



CHARY PAOLA ROJAS GRANADOS

**EQUILÍBRIO ÁCIDO BÁSICO DE GATOS
RECEBENDO DIETAS COM ACIDIFICANTE A
BASE DE ÁCIDO FOSFÓRICO**

LAVRAS - MG

2015

CHARY PAOLA ROJAS GRANADOS

**EQUILÍBRIO ÁCIDO BÁSICO DE GATOS RECEBENDO DIETAS
COM ACIDIFICANTE A BASE DE ÁCIDO FOSFÓRICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Flavia Maria de Oliveira Borges Saad

Coorientador

Dr. Marcio Gilberto Zangeronimo

LAVRAS - MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Rojas Granados, Chary Paola.

Equilíbrio ácido básico de gatos recebendo dietas com acidificante a base de ácido fosfórico : Equilíbrio ácido básico de gatos recebendo dietas com acidificante a base de ácido fosfórico / Chary Paola Rojas Granados. – Lavras :UFLA, 2015.

69 p.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Flavia Maria de Oliveira Borges Saad.

Bibliografia.

1. pH urinário. 2. Equilíbrio ácido básico. 3. Urolitíase. 4. Gasometria. 5. Felinos domésticos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CHARY PAOLA ROJAS GRANADOS

**EQUILÍBRIO ÁCIDO BÁSICO DE GATOS RECEBENDO DIETAS
COM ACIDIFICANTE A BASE DE ÁCIDO FOSFÓRICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 26 de Fevereiro de 2015.

Dra. Janine França UFU

Dr. Marcio Gilberto Zangeronimo UFLA

Dra. Flavia Maria de Oliveira Borges Saad
Orientadora

LAVRAS - MG

2015

A minha família, meu esposo e minha filha Isabella, vocês são minha vida, meu mundo.

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e saúde.

Ao meu pai Jorge Eliecer Rojas, a minha mãe Luz Marina Granados e meus irmãos Jorge e Marcela, pelo apoio incondicional e as palavras de ânimo nos momentos mais difíceis, sempre acreditando em mim.

A minha filha Isabella, minha vida, ela que com seu sorriso e inocência alegra meus dias, dando-me fortaleza para continuar esta caminhada.

Ao meu companheiro de luta, meu parceiro Manuel Bobadilla, pela grande oportunidade nesta travessia no Brasil, pensando e sonhando sempre com uma melhor vida.

Aos meus sogros Victor Bobadilla e AliriaMendez, pelo apoio e carinho.

A minha orientadora Profa. Flavia Maria Borges Saad, pela grande confiança, pelo incentivo e por ter acreditado no meu trabalho.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Zootecnia e da Veterinária.

À Universidade Federal de Lavras e a PRPG pelo incentivo econômico.

A minha amiga LiviaGeraldí, por sua amizade, sua ajuda e sua disposição sempre. Obrigada mesmo, pela sua atitude comigo, desde o começo e pela sua paciência para me entender.

Aos integrantes do NENAC que, de alguma forma, contribuíram e me acompanharam neste processo.

Ao funcionário do canil Seu Ednaldo, pela disposição.

Aos meus compatriotas colombianos Martha, Yamid, Isabel, Olguita, José e todos aqueles estrangeiros que abriram a porta de seu lar e que nos fizeram sentir como em casa, por- que estar longe dela não é fácil.

Aos animais do canil, porque sem eles entenderem, mas, sim, sentirem, fazem possível a contribuição às pesquisas.

AUTOBIOGRAFIA

Chary Paola Rojas Granados, filha de Jorge Eliecer Rojas e Luz Marina Granados, nasceu no dia 2 de fevereiro de 1985, na cidade de Barrancabermeja, Santander, Colômbia.

Em março de 2002, ingressou na Universidade Cooperativa de Colômbia, onde, em dezembro de 2009, graduou-se como Médica Veterinária e Zootecnista.

Em abril de 2013, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, na área de Nutrição de Não-Ruminantes.

Em agosto de 2014, foi aprovada no exame de qualificação e, no dia 26 de fevereiro de 2015, submeteu-se à defesa de Dissertação, para a obtenção do título de "Mestre".

RESUMO

Estudaram-se os efeitos da inclusão de um acidificante comercial, em duas rações comerciais com excesso de base (EB) conhecido, sobre o consumo de alimento, consumo de água, pH, volume e densidade urinária, assim como o equilíbrio ácido básico de gatos adultos. O experimento foi conduzido no Centro de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia (CENAC), do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, utilizando-se 10 gatos adultos, sem raça definida, de ambos os sexos. Cada uma das duas dietas comerciais foi acrescida com o acidificante comercial, até atingir as quantidades de 0 mEq/kg, -25 mEq/kg, -50 mEq/kg, -75 mEq/kg e -100 mEq/kg, constituindo um delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 2x5 (2 rações e 5 níveis de acidificante). Os dados obtidos foram submetidos a ANOVA e à análise de regressão para os níveis de acidificante, usando o pacote estatístico Action 2.7. A ração A apresentou um EB menos catiônico (17,42 mEq/kg), em comparação com a ração B (508,79 mEq/kg); já, os EB, para cada ração, com a inclusão dos diferentes níveis de acidificante, variaram entre -82,57 mEq/kg e 483,79 mEq/kg. Observou-se um comportamento quadrático dos diferentes níveis de acidificante na ração A ($P < 0,05$), mostrando que, a partir do nível de inclusão de acidificante de -51,6 mEq/kg, diminuiu o consumo diário de alimento. Com relação ao pH urinário, o nível de acidificante começa a ter influência na queda do pH, a partir de -38,2 mEq/kg na ração A, também apresentando um efeito quadrático. Para os parâmetros gasométricos de sangue venosa, não houve interação em nenhuma das variáveis analisadas, no entanto, foram observados efeitos significativos da ração sobre o pH, $[HCO_3^-]$ e CO_2T , mostrando menores concentrações desses gases no sangue dos gatos, consumindo a ração A. Para os eletrólitos sódio, cloreto e potássio sérico não houve diferença significativas ($P < 0,05$) para nenhuma das variáveis analisadas nas duas dietas. A inclusão de acidificante à base de ácido fosfórico reduz o pH urinário somente quando utilizado em dietas com EB negativo ou próximos a zero, não sendo eficaz em dietas com EB elevado ou muito positivo.

Palavras-chave: pH urinário. Gasometria. Urolitíase. Felinos domésticos.

ABSTRACT

We studied the effects of the inclusion of a commercial acidifier in two commercial diets with known Base Excess (BE), on food intake, water intake, pH, urine volume and density, as well as the basic-acid balance of adult cats. The experiment was conducted at the Center for Studies in Companion Animal Nutrition (CENAC) of the Department of Animal Science at the Universidade Federal de Lavras, using 10 mixed breed adult cats, of both sexes. Each of the commercial diets was supplemented with the commercial acidifier until reaching the amounts of 0 mEq/kg, -25 mEq/kg, -50 mEq/kg, -75mEq/kg and -100 mEq/kg, forming a randomized blocks design in a 2x5 factorial scheme (2 rations and 5 levels of acidifier). The data obtained were submitted to ANOVA and regression analysis for acidifying levels, using the Action 2.7 statistical package. The diet A showed a less cationic BE (17.42 mEq/kg) when compared with diet B (508.79 mEq/kg), while the BE for each feed with the inclusion of different levels of acidifier ranged from -82.57 mEq/kg to 483.79 mEq/kg. We observed a quadratic behavior of the different levels of acidifier in feed A ($P < 0.05$) showing that, from the level of acidifier inclusion of -51.6 mEq/kg, daily food intake decreased. Regarding urinary pH, the acidifier level begins influence the decrease in pH from -38.2 mEq/kg in feed A, also presenting a quadratic effect. For gas parameters of venous blood, there was no interaction in any of the variables analyzed, however, we observed significant effects of the diets over pH, $[HCO_3^-]$ and CO_2T , showing lower concentrations of these gases in the blood of cats consuming feed A. For the sodium, chloride and potassium serum electrolytes, there was no significant difference ($P < 0.05$) for any of the variables analyzed in both diets. The inclusion of phosphoric-based acidifier reduces urinary pH only when used in diets with negative or near zero BE, not being effective in diets with elevated or very positive BE.

Keywords: Urinary pH. Blood gases. Urolithiasis. Domestic cats.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Regressão quadrática entre os níveis de acidificante e o consumo de alimento diário na ração A43
- Figura 2 Regressão quadrática entre os níveis de acidificante e o pH urinário na ração A46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores médios normais do exame gasométrico de gatos21
Tabela 2	Valores de referência dos eletrólitos sódio, cloro e potássio no exame de gasometria em gatos saudáveis22
Tabela 3	Porcentagem de matéria seca, EB mEq/kg e composição mineral das duas rações comerciais empregadas no ensaio experimental para avaliação do equilíbrio ácido básico de gatos ...31
Tabela 4	Níveis de garantia das rações experimentais segundo o fabricante o alimento em base na matéria natural (MN)32
Tabela 5	Composição mineral e excesso de base (EB) do acidificante (Acid Balance®) na matéria seca (MS), acrescentado em cada uma das rações experimentais de gatos33
Tabela 6	Quantidade de inclusão de acidificante (Acid Balance®) calculado baseado nos mEq/kg, para cada tratamento em cada uma das rações experimentais38
Tabela 7	Consumo diário de alimento (CDA), com base na matéria seca, consumo de água, volume de urina, coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS) e escore fecal de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®)40
Tabela 8	Consumo diário de alimento com base na matéria seca (g/dia) em gatos adultos recebendo duas rações experimentais com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®).....42

Tabela 9	Valores médios do pH e densidade urinária de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®).....	45
Tabela 10	pH urinário de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis do acidificante (Acid Balance®)	46
Tabela 11	Médias de pH sanguíneo, pressão parcial de dióxido de carbono (pCO ₂), concentração de bicarbonato ([HCO ₃ ⁻]), dióxido de carbono total (CO ₂ T) e excesso de base (EB) de sangue venoso de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®).....	50
Tabela 12	Médias dos valores mensurados dos eletrólitos sódio, cloreto e potássio sérico de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®).....	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Urolitíase	16
2.2	Equilíbrio ácido básico	19
2.3	Fatores dietéticos que influenciam no pH urinário	23
2.4	Uso de acidificantes na dieta e consumo de água de gatos	25
3	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1	Local e instalações	30
3.2	Animais utilizados e tratamentos experimentais	30
3.3	Procedimento experimental	33
3.3.1	Consumo de alimento	34
3.3.2	Determinação de pH, densidade e volume urinário <i>in vivo</i>	34
3.3.3	Consumo de água	35
3.3.4	Escore fecal e digestibilidade da matéria seca	35
3.3.5	Determinação do equilíbrio ácido – base dos animais	36
3.4	Análise estatística	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Quantidade de acidificante a ser incluído e EB das rações para cada tratamento	38
4.2	Consumo de água, volume de urina, coeficiente de digestibilidade da matéria seca e escore fecal	39
4.3	Consumo diário de alimento	42
4.4	pH e densidade urinária	44
4.5	Equilíbrio ácido básico	49
5	CONCLUSÕES	55
	REFERÊNCIAS	56
	ANEXOS	63

1 INTRODUÇÃO

Rações comerciais podem conter inadequações em sua composição nutricional que podem favorecer ou não o desenvolvimento de distúrbios metabólicos no animal (CARCIOFI et al., 2006). No caso dos felinos, as Doenças do Trato Urinário Inferior (DTUIF), em especial a urolitíase, tem apresentado grande incidência na clínica de pequenos animais (CASE et al., 2011; OSBORNE et al., 1996).

A DTUIF é definida como a formação de sedimento, consistindo de um ou mais cristalóides pouco solúveis no trato urinário (BARTGES; KIRK, 2006). A formação dos urólitos depende da supersaturação da urina com minerais calculogênicos (HOSTUTLER; CHEW; DIBARTOLA, 2005), entre os urólitos mais comuns que afetam os felinos estão os urólitos de estruvita ou também chamados fosfato amônio magnésiano, associados a um pH urinário alcalino (maior a 6,8) e urina supersaturada com íons fosfato, amônio e magnésio, sendo mais comuns em animais de, até, sete anos (HOUSTON et al., 2003).

Múltiplos fatores estão envolvidos na cristalização e formação dos urólitos, como fatores dietéticos e não dietéticos (KIENZLE; SCHUKNECHT; MEYER, 1991; ZENTEK; SCHULZ, 2004). Estudos têm mostrado grande interesse na influência da dieta; os ingredientes usados, sua composição química e métodos de alimentação, na interferência e variabilidade do pH urinário, na concentração de sais no trato urinário, na supersaturação da urina e na diminuição da frequência de micção; fatores que podem favorecer a formação de cristais e cálculos na bexiga (CARCIOFI; LANZONI, 2005; HOUSTON et al., 2003; LULICH et al., 1997; MARKWELL; BUFFINGTON; SMITH, 1998).

A urina é um meio eficiente para excretar e eliminar vários subprodutos do metabolismo celular do organismo, através da micção; como a ureia e creatinina, minerais (cálcio, fósforo e magnésio), eletrólitos (sódio e potássio) e

água, no entanto, durante o processo de assimilação e ingestão dos alimentos, diferentes respostas metabólicas podem ser desenvolvidas pelo organismo dos animais, como, por exemplo, seu equilíbrio ácido básico (DIBARTOLA, 2012). Em decorrência dessa resposta metabólica, várias pesquisas têm sido desenvolvidas, associando o excesso de bases (EB) do alimento ou Balanço Cátion Anión da Dieta (BCAD) com o pH urinário nos gatos. O BCAD é calculado a partir das concentrações dos compostos ácidos e alcalinos do alimento, sendo expresso em mEq/kg de matéria seca (MS) (CARCIOFI, 2007; KIENZLE; WILMS-EILERS, 1994; MARKWELL; BUFFINGTON; SMITH, 1998; YAMKA; FRIESEN; SCHAKENRAAD, 2006).

Em muitos casos, o pH urinário pode refletir o estado de acidose ou alcalose do organismo; distúrbios que poderiam ser modificados com o uso de sais minerais (fontes potenciais de ácido ou base), em concentrações adequadas, produzindo efeito variável sobre o pH urinário e, assim, intervindo na prevenção e formação de urólitos, reduzindo a concentração de solutos na urina e mantendo um equilíbrio fisiológico adequado (CHING et al., 1989).

Nesse sentido, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão do acidificante Acid Balance[®] em dietas comerciais sobre o equilíbrio ácido básico, consumo de água, o pH, densidade e volume urinário de gatos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Urolitíase

A urolitíase, em termos gerais, pode ser definida como a precipitação de metabolitos de excreção do organismo na urina de modo a formar urólitos (popularmente conhecidos como cálculos ou pedras) em qualquer parte do trato urinário, sendo sua ocorrência e sua causa na interação de vários fatores (OSBORNE et al., 2009). A urolitíase não pode ser considerada como uma doença isolada com uma única causa específica (OSBORNE et al., 2009; ZENK; SCHULZ, 2004), já que o aparecimento e a formação dos cálculos na bexiga é imprevisível, com causas multifatoriais como estados fisiológicos do organismo, presença de uma enfermidade ou mesmo comportamento alimentar nos animais (BARTGES et al., 2000). Essa interação complexa da composição da dieta, ambiente e a fisiologia do animal, entre outras causas, fazem com que exista uma necessidade na investigação clínica e opções dietéticas para o tratamento e a prevenção dessa doença (KERR, 2013).

Duas etapas são frequentes durante a formação dos urólitos na bexiga: a fase de nucleação e a fase de crescimento. A formação inicial de um núcleo cristalino (fase de nucleação) é dependente da supersaturação da urina com cristais litogênicos, promotores ou inibidores da cristalização e pH urinário. Há dois tipos de nucleação: homogênea (encontram-se cristais presentes de apenas um tipo) e heterogêneas (deposição de cristais sobre corpos estranhos considerados potencializadores da cristalização) (MONFERDINI; OLIVEIRA, 2009).

Após a nucleação, ocorre o crescimento do cristal que, dependendo das altas concentrações do soluto, da supersaturação da urina, do tempo de permanência dos urólitos nas vias excretoras do trato urinário e da diminuição na

frequência de micção, que vão favorecer a formação dos cristais e cálculos (OSBORNE et al., 2000).

Na formação dos urólitos, fatores dietéticos e não dietéticos podem estar relacionados; entre os fatores não dietéticos estão a raça, idade, infecções no trato urinário e sexo do animal (MONFERDINI; OLIVEIRA, 2009; ZENTEK; SCHULZ, 2004). Entre os fatores dietéticos, podem ser considerados a composição da dieta, seus ingredientes, os padrões de alimentação e sua digestibilidade, podendo influenciar no volume, pH urinário e supersaturação de cristais na bexiga, favorecendo a formação dos urólitos (CARCIOFI, 2007; MARKWELL; BUFFINGTON; SMITH, 1998).

O tipo de urólito formado vai depender de muitos fatores, incluindo excreção renal de minerais, pH urinário, presença de promotores, infecções concomitantes com bactérias ou, possivelmente, inflamação subjacente (HOSTUTLER; CHEW; DIBARTOLA, 2005). Os urólitos podem ser compostos de um mesmo mineral ou combinação de dois ou mais minerais catiônicos ou aniônicos (BARTGES et al., 2000). Analisando quimicamente os urólitos de 34 gatos, observaram que dezoito gatos apresentaram urólitos compostos em sua maioria por estruvita, dez gatos apresentaram complexos de uratos de amônio, três gatos apresentavam urólitos de fosfato cálcico e três gatos com urólitos compostos por oxalato de cálcio mono e dihidratado (ESCOLAR; BELLANATO, 2003).

A prevalência do tipo de urólitos tem mudado nas últimas duas décadas. Um levantamento feito na década de 80, no Centro de Urólitos de Minnesota nos Estados Unidos, revelou que 78% dos urólitos encontrados eram de estruvita e somente 2% de oxalato de cálcio. Já, no período de 1994 a 2002, o aparecimento dos urólitos de oxalato de cálcio aumentou para 55%, enquanto que os de estruvita diminuíram para 33%. A partir de 2003, os urólitos de estruvita aumentaram novamente (OSBORNE et al., 2009), sendo esses urólitos uns dos

mais frequentes encontrados em gatos jovens, principalmente animais que se encontram em uma faixa etária entre dois a sete anos de idade (FORRESTER; ROUDEBUSH, 2007).

A denominação dos urólitos é atribuída de acordo com sua forma, composição mineral e localização no trato urinário (LULICH et al., 1997). Ao contrário do que se observamos em cães, os urólitos de gatos são estéreis e, em sua maioria, são urólitos de estruvita (fosfato, amônio, magnésio hexahidratado) (PIBOT et al., 2009).

A estruvita ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$) se caracteriza por estar associada a um pH urinário maior que 6,8 e uma urina supersaturada com íons de magnésio, amônio e fosfato (HOUSTON et al., 2003). Recomenda-se que, para prevenir a formação de urólitos de estruvita, o pH devesse ser inferior a 6,6, já que, nessa faixa, os urólitos tornam-se solúveis (CASE et al., 2011).

Os gatos são animais de origem desértica, adaptados à ingestão de pouca quantidade de água, o que leva a uma produção de urina concentrada e ácida (pH entre 6,0 e 6,5) e, em consequência disso, formação de pequenos volumes de urina diários, o que predispõe a supersaturação de cristais (LAZZAROTTO, 2000).

Estudos laboratoriais conduzidos para avaliar o perfil nutricional das rações secas comerciais, geralmente do setor econômico no Brasil, mostram que a maioria delas apresenta uma alta porcentagem no teor de minerais, especialmente de macro minerais cálcio e fósforo e, além disso, apresenta pouca proteína, em desacordo com os níveis nutricionais presentes no rótulo.

Essas altas inadequações dos valores na composição nutricional do produto comprometem a qualidade do alimento a ser fornecido aos animais, podendo influenciar em algumas respostas metabólicas que favorecem o desenvolvimento de doenças, sendo inadequados para um equilíbrio ácido-básico no organismo (CARCIOFI et al., 2006; PIRES, P. et al., 2011).

2.2 Equilíbrio ácido básico

No meio interno do organismo, o equilíbrio ácido básico mantém a regulação das concentrações do íon hidrogênio (H^+), para assegurar um ambiente ótimo para as funções celulares (MOTA; QUEIROZ, 2010). Pequenas mudanças nas concentrações do íon hidrogênio podem produzir grandes alterações nas reações químicas celulares, e a regulação da concentração desse íon é um aspecto muito importante na homeostase (UNIVERSIDADE NACIONAL DEL NORDESTE - UNNE, 2014).

Os sistemas orgânicos enfrentam dois desafios importantes para a manutenção do equilíbrio ácido básico: o primeiro é a disposição de ácidos ingerida na dieta e o segundo é o destino dado ao dióxido de carbono (CO_2), gerado como produto final do metabolismo (MOTA; QUEIROZ, 2010). Para manter o pH em uma faixa favorável e evitar um desequilíbrio, o organismo utiliza três mecanismos principais: tamponamento químico, ajuste respiratório da concentração sanguínea de CO_2 e excreção de íons H^+ e bicarbonatos pelos rins (DIBARTOLA, 2012).

Os sistemas de tamponamento químico dos líquidos corporais combinam ácidos ou bases, impedindo a ocorrência de alterações excessivas na concentração de íons H^+ e reagindo em fração de segundos para minimizar essas mudanças. No centro respiratório, há um controle na remoção de CO_2 do líquido extracelular, atuando, também, em poucos minutos, para eliminar o CO_2 e, portanto, o ácido carbônico (H_2CO_3) do organismo. Já, nos rins, a resposta é mais lenta, com excreção de urina ácida ou alcalina, reajustando a concentração de íons hidrogênio do LEC para a normalidade, durante a acidose ou a alcalose, sendo, assim, o mais potente dos sistemas reguladores ácido básico (ETGES, 2005).

Um dos parâmetros para avaliar o estado ácido básico do organismo é o sangue, assim, o pH sanguíneo é avaliado e extrapolado para os outros tecidos. Se o pH sanguíneo encontra-se dentro de sua neutralidade fisiológica (aproximadamente 7,4), os demais tecidos também devem estar dentro de seu estado ideal.

A hemogasometria é o exame realizado para interpretar o estado metabólico ácido básico do organismo, a partir das alterações ou normalidades do pH sanguíneo, eficiência das trocas gasosas do pulmão e coração ($p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$) e outros parâmetros, tais como a concentração de bicarbonato (HCO_3^-) e CO_2 . Também é importante conhecer o excesso de base, que é a quantidade de ácido ou bases fortes necessárias para titular um litro de sangue para um pH 7,4 em 37°C e que determina as concentrações de cátions e ânions no fluido. Na coleta sanguínea dos animais, é preciso determinar qual vai ser a origem da amostra; arterial ou venosa. Além disso, tal colheita deve ser rápida e ágil, e no caso da maioria dos gatos, onde a coleta de sangue é bastante difícil, o sangue colhido é o venoso, sendo assim a interpretação dos resultados deve ser feita com muito cuidado e não devem ser considerados os dados da pressão parcial de oxigênio (ALMOSNY, 2003; DIBARTOLA, 2012).

Os valores médios normais do exame gasométrico em gatos saudáveis encontram-se descritos na Tabela 1.

Tabela 1 Valores médios normais do exame gasométrico de gatos

	Unidade	Amostra de sangue	
		Arterial	Venoso
pH	mmHg	7,24-7,45	7,28-7,41
pCO₂	mmHg	25-37	33-45
pO₂	mEq/L	96-118	35-45
[HCO₃]	mEq/L	15-22	18-23
EB	mEq/L	-2,0-2,5	-1 a -7
CO₂T	mmHg	15-20	15-20
SO₂	%	>90	-

Fonte: Adaptado de Dibartola(2012) e Lee e Drobotz (2003)

pH: potencial de hidrogênio; pCO₂: pressão de dióxido de carbono; pO₂: pressão de oxigênio; [HCO₃]: concentração de íons bicarbonato; EB: excesso de bases ; CO₂T: dióxido de carbono total; SO₂: saturação de oxigênio

A influência da dieta sobre o pH urinário e o equilíbrio ácido-base tem sido avaliada em diversas espécies, sendo correlacionada à composição química e mineral do alimento como o cálcio (Ca), sódio (Na), potássio (K), magnésio (Mg), que são componentes alcalinos e o fósforo (P), cloro (Cl) e enxofre (S), que são componentes ácidos, sobre o pH urinário. Esta correlação é denominada como excesso de base (EB) ou balanço cátion aniônico da dieta (BCAD) e que pode ser calculada, por meio da diferença de seus componentes (cátions e ânions fixos totais presentes na dieta) e seu resultado é dado em miliequivalente (mEq) por quilograma (kg) de matéria seca (MS) (BERTONHA et al., 2006; JEREMIAS et al., 2013; KIENZLE; SCHUKNECHT; MEYER, 1991; KIENZLE; WILMS-EILERS, 1994; PIRES, C. et al., 2011; YAMKA; FRIESEN; SCHAKENRAAD, 2006), como se segue na equação:

$$EB \text{ (mEq/kg MS)} = (49,9 \times Ca) + (82,3 \times Mg) + (43,5 \times Na) + (25,6 \times K) - (64,6 \times P) - (62,4 \times S) - (28,2 \times Cl)$$

(KIENZLE; WILMS-EILERS, 1994)

Esses eletrólitos da dieta, que são classificados como ânions (carga negativa) e cátions (carga positiva), exercem um forte efeito iônico no equilíbrio ácido-básico e na manutenção da pressão osmótica dos líquidos extracelular e intracelular, sendo o caso principalmente dos íons sódio (Na), cloro (Cl), potássio (K) e o fosforo (P).

Por outro lado, o cálcio (Ca) e o magnésio (Mg) são importantes componentes alcalinizantes com grande capacidade de modificar o pH dos líquidos corporais. Já, o enxofre (S) tem propriedades acidificantes nos líquidos onde está presente (CAVALIERI; SANTOS, 2001; DIBARTOLA, 2012; SAAD, 2014). É importante a interpretação correta dos resultados laboratoriais da gasometria e eletrólitos sanguíneos para não incorrer em erros. Os valores que estejam fora dos valores de referência podem representar alterações hidroeletrólíticas e ácido - básicas no organismo do animal.

Os valores de referência para os principais eletrólitos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 Valores de referência dos eletrólitos sódio, cloro e potássio no exame de gasometria em gatos saudáveis

Eletrólitos	Concentração sérica (mEq/L)
Sódio	145 a 157
Cloreto	115 a 130
Potássio	3,6 a 5,5

Fonte: Santé (2012).

2.3 Fatores dietéticos que influenciam no pH urinário

Gatos, por serem animais de origens desérticas, apresentam, normalmente, urina ácida e concentrada com um pH entre 6,0 e 6,5 (ALLEN; KRUGER, 2000).

No entanto, somente a interpretação de apenas um valor de pH de urina coletada é difícil de aceitar como fator predisponente na formação de cristais influenciados pelo alimento, sendo necessárias várias mensurações (do pH) em, pelo menos, três dias consecutivos a cada 24 horas, o que foi verificado por Buffington e Chew (1996). O pH urinário nos gatos é muito variável durante o dia, em razão da maré alcalina pós-prandial que é influenciada pelo alimento, método de alimentação, o horário de alimentação e a quantidade consumida. De acordo com o Manual Pet Food Brasil (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO - ABINPET, 2012), o protocolo para a mensuração do pH na urina de gatos *in vivo*, em fase de experimentação alimentar, determina sete dias mínimos para adaptação à dieta e estabilização do consumo alimentar. Após a fase de adaptação, realiza-se, no mínimo, três dias de coleta de urina (72 horas), sendo a mensuração do pH urinário feita a cada 24 horas e, posteriormente, obtida uma média aritmética dos dados coletados.

Estudos relatam a relação existente entre o tipo de alimento, o horário de alimentação e a quantidade consumida, mostrando que gatos que se alimentam de forma frequente e em pequenas quantidades ao longo do dia geram uma baixa resposta alcalina pós-prandial na urina, comparada com gatos alimentados em refeições ou em determinados horários, portanto, a alimentação *ad libitum* pode ser utilizada como uma ferramenta para o controle do desenvolvimento de DTUF (BUFFINGTON; CHEW, 1996; CAMPS, 2014; KIENZLE; SCHUKNECHT; MEYER, 1991).

Existem ingredientes na dieta com capacidade de acidificar ou alcalinizar a urina, incluindo as proteínas de origem animal e vegetal, assim como substâncias que aumentam a absorção de cloro, fosfato e sulfatos. Em estudo realizado por Funaba et al. (2001b), comparando duas fontes proteicas (farinha de peixe e glúten de milho) sobre o efeito do pH urinário na dieta de gatos adultos, não se verificou diferenças significativas entre os grupos, entretanto, os pesquisadores observaram que os gatos que consumiram a dieta com glúten de milho aumentaram o material orgânico e sedimento na urina, o que pode ter um forte efeito na acidificação da mesma, já que esse ingrediente contém alta proteína com teores elevados de aminoácidos sulfurados, tais como a metionina e a cistina. A oxidação desses aminoácidos no organismo resultaria na excreção de sulfato na urina, com concomitante diminuição do pH.

Em um estudo conduzido por Zentek e Schulz (2004), foram formuladas seis dietas e fornecidas a gatos adultos, usando como fonte de proteína a soja insolada, tecidos de colágeno e carne equina, onde cada fonte de proteína foi testada em duas concentrações, resultando em dieta de alta e baixa proteína. O estudo demonstrou a grande influência da ingestão de proteína dietética na composição da urina e cristalização em gatos. As fontes de proteína utilizadas nas dietas experimentais eram de diferentes qualidades e o pH urinário foi menor nas dietas de baixa proteína, exceto quando os animais foram alimentados com a carne equina, sendo esse fato relacionado com as altas concentrações de amônia. Em contraste com o oxalato, cristais de estruvita foram encontrados regularmente em todas as amostras de urina e, mais frequentemente, em um pH mais alcalino. O número de cristais de estruvita foi, em geral, reduzido em dietas de baixa proteína, provavelmente em razão de menor excreção urinária de nitrogênio.

Além dos diferentes tipos de proteínas na dieta influenciarem no pH urinário dos gatos, certos tipos de fibra, como a fibra da soja e o farelo de

arroz, diminuem a absorção de cálcio, a partir do trato gastrointestinal, o que pode diminuir a excreção urinária de cálcio, tornando a urina menos ácida. Em um estudo realizado por McClain et al. (1999 citados por BARTGES; KIRK, 2006), cinco gatos com hipercalemia idiopática e urólitos de oxalato de cálcio foram alimentados com uma dieta rica em fibras e suplementados com citrato de potássio, resultando na normalização da concentração de cálcio no soro e em um pH mais alcalino, controlando o risco de formação de urólitos por oxalato de cálcio.

Por outro lado, acredita-se que as gorduras, na dieta dos gatos, têm um efeito neutro em relação ao pH urinário e a diluição da urina, e a grande ênfase para a modificação da urina reside na composição mineral da dieta para felinos; dietas que, geralmente, são formuladas com um teor de cinza médio ou menor que 6.5% na matéria seca. Essas cinzas, na maior parte, vêm de fontes de proteína de origem animal como carne e ossos, as quais podem elevar o nível de cálcio, fósforo e magnésio, elementos predominantes na formação dos urólitos (ALDRICH, 2008).

Muito embora o impacto da composição da dieta, incluindo a umidade do alimento, a concentração de proteína e sua digestibilidade, a concentração de minerais (ex. Na, Cl, Ca, P e Mg), a inclusão de agentes acidificantes e alcalinizantes, concentração de certas fibras, uso de probióticos, entre outros, componentes resultantes de pesquisas vêm sendo usados na prevenção ou mesmo no controle da DTUIF em gatos, porém os resultados ainda são bem discutidos (KERR, 2013).

2.4 Uso de acidificantes na dieta e consumo de água de gatos

O uso de acidificantes, sejam orgânicos ou inorgânicos, na dieta dos animais, têm mostrado resultados positivos na ação contra bactérias patogênicas,

redução do pH do trato digestório , melhoradores de desempenho produtivo, assim como auxiliares nos processos metabólicos do equilíbrio ácido- base do animal (BERTONHA et al., 2006; SILVA, 2009).

Já, em indústrias para a alimentação de animais de companhia, o uso de diferentes tipos de acidificantes em suas formulações tem mostrado garantir um balanço cátion aniônico adequado, controlando doenças metabólicas ou mesmo mantendo a saúde do trato urinário nos gatos (ABINPET, 2012; JEREMIAS et al., 2013).

Modificações na composição da dieta e a ingestão voluntária de água podem ser feitas para controlar a homeostase fisiológica, sendo uma medida profilática dirigida à diminuição do soluto na urina, manipulação do pH e aumento do volume urinário para prevenir o aparecimento de urolitose (ALDRICH, 2008).

Segundo Skoch et al. (1991), é possível diminuir o pH da urina com a adição de agentes acidificantes como, por exemplo, o cloreto de amônio, cloreto de cálcio e a metionina na dieta, o que ajudaria a prevenir a formação de urólitos de estruvita em gatos.

Entre os aditivos mais comuns utilizados na alimentação para animais de companhia está o ácido fosfórico e o ácido cítrico, classificados como aditivos tecnológicos com poder regulador da acidez no alimento (FORTES; ROCHA, 2014; KOERICH; DAGOSTIM; SCUSSEL, 2014).

No entanto, embora o uso de acidificantes na indústria para alimentação de animais de estimação tenha sido usado nos últimos anos nas formulações como ingrediente para prevenir ou controlar doenças metabólicas, seu uso excessivo pode conduzir a distúrbios no organismo como a acidose metabólica, levando a estados de hipocalcemia, disfunção renal, transtornos ósseos entre outros (CHING et al., 1989; DOW et al., 1990).

Três experimentos foram conduzidos por Izquierdo e Czarnecki-maulden (1991) em gatos adultos com o objetivo de verificar o potencial de acidificação urinária com a inclusão de cinco níveis de ácido fosfórico (0%, 0,17%, 0,34%, 0,51%, e 0,68%), cloreto de amônia (0%, 0,55%, 1,10%, 1,65%, e 2,20%), cloreto de cálcio (0%, 0,57%, 1,14%, 1,71% e 2,28%) e ácido glutâmico-HCl (0%, 1,88%, 3,67%, 5,64%, 7,52%). Os autores encontraram que o nível adequado da inclusão dietética necessária para produzir um pH urinário de 6,4, escolhido como o desejável para impedir a formação de cristais de estruvita, foram os seguintes: 0,40% para cloreto de amônia, ácido fosfórico 0,17%, cloreto de cálcio 1,25% e ácido glutâmico 1,52%.

Funaba et al. (2001a) conduziram dois experimentos, objetivando avaliar o efeito da suplementação de DL-metionina e cloreto de amônia sobre a acidificação urinária e a solubilidade de cristais de estruvita fornecida em rações secas para gatos. Em um primeiro experimento, os gatos foram alimentados com uma dieta seca suplementada com três níveis de DL-metionina 0%, 1% e 3%. No segundo experimento, os gatos foram alimentados com a mesma ração seca, porém sem e com suplementação de cloreto de amônia (1,5%). O pH urinário dos gatos suplementados com 3% de DL-Metionina apresentou uma diminuição, comparado com o grupo controle. A mesma resposta apresentou-se com concentração dos sedimentos urinários, sugerindo aumento na solubilização dos cristais de estruvita. A suplementação com cloreto de amônia diminuiu, significativamente, o pH urinário e, além disso, a suplementação com o acidificante levou a um incremento da solubilização dos cristais de estruvita.

O experimento de Spears, Grieshop e Fahey (2003), objetivou avaliar a acidificação urinária, por meio da utilização de três níveis com a mesma inclusão 0,4%, 0,6% e 0,8%, dos aditivos ácido fosfórico e bissulfeto de sódio. Para a condução do experimento, foram utilizados 80 gatos sem raça definida e as amostras de urina foram coletadas nos sete dias de fornecimento da ração

suplementados com os respectivos aditivos em três períodos pós-prandial diferentes 0, 4 e 8 h. Os resultados do experimento não mostraram diferenças significativas no pH urinário dos gatos alimentados com os diferentes níveis dos acidificantes.

Os gatos suplementados com 0,6% de ácido fosfórico apresentaram uma urina alcalina nas 8 horas pós-prandial, quando comparados ao suplementados com 0,4% e 0,8%. O pH urinário foi maior às 4 h pós-prandial, exceto para os níveis de 0,4% e 0,6% de ácido fosfórico e bissulfeto de sódio respectivamente. Além disso, os autores detectaram às 8 h pós-prandial um comportamento quadrático no pH da urina dos gatos consumindo a dieta suplementada com ácido fosfórico.

Segundo Markwell et al. (1998), pesquisas estão sendo encaminhadas ao efeito da dieta e o uso de acidificantes sobre o pH urinário, mas também o efeito da dieta sobre o volume urinário e a gravidade específica da urina sendo o aumento no consumo de água uma medida preventiva nas DTIUF.

Embora gatos desérticos ou selvagens possam sobreviver em um ambiente com escassa água, obtendo suas reservas hídricas a partir do consumo de presas inteiras durante o dia, gatos domésticos, por serem animais que consomem, viade regra, alimentos secos, precisam compensar suas perdas hídricas com um consumo maior de água (GODFREY, 2014).

Uns dos fatores que fazem com que o gato beba água em diferentes proporções éo teor de umidade do alimento consumido.(CAMPS, 2014; GODFREY, 2014).

Em um experimento realizado porCarciofi e Lanzoni (2005), testando quatro tipos de rações com diferentes concentrações de água (ração enlatada, seca superpremium, seca econômica e seca econômica acrescida de 50% de água),observou-se que o consumo da ração enlatada proporcionoumaior ingestão total de água e maior excreção de urina. A quantidade de sal contida na dieta,

como o cloreto de sódio, também pode ter efeito na diurese, ativando o mecanismo da sede, promovendo o aumento na ingestão de água e aumentando a frequência de micção e volume urinário (MONFERDINI; OLIVEIRA, 2009). Esse mesmo efeito foi observado num trabalho conduzido por Luckschander et al. (2004), onde estudou-se o efeito do aumento de sódio em um alimento (1,02% frente a 0,46% em MS), por duas semanas, em 10 gatos jovens, observando-se incremento significativo no consumo de água, na osmolaridade da urina e diminuição na gravidade específica da urina em gatos, recebendo dietas com concentração maior de sal, quando comparados ao grupo controle. A disponibilidade de bebedouros e o acesso à água limpa e fresca, também são fatores importantes na ingestão de água pelos gatos, tornando-se um método fácil e prático na diluição dos urólitos na urina e na excreção dos mesmos (PIBOT et al., 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e instalações

O estudo foi conduzido no Centro de Estudos de Nutrição de Animais de Companhia (CENAC), no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, sul de Minas Gerais, entre os dias de 29 de agosto a 17 de outubro de 2014.

Para o alojamento dos gatos, foram utilizadas gaiolas metabólicas com dimensão de 60x70x50 cm (altura x profundidade x largura), constituídas de arame galvanizado e chapas metálicas, além de bandejas coletoras para as fezes e recipientes adaptados para a colheita de urina. As gaiolas possuíam bebedouros tipo chupeta, acoplados às garrafas plásticas, fixados na parte posterior de cada uma e sendo fornecido o alimento em potes plásticos.

3.2 Animais utilizados e tratamentos experimentais

Foram utilizados 10 gatos adultos, sem raça definida, com idade média de 3,5 anos e peso de $3,82 \pm 0,78$ kg, machos e fêmeas, pertencentes à comunidade permanente do CENAC. Os animais passaram por avaliação médico-veterinária ao início e ao final da fase experimental, apresentando bom estado de saúde.

Foram avaliadas duas dietas secas comerciais com excesso de base conhecida, as quais foram acrescidas com o acidificante comercial Acid Balance® nas quantidades calculadas em base na matéria seca (g/kg MS) para atingir 0mEq/kg, -25 mEq/kg, -50 mEq/kg, -75 mEq/kg e -100 mEq/kg, sendo, no total, cinco tratamentos para cada alimento, seguindo um esquema de fatorial 5×2 .

O EB do acidificante e de cada uma das rações, foi calculado com base nos resultados de análise de macroelementos (g/kg de MS) pela seguinte fórmula:

$$\text{EB (mEq/kg)} = (49,9 \times \text{Ca}) + (82,3 \times \text{Mg}) + (43,5 \times \text{Na}) + (25,6 \times \text{K}) - (64,6 \times \text{P}) - (62,4 \times \text{S}) - (28,2 \times \text{Cl})$$

Para conhecer a composição mineral de cada alimento (macrominerais) e antes da execução do experimento, aproximadamente 100 gramas de cada alimento foram moídas em moinho de martelo do tipo Thomas-Wiley, peneiradas, utilizando-se peneira de 1 mm e enviadas ao Laboratório de Química Analítica do Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, campus Jaboticabal, onde foram realizadas as determinações dos macroelementos cálcio, sódio, potássio, magnésio, fósforo, cloro e enxofre. A análise da composição dos macroelementos e o EB dos alimentos encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 Porcentagem de matéria seca, EBmEq/kg e composição mineral das duas rações comerciais empregadas no ensaio experimental para avaliação do equilíbrio acidobásico de gatos

Alimentos	% MS	EBmEq/kg	Ca	Mg	Na	K	P	S	Cl
A	90,66	17,42	16,21	1,76	7,28	8,27	17,65	2,76	5,40
B	93,82	508,79	24,09	1,49	7,03	10,02	15,35	2,88	7,25

Os alimentos A e B utilizados no presente ensaio foram rações comerciais e sua composição básica, bem como seus níveis de garantia, segundo o fabricante, estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 Níveis de garantia das rações experimentais segundo o fabricante alimento em base na matéria natural (MN)

Alimentos	Níveis de Garantia ¹ (Informação do Rotulo MN %)						
	U (%)	PB (%)	EE (%)	MF (%)	MM (%)	Ca (%)	P (%)
A ²	12	30	10	4	10	2,4	0,7
B ³	12	30	10	4	10	2,4	0,8

¹ U = umidade (máx.); PB = proteína bruta (mín.), EE = extrato etéreo (mín.), MF = matéria fibrosa (máx.), MM = matéria mineral (máx.), Ca = cálcio (máx.), P = fósforo (mín.).

² Composição básica : Arroz quebrado, farinha de vísceras de frango farelo de glúten de milho, milho integral moído, farelo de soja, carne mecanicamente separada de frango, farinha de peixe, gordura de frango, carne de ovelha em pó, hidrolisado de frango e ou subprodutos, levedura seca de cervejaria, semente de linhaça, beterraba desidratada, espinafre desidratado, cenoura desidratada, fosfato bi cálcico, DL-metionina, ácido fosfórico, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de colina, óleo de girassol, óleo de oliva, extrato de *yuccaschidigera*, corante artificial vermelho 40, corante artificial verde 3, aditivo antioxidante (BHA, BHT), premix mineral e vitamínico.

³ Composição básica: Arroz quebrado, farelo de glúten de milho, milho integral moído, farelo de soja, farinha de víscera de frango, gordura de frango, farinha de peixe salmão, levedura seca de cervejaria, hidrolisado de frango e ou subprodutos, espinafre desidratado, cenoura desidratada, semente de linhaça, fosfato bi cálcico, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de colina, DL-metionina, ácido fosfórico, extrato de *yuccaschidigera*, aroma artificial de carne, aroma anchovas, corante artificial amarelo crepúsculo, corante artificial verde 3, corante artificial vermelho 40, corante natural caramelo, dióxido de titânio, aditivo antioxidante (BHA-BHT), premix mineral e vitamínico.

O acidificante utilizado é uma formula comercial. A composição básica, segundo o fabricante, contém ácido fosfórico (450g/kg), dióxido de silício, água, ácido cítrico e aroma de cítricos.

A análise da composição mineral do produto foi realizada no Instituto Mineiro de Agricultura, na cidade de Contagem, MG, e está descrita na Tabela 5.

Tabela 5 Composição mineral e excesso de base (EB) do acidificante (Acid Balance®) na matéria seca (MS), acrescentado em cada uma das rações experimentais de gatos

	EB	Ca	Mg	Na	K	P	S	Cl
	mEq/kg	g/kg MS						
Acidificante Comercial	-11232	3,43	2,14	2,58	-	175,56	5,59	0,01

A quantidade de alimento fornecida para cada animal foi determinada de acordo com as necessidades energéticas diárias de manutenção, em kcal/dia, conforme o estabelecido pelo National Research Council- NRC (2006) para gatos adultos em manutenção, utilizando a fórmula $100 \times \text{Peso Vivo}^{0,67}$. Água e alimento foram fornecidos uma vez ao dia e permaneceram à disposição dos animais durante todo o dia. A quantidade de inclusão de acidificante para cada tratamento foi calculada, levando-se em consideração os mEq/Kg de MS do nível adicionado e o EB do aditivo, sendo adicionado diretamente no alimento e homogeneizado em uma misturadora. Essa identificação foi feita usando a seguinte fórmula (JEREMIAS et al., 2013):

$$\text{Adição do acidificante (g/kg)} = \frac{1000 \times \text{mEq/kg do nível adicionado}}{\text{EB do aditivo (mEq/kg)}}$$

3.3 Procedimento experimental

O período experimental foi de 50 dias, onde cada tempo foi constituído por 10 dias (7 dias de adaptação e 3 dias para a coleta de amostras).

Os parâmetros avaliados foram: consumo de alimento, mensuração de pH urinário, densidade urinária, volume urinário, consumo de água, escore fecal,

coeficiente de digestibilidade da matéria seca e mensuração do equilíbrio ácido - base do animal, por meio de gasometria venosa.

3.3.1 Consumo de alimento

A quantidade total de alimento para cada um dos tratamentos foi oferecida uma vez ao dia, mantendo-a disponível durante o período de 24 horas. As sobras foram coletadas, pesadas e armazenadas em freezer (-20°C), e, posteriormente, descongeladas e homogeneizadas para a determinação da matéria seca, conforme as recomendações da ABINPET (2012).

3.3.2 Determinação de pH, densidade e volume urinário *in vivo*

As determinações de pH, densidade e volume urinário foram realizadas durante os últimos três dias de cada tempo experimental. As gaiolas foram lavadas, diariamente, e enxaguadas com água destilada e, posteriormente, secas com papel toalha para evitar qualquer tipo de contaminação da urina.

Para a coleta de urina, garrafas pet com funis foram adaptadas às bandejas coletoras e imersas em gelo, suspensas em caixas de isopor nas gaiolas metabólicas, permanecendo refrigeradas por 24 horas. O pH urinário foi mensurado por meio do peagâmetro digital de bancada da marca Digimed modelo DM-22 e a densidade urinária determinada por refratômetro portátil, marca Instrutherm, modelo RTP – 20ATC. Ambas as determinações foram feitas após as amostras atingirem equilíbrio com a temperatura ambiente. Para a mensuração do volume urinário foi utilizada uma proveta de vidro.

3.3.3 Consumo de água

Os bebedouros de tipo chupeta foram acoplados a garrafas *pet* com 300 ml de água a cada 24 horas e o volume restante foi mensurado.

3.3.4 Escore fecal e digestibilidade da matéria seca

Foi avaliada a qualidade das fezes dos animais empregando-se o sistema de escore fecal (CARCIOFI et al., 2008) com notas de 0 a 5, sendo: 0 para fezes líquidas; 1 fezes pastosas e sem forma; 2 para fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 para fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 para fezes bem formadas e consistentes, que não marcam o piso; 5 para aquelas também bem formadas, mas duras e secas. Consideram-se normais os valores entre 3 e 4.

As fezes foram coletadas pelo método de coleta direta, em sacos plásticos devidamente identificados, pesados e congelados em freezer a -20°C. Ao término do período experimental as fezes foram descongeladas à temperatura ambiente, homogeneizadas, colocadas em bandejas de alumínio, pesadas em balança analítica e colocadas em estufa de ventilação forçada a 65°C por um período de 72 horas. Depois de retiradas da estufa e atingindo o equilíbrio com a temperatura ambiente, foram pesadas, moídas em moinho de Thomas-Wiley, utilizando-se peneirade 1,0 mm e colocada em frascos plásticos, para a determinação de matéria seca. A análise foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras.

Os coeficientes de digestibilidade aparente da MS (CDAMS) dos tratamentos experimentais e dos alimentos utilizaram os cálculos, segundo a ABINPET (2012):

Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS)

$$\text{CDAMS (\%)} = [(a-b)/a] \times 100$$

Em que:

a = consumo de alimento na matéria seca

b = fezes excretadas na matéria seca

3.3.5 Determinação do equilíbrio ácido – base dos animais

Os animais foram submetidos a coletas de sangue no último dia de cada período experimental, a fim de se determinar o equilíbrio ácido – básico (dia 10), mensurado por gasometria de sangue venoso quatro horas após o fornecimento das dietas.

As amostras de sangue foram colhidas por médicos veterinários residentes do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Lavras, com contenção manual do animal por duas pessoas habilitadas.

Foram retirados 3 ml de sangue de cada animal, sendo 2 ml destinados para a mensuração das concentrações de cloro, sódio e potássio, e 1 ml para a análise da hemogasometria. As amostras foram acondicionadas sob refrigeração em isopor com água-gelo e enviadas ao Laboratório Santa Cecília, situado na cidade de Lavras, MG. Através da gasometria, determinou-se o pH sanguíneo, pressão parcial de dióxido de carbono ($p\text{CO}_2$), pressão parcial de oxigênio ($p\text{O}_2$), concentração de bicarbonato ($[\text{HCO}_3^-]$), dióxido de carbono total (CO_2T), e excesso de base (EB).

3.4 Análise estatística

Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 5 (2 rações e 5 níveis de acidificante). O estudo foi conduzido em

cinco períodos consecutivos (blocos) com dez tratamentos cada um, tendo duração de 10 dias, sendo sete para adaptação dos animais às gaiolas e às dietas experimentais e três para a coleta total de amostras. Cada animal foi considerado uma parcela experimental. Os dados obtidos foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk para análise da normalidade dos dados. Foi utilizada a opção da raiz quadrada para atingir a normalidade nos dados não paramétricos. Para as variáveis que não alcançaram a normalidade, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Os dados foram submetidos à ANOVA e análise de regressão para os níveis de acidificante, usando o pacote estatístico Action 2.7.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Quantidade de acidificante a ser incluído e EB das rações para cada tratamento

A quantidade de acidificante calculada em g/kg, com base na equação descrita anteriormente em cada um dos tratamentos, assim como o EB final com a inclusão do aditivo em mEq/kg, para cada uma das rações ,encontram-se descritos na Tabela 6.

Tabela 6 Quantidade de inclusão de acidificante (Acid Balance®) calculado baseado nos mEq/kg, para cada tratamento em cada uma das rações experimentais

Tratamentos (mEq/kg)	g/kg	%	Ração A	Ração B
			EB (mEq/kg)	
0	0	0	17,4	508,8
-25	2,23	0,22	-7,6	483,8
-50	4,45	0,45	-32,6	458,8
-75	6,68	0,67	-57,6	433,8
-100	8,9	0,89	-82,6	408,8

Pode-se observar que as duas rações tiveram EB muito diferentes sem adição do aditivo; a ração A teve um EB de 17,4 mEq/kg; muito embora sendo uma ração com excesso de base positivo, comparada com a ração B (508,8 mEq/kg) se aproxima mais ao nível zero de neutralidade fisiológico (0 mEq /kg de MS ,média de urina pH < 7). Já, os EB para cada ração com a inclusão dos diferentes níveis de acidificante variaram entre -82,6 mEq/kg e 483,8 mEq/kg.

No estudo conduzido por Kienzle e Schuhknecht (1993 citados por WAGNER; KEUSCH; IBEN, 2006) os EB variaram entre -163,0 e 598,6

mEq/kg de MS, encontrando uma correlação altamente significativa entre o EB do alimento e o pH médio urinário.

A equação do excesso de base proposta nos estudos conduzidos por Kienzle e Schuknecht (1993), Kienzle, Schuknecht e Meyer (1991) e Kienzle e Wilms-Eilers (1994), onde propõem avaliar os componentes alcalinizantes (+) e componentes acidificantes (-) em mEq /kg de MS do alimento, demonstraram que, em condições práticas, o efeito de uma dieta sobre o pH da urina pode ser estimada a partir do excesso de base do alimento.

4.2 Consumo de água, volume de urina, coeficiente de digestibilidade da matéria seca e escore fecal

Na Tabela 7, estão descritos os resultados de consumo diário de alimento (CDA), consumo de água, volume de urina, coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS) e escore fecal.

Tabela 7 Consumo diário de alimento (CDA), com base na matéria seca, consumo de água, volume de urina, coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS) e escore fecal de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®)

Variável	Rações		Níveis de acidificante (mEq/Kg)					CV
	A	B	0	-25	-50	-75	-100	
CDA* (gr/dia)	74,01	77,7	72,98	74,57	79,98	78,17	73,72	9,42
Consumo água (mL/dia)	143,55	155,51	154,39	160,12	144,49	148,01	141,15	12,39
Volume de urina (mL)	50,78	45,81	42,75	50,65	48,90	50,15	49,05	33,12
CDAMS (%)	80,19 ^a	77,31 ^b	78,25	80,57	77,64	78,93	78,35	5,95
Escore fecal [#]	3,56	3,40	3,40	3,70	3,10	3,60	3,60	

*Interação significativa ($p < 0,05$), entre a ração A e os níveis de acidificante (tabela 9).

[#] Não significativo ao teste de Kruskal-Wallis, 5%

Não houve interação ($P < 0,05$) entre os tratamentos para consumo de água, volume de urina, e escore fecal. O CDAMS foi maior ($P < 0,05$) na ração A (80,19%) que na ração B (77,31%). Os valores para o CDAMS das duas rações empregadas para o experimento estiveram dentro dos valores encontrados por Numajiri (2006), variando de 64,83% a 81,56%, o autor relata que a digestibilidade é a fração de alimento que não é excretado nas fezes e que é absorvido na mucosa intestinal, sendo que alimentos altamente digestíveis são aproveitados pelo intestino, produzindo uma melhor pontuação de escore fecal (fezes mais sólidas e bem formadas) o qual pode estar relacionado à utilização de ingredientes de qualidade.

Segundo Maia (2008), dietas contendo ingredientes de melhor qualidade obtêm, geralmente, coeficientes de digestibilidade maiores que aquelas que têm ingredientes inferiores, pela sua facilidade de fracionamento no organismo, facilitando a absorção dos nutrientes, igual ao o uso de ingredientes que reduzam a passagem do bolo alimentar pelo trato gastrointestinal. As rações usadas, neste experimento, sendo muito parecidas na sua composição básica de ingredientes (declarados no rótulo pelo fabricante) diferem na sua composição mineral, quando feitas análises laboratoriais, sendo a ração B a que teve maior nível de cálcio (24,09 g/kg MS), quando comparada com a ração A (16,21 g/kg MS); fato que poderia influenciar na digestibilidade do alimento.

Em um estudo realizado por Carciofi (2008), avaliando diferentes fontes de proteínas e carboidratos para cães e gatos, observou-se que proteínas de origem animal apresentam maior variação na composição química, qualidade e digestibilidade que as de origem vegetal, em razão de variações na matéria-prima e os efeitos no processamento. Nesse estudo, as farinhas de origem animal, principalmente as farinhas de carne e osso e a farinha de peixe apresentaram as menores digestibilidades de MS, podendo estar relacionadas com o excesso de matéria mineral desses ingredientes.

4.3 Consumo diário de alimento

Todos os gatos consumiram as duas rações com a inclusão do acidificante de forma satisfatória e foi possível sua avaliação, nenhum animal teve episódios de vômito ou diarreia durante a fase experimental.

Observou-se interação ($P < 0,05$) no consumo de alimento diário (Tabela 8). Na ração A os níveis de acidificante mostraram um comportamento que variou de forma quadrática, mostrando que, a partir do nível de $-51,6$ mEq/kg de acidificante o CDA diminuiu ($y = -0,0032x^2 + 0,3305x + 69,51$, $R^2 = 0,82$) (Figura 1).

Um comportamento similar foi observado no trabalho conduzido por Ogoshi et al. (2014), onde foi observada diminuição do consumo médio diário de matéria seca em gatos adultos com a inclusão de 0,6% de ácido fosfórico no alimento, quando administrado de forma insolada, discordando com os resultados observados por Spears, Grieshop e Fahey (2003) onde o consumo de alimento foi maior em gatos, consumindo 0,8% de inclusão com ácido fosfórico, quando comparados aos gatos consumindo 0,4% e 0,6% da dieta com o mesmo acidificante.

Tabela 8 Consumo diário de alimento com base na matéria seca (g/dia) em gatos adultos recebendo duas rações experimentais com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®)

Ração	Níveis de acidificante (mEq/kg)				
	0	-25	-50	-75	-100
A ^{Q2}	69,32	75,58	80,19	73,74	71,52
B ^{NS}	75,65	73,57	79,77	82,61	75,91

^{Q2}Regressão quadrática: $y = -0,0032x^2 + 0,3305x + 69,51$ ($R^2 = 0,82$)

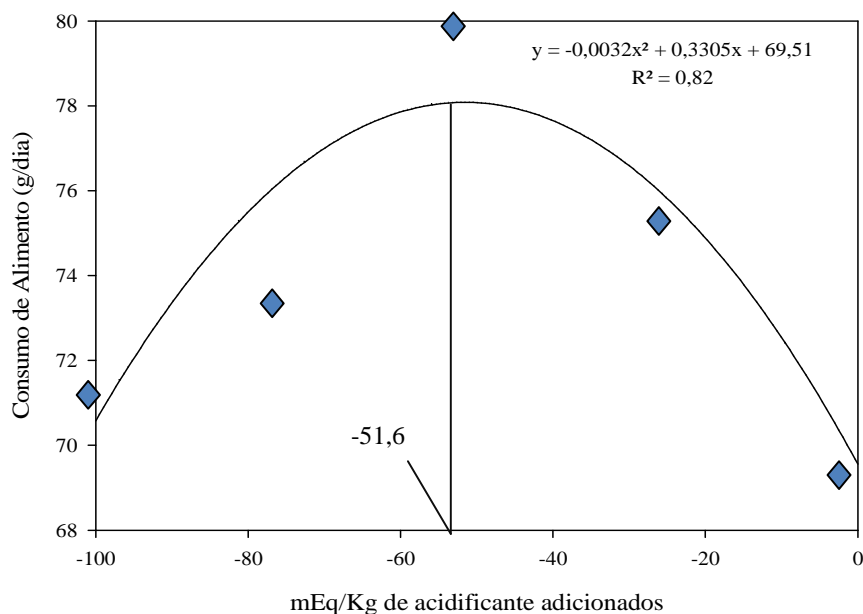


Figura 1 Regressão quadrática entre os níveis de acidificante e o consumo de alimento diário na ração A

Ogoshi et al. (2014) e Spears, Grieshop e Fahey (2003) relatam que essa variação na resposta do consumo alimento no animal pode estar relacionada ao método usado no momento da adição do acidificante na dieta. O ácido fosfórico é o acidificante comercial mais usado na indústria de alimentos para animais de companhia (ALDRICH, 2008; CRANE; COWELL; STOUT, 2010; KOERICH; DAGOSTIM; SCUSSEL, 2014), geralmente, sua inclusão é feita antes da extrusão e seu sabor intenso e diminuído pela ação térmica do processo.

Nesse caso, a adição do acidificante Acid Balance® foi feita sobre as rações já extrusadas e prontas para o consumo o que pode ter influenciado no consumo do alimento. Gatos são animais muito sensíveis aos sabores e odores, fatores muito importantes na palatabilidade do alimento (HORWITZ; SOULARD; CASTAGNA, 2009).

Boudreaue et al. (1985 citados por ZAGHINI; BIAGI, 2005), identificaram três grupos de unidades receptoras na língua, capazes de responder ao sabor, o segundo grupo é o que contém o maior número de receptores para os ácidos estimulados, na sua maioria, pelo ácido fosfórico e carboxílico, entre outros, embora o sabor ácido seja preferido e tolerado pelos gatos. Uma sobre-estimulação das papilas gustativas pode ter influenciado na diminuição no consumo do alimento.

4.4 pH e densidade urinária

Na Tabela 9, são apresentados os resultados para os valores médios de pH e densidade urinária.

Observou-se interação ($P < 0,05$) entre os tratamentos para o pH urinário (Tabela 10). Na ração A, os níveis de acidificante tiveram efeito sobre o pH urinário, aumentando de forma quadrática, mostrando que, a partir do nível de -38,2 mEq/kg ($y = -0,00014x^2 + 0,0107x + 7,0583$, $R^2 = 0,87$), o acidificante influenciou na diminuição do pH urinário (Figura 2).

Tabela 9 Valores médios do pH e densidade urinária de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®)

Variável	Rações		Níveis de acidificante (mEq/Kg)					CV
	A	B	0	-25	-50	-75	-100	
pH da urina*	7,06	8,29	7,85	7,73	7,73	7,60	7,47	4,79
Densidade urinária	1029,2	1030,7	1031,2	1030,3	1031,4	1028,5	1028,5	0,74

*Interação significativa ($p < 0,05$), entre a ração A e os níveis de acidificante (Tabela 10)

Tabela 10 pH urinário de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis do acidificante (Acid Balance®)

Ração	Níveis de acidificante (mEq/kg)				
	0	-25	-50	-75	-100
A ^{Q2}	7,05	7,22	7,34	6,95	6,76
B ^{NS}	8,65	8,23	8,13	8,25	8,18

^{Q2} Regressão quadrática: $y = -0,00014x^2 + 0,0107x + 7,0583$ ($R^2 = 0,87$)

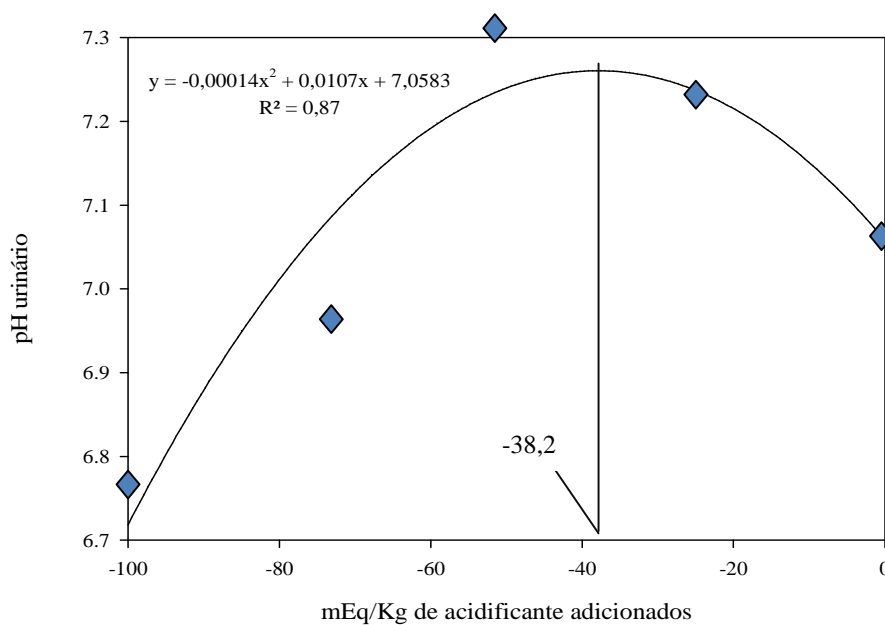


Figura 2 Regressão quadrática entre os níveis de acidificante e o pH urinário na ração A

A adição de -50, -75 e -100 mEq/kg de Acid Balance®, resulto em um EB da ração A de -32,57 mEq/kg, -57,57 mEq/kg e -82,57 mEq/kg

,respectivamente. Segundo Allen e Kruger (2000), para evitar a formação de urólitos de estruvita, o ideal é manter um pH urinário na faixa de 6,2 a 6,8. Pode-se observar que na ração A, com a inclusão a partir de -38,2 mEq/kg de acidificante, o pH urinário começa a diminuir, podendo chegar até a faixa do pH recomendada (6,76), para evitar a formação dos urólitos no trato urinário. Essa faixa de pH urinário ideal foi também observada no estudo conduzido por Spears, Grieshop e Fahey (2003), embora não tenham encontrado diferenças significativas entre as dietas, o pH urinário manteve o valor de 6,0 e 6,6 com a inclusão de 0,4%, 0,6% e 0,8% de ácido fosfórico.

No estudo de Izquierdo e Czarnecki-Maulden (1991), com resultados inesperados, o nível de inclusão para acidificar o pH urinário foi de 0,17% de ácido fosfórico, obtendo um pH de 6,4 comparados com os demais tratamentos (0%, 0,34%, 0,51%, 0,68%). Provavelmente, a variação dos resultados foi decorrente de que, nesses estudos, não foram considerados o excesso de base das dietas.

As equações de regressão, a partir dos resultados apresentados por Kienzle e Wilms-Eilers (1994), mostraram que um pH urinário de 7,4 pode ser esperado em uma dieta com EB de 300 mEq/kg de MS, sendo um ponto de referência de neutralidade do EB no organismo, e que aqueles valores que sejam próximos a zero tenham um efeito acidificante forte no organismo (média de pH urinário <7), recomendando, assim, para o cálculo do EB na dieta, diminuir ou eliminar aqueles componentes alcalinizantes (cátions), levando-os, pelo menos, até seu requerimento mínimo e só depois realizar a inclusão do acidificante quando for necessário.

Esse caso, a ração A apresenta um EB de 17,42 mEq/kg de MS valor que, comparado com o EB da ração B (508,79 mEq/kg de MS), encontra-se mais perto a zero e, possivelmente, faça com que a inclusão do acidificante nos níveis

a partir de -50,-75 e -100 mEq/kg tenham uma influência sobre o pH urinário, tornando-o mais ácido.

Os níveis de componentes alcalinizantes, principalmente o cálcio, encontrados em cada uma das rações, foi determinante na grande diferença do EB entre si. No estudo realizado por Jeremias et al. (2013), observou-se que alimentos do segmento econômico que contêm maior teor de cinzas na sua composição, o EB, geralmente, é muito positivo, gerando um pH urinário alcalino elevado; efeito que foi observado, neste estudo, para a ração B. Os mesmos autores recomendam que, para evitar a formação dos urólitos de estruvita, o excesso de base nas dietas para gatos deve estar entre -20 a 40 mEq/kg de MS.

Não foi observada interação ($P < 0,05$), nem nenhum efeito do acidificante ou da ração sobre a densidade urinária, tendo efeitos similares o estudo conduzido por Pires, C. et al. (2011) onde os diferentes níveis de inclusão de acidificante (0%, 0,3%, 0,6%, 0,9%) não tiveram efeito significativo da dieta sobre esse parâmetro.

Segundo Chew e Dibartola (1998), a densidade urinária estima a concentração de solutos presentes na urina, sua mensuração pode indicar a função renal e indicar, indiretamente, o volume urinário. Espera-se que animais que produzam grandes volumes de urina tenham baixa densidade, comparados com aqueles que produzem pouco volume de urina, esperando ter alta densidade. Estudos feitos por esses autores demonstraram que valores de densidade urinária, para gatos na faixa de 1.001 a 1.080, podem ser considerados normais, dependendo das circunstâncias individuais do animal e que devem ser interpretadas em cada situação, como, por exemplo, o efeito da dieta. Os gatos alimentados com rações secas apresentam valores maiores de densidade urinária (1,030) comparados com gatos alimentados só com ração enlatada, apresentando densidades urinárias mais baixas (1,025).

Embora a densidade urinária não tenha sido um parâmetro significativo estatisticamente, os valores observados estiveram em uma média de 1,030, podendo indicar uma boa diluição dos solutos na urina e manutenção do grau de hidratação nos animais.

4.5 Equilíbrio ácido básico

Na Tabela 11, são apresentados os resultados para pH sanguíneo, pressão parcial de dióxido de carbono ($p\text{CO}_2$), concentração de bicarbonato ($[\text{HCO}_3^-]$), dióxido de carbono total (CO_2T), e excesso de base (EB). Não houve interação ($P < 0,05$) das variáveis analisadas.

Tabela 11 Médias de pH sanguíneo, pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂), concentração de bicarbonato ([HCO₃⁻]), dióxido de carbono total (CO₂T) e excesso de base (EB) de sangue venoso de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®)

Variável	Rações		Níveis de acidificante (mEq/Kg)					CV
	A	B	0	-25	-50	-75	-100	
pH	7,30 ^a	7,32 ^b	7,32	7,29	7,30	7,31	7,33	6,04
pCO₂	43,88	44,54	43,10	46,30	46,00	44,30	42,35	12,53
HCO₃	21,00 ^a	22,62 ^b	22,20	21,70	21,70	21,80	21,65	10,27
CO₂T	21,76 ^a	23,99 ^b	23,40	21,80	23,00	23,20	22,97	14,01
EB[#]	-3,84	-2,91	-3,30	-1,70	-4,50	-3,80	-3,55	42,12

Letra minúscula na linha difere significativamente ao teste F, 5%

[#] Não significativo ao teste de Kruskal-Wallis, 5%

Todos os valores médios no exame de gasometria de sangue venoso se encontraram dentro dos valores de referência normais para gatos (SANTÉ, 2012), o que pode indicar que os animais se encontraram sob equilíbrio ácido – básico e que os diferentes níveis de inclusão do acidificante Acid Balance® não levou a nenhum tipo de desequilíbrio nos animais como acidose ou alcalose metabólica. Durante o ensaio realizado por Izquierdo e Czarnecki-Maulden (1991), foram observados sinais de acidose metabólica com efeito linear na diminuição do pH sanguíneo nos gatos, consumindo cloreto de amônio, cloreto de cálcio e ácido glutâmico, mas não nos gatos consumindo os diferentes níveis de ácido fosfórico.

Por outra parte, foram observados efeitos significativos da ração sobre pH sanguíneo, $[\text{HCO}_3^-]$ e CO_2T , mostrando menores concentrações desses gases no sangue dos gatos que foram alimentados com a ração A. Uma correlação foi observada no trabalho feito por Jeremias (2009) entre o EB do alimento e o pH sanguíneo de gatos e o EB do alimento e o HCO_3^- o que não foi observado no estudo conduzido por Kienzle e Wilms-Eilers (1994) onde valores de pH baixo de sangue só ocorreu em grupos de dieta com EB negativo.

O fato da ração A apresentar um equilíbrio ácido- básico menos catiônico (17,42 mEq/kg) que a ração B (508,79 mEq/kg), faz com que o mecanismo de ação de compensação no organismo aja e gere redução nas concentrações de pH, HCO_3^- e CO_2T ; o bicarbonato junto com o dióxido de carbono funcionam como a primeira linha de defesa, convertendo-se no sistema tampão, no compartimento extracelular (SANTÉ, 2012), a liberação dos íons hidrogênio, pela dissociação na presença de ácidos em excesso, reduzem o pH no sangue e o bicarbonato do sistema tampão é consumido e sua quantidade diminui, em compensação, o pH baixo estimula o centro respiratório que aumenta a frequência respiratória, produzindo a taquipnéia compensatória, reduzindo a pCO_2 (ETGES, 2005).

Na Tabela 12, são apresentados os resultados para os íons sódio, cloreto e potássio sérico de gatos, verificando-se que não houve diferença ($P < 0,05$) para as variáveis analisadas.

Tabela 12 Médias dos valores mensurados dos eletrólitos sódio, cloreto e potássio sérico de gatos alimentados com duas rações com diferentes balanços cátion-aniônicos acrescidas com cinco níveis de acidificante (Acid Balance®)

Eletrólitos (mEq/L)	Rações		Níveis de acidificante (mEq/kg)					CV
	A	B	0	-25	-50	-75	-100	
Sódio	151,32	152,24	151,70	152,40	151,60	151,80	151,40	1,94
Cloreto	119,21	121,96	119,10	119,70	122,80	118,90	122,45	5,11
Potássio	5,34	5,38	5,38	5,54	5,29	5,54	5,08	9,11

As concentrações de Na^+ , Cl^- e K^+ , foram verificadas ao longo do estudo e se encontraram dentro dos parâmetros normais esperados (Na^+ : 145 a 157 mEq/L; Cl^- : 115 a 130 mEq/L e K^+ : 3,6 a 5,5 mEq/L).

O sódio participa na regulação da pressão osmótica e de seu volume no fluido extracelular sendo determinado pelo balanço hídrico, o potássio é encontrado, na sua maior parte, no fluido intracelular e é responsável por agir no potencial de membrana, já, o cloro participa, principalmente, na manutenção do equilíbrio osmótico do plasma e, também, é de grande utilidade na avaliação de distúrbios ácido-básicos (SANTÉ, 2012).

Alterações no nível de sódio (hiponatremia) e cloro (hipocloremia) foram observados no estudo realizado por Pires, C. et al. (2011), onde os animais apresentaram concentração plasmática baixa, fora do intervalo normal, em todos os tratamentos, antes e depois da alimentação dos gatos com a inclusão de ácido fosfórico (0%, 0,3%, 0,6%, 0,9%), mas não foi avaliada uma possível causa, já que, segundo os autores, não foi avaliada a osmolalidade sanguínea, ou encontrada uma explicação fisiológica para esse fato.

A inclusão dos diferentes níveis de acidificante nas duas dietas experimentais, neste estudo, não favoreceu ou influenciou o aparecimento de distúrbios ácido-base nos animais como acidose metabólica, alcalose respiratória nem episódios de vômito, diarreia ou perdas hídricas.

5 CONCLUSÕES

A inclusão do acidificante à base de ácido fosfórico, em dietas para gatos, não alterou o equilíbrio ácido-base dos animais, o volume e densidade urinária e o escore fecal, porém, reduz o pH urinário, somente quando utilizado em dietas com EB reduzido ou próximos a zero tornando-o ácido e não sendo eficaz em dietas com EB elevado ou muito positivo.

REFERÊNCIAS

- ALDRICH, G. Formulate feline diet for urinary tract health. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 80, n. 53, p. 10-11, 2008.
- ALLEN, T. A.; KRUGER, J. M. Enfermedad felina de las vias urinarias. In: HAND, M. S. (Ed.). **Nutrición clínica en pequeños animales**. 4th ed. Bogotá: Panamericana, 2000. p. 811-845.
- ALMOSNY, N. Equilíbrio ácido básico em medicina veterinária. SIMÓCIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIAO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, UFRGS, 2003. p. 5-16.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Manual pet food Brasil**. 8. ed. São Paulo, 2012. 34 p.
- BARTGES, J. W. et al. Prevalence of cystine and urate uroliths in bulldogs and urate uroliths in dalmatians. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 204, n. 12, p. 1914-1918, 2000.
- BARTGES, J. W.; KIRK, C. A. Nutrition and lower urinary tract disease in cats. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 36, n. 6, p. 1361-76, Nov. 2006.
- BERTONHA, L. et al. Balanço cátion-aniônico da dieta na composição do leite. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1589-1593, set./out. 2006.
- BUFFINGTON, C. A.; CHEW, D. J. Intermittent alkaline urine in a cat fed an acidifying diet. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 209, n. 1, p. 103-104, 1996.
- CAMPS, J. **Magnésio, acidez orina y consumo de agua, en relación con el complejo urinario del gato**. Disponível em: <http://ddd.uab.cat/pub/jcamps/jcampsactpro/jcampsactpro_116.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2014.
- CARCIOFI, A. C. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, p. 28-41, 2008. Número especial.

CARCIOFI, A. C. Métodos para estudo das respostas metabólicas de cães e gatos a diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, p. 235-249, jul. 2007. Suplemento.

CARCIOFI, A. C. et al. Composição nutricional e avaliação de rótulo de rações secas para cães comercializadas em Jaboticabal-SP. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 421-426, 2006.

CARCIOFI, A. C.; LANZONI, L. R. Influence of water content and the digestibility of pet foods on the water balance of cats. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 429-434, 2005.

CASE, L. P. et al. Dietary management of urolithiasis in cats and dogs. In: _____. **Canine and feline nutrition: a resource for companion animal professionals**. 3rd ed. New York: Elsevier, 2011. p. 359-380.

CAVALIERI, F. L.; SANTOS, G. T. dos. **Balanco catiônico- aniônico em vacas leiteras no pré-parto**. Disponível em: <http://fortmix.com.br/uploads/manual/25_cb3bab47a5f8a204a89daff079fa0d0b.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2014.

CHEW, D. J.; DIBARTOLA, S. P. **Interpretación del urianálisis canino y felino**. Wilmington: The Gloyd, 1998. 85 p.

CHING, S. V. et al. The effect of chronic dietary acidification using ammonium chloride on acid-base and mineral metabolism in the adult cat. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 119, n. 6, p. 902-15, June 1989.

CRANE, S. W.; COWELL, C. S.; STOUT, N. P. Commercial pet foods. In: HAND, M. et al. (Ed.). **Small animal clinical nutrition**. 5th ed. Kansas: Mark Morris Institute, 2010. p. 157-190.

DIBARTOLA, S. P. **Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice**. 4th ed. Saint Louis: Elsevier Saunders, 2012. 1520 p.

DOW, S. W. et al. Dietary acidification and potassium depletion on acid-base balance, mineral metabolism and renal function in adult cats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 120, n. 6, p. 569-578, June 1990.

ESCOLAR, E.; BELLANATO, J. Analysis of feline urinary calculi and urethral plugs by infrared spectroscopy and scanning electron microscopy. **The Veterinary Record**, London, v. 152, n. 20, p. 625-628, May 2003.

ETGES, R. N. Terapêutica das alterações do equilíbrio ácido-básico. In: SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DO SUL, 2005, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre: UFRGS, 2005. p. 9.

FORRESTER, S.; ROUDEBUSH, P. Evidence-based management of feline lower urinary tract disease. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 37, n. 3, p. 533-558, May 2007.

FORTES, C. M. L. S.; ROCHA, C. M. J. da. Aditivos em alimentos para animais de estimação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO, 24., 2014, Vitória. **Anais...** Vitória: UFES, 2014. 1 CD-ROM.

FUNABA, M. et al. Effect of supplementation of dry cat food with D,L-methionine and ammonium chloride on struvite activity product and sediment in urine. **The Journal of Veterinary Medical Science**, Sapporo, v. 63, n. 3, p. 337-339, Mar. 2001a.

FUNABA, M. et al. Fish meal vs. corn gluten meal as a protein source for dry cat food. **Journal of Veterinary Medical Science**, Sapporo, v. 63, n. 12, p. 1355-1357, 2001b.

GODFREY, S. **Evolutionary nutrition for the cat written**. Disponível em: <<http://www.reddogdeli.com/pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2014.

HORWITZ, D.; SOULARD, Y.; CASTAGNA, A. Comportamiento alimentario del gato. In: PIBOT, P.; BOURGE, V.; ELLIOTT, D. (Ed.). **Enciclopedia de la nutrición clínica felina**. Paris: Royal Canin, 2009. p. 439-478.

HOSTUTLER, R. A.; CHEW, D. J.; DIBARTOLA, S. P. Recent concepts in feline lower urinary tract disease. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 35, n. 1, p. 147-170, Jan. 2005.

HOUSTON, D. M. et al. Feline urethral plugs and bladder uroliths: a review of 5484 submissions 1998-2003. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 44, n. 12, p. 974-977, 2003.

IZQUIERDO, J. V.; CZARNECKI-MAULDEN, G. L. Effect of various acidifying agents on urine pH and acid-base balance in adult cats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 121, n. 1, p. 89-90, Jan. 1991.

JEREMIAS, J. T. **Relação entre o excesso de bases do alimento e o pH urinário em gatos**. 2009. 69 p. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

JEREMIAS, J. T. et al. Predictive formulas for food base excess and urine pH estimations of cats. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 182, n. 1/4, p. 82-92, June 2013.

KERR, K. Dietary management of feline lower urinary tract symptoms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, n. 6, p. 2965-2975, Feb. 2013.

KIENZLE, E.; SCHUHKNECHT, A. Struvite stone dietetics: 1., effect of different feed rations on the urine pH value of cats. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Hannover, v. 100, n. 5, p. 198-203, Mai 1993.

KIENZLE, E.; SCHUHKNECHT, A.; MEYER, H. Influence of food composition on the urine pH in cats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 121, n. 1, p. 87-88, Jan. 1991.

KIENZLE, E.; WILMS-EILERS, S. Struvite diet in cats: effect of ammonium chloride and carbonates on acid base balance of cats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, n. 12, p. 2652-2659, 1994.

KOERICH, K.; DAGOSTIM, G.; SCUSSEL, V. M. **Descrição de aditivos adicionados em alimentos completos para cães comercializados no Brasil e sua implicação na saúde do animal**. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/988.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2014.

LAZZAROTTO, J. Doença do trato urinário inferior dos felinos associada aos cristais de estruvita. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 7/8, n. 1, p. 58-64, 2000.

LEE, J.; DROBATZ, K. Characterization of the clinical characteristics, electrolytes, acid-base, and renal parameters in male cats with urethral obstruction. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, London, v. 13, n. 4, p. 227-233, 2003.

LUCKSCHANDER, N. et al. Dietary NaCl does not affect blood pressure in healthy cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 18, n. 4, p. 463-467, 2004.

LULICH, J. P. et al. Afecções do trato urinário inferior dos caninos. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Ed.). **Tratado de medicina veterinária: moléstias do cão e do gato**. São Paulo: Manole, 1997. p. 2541-2570.

MAIA, G. **Zeólitas (Clinoptilolita) e Yucca schidigera em rações para cães: palatabilidade, digestibilidade e redução de odores fecais**. 2008. 70 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidad Federal de Lavras, Lavras, 2008.

MARKWELL, P. J.; BUFFINGTON, C. T.; SMITH, B. H. E. The effect of diet on lower urinary tract diseases in cats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 128, n. 12, p. 2753-2757, 1998.

MONFERDINI, R.; OLIVEIRA, J. de. Manejo nutricional para cães e gatos com urolitíase-revisão bibliográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 3, n. 1, p. 1-4, 2009.

MOTA, I.; QUEIROZ, R. S. de. Distúrbios do equilíbrio ácido básico e gasometria arterial uma revisão crítica. **Revista Digital**, Buenos Aires, v. 141, n. 14, p. 1-10, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington: The National Academy, 2006. 398 p.

NUMAJIRI, L. N. **Valores nutricionais de alimentos completos e equações de predição de energia metabolizável para gatos adultos**. 2006. 99 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

OGOSHI, R. C. S. et al. Acidifying and yeast extract in diets for adults cats. **Animal Science Journal**, Berlin, v. 85, n. 5, p. 555-561, May 2014.

OSBORNE, C. A. et al. Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007: perspectives from the Minnesota Urolith Center. **The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 39, n. 1, p. 183-197, Jan. 2009.

OSBORNE, C. A. et al. Canine urolithiasis. In: HANDM, S.; TATCHER, C. D. (Ed.). **Small animal clinical nutrition**. 4th ed. Missouri: Mark Morris Institute, 2000. p. 605-688.

OSBORNE, C. A. et al. Feline urolithiasis: etiology and pathophysiology. **The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 26, n. 2, p. 217-232, 1996.

PIBOT, P. et al. **Enciclopedia de la nutricion clinica felina**. Paris: IVIS, 2009. 517 p.

PIRES, C. P. et al. Inter-relação entre balance cátion-aniónico do alimento e o pH urinário de gatos. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 16, n. 3, p. 76-86, 2011.

PIRES, P. et al. Composição nutricional e avaliação de rótulos de rações secas para gatos adultos comercializadas em Pelotas-Rs. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: NUTRIPET, 2011. p. 1-2.

SAAD, F. L. **Aula de minerais: nutrição e alimentação de cães e gatos**. Lavras: UFLA, 2014. 63 p.

SANTÉ, L. V. **Manual do clínico veterinário para interpretação de exames de gasometria e eletrólitos sanguíneos**. Disponível em: <<http://www.santelaboratorio.com.br/manual-do-clinico-veterinario-para-interpretacao-de-exames-de-gasometria-e-eletrolitos-sanguineos/>>. Acesso em: 10 nov. 2014.

SILVA, J. A. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolípidios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, p. 238-245, 2009. Número especial.

SKOCH, E. R. et al. Influence of diet on urine pH and the Feline urological syndrome. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 32, n. 8, p. 413-419, Aug. 1991.

SPEARS, J. K.; GRIESHOP, C. M.; FAHEY, G. C. Evaluation of sodium bisulphate and phosphoric acid as uine acidifiers for cats. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 57, n. 5, p. 389-398, Oct. 2003.

UNIVERSIDADE NACIONAL DEL NORDESTE. **Equilibrio acido base pH**. Disponível em: <<http://med.unne.edu.ar/enfermeria/catedras/fisio/cap3PH.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2014.

WAGNER, E.; KEUSCH, C.; IBEN, C. Influence of the feed base excess on urine parameters in cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 90, n. 1/2, p. 19-24, Feb. 2006.

YAMKA, R. M.; FRIESEN, K. G.; SCHAKENRAAD, H. The prediction of urine pH using dietary cations and anions in cats fed dry and wet foods. **Jornal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Davis, v. 4, n. 1, p. 58-66, 2006.

ZAGHINI, G.; BIAGI, G. Nutritional peculiarities and diet palatability in the cat. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 29, n. 2, p. 39-44, Aug. 2005. Supplement.

ZENTEK, J.; SCHULZ, A. Urinary composition of cats is affected by the source of dietary protein. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, n. 8, p. 2162-2165, Aug. 2004.

ANEXOS

ANEXO A – Análise de variância das variáveis estudadas

Tabela 1 Análise de variância e coeficiente de variação para o consumo de alimento

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	368,187308	92,046827	1,801	0,1501
Ração	1	164,783858	164,783858	3,223	0,0810
Níveis*Ração	4	224,761692	56,190423	1,099	0,3719
Bloco	4	155,999348	38,999837	0,763	0,5564
Erro	36	1840,419292	51,122758		
Total corregido	49	2754,151498			
CV (%) =		9,42			
Média geral:		75,8902000	Número de observações:		50

Tabela 2 Somas de quadrados sequenciais no desdobramento dos níveis de acidificante dentro da ração A para consumo de alimento

Causas de variação	G,L	S,Q	Q,M	Fc	Prob<F
Linear	1	3,287048	3,287048	0,064	0,801
Quadrática	1	280,080006	280,080006	5,479	0,025
Desvio	2	60,855650	30,427825	0,595	0,557
Erro	36	1840,419292	51,122758		

Tabela 3 Somas de quadrados sequenciais no desdobramento dos níveis de acidificante dentro da ração B para consumo de alimento

Causas de variação	G,L	S,Q	Q,M	Fc	Prob<F
Linear	1	28,637312	28,637312	0,560	0,459
Quadrática	1	40,098291	40,098291	0,784	0,382
Desvio	2	179,990693	89,995346	1,760	0,186
Erro	36	1840,419292	51,122758		

Tabela 4 Análise de variância e coeficiente de variação para o pH urinário

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	0,844688	0,211172	1,557	0,2067
Ração	1	18,763938	18,763938	138,380	0,0000
Níveis*Ração	4	1,053232	0,263308	1,942	0,1246
Bloco	4	1,857948	0,464487	3,425	0,0180
Erro	36	4,881492	0,135597		
Total corrigido	49	27,401298			
CV (%) =		4,79			
Média geral:		7,6802000	Número de observações:		50

Tabela 5 Somas de quadrados seqüenciais no desdobramento dos níveis de acidificante dentro da ração A para pH urinário

Causas de variação	G,L	S,Q	Q,M	Fc	Prob<F
Linear	1	0,361250	0,361250	2,664	0,111
Quadrática	1	0,540321	0,540321	3,985	0,049
Desvio	2	0,133765	0,066882	0,493	0,615
Erro	36	4,881492	0,135597		

Tabela 6 Somas de quadrados seqüenciais no desdobramento dos níveis de acidificante dentro da ração B para pH urinário

Causas de variação	G,L	S,Q	Q,M	Fc	Prob<F
Linear	1	0,425042	0,425042	3,135	0,085
Quadrática	1	0,300973	0,300973	2,220	0,145
Desvio	2	0,136569	0,068285	0,504	0,609
Erro	36	4,881492	0,135597		

Tabela 7 Análise de variância e coeficiente de variação para a densidade urinária

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	79,880000	19,970000	0,340	0,8494
Ração	1	30,420000	30,420000	0,517	0,4766
Níveis*Ração	4	73,880000	18,470000	0,314	0,8666
Bloco	4	66,480000	16,620000	0,283	0,8872
Erro	36	2116,320000	58,786667		
Total corrigido	49	2366,980000			
CV (%) =		4,79			
Média geral:		1029,980000	Número de observações:		50

Tabela 8 Análise de variância e coeficiente de variação para o volume de urina

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	406,775200	101,693800	0,075	0,9893
Ração	1	308,264450	308,264450	0,228	0,6357
Níveis*Ração	4	1839,902800	459,975700	0,341	0,8487
Bloco	4	554,380200	138,595050	0,103	0,9809
Erro	36	48617,329800	1350,481383		
Total corrigido	49	51726,652450			
CV (%) =		76,08			
Média geral:		48,3010000	Número de observações:		50

Tabela 9 Análise de variância e coeficiente de variação para o consumo de digestibilidade aparente da matéria seca

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	49,793228	12,448307	0,567	0,6880
Ração	1	103,737608	103,737608	4,727	0,0363
Níveis*Ração	4	49,649212	12,412303	0,566	0,6892
Bloco	4	616,473868	154,118467	7,023	0,0003
Erro	36	790,054972	21,945971		
Total corrigido	49	1609,708888			
CV (%) =		5,95			
Média geral:		78,7532000	Número de observações:		50

Tabela 10 Análise de variância e coeficiente de variação para pH sanguíneo

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	0,008012	0,002003	1,013	0,4138
Ração	1	0,009248	0,009248	4,675	0,0373
Níveis*Ração	4	0,001492	0,000373	0,189	0,9428
Bloco	4	0,014072	0,003518	1,779	0,1546
Erro	36	0,071208	0,001978		
Total corrigido	49	0,104032			
CV (%) =		0,61			
Média geral:		7,3144000	Número de observações:		50

Tabela 11 Análise de variância e coeficiente de variação para pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	96,920000	24,230000	0,789	0,5399
Ração	1	5,445000	5,445000	0,177	0,6762
Níveis*Ração	4	118,480000	29,620000	0,965	0,4387
Bloco	4	98,920000	24,730000	0,805	0,5298
Erro	36	1105,280000	30,702222		
Total corrigido	49	1425,045000			
CV (%) =		12,53			
Média geral:		44,2100000	Número de observações:		50

Tabela 12 Análise de variância e coeficiente de variação para concentrações de bicarbonato (HCO₃⁻)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	2,020000	0,505000	0,101	0,9815
Ração	1	32,805000	32,805000	6,540	0,0149
Níveis*Ração	4	25,420000	6,355000	1,267	0,3009
Bloco	4	53,620000	13,405000	2,672	0,0475
Erro	36	180,580000	5,016111		
Total corrigido	49	294,445000			
CV (%) =		10,27			
Média geral:		21,8100000	Número de observações:		50

Tabela 13 Análise de variância e coeficiente de variação para dióxido de carbono total (CO₂T)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	15,625000	3,906250	0,380	0,8213
Ração	1	62,161250	62,161250	6,050	0,0188
Níveis*Ração	4	11,845000	2,961250	0,288	0,8837
Bloco	4	113,275000	28,318750	2,756	0,0426
Erro	36	369,875000	10,274306		
Total corrigido	49	572,781250			
CV (%) =		14,01			
Média geral:		22,8750000	Número de observações:		50

Tabela 14 Análise de variância e coeficiente de variação do íon sódio

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	5,680000	1,420000	0,163	0,9557
Ração	1	10,580000	10,580000	1,214	0,2778
Níveis*Ração	4	27,520000	6,880000	0,789	0,5397
Bloco	4	37,080000	9,270000	1,064	0,3886
Erro	36	313,720000	8,714444		
Total corrigido	49	394,580000			
CV (%) =		1,94			
Média geral:		151,7800000	Número de observações:		50

Tabela 15 Análise de variância e coeficiente de variação do íon potássio

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	1,466112	0,366528	1,535	0,2129
Ração	1	0,017298	0,017298	0,072	0,7894
Níveis*Ração	4	1,176192	0,294048	1,231	0,3149
Bloco	4	7,054312	1,763578	7,385	0,0002
Erro	36	8,597208	0,238811		
Total corrigido	49	18,311122			
CV (%) =		9,11			
Média geral:		5,3666000	Número de observações:		50

Tabela 16 Análise de variância e coeficiente de variação do íon cloro

FV	GL	SQ	QM	Fc	Prob<F
Níveis	4	141,195000	35,298750	0,931	0,4568
Ração	1	94,531250	94,531250	2,494	0,1230
Níveis*Ração	4	205,275000	51,318750	1,354	0,2692
Bloco	4	113,345000	28,336250	0,748	0,5661
Erro	36	1364,605000	37,905694		
Total corrigido	49	1918,951250			
CV (%) =		5,11			
Média geral:		120,5850000	Número de observações:		50