the domestic cat, an obligate carnivore. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 114, n. 3, p. 205–209, 1996.

BROWNLEE, I. A. The physiological roles of dietary fibre. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 2, p. 238–250, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.11.013>.

CAMPBELL, J. M.; JR FAHEY, G. C. Psyllium and methylcellulose fermentation properties in relation to insoluble and soluble fiber standards. **Nutrition Research**, v. 17, n. 4, p. 619–629, 1997.

CALABRÓ, S.; CARCIOFI, A. C.; MUSCO, N.; TUDISCO, R.; GOMES, M. O. S.; CUTRIGNELLI, M. I. Fermentation characteristics of several carbohydrate sources for dog diets using the *in vitro* gas production technique. **Italian Journal of Animal Science,** v. 12, n. e4, p. 21-27, 2013.

CAPORASO, J. G.; KUCZYNSKI, J.; STOMBAUGH, J.; BITTINGER, K.; BUSHMAN, F. D.; COSTELLO, E. K.; FIERER, N.; PEÑA, A. G.; GOODRICH, J. K.; GORDON, J. I.; HUTTLEY, G. A.; KELLEY, S. T.; KNIGHTS, D.; KOENIG, J. E.; LEY, R. E.; LOZUPONE, C. A.; MCDONALD, D.; MUEGGE, B. D.; PIRRUNG, M.; REEDER, J.; SEVINSKY, J. R.; TURNBAUGH, P. J.; WALTERS, W. A.; WIDMANN, J.; YATSUNENKO, T.; ZANEVELD, J.; KNIGHT, R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, v. 7, n. 5, p. 335, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth0510-335>.

CAPORASO, J. G.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; BERG-LYONS, D.; LOZUPONE, C. A.; TURNBAUGH, P. J.; FIERER, N.; KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. Supplement 1, p. 4516–4522, 2011.

CARCIOFI, A. C.; TAKAKURA, F. S.; DE-OLIVEIRA, L. D.; TESHIMA, E.; JEREMIAS, J. T.; BRUNETTO, M. A.; PRADA, F. Effects of six carbohydrate sources

on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, n. 3, p. 326–336, 2008.

CASE, L. P.; DARISTOTLE, L.; HAYEK, M. G.; RAASCH, M. F. Carbohydrates. In: **Canine and Feline Nutrition**. 3th. ed. St. Louis (MO): Mosby, 2011. p. 13–16.

CHERBUT, C.; FERRIER, L.; ROZE, C.; ANINI, Y.; BLOTTIERE, H.; LECANNU, G.; GALMICHE, J.-P. Short-chain fatty acids modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 275, n. 6, p. G1415–G1422, 1998.

CONWAY, P. L. Function and regulation of the gastrointestinal microbiota of the pig. **Publication-European Association for Animal Production**, v. 80, p. 231, 1994.

CRANE, S. W.; GRIFFIN, R. W.; MESSENT, P. R. Commercial pet foods. In: HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L. (Ed.). **Small Animal Clinical Nutrition**. 5. ed. Topeka: Mark Morris Institute, 2010. p. 157–190.

CUMMINGS, J. H.; HILL, M. J.; BONE, E. S.; BRANCH, W. J.; JENKINS, D. J. A. The effect of meat protein and dietary fiber on colonic function and metabolism. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 32, n. 10, p. 2094–2101, 1979.

CUNNINGHAM-RUNDLES, S.; LIN, D. H. Nutrition and the Immune System of the Gut. **Nutrition**, v. 14, n. 7–8, p. 573–579, 1998.

DE-OLIVEIRA, L. D.; TAKAKURA, F. S.; KIENZLE, E.; BRUNETTO, M. A.; TESHIMA, E.; PEREIRA, G. T.; VASCONCELLOS, R. S.; CARCIOFI, A. C. Fibre analysis and fibre digestibility in pet foods - a comparison of total dietary fibre, neutral and acid detergent fibre and crude fibre. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 96, n. 5, p. 895–906, 2011.

DE BRITO, M. S., de O.; C. F. S., da S.; T. R. G., de L.; R. B., MORAIS, S. N.; DA SILVA, J. H. V. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 4, p. 111–117, 2008.

DESAI, A. R.; MUSIL, K. M.; CARR, A. P.; HILL, J. E. Characterization and quantification of feline fecal microbiota using cpn60 sequence-based methods and investigation of animal-to-animal variation in microbial population structure. **Veterinary Microbiology**, v. 137, n. 1–2, p. 120–128, 2009.

DREWNOWSKI, A. Energy density, palatability, and satiety: implications for weight control. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 12, p. 347–353, 1998.

EASTWOOD, M. A. The physiological effect of dietary fiber: an update. **Annual Review of Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 19–35, 1992. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.nu.12.070192.000315?journalCode=nutr>.

FAHEY, G. C. J.; BARRY, K. A.; SWANSON, K. S. Age-related changes in nutrient utilization by companion animals. **Annual Review of Nutrition**, v. 28, p. 425–445, 2008.

FAHEY, G. C.; MERCHEN, N. R.; CORBIN, J. E.; HAMILTON, A. K.; BAUER, L. L.; TITGEMEYER, E. C.; HIRAKAWA, D. A. Dietary fiber for dogs: III. Effects of beet pulp and oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. **Journal of animal science**, v. 70, n. 4, p. 1169–1174, 1992.

FAHEY, G. C.; MERCHEN, N. R.; CORBIN, J. E.; HAMILTON, A. K.; SERBE, K. A.; HIRAKAWA, D. A. Dietary fiber for dogs: II. Iso-total dietary fiber (TDF) additions of divergent fiber sources to dog diets and their effects on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 12, p. 4229–4235, 1990a.

FAHEY, G. C.; MERCHEN, N. R.; CORBIN, J. E.; HAMILTON, A. K.; SERBE, K. A.; LEWIS, S. M.; HIRAKAWA, D. A. Dietary fiber for dogs: I. Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 12, p. 4221–4228, 1990b.

FEDIAF. **The European Pet Food Industry Federation. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs**. [s.l: s.n.]

FEKETE, S. G.; HULLÁR, I.; ANDRÁSOFSZKY, E.; KELEMEN, F. Effect of different fibre types on the digestibility of nutrients in cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, n. 3–4, p. 138–142, 2004.

FÉLIX, A.; OLIVEIRA, S. G.; MAIORKA, A. Fatores que interferem no consumo de alimentos em cães e gatos. In: VIEIRA, S. L. ET AL. (Ed.). **Consumo e preferência alimentar de animais domésticos**. 1. ed. Londrina: Phytobiotics Brasil, 2010. p.

185–199.

FÉLIX, A. P.; ZANATTA, C. P.; BRITO, C. B. M.; FORTES, C. M. L. S.; OLIVEIRA, S. G.; MAIORKA, A. Digestibility and metabolizable energy of raw soybeans manufactured with different processing treatments and fed to adult dogs and puppies. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 6, p. 2794–2801, 2013.

FERGUSON, A. Immunological functions of the gut in relation to nutritional state and mode of delivery of nutrients. **Gut**, v. 35, n. 1, p. S10–S12, 1994.

FIRMANSYAH, A.; PENN, D.; LEBENTHAL, E. Isolated colonocyte metabolism of glucose, glutamine, n-butyrate, and β-hydroxybutyrate in malnutrition. **Gastroenterology**, v. 97, n. 3, p. 622–629, 1989. Disponível em: <https://www.gastrojournal.org/article/0016-5085(89)90633-1/fulltext>.

FISCHER, M. M. Efeitos de diferentes fontes de fibra na digestibilidade de nutrientes, nas respostas metabólicas pós-prandiais e na saúde intestinal de gatos. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

FLEMING, S. E.; FITCH, M. D.; DEVRIES, S.; LIU, M. L.; KIGHT, C. Nutrient utilization by cells isolated from rat jejunum, cecum and colon. **The Journal of Nutrition**, v. 121, n. 6, p. 869–878, 1991.

FRANK, D. N.; AMAND, A. L. S.; FELDMAN, R. A.; BOEDEKER, E. C.; HARPAZ, N.; PACE, N. R. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 34, p. 13780–13785, 2007.

GARNER, C. E.; SMITH, S.; COSTELLO, B. D. L.; WHITE, P.; SPENCER, R.; PROBERT, C. S. J.; RATCLIFFE, N. M. Volatile organic compounds from feces and their potential for diagnosis of gastrointestinal disease. **The FASEB Journal**, v. 21, n. 8, p. 1675–1688, 2007.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401, 1995.

GOMES, M. O. S. **Microbiota fecal, produtos de fermentação, aspectos histológicos da mucosa gastrintestinal e imunidade de cães beagle de**

diferentes grupos etários. 2013. Universidade Estadual Paulista, 2013.

GREETHAM, H. L.; GIFFARD, C.; HUTSON, R. A.; COLLINS, M. D.; GIBSON, G. R. Bacteriology of the Labrador dog gut: a cultural and genotypic approach. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, n. 4, p. 640–646, 2002.

GROSS, K. L.; YAMKA, R. M.; KHOO, C.; FRIESEN, K. G.; JEWELL, D. E.; SCHOENHERR, W. D.; DEBRAEKELEER, J.; ZICKER, S. C. Macronutrients. In: HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L.; ROUDEBUSH, P.; NOVOTNY, B. J. (Ed.). **Small Animal Clinical Nutrition**. Mark Morri. 2010. p. 72–81.

HÁFEZ, S. **Mercado e tendências do pet food no Brasil**. Campinas: CBNA: Anais..., 2002.

HANDL, S.; DOWD, S. E.; GARCIA-MAZCORRO, J. F.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S. Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 76, n. 2, p. 301–310, 2011.

HERSCHEL, D. A.; ARGENZIO, M.; SOUTHWORTH, M.; STEVENS, C. E. Absorption of volatile fatty acid and H_2O by the colon of the dog. **American Journal of Veterinary Research**, v. 42, n. 1, p. 1118-1124, 1981.

HWANG, O. H.; CHO, S. B.; HAN, D. W.; LEE, S. R.; KWAG, J. H.; PARK, S. K. Effect of storage period on the changes of odorous compound concentrations and bacterial ecology for identifying the cause of odor production from pig slurry. **PloS One**, v. 11, n. 9, p. e0162714, 2016.

JOURDIAN, G. W.; DEAN, L.; ROSEMAN, S. The sialic acids XI. A periodate-resorcinol method for the quantitative estimation of free sialic acids and their glycosides. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 246, n. 2, p. 430–435, 1971.

KIENZLE, E. Carbohydrate metabolism of the cat 1. Activity of amylase in the gastrointestinal tract of the cat. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 69, n. 1–5, p. 92–101, 1993.

KIENZLE, E.; DOBENECKER, B.; EBER, S. Effect of cellulose on the digestibility of high starch versus high fat diets in dogs. **Journal of Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, n. 5–6, p. 174–185, 2001.

KOPPEL, K.; MONTI, M.; GIBSON, M.; ALAVI, S.; DONFRANCESCO, B. Di; CARCIOFI, A. C. The effects of fiber inclusion on pet food sensory. **Animals**, v. 5, n. 1, p. 110–125, 2015.

KRIPKE, S. A.; FOX, A. D.; BERMAN, J. M.; SETTLE, G. R.; ROMBEAU, J. L. Stimulation of intestinal mucosal growth with intracolonic infusion of short-chain fatty acids. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 13, n. 2, p. 109–116, 1989.

KUZMUK, K. N.; SWANSON, K. S.; TAPPENDEN, K. A.; SCHOOK, L. B.; JR FAHEY, G. C. Diet and age affect intestinal morphology and large bowel fermentative end-product concentrations in senior and young adult dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 135, n. 8, p. 1940–1945, 2005.

LARSEN, F. M.; MOUGHAN, P. J.; WILSON, M. N. Dietary fiber viscosity and endogenous protein excretion at the terminal ileum of growing rats. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1898–1904, 1993.

MALO, C.; BUDDINGTON, R. K.; REINHART, G. A. Development and adaptation of hydrolytic and absorptive functions of the canine small intestine. **See Ref**, v. 95b, p. 195–211, 2000.

MENTULA, S.; HARMOINEN, J.; HEIKKILA, M.; WESTERMARCK, E.; RAUTIO, M.; HUOVINEN, P.; KONONEN, E. Comparison between Cultured Small-Intestinal and Fecal Microbiotas in Beagle Dogs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 8, p. 4169–4175, 2005.

MERENDA, M. E. Z. **Necessidades energéticas e curva de crescimento de gatos e efeitos da isoflavona sobre a ingestão energética após a castração**. 2017. Universidade Estadual de Maringá, 2017.

MERTZ, H. R.; WALSH, J. H. Peptic ulcer pathophysiology. **Medical Clinics of North America**, v. 75, n. 4, p. 799–814, 1991. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7125(16)30412-6>.

MEYER, D.; TUNGLAND, B. Non-digestible oligosaccharides and polusaccharides: their physiological effects and health implications. In: MCCLEARY, B. V.; PROSKY, L. (Ed.). **Advanced dietary fibre technology**. 1st. ed. Oxford: Blackwell Science Ltd., 2001. p. 453–469.

MIDDELBOS, I. S.; BOLER, B. M. V.; QU, A.; WHITE, B. A.; SWANSON, K. S.;

FAHEY, G. C. Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing. **PloS One**, v. 5, n. 3, p. e9768, 2010.

MIDDELBOS, I. S.; FASTINGER, N. D.; JR FAHEY, G. C. Evaluation of fermentable oligosaccharides in diets fed to dogs in comparison to fiber standards. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 11, p. 3033–3044, 2007.

MONTAGINAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. Processing techniques to reduce toxicity and antinutrients of cassava for use as a stapl food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,** v. 8, n. 1, p. 17-27, 2009.

MORTENSEN, P. B.; CLAUSEN, M. R. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 31, n. sup216, p. 132–148, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Dogs and Cat. National Academies Press, , 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Washington, DC: National Academy Press, 2002.

PARKS, D. H.; TYSON, G. W.; HUGENHOLTZ, P.; BEIKO, R. G. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. **Bioinformatics**, v. 30, n. 21, p. 3123–3124, 2014.

REINHART, G. A.; SUNVOLD, G. D. In vitro fermentation as a predictor of fiber utilization. In: **Recent Advances in Canine and Feline Nutritional Research: IAMS International Nutrition Symposium**. Orange Fra 1 ed. 1996.

RITCHIE, L. E.; BURKE, K. F.; GARCIA-MAZCORRO, J. F.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S. Characterization of fecal microbiota in cats using universal 16S rRNA gene and group-specific primers for Lactobacillus and Bifidobacterium spp. **Veterinary Microbiology**, v. 144, n. 1–2, p. 140–146, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.045>.

RITCHIE, L. E.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S. Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, n. 3, p. 590–598, 2008.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 6, p. 1682S–1687S, 2000.

ROBERFROID, M.; GIBSON, G. R.; DELZENNE, N. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: an approach to calculate its caloric value. **Nutrition Reviews**, v. 51, n. 5, p. 137–146, 1993.

ROBERTSON, J. A.; EASTWOOD, M. A. An Investigation of the Experimental Conditions Which Could Affect Water-holding Capacity of Dietary Fibre. p. 819–825, 1981.

ROBIN, F.; SCHUCHMANN, H. P.; PALZER, S. Dietary fiber in extruded cereals: limitations and opportunities. **Trends in Food Science & Technology**, v. 28, n. 1, p. 23–32, 2012.

ROCHA, C. **Impacto de diferentres alimentos sobre a estrutura morfológica intestinal e digestibilidade dos nutrientes em frangos**. 2014. Universidade Federal do Paraná, 2014.

ROEDIGER, W. E. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. **Gut**, v. 21, n. 9, p. 793–798, 1980.

ROEDIGER, W. E. W. The starved colon - diminished mucosal nutrition, diminished absorption, and colitis. **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 33, n. 10, p. 858–862, 1990. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02051922>.

SAROSIEK, J.; SLOMIANY, A.; SLOMIANY, B. L. Evidence for weakening of gastric mucus integrity by Campylobacter pylori. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 23, n. 5, p. 585–590, 1988.

SCHEPPACH, W.; BARTRAM, P.; RITCHTER, A.; RITCHTER, F.; LIEPOLD, H.; DUSEL, G.; HOFSTETTER, G.; RUTHLEIN, J.; KASPER, H. Effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa in vitro. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 16, n. 1, p. 43–48, 1992.

SCHNEEMAN, B. O. Soluble vs insoluble fiber: different physiological responses. **Food Technology**, 1987. Disponível em: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19890042030>.

SIMPSON, J. M.; MARTINEAU, B.; JONES, W. E.; BALLAM, J. M.; MACKIE, R. I.

Characterization of fecal bacterial populations in canines: effects of age, breed and dietary fiber. **Micro**, v. 44, n. 2, p. 186–197, 2002.

SLOMIANY, B. L.; BILSKI, J.; SAROSIEK, J.; MURTY, V. L. N.; DWORKIN, B.; VANHORN, K.; ZIELENSKI, J.; SLOMIANY, A. Campylobacter pyloridis degrades mucin and undermines gastric mucosal integrity. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 144, n. 1, p. 307–314, 1987.

SMITH, E. A.; MACFARLANE, G. T. Formation of phenolic and indolic compounds by anaerobic bacteria in the human large intestine. **Microbial Ecology**, v. 33, n. 3, p. 180–188, 1997.

SUCHODOLSKI, J. S. Intestinal microbiota of dogs and cats: a bigger world than we thought. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 41, n. 2, p. 261–272, 2011.

SUCHODOLSKI, J. S.; CAMACHO, J.; STEINER, J. M. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, n. 3, p. 567–578, 2008.

SUCHODOLSKI, J. S.; RUAUX, C. G.; STEINER, M.; FETZ, K.; WILLIAMS, D. A. Application of molecular fingerprinting for qualitative assessment of small-intestinal bacterial diversity in dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 10, p. 4702–4708, 2004.

SUCHODOLSKI, J.; SIMPSON, K. Microbioma gastrintestinal canino na saúde e na doença. **Veterinary Focus**, v. 23, n. 2, p. 22–28, 2013.

SUNVOLD, G. D.; FAHEY, G. C.; MERCHEN, N. R.; BOURQUIN, L. D., TITGEMEYER, E. C.; BAUER, L. L.; REINHART, G. A. Dietary fiber for cats: In vitro fermentation of selected fiber sources by cat fecal inoculum and in vivo utilization of diets containing selected fiber sources and their blends. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 8, p. 2329–2339, 1995a.

SUNVOLD, G. D.; FAHEY, G. C.; MERCHEN, N. R.; REINHART, G. A. In vitro fermentation of selected fibrous substrates by dog and cat fecal inoculum: influence of diet composition on substrate organic matter disappearance and fatty acid production. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 4, p. 1110–1122, 1995b.

SUNVOLD, G. D.; FAHEY, G. C.; MERCHEN, N. R.; TITGEMEYER, E. C.;

BOURQUIN, L. D.; BAUER, L. L.; REINHART, G. A. Dietary fiber for dogs: IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 4, p. 1099–1109, 1995c.

TEREDA, A.; HARA, H.; KATO, S.; KIMURA, T.; FUJIMORI, I.; HARA, K.; MARUYAMA, T.; MITSUOKA, T. Effect of lactosucrose (4G-β-D-galactosylsucrose) on fecal flora and fecal putrefactive products of cats. **Journal of Veterinary Medical Science55**, v. 55, n. 2, p. 291–295, 1993.

TEREDA, A.; HARA, H.; OISHI, T.; MATSUI, S.; MITSUOKA, T.; NAKAJYO, S.; FUJIMORI, I.; HARA, K. Effect of dietary lactosucrose on faecal flora and faecal metabolites of dogs. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 5, n. 2, p. 87–92, 1992.

VALDES, A. M.; WALTER, J.; SEGAL, E.; SPECTOR, T. D. Role of the gut microbiota in nutrition and health. **BMJ**, v. 361, n. 1, p. 36–44, 2018.

VARKI, A. Diversity in the sialic acids. **Glycobiology**, v. 2, n. 1, p. 25–40, 1992.

VICKERS, R. J.; SUNVOLD, G. D.; KELLEY, R. L.; REINHART, G. A. Comparison of fermentation of selected fructooligosaccharides and other fiber substrates by canine colonic microflora. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 4, p. 609–615, 2001.

YILMAZ, P.; PARFREY, L. W.; YARZA, P.; GERKEN, J.; PRUESSE, E.; QUAST, C.; SCHWEER, T.; PEPLIES, J.; LUDWIG, W.; GLOCKNER, F. O. The SILVA and “all-species living tree project (LTP)” taxonomic frameworks. **Nucleic acids research**, v. 42, n. November 2013, p. D643–D648, 2014.

ZENTEK, J. Cellulose, pectins and guar gum as fibre sources in canine diets. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 76, n. 1–5, p. 36–45, 1996.

ZENTEK, J.; MARQUART, B.; PIETRZAK, T.; BALLEVRE, O.; ROCHAT, F. Dietary effects on bifidobacteria and Clostridium perfringens in the canine intestinal tract. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 87, n. 11–12, p. 397–407, 2003.