

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Departamento de Zootecnia
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Tese

Farinha de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas na nutrição de frangos de corte e aminos biogênicos como indicadores de qualidade

Cristiéle Lange Contreira

Pelotas, 2019

Cristiéle Lange Contreira

Farinha de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas na nutrição de frangos de corte e aminos biogênicos como indicadores de qualidade

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências, área de concentração em Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Ph.D. Fernando Rutz
Coorientador: Dr. Valdir Silveira de Avila

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C764f Contreira, Cristiéle Lange

Farinha de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas na nutrição de frangos de corte e amins biogênicas como indicadores de qualidade / Cristiéle Lange Contreira ; Fernando Rutz, orientador ; Valdir Silveira de Avila, coorientador. — Pelotas, 2019.

77 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Bolsa cloacal. 2. Desempenho zootécnico. 3. Parâmetros sanguíneos. 4. Proventrículo. 5. Putrescina. I. Rutz, Fernando, orient. II. Avila, Valdir Silveira de, coorient. III. Título.

CDD : 636.0852

Cristiéle Lange Contreira

Farinha de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas na nutrição de frangos de corte e aminos biogênicos como indicadores de qualidade

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 26 de fevereiro de 2019.

Banca examinadora:

.....
Ph.D. Fernando Rutz (Orientador)
Doutor em Animal Sciences pela University of Kentucky.

.....
Ph.D. Eduardo Gonçalves Xavier
Doutor em Animal Sciences pela University of Kentucky.

.....
Dra. Fabiane Pereira Gentilini
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

.....
Dr. Marcos Antonio Anciuti
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas.

.....
Dra. Verônica Lisboa Santos
Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas.

Agradecimentos

Aos meus pais, não tenho palavras para agradecer por tudo o que fizeram para tornar os meus sonhos em realidades. Obrigada por tudo, principalmente pela vida que me proporcionaram!

Ao meu orientador Ph.D. Fernando Rutz, por ter aceito a difícil tarefa de minha orientação. Muito obrigada por todos os ensinamentos e pela confiança a mim dedicados.

À Dr^a. Fabiane Gentilini por toda a ajuda, parceria, conselhos, puxões de orelha e ensinamentos que começaram em 2008 e que se mantêm até hoje. Obrigada pela acolhida há 10 anos e agora. Fabi, conversas agradáveis e amizade não têm preço, só gratidão!

Ao meu orientador de mestrado Dr. Marcos Ancuti, que me oportunizou e motivou pela busca do doutorado, aos ensinamentos e os conselhos sempre disponíveis a mim, só tenho a agradecer.

Obrigada ao meu coorientador Dr. Valdir Avila! Você foi um dos meus maiores motivadores para a conclusão de mais uma etapa. Sou extremamente grata pela sua acolhida profissional e sua amizade. Agradeço você e sua família por todo o carinho que sempre fui recebida em sua casa, certamente vocês são e fizeram a diferença.

Ao Dr. Everton Krabbe, agradeço pela disponibilidade do projeto de pesquisa, paciência e ensinamentos.

Aos meus colegas de graduação e pós-graduação por toda a parceria durante os anos.

À Dr^a. Gizelle Bedendo, agradeço pelo trabalho, mas acima de tudo pela amizade. Sem palavras!!

À minha amiga Dr^a. Verônica Santos, que mesmo com a distância sempre esteve ali do meu lado, escutando, aconselhando e torcendo por mim. Vê, que possamos manter a amizade que nossas poedeiras nos proporcionaram.

À minha primeira “orientadora” Dr^a. Roberta Manica-Berto, por ter acreditado em todo o meu potencial, principalmente naqueles momentos em que eu não conseguia ver minha capacidade. Obrigada por tudo!!

Ao grupo do café, obrigada por tornarem os meus dias mais divertidos!

Ao grupo do espumante, Marina e Gizelle, obrigada!! Vocês fizeram a diferença em minha vida, permitindo que eu conseguisse suportar tantas turbulências.

Às minhas colegas de casa. Em especial a Lili e a Fabi pelas longas conversas, bons risos e momentos “fitnes”. Gurias, apesar de sempre estarmos em situações estressantes conseguíamos nos divertir e nos apoiarmos em tudo.

A todos os funcionários da Embrapa Suínos e Aves pela ajuda, disposição e apoio nos trabalhos realizados.

À Embrapa Suínos e Aves, por todo apoio no projeto de pesquisa.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

Ao PPGZ pela oportunidade de realização do doutorado.

A todos que contribuíram de todas as formas, eu só tenho a agradecer!!!!!!

Resumo

CONTREIRA, Cristiéle Lange. **Farinha de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas na nutrição de frangos de corte e aminos biogênicos como indicadores de qualidade.** 2019. 77f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

O estudo foi realizado para avaliar o efeito do uso de farinhas oriundas de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas, armazenadas em temperatura ambiente e ou sob refrigeração por diferentes tempos, sobre parâmetros zootécnicos e fisiológicos de frangos de corte. Também foi realizada a quantificação de aminos biogênicos e adaptações de equações para o cálculo do índice de aminos biogênicos em farinhas de suínos. Foi utilizado o delineamento completamente casualizado em esquema de parcelas subdivididas. Na parcela principal, alocaram-se as condições de armazenamento (temperatura ambiente e refrigerada) e nas subparcelas os tempos (0, 24, 48 e 72 horas), e em paralelo foram obtidas amostras de empresas dedicadas à produção de farinhas de origem animal. As variáveis analisadas foram os teores de aminos biogênicos: feniletilamina, putrescina, cadaverina, histamina, tiramina, espermidina e espermina por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a adaptação do índice de aminos. As farinhas após 24 horas de armazenamento em temperatura ambiente apresentaram teores de feniletilamina, putrescina e tiramina superiores quando comparadas às armazenadas sob refrigeração (-6°C) condição de armazenamento refrigerado. Os teores de espermidina e espermina apresentaram decréscimos após 24 horas de armazenamento em temperatura ambiente. As farinhas produzidas a partir de matrizes suínas mortas e mantidas sob diferentes tempos e acondicionamentos foram utilizadas em dietas experimentais ofertadas a 770 frangos de corte, durante os primeiros 21 dias de idade, totalizando sete tratamentos com 11 repetições cada. Avaliando respostas de desempenho, parâmetros sanguíneos e morfometria de órgãos, foram observados efeitos sobre o proventrículo e a bolsa cloacal. A quantificação de aminos biogênicos e a utilização de índices demonstram o grau de deterioração de farinhas de origem animal, principalmente em farinhas produzidas após 24 horas da morte do animal. Essas farinhas produzidas experimentalmente não influenciaram parâmetros sanguíneos e o desempenho de frangos de corte criados até os 21 dias de idade. Entretanto, foi observado efeito deletério no proventrículo e na bolsa cloacal.

Palavras-Chave: bolsa cloacal; desempenho zootécnico; parâmetros sanguíneos; proventrículo; putrescina

Abstract

CONTREIRA, Crisiéle Lange. **Effect of meat meal from breeding sows, which died from non-infectious diseases causes, on broiler diets and biogenic amines as a quality index.** 2019. 77f. Thesis (Doctor of Science) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

The study was run to evaluate the use of meat meals derived from breeding sows, which died due to non - infectious causes on performance and physiological parameters of broilers. The bodies were stored at room temperature and refrigerated during different periods of time. Quantification of biogenic amines and adaptation of equations were also performed for the calculation of the biogenic amine index in rendered pig carcass meals. A completely randomized experimental design in a subdivided time-plot arrangement was applied. The main plot consisted of storage temperature (environmental temperature, ET; or under refrigeration, RT) and the subplots of storage periods (0 h - control, 24, 48, and 72 h) and in parallel samples were obtained from companies dedicated to the production of animal meat meal. The levels of the biogenic amines, that is to say, phenylethylamine, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermidine and spermine of all meals were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) and their biogenic amine indexes calculated. Meals stored at ET presented higher phenylethylamine, putrescine and tyramine contents compared with those stored at RT after 24 hours storage, whereas spermidine and spermine contents decreased after 24 hours of storage at ET. The meals which were produced by the breeding sows and maintained in different times and storage were used in experimental diets offered to 770 broilers during the first- 21 days of age, in a total of seven treatments with 11 replicates each. Evaluating performance responses, blood parameters and organ morphometry, effects on proventriculus and bursa of Fabricius were observed. The quantification of biogenic amines and the use of indices demonstrate the degree of deterioration of animal meal, especially in meals produced after 24 hours of animal death. These experimentally produced meals did not influence blood parameters and broiler performance up to 21 days of age. However, a deleterious effect was observed on the proventriculus and bursa of Fabricius.

Key-Words: blood parameters; bursa of Fabricius; performance; putrescina; proventriculus

Lista de Figuras

| | | |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Distribuição da produção de animais mortos por espécie, na região Sul do Brasil | 16 |
| Figura 2 | Descarboxilação de aminoácidos em aminas biogênicas | 20 |
| Figura 3 | Teores de feniletilamina (A), putrescina (B), cadaverina (C) e histamina (D) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas oriundas de matrizes suínas armazenadas em temperatura ambiente (Amb: 25°C) e refrigerada (Ref: -6°C) por diferentes tempos (0, 24, 48 e 72 horas) | 37 |
| Figura 4 | Teores de tiramina (A), espermidina (B) e espermina (C) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas oriundas de matrizes suínas armazenadas em temperatura ambiente (Amb: 25°C) e refrigerada (Ref: -6°C) por diferentes tempos (0, 24, 48 e 72 horas) | 38 |
| Figura 5 | Índice de aminas biogênicas (BAI) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas comerciais e produzidas em unidade dedicada a processamento de suínos não abatidos coletados em granjas (projeto Piloto*). Equação 1: Mietz & Karmas (1977); Equação 2: Hernández-Jover et al. (1996); Equação 2b: adaptada de Hernández-Jover et al. (1996), com acréscimo da feniletilamina | 44 |
| Figura 6 | Percentual de proventrículo (A) e bolsa cloacal (B) de frangos de corte alimentados com farinhas de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas submetidas a diferentes tempos de acondicionamentos em temperatura ambiente e refrigerada | 60 |

Lista de Quadros

| | | |
|----------|---|----|
| Quadro 1 | Armazenamento das matrizes suínas pré-processamento de farinhas | 51 |
| Quadro 2 | Índice de aminos biogênicas de farinha de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas | 52 |

Lista de Tabelas

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Parâmetros físico-químicos de farinha de carne e ossos de suínos ... | 23 |
| Tabela 2 | Variação linear, limites de detecção e quantificação, e repetibilidade do método analítico | 32 |
| Tabela 3 | Acurácia do método analítico aferido em diferentes concentrações para farinhas de suínos produzidas experimentalmente frente a farinhas obtidas junto a empresas comerciais | 33 |
| Tabela 4 | Recuperação dos níveis de aminos biogênicas (média \pm erro padrão) na presença e ausência do formaldeído em amostras de farinha de suínos | 36 |
| Tabela 5 | Teores de aminos biogênicas ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas de matrizes suínas mortas e submetidas a diferentes tempos após armazenamento em temperatura ambiente (25°C) e refrigerada (- 6°C) | 39 |
| Tabela 6 | Índice de aminos biogênicas (BAI) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas de matrizes suínas mortas e submetidas a diferentes tempos após armazenamento em temperatura ambiente (25°C) e refrigerada (- 6°C) | 42 |
| Tabela 7 | Análise descritiva geral das equações para o índice aminos biogênicas (BAI) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas de matrizes suínas mortas e submetidas a diferentes tempos após armazenamento em temperatura ambiente (25°C) e refrigerada (-6°C) | 42 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Tabela 8 | Peso vivo (PV) de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas | 54 |
| Tabela 9 | Consumo alimentar (CR) de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas | 55 |
| Tabela 10 | Ganho de peso (GP) de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas | 56 |
| Tabela 11 | Conversão alimentar (CA) de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas | 57 |
| Tabela 12 | Parâmetros sanguíneos de frangos de corte Cobb 500, machos, criados até 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenagem sobre parâmetros sanguíneos de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade..... | 58 |
| Tabela 13 | Peso relativo de órgãos de frangos de corte Cobb 500, machos, criados até 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo farinhas de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenagem previamente à sua transformação em farinhas..... | 59 |

Sumário

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | Introdução | 15 |
| 2 | Revisão de literatura | 18 |
| 2. 1 | Farinha de origem animal e aminos biogênicas na alimentação de frangos de corte | 18 |
| 2. 2 | Formação de aminos biogênicas | 20 |
| 2. 3 | Toxicidade de aminos biogênicas | 21 |
| 2. 4 | Aminos biogênicas na alimentação animal | 22 |
| 2. 5 | Qualidade de farinhas de origem animal e aminos biogênicas | 22 |
| 2. 6 | Índice de aminos biogênicas | 24 |
| 3 | Artigo 1 – Aminos biogênicas: quantificação em diferentes farinhas de origem suína e adaptação de um índice como indicador de qualidade (BAI) | 26 |
| 3. 1 | Introdução | 26 |
| 3. 2 | Materiais e métodos..... | 28 |
| 3. 2. 1 | Reagentes e padrões | 28 |
| 3. 2. 2 | Obtenção das amostras | 28 |
| 3. 2. 2. 1 | Grupo 1 - Farinha de suínos produzida experimentalmente | 28 |
| 3. 2. 2. 2 | Grupos 2 e 3 - Farinhas de suínos produzidas por empresa dedicada à condição especial e por empresas comerciais | 29 |
| 3. 2. 3 | Quantificação de aminos biogênicas por HPLC | 30 |
| 3. 2. 3. 1 | Preparo da amostra | 30 |
| 3. 2. 3. 2 | Processo de derivatização | 31 |
| 3. 2. 3. 3 | Análise cromatográfica | 31 |
| 3. 2. 3. 4 | Eficiência do método | 32 |
| 3. 2. 3. 5 | Presença de formaldeído | 33 |
| 3. 2. 3. 6 | Índice de aminos biogênicas | 34 |
| 3. 2. 4 | Análise estatística | 35 |
| 3. 3 | Resultados | 36 |
| 3. 3. 1 | Presença de formaldeído | 36 |

| | |
|--|-----------|
| | 14 |
| 3. 3. 2 Quantificação de aminos biogênicas em farinha de suínos do grupo 1, elaborada experimentalmente | 36 |
| 3. 3. 3 Índice de aminos biogênicas (BAI) | 41 |
| 3. 4 Discussão | 45 |
| 3. 5 Conclusões | 47 |
| | |
| 4 Artigo 2 – Utilização de farinhas de carcaças de suínos mortos por causas não infecciosas na nutrição de frangos de corte | 48 |
| 4. 1 Introdução | 48 |
| 4. 2 Materiais e métodos | 50 |
| 4. 2. 1 Animais, instalações e manejo experimental | 50 |
| 4. 2. 2 Delineamento e dietas experimentais | 50 |
| 4. 2. 3 Análise estatística | 52 |
| 4. 3 Resultados | 53 |
| 4. 4 Discussão | 61 |
| 4. 5 Conclusões | 64 |
| | |
| 5 Considerações finais | 65 |
| | |
| Referências | 66 |
| | |
| Anexos | 75 |

1 Introdução

No Brasil, as cadeias produtivas de carne, resultado de um árduo trabalho de desenvolvimento, modernização e intensificação dos setores de produção de proteína animal, ocupa posição de extrema relevância frente ao cenário mundial de proteína de origem animal. O setor avícola brasileiro é atualmente o segundo maior produtor de carne de frango, com um total de 13 056 mil toneladas/ano, sendo o maior exportador mundial desse segmento, com 4 320 mil toneladas/ano, enquanto o setor suinícola é o quarto maior em produção de carne suína, 3 758 mil toneladas/ano e exportação de 697 mil toneladas/ano (ABPA, 2018), com a produção distribuída principalmente nos estados do sul e sudeste do país (IBGE, 2017).

Com o desenvolvimento do setor animal nos últimos anos e o aumento da escala de produção, novos desafios surgiram, como a destinação de animais que morrem ao longo da cadeia produtiva, seja por causas naturais, acidentais ou sanitárias.

O fato de o país ter a característica de produção animal intensiva e extremamente concentrada, faz com que algumas regiões sejam mais afetadas quando ocorre alta mortalidade dos animais. A preocupação com o destino de carcaças se encontra presente nos grandes segmentos de produção animal (bovinocultura, suinocultura e avicultura). O número total de animais mortos ultrapassa 1,3 milhões de toneladas por ano em todo o país (KRABBE; WILBERT, 2016), acarretando em perdas produtivas e passivos ambientais.

Estima-se que em se tratando apenas de frangos de corte e suínos, a quantidade de animais mortos no Brasil ultrapasse 300.000 toneladas/ano, representando mais de R\$200 milhões/ano de perdas. Como a produção desses animais é intensiva, o problema se agrava em alguns estados do Brasil (Figura 1).

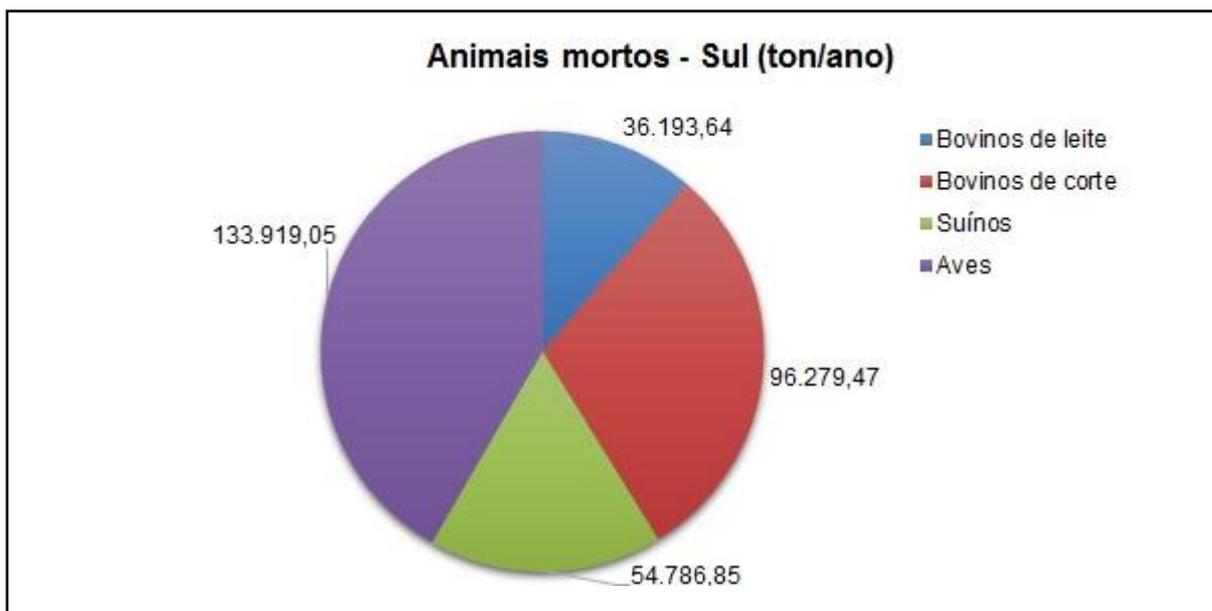


Figura 1 - Distribuição da produção de animais mortos por espécie, na região Sul do Brasil.

Fonte: Adaptado de KRABBE & WILBERT, 2016.

A mortalidade de animais em granjas não é desejável, podendo ocorrer por várias causas, o que é um fato normal, desde que dentro de taxas aceitáveis. O aproveitamento desse material poderia ter dupla importância, pois além de diminuir os custos pelo aumento da eficiência de produção, minimizaria os problemas de poluição ambiental que seriam gerados pela falta de destino adequado.

Todavia, a falta de conhecimento científico e de regulamentação oficial resulta na destinação inadequada desses resíduos da produção, com riscos à saúde pública e aos rebanhos, além de contaminação ambiental. Para Corrêa et al. (2011), resíduos deveriam retornar à natureza de forma racional, sem impactar o ambiente, com o reaproveitamento de nutrientes e água, tendo como critério o princípio de sustentabilidade, contribuindo para o desenvolvimento do país.

Atualmente, não existe no Brasil uma legislação específica que oriente sobre o melhor destino desses cadáveres. Além disso, não se sabe corretamente em que condições tais atividades são realizadas, nem quais os destinos dos subprodutos gerados e, principalmente, o seu risco de contaminação. Esse tema envolve o processamento na própria granja e em unidades externas às granjas que utilizam diversas formas de tratamento.

A urgência da resolução desse problema vem sendo cobrada por diversos segmentos do setor produtivo que buscam no Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (MAPA) e na Embrapa a normatização dessa atividade o mais brevemente possível, para dar sustentabilidade à cadeia produtiva.

Com demanda do MAPA, a Embrapa Suínos e Aves desenvolve um projeto denominado TECDAM (Tecnologia para a Destinação de Animais Mortos), que tem como finalidade auxiliar na correta destinação de animais mortos ao longo da cadeia produtiva com diferentes planos de ações e pesquisas.

Juntamente com as agroindústrias brasileiras, têm-se dedicado esforços na busca de outras possibilidades, como o armazenamento sob refrigeração desses animais mortos e posterior coleta/transferência para indústrias fabricantes de farinhas de origem animal. Essa solução é controversa entre setores das cadeias produtivas de aves e suínos.

Um dos planos de ação da Embrapa Suínos e Aves é dedicado à análise do uso de farinhas de animais mortos (PA4 - Farinhas de animais mortos). O plano tem como principais metas as avaliações de processos de fabricação, implementações de metodologias analíticas, produção de farinhas a partir de animais mortos e o seu uso na alimentação animal, com o intuito de auxiliar o meio produtivo e legislativo quanto à destinação de animais mortos.

A partir do exposto, o presente trabalho foi executado com o intuito de avaliar o uso de farinhas produzidas de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas na nutrição de frangos de corte. Além disso, quantificar aminas biogênicas presentes nas farinhas como um indicador de qualidade.

2 Revisão de literatura

2.1 Farinha de origem animal e aminos biogênicas na alimentação de frangos de corte

A proteína da farinha de carne possui um alto valor biológico, o que é relevante para o preparo de dietas e de grande interesse ao setor produtivo. Além da proteína, a farinha de origem animal possui um alto valor nutricional, pois contém gorduras e minerais, como cálcio e fósforo, e é excelente fonte de aminoácidos e vitamina B12 (BUTOLO, 2010), possuindo um preço de mercado atrativo, além de promover melhorias no desempenho animal (FIRMAN, 2006). Outro aspecto positivo é no âmbito ambiental, visto que subprodutos de abatedouros poderiam receber a incorreta destinação final (PACHECO et al., 2018).

No entanto, a falta de padronização no processo de fabricação ou diferentes fontes de matéria-prima, como penas, sangue, vísceras, carnes e ossos para produzir as farinhas, pode ser um inconveniente para seu uso, pois acarreta variações nos teores dos nutrientes. As variações podem estar associadas à natureza das matérias-primas, condições de processamento, qualidade e relação de composição, principalmente quando se refere à inclusão de ossos sobre teores de minerais, energia bruta e proteína (PERAI et al., 2010).

A proteína é um fator de classificação nutricional de farinhas, com variações de 38% a 63% em seu percentual (ROSTAGNO et al., 2011). Variações de proteína não limitam a utilização de farinhas, entretanto fatores antinutricionais em farinhas fornecidas para frangos de corte, principalmente quando se referem à oxidação e aminos biogênicas, podem afetar a qualidade final das dietas (BELLAVÉR, 2010).

Nas últimas décadas diversas pesquisas foram realizadas com diferentes inclusões de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte. No amplo cenário de pesquisas com farinhas, o tema em maior relevância são estudos

que envolvem o desempenho animal em diferentes ciclos e ao longo da vida, sendo os resultados diversos e em muitos casos controversos (FARIA FILHO et al., 2002; BELLAVAR, 2005; CARVALHO et al., 2012; EAGLESON et al., 2018; SOUZA et al., 2017).

Ao avaliarem diferentes fontes de farinhas de origem animal destinadas a dietas de frangos de corte, Troni et al. (2016) observaram variações entre farinhas originadas de diferentes fontes de matéria-prima e dentro do mesmo grupo. Os autores ressaltaram maior variação em proteína bruta e de energia metabolizável para farinha de carne e ossos. A diferença de energia metabolizável foi atribuída pelos autores por apresentarem maiores níveis de minerais, ocasionando saponificação das gorduras e reduzindo o aproveitamento pelas aves.

As divergências podem estar relacionadas à variabilidade da matéria-prima e consequentemente com a composição nutricional considerada durante a formulação, fato constatado por Faria Filho et al. (2002) ao descobrirem que a inclusão de 6% de farinha de carne e ossos resultou em menor consumo de ração e menor ganho de peso em frangos de corte. Os autores argumentaram que o desempenho foi prejudicado porque as dietas foram formuladas com base em aminoácidos totais e não em aminoácidos digestíveis.

Por meio das respostas das pesquisas citadas, é possível verificar que os autores se detêm em fatores como aminoácidos, energia e minerais, não apresentando relatos sobre possíveis fatores antinutricionais que possam interferir sobre o desempenho do animal.

Uma vez que uso de farinha de origem animal tem relevância na cadeia produtiva e que a cada ano o setor está mais competitivo e preocupado com a qualidade dos alimentos, fatores antinutricionais presentes nas farinhas de origem animal, como aminas biogênicas, devem ser investigados como um potencial interferente na produção animal. Aminas biogênicas podem causar impactos econômicos na cadeia de produção animal, pois mecanismos fisiológicos e bioquímicos são pouco conhecidos na alimentação animal, bem como o sinergismo com outros agentes patológicos. Diante deste contexto, faz-se necessária uma análise bibliográfica acerca de aminas biogênicas como fator antinutricional dentro da produção animal.

2. 2 Formação de amins biogênicas

A formação de amins biogênicas se dá a partir da descarboxilação de aminoácidos precursores (Figura 2), podendo ser formados e degradados como resultado do metabolismo normal de atividades em seres humanos, animais, plantas e microorganismos, como também podem ocorrer por indução, como a adição de bactérias envolvidas em processos de fermentação de alimentos e bebidas (ALVAREZ & MORENO-ARRIBAS, 2014).

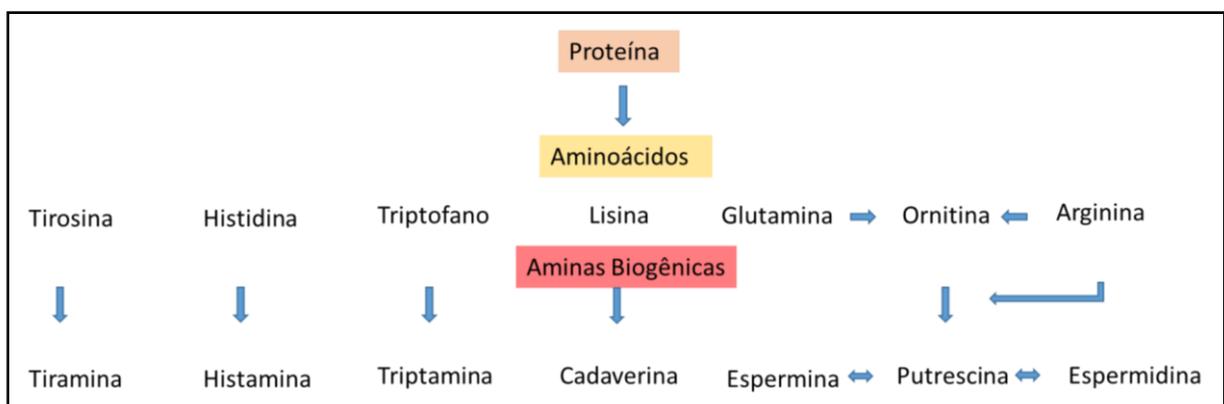


Figura 2 - Descarboxilação de aminoácidos em amins biogênicas.

Fonte: RUIZ-CAPILLAS & JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004.

Em alimentos como carnes e derivados é possível preferir que após o *post mortem* ocorre um aumento de amins biogênicas, devido à elevada quantidade de enzimas proteolíticas presentes no trato intestinal, envolvidas no processo de descarboxilação enzimática de aminoácidos livres, encontrados em grandes quantidades em carnes (CARDOZO et al., 2013). Esse fato foi observado por Tamim & Doer (2003), ao constatarem o aumento de algumas amins biogênicas em carne de frango até 72 horas após a morte dos animais.

Segundo Den Brinker et al. (2003), temperaturas inadequadas e tempo prolongado de armazenamento podem aumentar o crescimento microbiano devido à influência sobre a proteólise e alterar a produção de amins. A diminuição da temperatura acarreta menor crescimento bacteriano, sendo o crescimento de grande parte de bactérias descarboxilases estimuladas em temperaturas entre 20 e 37°C (KAROVÍČOVÁ; KOHAJDOVÁ, 2005).

Fraqueza et al. (2012), demonstraram correlação positiva entre concentrações de cadaverina com *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* e *Brochothrix thermosphacta*, maior concentração de putrescina com populações de *Pseudomonas* spp. e *Brochothrix thermosphacta*, e tiramina foi associada com *Enterobacteriaceae*, quando avaliaram formações de aminas biogênicas em carne de peru. Entretanto, Dainty et al. (1986) defendem que a formação de algumas aminas pode ser indiferente ao conteúdo bacteriano.

2.3 Toxicidade de aminas biogênicas

As aminas biogênicas, presentes em vários alimentos, são amplamente estudadas devido a sua importância na fisiologia celular e em função do seu potencial efeito tóxico, principalmente em seres humanos (GOMES et al., 2014).

A toxicidade e o tipo de aminas biogênicas ainda são pouco descritos na literatura, mas alguns autores relatam que ao serem ingeridas podem interferir no metabolismo celular, alterando o equilíbrio e desencadeando processos compensatórios (SHALABY, 1996; MAFRA et al., 1999; ANLI; BAYRAM, 2008; LADERO et al., 2010). Os mesmos autores relatam que elevadas quantidades de aminas biogênicas podem favorecer sua entrada na circulação sistêmica, induzindo a liberação de adrenalina e noradrenalina, interferindo em funções críticas do corpo, como a atividade cerebral, regulação da temperatura do corpo, volume do estômago, pH, fluidos, regulação da secreção gástrica, aumento do débito cardíaco, alteração de glicose no sangue, além de influenciar a resposta imune, crescimento e diferenciação celular.

As aminas como tiramina, triptamina, feniletilamina e histamina são consideradas tóxicas, principalmente para humanos. Essa última é a mais descrita quanto aos sintomas de intoxicação. Aminas como putrescina, espermina, espermidina e cadaverina, as quais estão envolvidas com o crescimento e proliferação celular, não estão associadas a efeitos de toxicidade. No entanto, podem reagir com o nitrito e formar nitrosaminas carcinogênicas (KALAC, 2009; GOMES et al., 2014).

2. 4 Aminas biogênicas na alimentação animal

Na alimentação animal, algumas pesquisas foram realizadas ao longo dos anos utilizando aminas biogênicas sintéticas e farinhas de peixes de baixa qualidade em dietas para frangos de corte, tendo sido possível constatar a toxicidade para pintinhos quanto à perda de peso e mortalidade, alterações histológicas do sistema digestivo das aves com erosões e ulcerações em moela de aves recebendo dosagens elevadas de aminas biogênicas (JANSSEN, 1971; LU et al., 1982; FOSSUM et al., 1988; MORSI et al., 1992; BAKKER; HUISMAN, 1994). Na revisão realizada foi possível constatar que não há uma descrição detalhada que remeta ao uso de farinhas e a quantidade de cada amina presente na alimentação animal. Somente combinações de duas a três aminas.

Den Brinker et al. (2003), ao avaliarem amostras de diversos tipos de farinhas de carne durante os anos de 1994 a 1997, observaram elevadas variações nas concentrações de aminas biogênicas. Segundo os autores, a elevada concentração de putrescina, cadaverina e histamina, encontradas em maiores teores principalmente em farinhas de peixes, indicam processos inadequados de processamento de farinhas.

Em outro levantamento de aminas biogênicas realizado nos Estados Unidos (BARNES et al., 2001), farinhas de peixes seguidas de farinhas de aves apresentaram maiores níveis de aminas biogênicas, sugerindo maior degradação microbiana. Os autores observaram que os teores de cadaverina e putrescina não seriam capazes, isoladamente, de provocar problemas patológicos a nível de proventrículo em aves. Entretanto, não foi descartada a interação de aminas com outros agentes causadores de proventriculites, tais como micotoxinas.

2. 5 Qualidade de farinhas de origem animal e aminas biogênicas

Baseado em estudos realizados quanto à toxicidade de aminas biogênicas e em alguns trabalhos com animais, considerando que os alimentos de origem animal são naturalmente ricos em aminoácidos livres e, com isso, suscetíveis à

contaminação por amins biogênicas, acredita-se que a definição de amins biogênicas e seus efeitos despertam interesse principalmente no que tange ao grau de deterioração de ingredientes.

As farinhas que são produzidas no Brasil, de forma tradicional, não têm estabelecidos os teores e tipos de amins biogênicas, existindo controles de qualidade quanto a sua fabricação, claramente definido através de Instrução Normativa (34/2008 MAPA). A qualidade de rações está diretamente relacionada aos ingredientes adicionados, e para garantir melhores resultados de desempenho, o conhecimento da composição físico-química dos ingredientes e suas limitações de uso devem ser considerados pelo nutricionista, a fim de produzir rações balanceadas, palatáveis e com um custo compatível (DUARTE; JUNQUEIRA, 2009).

A indústria brasileira utiliza padrões físico-químicos, como demonstrado na tabela 1, para determinação da qualidade de farinhas a serem utilizadas na alimentação animal. Quanto a limites ou índices de amins biogênicas, não existem normas estabelecidas, exceto para a histamina, cuja a tolerância é de 100ppm de histamina em conservas de peixe para o consumo humano (PORTARIA 185/1997 MAPA).

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos de farinha de carne e ossos suínos

| Parâmetros físico-químicos | Especificações | |
|-----------------------------------|----------------|------|
| Proteína bruta | mín. | 46% |
| Material mineral | máx. | 33% |
| Extrato etéreo | mín. | 8% |
| Umidade | máx. | 8% |
| Acidez (mg de NaOH/g) | máx. | 6 |
| Índice de peróxido (meg/1000g) | máx. | 10 |
| Fósforo | mín. | 2,5% |
| Digestibilidade em pepsina (0,2%) | mín. | 30% |

Fonte: Adaptado de Farol, 2018.

Teores de putrefação podem ser mensurados através do teste de Éber. Contudo, este teste é apenas um indicativo, em que o escurecimento da amostra indica estado de muito decomposta (KHAJARERN; KHAJARERN, 1998) e não classifica o grau de putrefação. Para a indicação com exatidão, faz-se necessária a

determinação de aminas biogênicas e posteriormente de um índice de aceitação, por meio de cromatografia.

2. 6 Índice de aminas biogênicas

Atualmente, existem equações que estabelecem um índice de aminas biogênicas (BAI) para diferentes alimentos. Stadnik & Dolatowski (2010), ao avaliarem diferentes trabalhos envolvendo aminas biogênicas, constataram que o seu uso como índice de qualidade depende da natureza do produto. Segundo os autores, carnes frescas e produtos tratados termicamente apresentam resultados mais satisfatórios quando comparados a produtos fermentados. Os autores relataram que devem ser consideradas as aminas biogênicas que estão presentes na deterioração do produto e que a equação deve considerar as aminas que aumentam durante a armazenagem, ou seja, o índice de aminas biogênicas será dependente das aminas presentes e suas quantidades.

Para De Melo Silva et al. (2013), quanto ao índice de qualidade a ser considerado, deve-se ater à natureza e ao histórico de cada matriz, destacando que para cada processo ao qual a matriz seja submetida, há necessidade de um novo índice de qualidade. Segundo os autores, para alimentos proteicos existe uma tendência por parte de indústrias e órgãos governamentais de que se definam índices de qualidade.

São referenciadas as seguintes equações para índice de aminas biogênicas:

$$\text{BAI} = \frac{c_{\text{Him}} + c_{\text{Put}} + c_{\text{Cad}}}{1 + c_{\text{Spd}} + c_{\text{Spm}}}, \quad (1)$$

em que: Him = histamina; Put = putrescina; Cad = cadaverina; Spd = espermidina; Spm = espermina; c = concentração, mg·kg⁻¹. Utilizada por Mietz & Karmas (1977) em amostras de peixes e por Murad et al. (2013) em amostras de carne de frango;

$$\text{BAI} = \text{putrescina} + \text{cadaverina} + \text{histamina} + \text{tiramina}, \quad (2)$$

citada por Hernández-Jover et al. (1996) em amostras de carne suína (armazenada em temperaturas de 6-8°C por até 14 dias), por Veciana-Nogués et al. (1997) em amostras de carne de atum, por Cheng et al. (2016) em amostras de carne suína, e por Min et al. (2007) em carnes bovina, suína e frango;

$$\text{BAI} = \text{putrescina} + \text{cadaverina} + \text{espermidina} , \quad (3)$$

utilizada por Kumudavally et al. (2011) para carne de cordeiro (armazenada a 25°C por até 5 dias), considerando as maiores quantidades de aminas biogênicas.

Existem equações mais usuais ou indicadas para alguns produtos, no entanto, Ruiz-Capillas & Jiménez-Colmenero (2004) sugerem que estabelecer um índice de amina biogênica de maneira confiável à qualidade de produtos não é simples, principalmente naqueles que sofrem fermentação. Mas é possível constatar o uso da equação 2, em que são somadas as aminas putrescina, cadaverina, histamina e tiramina, como sendo uma referência em índice de aminas biogênicas. Entretanto, nenhuma equação descrita na literatura é específica para farinhas de origem animal.

3 Artigo 1 – Aminas biogênicas: quantificação em diferentes farinhas de origem suína e adaptação de um índice como indicador de qualidade

3.1 Introdução

Aminas biogênicas são bases orgânicas nitrogenadas não voláteis de baixo peso molecular (ALVAREZ; MORENO-ARRIBAS, 2014), que podem ser classificadas de acordo com a sua estrutura química e com o número de grupamentos amina presentes na molécula (SANTOS, 1996; ASSIS et al., 2016). São formadas durante o processo de degradação dos aminoácidos no metabolismo dos seres humanos, plantas, microrganismos e animais (OLIVO, 2013) por enzimas descarboxilases (ALVAREZ; MORENO-ARRIBAS, 2014). Além disso, podem resultar da hidrólise de substâncias nitrogenadas e da transaminação de aldeídos ou de cetonas (ASSIS et al., 2016) por bactérias envolvidas na fermentação de alimentos e bebidas (ALVAREZ; MORENO-ARRIBAS, 2014).

Alimentos ricos em proteínas, frescos ou processados, como produtos cárneos, e subprodutos de origem animal, como farinha de carne e ossos, farinha de sangue, penas e peixe (DE LA TORRE, 2013) podem apresentar grandes quantidades de aminas biogênicas, principalmente cadaverina, histamina e putrescina (SANTOS, 1996; BARNES et al., 2001; TAMIM; DOERR, 2003; KAROVIČOVÁ; KOHAJDOVÁ, 2005). O teor de aminas biogênicas nestes produtos pode variar de acordo com o tempo e com a temperatura de armazenamento, e sua formação pode ser intensificada durante o processamento de produtos contendo carne em sua composição (STADNIK; DOLATOWSKI, 2010). As aminas endógenas, espermidina e espermina, são naturalmente encontradas nos produtos cárneos, e seu teor tende a diminuir durante o processamento e não são citadas na literatura como indicadores de deterioração dos produtos (RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-

COLMENERO, 2004). Já os níveis de aminas exógenas, como cadaverina, putrescina, histamina e tiramina, são relacionados ao grau de deterioração de produtos (ERIM, 2013). Segundo Assis et al. (2016), o aumento dos teores de aminas biogênicas causa a perda de qualidade em produtos cárneos. Em 1977, Mietz & Karmas propuseram o cálculo do índice de aminas biogênicas. Este índice permite medir o grau de deterioração dos alimentos e é utilizado como indicador de sua qualidade química (DE LA TORRE, 2013).

A identificação de compostos químicos e o índice de qualidade gerado a partir de análises de carcaças e farinhas de origem animal podem ser úteis como ferramenta de controle de sua qualidade. Atualmente, as farinhas comercializadas e utilizadas na nutrição animal são produzidas a partir de resíduos de abatedouros, permitindo o destino correto desses resíduos gerados durante o processamento e reduzindo custos de produção para as agroindústrias (EYNG et al., 2011). No entanto, a manipulação e destinação dos animais que morrem por causas não infecciosas durante a produção ainda é um problema a ser solucionado, especialmente nos estados brasileiros com grandes plantéis de suínos, o que representa perdas econômicas para os produtores e cria passivos ambientais. Uma possível solução seria a destinação destes para fabricação de farinha de origem animal.

O uso de farinhas de origem animal como alimento alternativo pode agregar valor nutricional e econômico para a produção animal (FIRMAN, 2006; BUTOLO, 2010). Contudo, essa possibilidade é vetada pela legislação brasileira, a exemplo de outros países. Ainda que essa prática fosse admitida, não existem informações específicas sobre os teores de aminas biogênicas em farinhas de origem animal convencionais ou alternativas, como aquelas que eventualmente poderiam ser produzidas a partir de aves mortas.

Nesse contexto, esta pesquisa surgiu de uma necessidade da cadeia produtiva de suínos e teve o objetivo de quantificar os níveis de aminas biogênicas em farinhas produzidas a partir de matrizes suínas, mortas por causas não infecciosas, em diferentes tempos nos sistemas de produção e estabelecer um indicador único levando em consideração o conjunto das aminas analisadas para farinhas suínas.

3. 2 Materiais e métodos

3. 2. 1 Reagentes e padrões

As aminas biogênicas 2-feniletilamina (pureza $\geq 99,5\%$), putrescina (pureza $\geq 98,5\%$), cadaverina (pureza $\geq 96,5\%$), histamina (pureza $\geq 97\%$), tiramina (pureza $\geq 98,5\%$), espermidina (pureza $\geq 97,5\%$), espermina (pureza $\geq 99\%$), o padrão interno 1,7-diaminoheptano (pureza de 98%) e o derivatizante cloreto de dansila (DnsCl; pureza de 98%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os outros reagentes utilizados foram ácido perclórico (HClO_4 ; Vetec), hexano (C_6H_{14} ; Vetec), hidróxido de sódio (NaOH ; Alphatec), bicarbonato de sódio (NaHCO_3 ; Vetec), acetonitrila ($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$; JT Baker), hidróxido de amônio (NH_4OH ; Vetec), cloreto de sódio (NaCl ; ProQuímicos), éter etílico ($(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$; Impex), e ácido clorídrico (HCl ; Qhemis). Os reagentes usados nas análises cromatográficas foram de grau HPLC e para as demais análises foram utilizados reagentes de grau analítico. A água ultrapura foi preparada usando o sistema Milli-Q (Millipore A10; Billerica, MA, USA).

3. 2. 2 Obtenção das amostras

Esta pesquisa visou ser o mais aplicável possível e, por isso, analisou grupos com amostras de farinha de suínos, de acordo com a origem: Grupo 1 - Farinha produzida sob condições experimentais; Grupo 2 - Farinha produzida a partir de animais mortos por causas não infecciosas coletados a campo, e produzida em indústria de produção de farinhas, seguindo os padrões industriais, mediante autorização especial concedida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA); Grupo 3 - Farinha de origem animal, comercial, produzida de acordo com a legislação brasileira.

3. 2. 2. 1 Grupo 1 - Farinha de suínos produzida experimentalmente

O experimento foi realizado no Setor de Sanidade Animal da Embrapa Suínos e Aves, no município de Concórdia, Santa Catarina (SC), Brasil (27°14'02"S, 52°01'40"O e altitude de 550m), como parte dos estudos vinculados ao projeto "Tecnologias para Destinação de Animais Mortos" (TEC-DAM). Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal da referida instituição (protocolo número 008/2016).

O delineamento experimental foi completamente casualizado em esquema de parcelas subdivididas. A parcela principal consistiu de armazenamento em temperatura ambiente (TA) ou sob refrigeração (TR), e as subparcelas de tempos de armazenamento (24, 48 e 72 horas). O tempo zero correspondeu ao grupo controle.

Foram selecionadas matrizes suínas, com peso médio de 200kg, para serem abatidas. No dia do abate, foram processadas e coletadas amostras de farinhas que representaram o grupo controle. As demais carcaças foram armazenadas em câmara fria, a uma temperatura média de -6°C, e outro grupo em temperatura ambiente de 25°C. Após o tempo estipulado (24, 48 e 72 horas), os animais inteiros foram processados por meio de moagem da carcaça e homogeneizados formando uma única massa. A partir da massa crua foi realizado o procedimento de cocção em autoclave industrial, buscando seguir o mais próximo possível o processo industrial de farinhas de origem animal. Para a cocção foram utilizados aproximadamente 14kg de massa acrescida de 30% de óleo vegetal com cozimento a 115°C por 50 minutos, sob pressão. A adição de gordura é usual na indústria e, neste experimento, optou-se por usar gordura vegetal para evitar uma eventual presença de aminas na gordura de origem animal. A massa cozida passou pelo processo de separação da fração sólida da gordura, primeiramente através de percolador seguida de prensagem. Subsequentemente, após a produção de farinhas de cada tratamento, foram coletadas amostras de 4kg, identificadas e mantidas em câmara fria, sob temperatura média de -7°C, durante o período de análise.

3. 2. 2. 2 Grupos 2 e 3 - Farinhas de suínos produzidas por empresa dedicada à condição especial e por empresas comerciais

Grupo 2 - No estado de Santa Catarina, no município de Seara (27°08'56"S, 52°18'39"O e altitude de 550m), existe um projeto denominado "Projeto Piloto" para recolhimento de animais mortos não abatidos de propriedades da região, que possui autorização especial concedida pelo MAPA, tendo com órgão apoiador o serviço de vigilância sanitária do estado de Santa Catarina. Com este projeto os coordenadores têm por objetivo a fabricação de farinhas a partir de animais mortos. O destino final desta farinha é a produção de fertilizantes agrícolas, devido à falta de informações quanto ao uso e inocuidade desta para a alimentação animal. Foram coletadas, durante o período de março a setembro de 2017, 40 amostras de 4kg de farinhas, identificadas e mantidas em câmara fria, sob temperatura média de -7°C, durante o período de análise.

Grupo 3 - Em paralelo, foram realizadas coletas em empresas comerciais com inspeção sanitária federal que produzem farinhas de origem animal, a partir de matéria-prima convencional (resíduos de abatedouros de suínos), para a comercialização e utilização na alimentação animal. Nessa etapa, foram coletadas 33 amostras de 4kg de farinhas comerciais na região sul do Brasil, durante os anos de 2016 e 2017. Todas as amostras após recebimento foram identificadas e mantidas em câmara fria, sob temperatura média de -7°C, durante o período de análise.

As amostras coletadas tanto na empresa dedicada ao processamento de animais não abatidos como em empresas comerciais foram usadas durante a etapa de validação do método (SMĚLÁ et al., 2003) de quantificação de aminas biogênicas e os resultados obtidos foram divulgados através de documento público editado pela Embrapa, a pedido e em apoio ao MAPA (BEDENDO et al., 2018). Essas informações foram usadas neste artigo para a adaptação do índice de aminas biogênicas como indicador de qualidade da farinha de origem suína.

3. 2. 3 Quantificação de aminas biogênicas por HPLC

3. 2. 3. 1 Preparo da amostra

As aminas biogênicas foram quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência usando o método de Smělá et al. (2003) com modificações. Foram

pesados 5 g (\pm 0,099 g) de farinha em balança de precisão. As amostras foram colocadas em tubos, onde foi adicionado o padrão interno (1,7-diaminoheptano) na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$. Os tubos foram agitados em vórtex por três minutos e deixado em repouso entre 12 e 14 horas.

A extração das aminas biogênicas foi realizada em frações de 15 e 10 mL com a adição de ácido perclórico (0,6 M), agitação em vórtex por três minutos, centrifugação a 3.500 rpm por 30 minutos, filtração com seringa e filtro de 0,45 μm para balão volumétrico e o volume de 25 mL foi completado com ácido perclórico.

A extração da gordura da amostra foi realizada em uma alíquota de 3 mL da solução filtrada com 6 mL de hexano e agitação em vórtex por dois minutos. Após a agitação, as amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm por dois minutos. A fase orgânica superior foi descartada e a operação repetida.

3. 2. 3. 2 Processo de derivatização

A partir da solução desengordurada, retirou-se uma alíquota de 1 mL para o procedimento de derivatização. Foram adicionados aos tubos 0,5 mL do tampão NaOH (2N):NaHCO₃ (saturado) (2:3, v/v) e, a seguir, 2 mL de cloreto de dansila solubilizado em acetonitrila na concentração de 5 mg/mL. A mistura foi agitada em vórtex por um minuto e mantida em repouso no escuro por uma hora. Aos 30 minutos de repouso, as amostras foram agitadas por 30 segundos, sendo posteriormente adicionado 0,1 mL de NH₄OH (28-30%), novamente agitadas em vórtex por 30 segundos e deixadas em repouso no escuro por 30 minutos.

Posteriormente, foi realizada a extração líquido-líquido com a adição de 1 mL de NaCl saturado e 0,5 mL de éter etílico, agitação em vórtex por 30 segundos e extração da fase orgânica superior. A adição do éter etílico foi realizada por mais duas vezes. As três frações etílicas foram agregadas em um único tubo. Em seguida, evaporou-se por completo o éter etílico em atmosfera inerte em nitrogênio e aquecimento a 55°C. O conteúdo seco foi ressuspensionado em 1 mL de acetonitrila, agitando em vórtex até solubilização completa e filtrado em filtro de 0,22 μm diretamente para os vials e submetidos à análise cromatográfica.

3. 2. 3. 3 Análise cromatográfica

As amostras foram quantificadas por HPLC Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fischer Scientific;), com detector UV-visível a 254nm, equipado com bomba multicanal e injetor automático, utilizando coluna de fase reversa C18 (150 x 4,6mm x 5µm; Thermo Fischer Scientific), acoplada a pré-coluna C18 (10 x 4,6mm, 5µm; Thermo Fischer Scientific).

A fase móvel consistiu em água (solvente A) e acetonitrila (solvente B). O seguinte gradiente de eluição foi usado: A/B 35:65 (zero minutos), 35:65 (um minuto), 20:80 (10 minutos), 10:90 (12 minutos), 0:100 (16 minutos), 0:100 (23 minutos), 35:65 (23,1 minutos) e 35:65 (25 minutos), com fluxo constante de 0,8mL/min e tempo total de corrida de 30 minutos.

3. 2. 3. 4 Eficiência do método

As soluções estoque de cada padrão das aminas biogênicas foram pesadas na concentração de 1 mg/mL (\pm 0,05 mg) em HCl 0,1 M em balão volumétrico e mantidos refrigerados entre 2-8°C. A partir dessas soluções estoque, foram preparados mix de padrões contendo cada amina biogênica nas faixas de concentração de 0,5; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; e 25,0 µg/mL e o padrão interno na concentração constante de 10 µg/mL. Uma alíquota de 1 mL de cada mix foi transferida para tubo de 15mL e em seguida foi realizado o procedimento de derivação, conforme descrito anteriormente.

A concentração de aminas biogênicas nas amostras foi obtida por cálculo da relação da área do pico da amostra com a área do padrão interno e usando equações de regressão lineares da curva padrão de cada amina. Os resultados foram expressos em µg g⁻¹ para cada amina biogênica. A repetibilidade dentro do dia e entre dias foi avaliada com adição de uma mistura de padrões sobre a amostra em concentração mediana da faixa de trabalho (Tabela 2).

Tabela 2 – Variação linear, limites de detecção e quantificação, e repetibilidade do método analítico

| Amina biogênica | Faixa linear de trabalho (µg/mL) | LOD ¹ (µg/mL) | LOQ ² (µg/mL) | Repetibilidade (%) dentro do dia* | Repetibilidade (%) entre dias* |
|-----------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Feniletilamina | 0,5 - 25 | 0,0051 | 0,0127 | 11,3 \pm 0,6 | 13,2 \pm 0,1 |
| Putrescina | 0,5 - 25 | 0,0054 | 0,0134 | 3,4 \pm 0,9 | 5,9 \pm 0,5 |

| | | | | | |
|-------------|----------|--------|--------|-----------|------------|
| Cadaverina | 0,5 - 25 | 0,0052 | 0,0130 | 5,6 ± 0,8 | 2,5 ± 0,2 |
| Histamina | 0,5 - 25 | 0,0047 | 0,0117 | 9,8 ± 0,2 | 5,0 ± 0,1 |
| Tiramina | 0,5 - 25 | 0,0046 | 0,0114 | 8,7 ± 0,6 | 5,3 ± 0,1 |
| Espermidina | 0,5 - 25 | 0,0052 | 0,0130 | 6,2 ± 0,4 | 12,3 ± 0,3 |
| Espermina | 0,5 - 25 | 0,0052 | 0,0131 | 7,5 ± 0,2 | 15,2 ± 0,1 |

¹LOD = Limite de detecção; ²LOQ = Limite de quantificação. *Média ± erro padrão.

Para avaliar a acurácia do método proposto, foram realizados novos ensaios para verificação dos parâmetros de mérito das amostras de farinha comercial. As amostras utilizadas eram isentas de aditivos e conservantes. Assim, a acurácia foi obtida por meio de ensaios de recuperação a partir da adição de padrão em três concentrações (1, 10 e 20 µg/mL) de aminas biogênicas da faixa de trabalho. Os testes foram executados tanto para farinhas elaboradas no experimento quanto para as farinhas comerciais (Tabela 3). Os parâmetros de mérito para validação do método foram satisfatórios perante a complexidade da matriz estudada.

Tabela 3 – Acurácia do método analítico aferido em diferentes concentrações para farinhas de suínos produzidas experimentalmente frente a farinhas obtidas junto a empresas comerciais

| Amina biogênica | Recuperação (%) | | | |
|-----------------|--|-------------|-----------------------------|--------------|
| | Farinha de suínos elaborada no experimento | | Farinha de suínos comercial | |
| | 1 µg/mL | 10 µg/mL | 20 µg/mL | 10 µg/mL |
| Feniletilamina | 96,9 ± 1,2* | 85,1 ± 1,3 | 112,3 ± 1,9 | 80,9 ± 3,6 |
| Putrescina | 106,4 ± 2,8 | 104,5 ± 0,9 | 103,6 ± 0,6 | 108,9 ± 12,0 |
| Cadaverina | 80,6 ± 12,4 | 91,5 ± 0,1 | 92,1 ± 3,5 | 107,0 ± 11,9 |
| Histamina | 101,7 ± 4,3 | 100,9 ± 0,3 | 100,2 ± 1,3 | 91,9 ± 5,4 |
| Tiramina | 90,1 ± 4,4 | 87,2 ± 4,5 | 83,3 ± 1,5 | 53,0 ± 6,0 |
| Espermidina | 83,1 ± 13,2 | 125,5 ± 4,0 | 111,8 ± 3,6 | 82,7 ± 13,5 |
| Espermina | 74,6 ± 8,4 | 65,1 ± 0,3 | 121,6 ± 6,6 | 51,0 ± 16,5 |

*Média ± erro padrão.

3. 2. 3. 5 Presença de formaldeído

Devido à diversidade de fontes das amostras comerciais analisadas, para caracterização da amostra e garantia do resultado, foi realizada a análise

quantitativa do formaldeído em todas as amostras comerciais, segundo método proposto por Zegota (1999).

Para determinar se o formaldeído interfere na acurácia do método proposto, as amostras comerciais foram testadas na presença e ausência de formaldeído. Todas as amostras foram dopadas com 10 µg/mL de cada amina e 10 µg/mL de padrão interno.

3. 2. 3. 6 Índice de aminas biogênicas

Para determinar o índice de aminas biogênicas (BAI), os níveis de aminas biogênicas das farinhas de suínos foram testados usando três equações. A primeira equação já foi utilizada para amostras de peixes (MIETZ; KARMAS, 1977) e carne de frango (MURAD et al., 2013):

$$BAI = \frac{cHim + cPut + cCad}{1 + cSpd + cSpm} , \quad (1)$$

em que: Him = histamina; Put = putrescina; Cad = cadaverina; Spd = espermidina; Spm = espermina; c = concentração, mg·kg⁻¹.

Para indicar a qualidade dos produtos oriundos de peixes, foram estabelecidas as seguintes classes: Classe 1, com índices de 0-1ppm, corresponde a boa qualidade; Classe 2, com valores de 1-10 ppm, o limite aceitável; e Classe 3, com valores superiores a 10 ppm, considerado como produtos com elevado grau de decomposição (MIETZ; KARMAS, 1977).

Na sequência foi aplicada a equação 2, como descrito abaixo:

$$BAI = \text{putrescina} + \text{cadaverina} + \text{histamina} + \text{tiramina} \quad (2)$$

A equação 2 já foi utilizada em amostras de carne suína armazenada em temperatura 6-8°C até 14 dias (HERNÁNDEZ-JOVER et al., 1996) e atum (VECIANA-NOGUÉS et al., 1997). Recentemente, foi novamente testada em amostras de carne suína (CHENG et al., 2016), carnes bovina, suína e de frango (MIN et al., 2007). Hernández-Jover et al. (1996), ao usarem a equação 2 em amostras de carne, estabeleceram as seguintes classes de qualidade: valores de

BAI < 5 mg/kg, boa qualidade; 5-20 mg/kg, sinais iniciais de deterioração; 20-50 mg/kg, baixa qualidade; e > 50 mg/kg, carne deteriorada.

A partir dos resultados encontrados durante a adequação do método e também após análise das farinhas elaboradas experimentalmente com carcaça suína foi constatada, além das aminas já reportadas por Hernández-Jover et al. (1996), a presença da feniletilamina, a qual sofreu influência durante o processo de armazenamento. Assim, foi adaptada a fórmula sugerida por Hernández-Jover et al. (1996), com acréscimo da feniletilamina, conforme a equação 2b:

$$\text{BAI} = \text{putrescina} + \text{cadaverina} + \text{histamina} + \text{tiramina} + \text{feniletilamina} \quad (2b)$$

3. 2. 4 Análise estatística

Para as farinhas do Grupo 1, produzidas experimentalmente, os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, à homocedasticidade pelo teste de Hartley, e a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ($p \leq 0,05$). Constatando-se significância estatística, o efeito do acondicionamento foi comparado pelo teste t ($p \leq 0,05$). Os efeitos do tempo (horas) foram avaliados por modelos de regressão ($p \leq 0,05$), conforme segue:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i \quad (4)$$

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + \varepsilon_i, \quad (5)$$

em que: Y_i = variável resposta; β_0 = variável resposta correspondente ao ponto mínimo da curva; β_1 e β_2 = coeficientes de regressão de efeito linear e quadrático, respectivamente; X_i = i-ésimo nível da variável independente (horas); X_i^2 = i-ésimo nível da variável independente ao quadrado; ε_i = erro aleatório. A seleção do modelo foi baseada no baixo resíduo, baixo p -valor, e altos R^2 (coeficiente de determinação) e R^2 *adj* (coeficiente de determinação ajustado).

Os dados referentes ao índice de aminas biogênicas (BAI) foram determinados pelas equações 1, 2 e 2b em cada tempo e condição de armazenamento e também, de forma geral, considerando todo o experimento. Para isso foi utilizada a análise descritiva, incluindo média, erro padrão, desvio padrão, valores mínimos e máximos e coeficiente de variação (CV). A comparação entre as farinhas foi realizada graficamente a partir do uso da análise descritiva para cada equação.

3.3 Resultados

3.3.1 Presença de formaldeído

A presença de formaldeído aumentou significativamente ($p < 0,05$) a recuperação de espermidina e espermina sob as condições de extração e derivatização estabelecidos. No entanto, esse efeito não foi observado para as demais aminas analisadas (Tabela 4).

Tabela 4 – Recuperação dos níveis de aminas biogênicas (média \pm erro padrão) na presença e ausência do formaldeído em amostras de farinha de suínos

| Amina biogênica | Recuperação (%) | |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| | Presença de formaldeído* | Ausência de formaldeído* |
| Feniletilamina | 83,0 \pm 19,6 a | 75,8 \pm 22,1 a |
| Putrescina | 109,4 \pm 22,8 a | 112,5 \pm 12,8 a |
| Cadaverina | 101,7 \pm 26,2 a | 111,6 \pm 17,2 a |
| Histamina | 89,0 \pm 21,4 a | 98,4 \pm 10,2 a |
| Tiramina | 74,7 \pm 15,6 a | 69,3 \pm 12,7 a |
| Espermidina | 21,7 \pm 8,1 a | 79,8 \pm 15,4 b |
| Espermina | 7,9 \pm 2,2 a | 58,0 \pm 26,8 b |

*Médias seguidas de letras diferentes nas linhas indicam diferença significativa ($p < 0,05$)

3.3.2 Quantificação de aminas biogênicas em farinha de suínos do Grupo 1, elaborada experimentalmente

Os testes de normalidade, homocedasticidade e independência de resíduos foram atendidos e evidenciaram não ser necessária a transformação dos dados. Foi detectada interação entre temperatura e tempo de armazenamento para os teores de feniletilamina ($F = 210,25$, $p < 0,0001$); putrescina ($F = 268,56$, $p < 0,0001$); cadaverina ($F = 46,02$, $p < 0,0001$); histamina ($F = 14,04$, $p < 0,0001$); tiramina ($F = 376,16$, $p < 0,001$); espermidina ($F = 2,80$, $p = 0,04$) e espermina ($F = 9,20$, $p < 0,0001$), como indicado na tabela 5 e nas figuras 3 e 4.

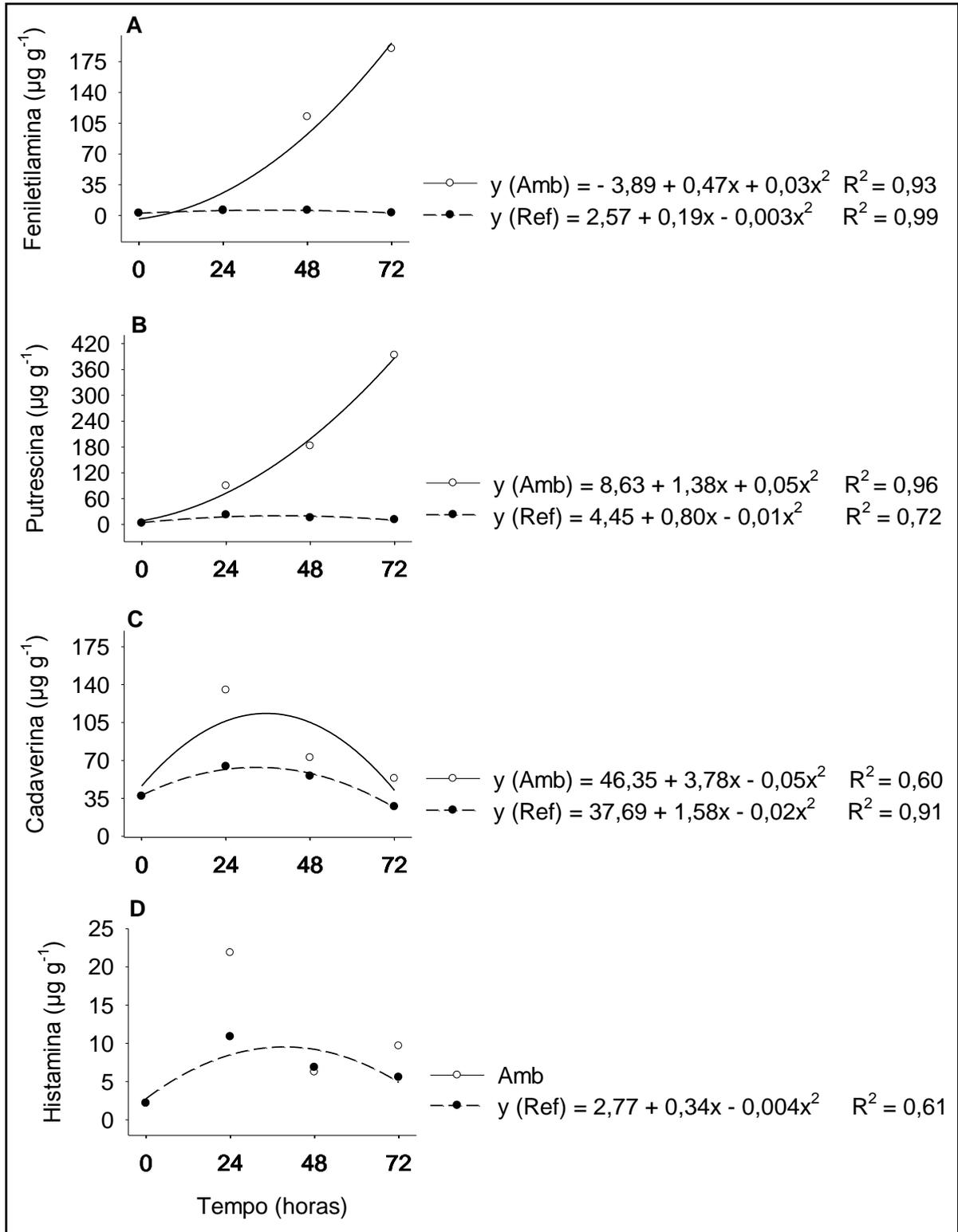


Figura 3 - Teores de feniletilamina (A), putrescina (B), cadaverina (C) e histamina (D) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas oriundas de matrizes suínas armazenadas em temperatura ambiente (Amb: 25°C) e refrigerada (Ref: -6°C) por diferentes tempos (0, 24, 48 e 72 horas).

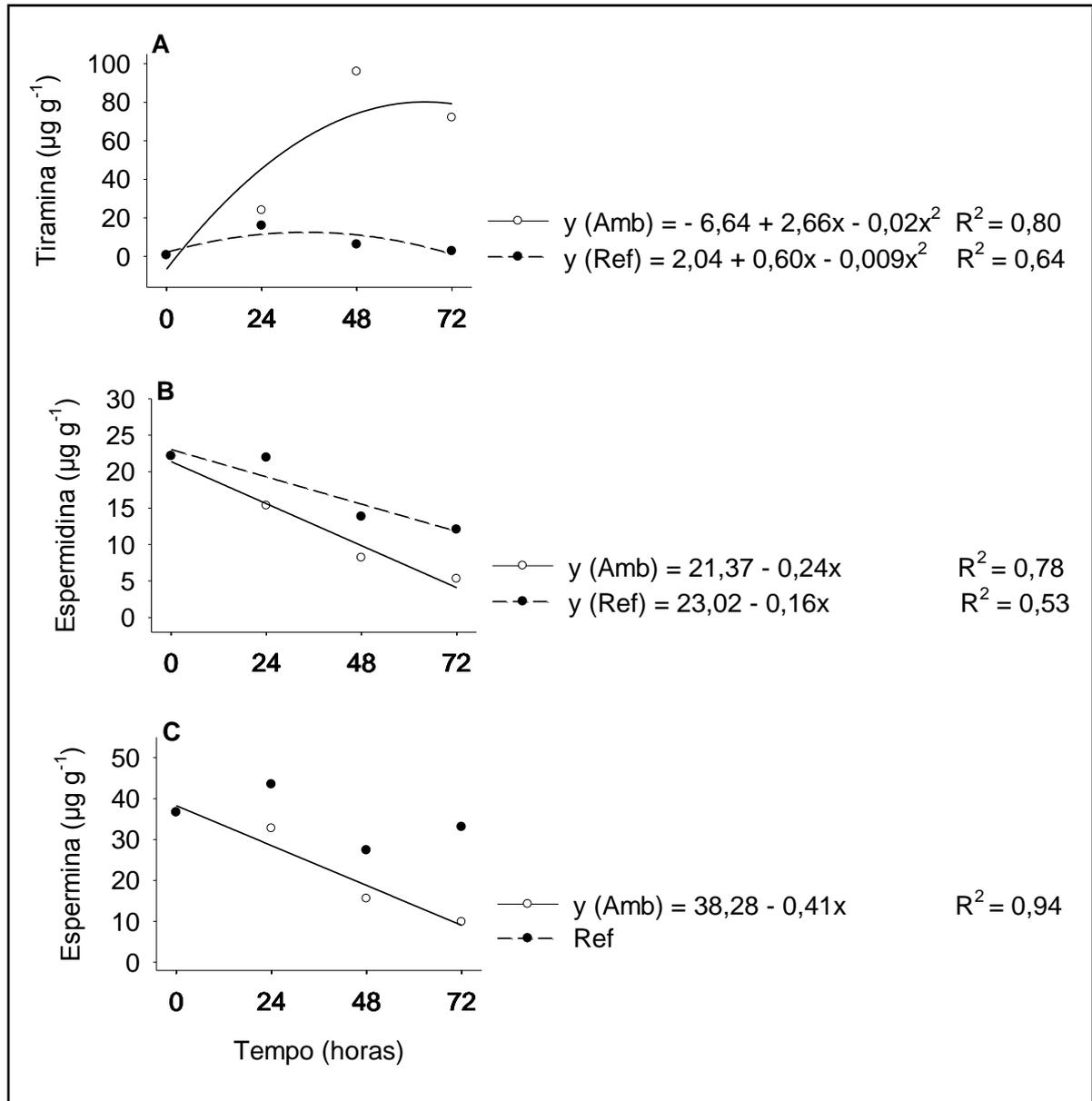


Figura 4 - Teores de tiramina (A), espermidina (B) e espermina (C) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas oriundas de matrizes suínas armazenadas em temperatura ambiente (Amb: 25°C) e refrigerada (Ref: -6°C) por diferentes tempos (0, 24, 48 e 72 horas).

Tabela 5 – Teores de aminas biogênicas ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas de matrizes suínas mortas e submetidas a diferentes tempos após armazenamento em temperatura ambiente (25°C) e refrigerada (-6°C)

| Aminas biogênicas ($\mu\text{g g}^{-1}$) | Tempo (horas) | | | | | | | |
|--|---------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| | 0 | | 24 | | 48 | | 72 | |
| | Condição de armazenamento | | | | | | | |
| | Ambiente | Refrigerado | Ambiente | Refrigerado | Ambiente | Refrigerado | Ambiente | Refrigerado |
| Feniletilamina | 2,61 \pm 0,25 a* | 2,61 \pm 0,25 a | 6,44 \pm 0,93 a | 5,56 \pm 0,26 a | 112,17 \pm 8,68 a | 5,91 \pm 0,68 b | 189,80 \pm 8,23 a | 2,94 \pm 0,46 b |
| Putrescina | 3,04 \pm 0,35 a | 3,04 \pm 0,35 a | 89,56 \pm 6,65 a | 22,08 \pm 0,25 b | 182,27 \pm 10,77 a | 15,42 \pm 1,32 b | 393,05 \pm 15,82 a | 11,13 \pm 0,96 b |
| Cadaverina | 36,83 \pm 1,64 a | 36,83 \pm 1,64 a | 134,99 \pm 7,40 a | 64,37 \pm 1,13 b | 72,51 \pm 1,98 a | 55,41 \pm 2,13 b | 53,25 \pm 2,59 a | 27,16 \pm 1,33 b |
| Histamina | 2,18 \pm 0,34 a | 2,18 \pm 0,34 a | 21,85 \pm 1,70 a | 10,86 \pm 0,47 b | 6,24 \pm 0,33 a | 6,86 \pm 0,34 a | 9,66 \pm 1,58 a | 5,56 \pm 0,87 b |
| Tiramina | 0,57 \pm 0,19 a | 0,57 \pm 0,19 a | 23,85 \pm 2,29 a | 15,89 \pm 0,46 b | 95,77 \pm 3,35 a | 6,09 \pm 0,56 b | 71,94 \pm 1,58 a | 2,70 \pm 0,37 b |
| Espermidina | 22,12 \pm 2,35 a | 22,12 \pm 2,35 a | 15,31 \pm 0,62 b | 21,91 \pm 0,64 a | 8,18 \pm 0,29 b | 13,81 \pm 0,97 a | 5,29 \pm 0,22 b | 12,05 \pm 0,61 a |
| Espermina | 36,59 \pm 3,48 a | 36,59 \pm 3,48 a | 32,69 \pm 1,56 b | 43,45 \pm 0,96 a | 15,53 \pm 0,86 b | 27,34 \pm 1,88 a | 9,81 \pm 0,52 b | 33,04 \pm 2,64 a |

*Médias (\pm erro padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando as condições de armazenamentos em cada tempo.

Às 48 e 72 horas de armazenamento, foram verificadas diferenças significativas entre temperaturas de armazenamento para o teor de feniletilamina (Tabela 5). Na comparação do tempo, ajustou-se um modelo de regressão polinomial quadrático para o armazenamento em temperatura ambiente (TA) ($F = 184,8630$, $gl = 2$, $p < 0,0001$) e temperatura resfriada (TR) ($F = 173,6486$, $gl = 2$, $p = 0,05$) (Figura 3A). Sob TA, o teor de feniletilamina aumentou 111,3% entre 48 e 72 horas de armazenamento, mas sob TR houve redução de 11,6 e 87,1% entre 24 e 48 horas e 24 e 72 horas, respectivamente (Figura 3A). Derivando-se os modelos matemáticos, o máximo teor de feniletilamina foi obtido às 7,8 horas em TA e 31,7 horas em TR.

Os teores de putrescina medidos às 24, 48 e 72 horas foram significativamente diferentes entre TA e TR (Tabela 5). Os tempos de armazenamento foram comparados segundo modelos de regressão polinomial quadrática ajustados para TA ($F = 346,1528$, $gl = 2$, $p < 0,0001$) e TR ($F = 37,0013$, $gl = 2$, $p < 0,0001$). Entre 48 e 72 horas, o teor de putrescina aumentou em 93,2% em TA e diminuiu em 48,5% em TR (Figura 3B). O máximo teor de putrescina foi obtido às 13,8 horas em TA e 40 horas em TR.

O teor de cadaverina medido às 24, 48 e 72 horas foi estatisticamente diferente entre temperaturas de armazenamento (Tabela 5). Os tempos de armazenamento foram comparados segundo modelos de regressão polinomial quadrática ajustados para TA ($F = 19,8999$, $gl = 2$, $p < 0,0001$) e TR ($F = 142,1211$, $gl = 2$, $p < 0,0001$) (Figura 3C). Os maiores acréscimos, de 133,6 e 142,9%, foram obtidos entre zero e 24 horas e entre zero e 48 horas, respectivamente, em TA e de 70,0 e 78,9% durante os mesmos períodos em TR. O máximo teor de cadaverina foi obtido às 37,8 horas em TA e 39,5 horas em TR.

O teor de histamina diferiu estatisticamente entre temperaturas de armazenamento medido às 24, 48 e 72 horas (Tabela 5). Os tempos de armazenamento foram comparados segundo modelos de regressão polinomial quadrática ajustados para TR ($F = 18,9891$, $gl = 2$, $p < 0,0001$), mas não foi possível ajustar modelo de regressão para TA (Figura 3D). O máximo teor de histamina em TR foi obtido às 42,5 horas, cujo valor foi 79,0% maior que o medido às 24 horas.

O teor de tiramina medido às 24, 48 e 72 horas foi estatisticamente diferente entre TA e TR (Tabela 5). Os tempos de armazenamento foram comparados segundo modelos de regressão polinomial quadrática ajustados para TA ($F =$

57,2986, $gl = 2$, $p < 0,0001$) e TR ($F = 23,9910$, $gl = 2$, $p < 0,0001$) (Figura 4A). O teor de tiramina aumentou em 64,1% e 77,8% entre 24 e 48 horas e entre 24 e 72 horas em TA, respectivamente. O máximo teor de tiramina foi obtido às 66,5 horas em TA e 33,3 horas em TR.

Os teores de espermidina medidos às 24, 48 e 72 horas foram significativamente diferentes entre TA e TR (Tabela 5). No entanto, diferente das demais aminas avaliadas, os teores de espermidina foram inferiores em TA em comparação TR. Os tempos de armazenamento foram comparados segundo modelos de regressão polinomial quadrática ajustados para TA ($F = 105,3341$, $gl = 2$, $p < 0,0001$) e TR ($F = 26,8189$, $gl = 2$, $p < 0,0001$) (Figura 4B). Em TA, houve redução de 26,9, 53,9 e 80,8% às 24, 48 e 72 horas em comparação com o tempo zero, respectivamente, enquanto que em TR a redução observada foi de 16,7, 33,4 e 50,0% nos mesmos períodos. O máximo teor de espermidina foi obtido às 2,6 horas em TA e 1,8 horas em TR.

A espermina apresentou comportamento similar à espermidina, com valores inferiores em TA do que em TR. Os tempos de armazenamento foram comparados segundo modelos de regressão polinomial quadrática ajustados para TA ($F = 30,3529$, $gl = 2$, $p = 0,0314$), com decréscimos de 25,7, 51,4 e 77,1% às 24, 48 e 72 horas em relação ao tempo zero, respectivamente (Tabela 5). No entanto, não foi possível ajustar modelo de regressão para TR (Figura 4C). O máximo teor de espermina foi obtido às 7,8 horas em TA.

3. 3. 3 Índice de aminas biogênicas (BAI)

Os índices de aminas biogênicas calculados demonstraram diferenças para o armazenamento, com valores absolutos superiores obtidos em TA (Tabela 6). Analisando o armazenamento em temperatura ambiente ao longo do tempo, os valores dos índices aumentaram, independentemente das fórmulas de cálculo aplicadas. Considerando a equação 1, relativa à espermidina e à espermina, o armazenamento superior a 24 horas foi considerado classe 3, ou seja, estágio de decomposição. Adotando a equação 2, a classificação foi de deteriorada dentro do período de 24 horas (Tabela 7).

Tabela 6 – Índice de aminos biogênicas (BAI) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas de matrizes suínas mortas e submetidas a diferentes tempos após armazenamento em temperatura ambiente (25°C) e refrigerada (-6°C)

| BAI ($\mu\text{g g}^{-1}$) | Tempo (horas) | | | | | | | |
|------------------------------|---------------------------|--------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|--------------|
| | 0 | | 24 | | 48 | | 72 | |
| | Condição de armazenamento | | | | | | | |
| | Ambiente | Refrigerado | Ambiente | Refrigerado | Ambiente | Refrigerado | Ambiente | Refrigerado |
| Equação 1 ¹ | 0,75 ± 0,21* | 0,75 ± 0,21 | 5,02 ± 0,67 | 1,51 ± 0,06 | 11,31 ± 2,35 | 1,81 ± 0,19 | 28,27 ± 5,40 | 0,96 ± 0,11 |
| Equação 2 ² | 42,63 ± 6,21 | 42,63 ± 6,21 | 270,26 ± 50,45 | 112,68 ± 6,65 | 365,50 ± 29,50 | 87,10 ± 13,13 | 518,17 ± 50,90 | 44,48 ± 7,65 |
| Equação 2b ³ | 45,24 ± 6,62 | 45,24 ± 6,62 | 276,70 ± 52,50 | 117,01 ± 6,77 | 481,88 ± 52,48 | 97,00 ± 13,92 | 705,74 ± 70,75 | 47,06 ± 8,86 |

¹Equação 1: Mietz & Karmas (1977); ²Equação 2: Hernández-Jover et al. (1996); ³Equação 2b: adaptada de Hernández-Jover et al. (1996), com acréscimo da feniletilamina. *Médias ± erro padrão.

Tabela 7 – Análise descritiva geral das equações para o índice aminos biogênicas (BAI) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas de matrizes suínas mortas e submetidas a diferentes tempos após armazenamento em temperatura ambiente (25°C) e refrigerada (-6°C)

| Análise descritiva | Equação 1 ¹ | Equação 2 ² | Equação 2b ³ |
|--------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| Número de amostras | 53 | 55 | 53 |
| Média | 6,62 | 189,24 | 235,97 |
| Valor mínimo | 0,49 | 33,73 | 36,19 |
| Valor máximo | 36,22 | 581,98 | 788,14 |
| CV (%)* | 142,51 | 91,66 | 101,19 |

*CV: Coeficiente de variação. ¹Equação 1: Mietz & Karmas (1977); ²Equação 2: Hernández-Jover et al. (1996); ³Equação 2b: adaptada de Hernández-Jover et al. (1996), com acréscimo da feniletilamina.

O índice (BAI) das farinhas comerciais (amostras Grupo 3) (Figura 5) e farinhas produzidas experimentalmente (amostras Grupo 1) foi semelhante até 24 horas após a morte de animais por causas não infecciosas em temperatura refrigerada (Tabela 6). Entretanto, os BAI das farinhas produzidas experimentalmente (amostras do Grupo 1) com o tempo superior de 24 horas de armazenamento em temperatura ambiente foram semelhantes com as farinhas do Projeto Piloto (amostras Grupo 2) (Tabela 6 e Figura 5).

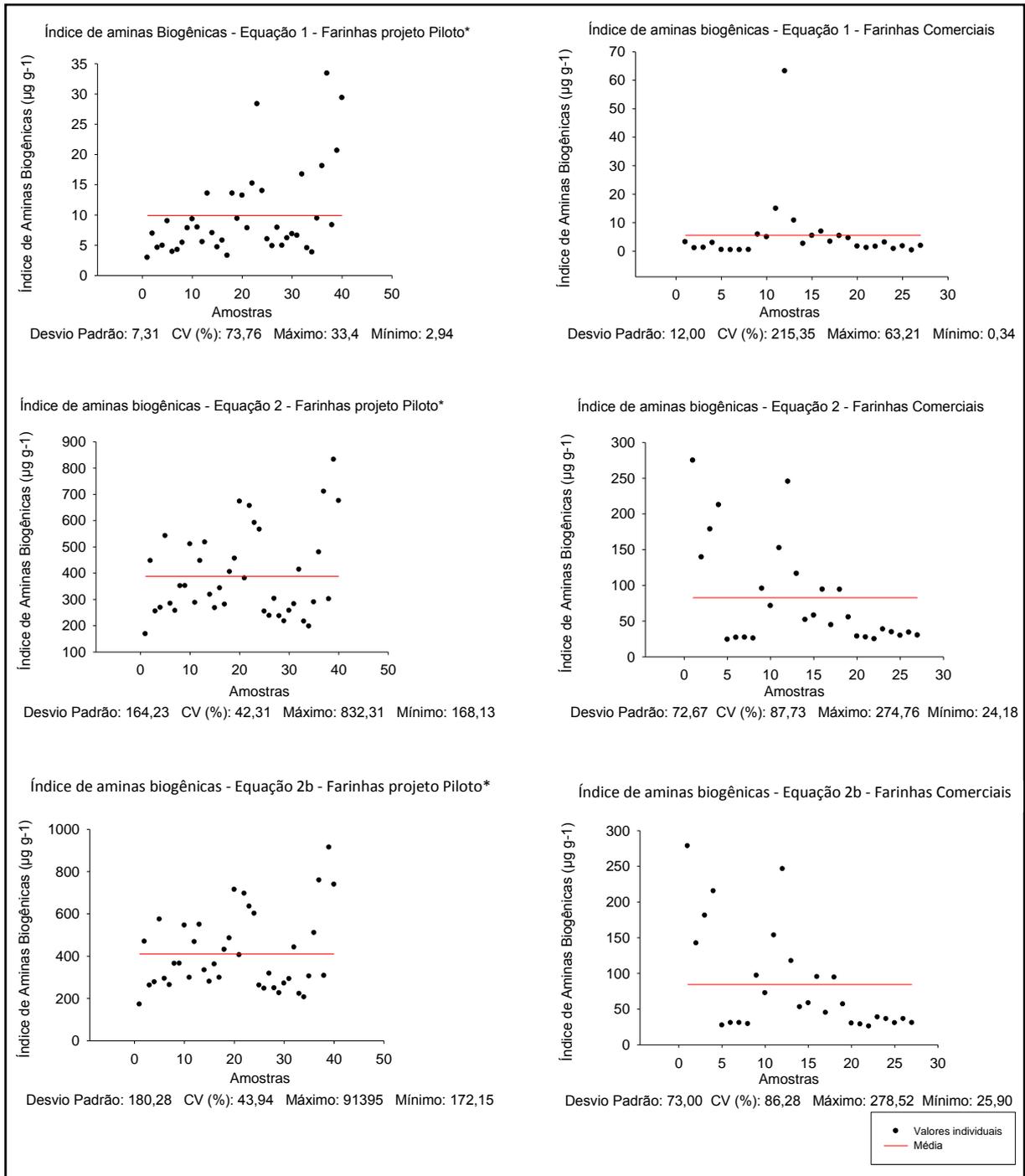


Figura 5 - Índice de aaminas biogênicas (BAI) ($\mu\text{g g}^{-1}$) de farinhas comerciais e produzidas em unidade dedicada a processamento de suínos não abatidos coletadas em granjas (projeto Piloto*). Equação 1: Mietz & Karmas (1977); Equação 2: Hernández-Jover et al. (1996); Equação 2b: adaptada de Hernández-Jover et al. (1996), com acréscimo da feniletilamina.

3. 4 Discussão

A acumulação de aminas biogênicas em determinados produtos demanda a associação de alguns fatores predisponentes, como a ocorrência de microrganismos portadores de enzimas descarboxilases, disponibilidade de aminoácidos precursores, condições ambientais favoráveis para o crescimento ou atividade de microrganismos aminogênicos e fatores tecnológicos. Dentro das condições ambientais, a temperatura e o tempo de armazenamento provavelmente têm grande impacto no crescimento de microrganismos de deterioração, que produzem compostos descarboxilantes, podendo influenciar qualitativa e quantitativamente a produção de aminas biogênicas (GARDINI et al., 2016).

A diferença de valores entre putrescina e cadaverina está associada à sua formação. A cadaverina é originada a partir de lisina independentemente do conteúdo bacteriano. A putrescina é produzida a partir da arginina e é mais suscetível à descarboxilação bacteriana que a cadaverina (DAINTY et al., 1986). Os dados do presente estudo indicam a presença mais prolongada de substrato para a formação de putrescina e redução de substrato (lisina) para formação de cadaverina. Fato similar à cadaverina ocorre no processo de formação de histamina a partir de histidina. Embora não tenha sido feita a contagem de bactérias das farinhas avaliadas, com base em estudos publicados e nos resultados obtidos, pode-se inferir que existiu alta atividade de processos de descarboxilases, gerando os altos índices de putrescina (KAROVIČOVÁ; KOHAJDOVÁ, 2005; FRAQUEZA et al., 2012).

Por outro lado, os dados do presente estudo não corroboram com Tamim & Doer (2003), que ao analisarem carcaça de frangos observaram maiores valores de cadaverina em comparação à putrescina, podendo esta diferença estar associada à matriz analisada e à composição bacteriana presente durante o processo de formação das aminas biogênicas.

Os valores de feniletilamina aumentaram ao longo do tempo em farinhas armazenadas em temperatura ambiente (Figura 3A) (amostras Grupo 1). Tamim & Doer (2003) também registraram comportamento similar em carcaças de frango armazenadas durante 72 horas em temperatura de armazenamento de 30°C. A histamina e tiramina, consideradas tóxicas, apresentaram seus maiores teores em farinhas de carcaças armazenadas em temperatura ambiente. No entanto, os teores

de histamina e tiramina foram menores que os de feniletilamina, putrescina e cadaverina ao longo do tempo em temperatura ambiente. Entretanto, essas últimas podem potencializar o efeito de toxicidade de histamina e tiramina (ALVAREZ; MORENO-ARRIBAS, 2014).

As aminas espermidina e espermina apresentaram teores reduzidos em comparação às demais aminas biogênicas e tenderam a diminuir ao longo do tempo, principalmente em temperatura ambiente. Os dados corroboraram com a literatura (HALÁSZ et al., 1994; BARDÓCZ, 1995; RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004; JAIRATH et al., 2015), indicando que a espermidina e a espermina geralmente apresentam teores constantes ou diminuem durante o armazenamento e/ou processamento. Por serem aminas produzidas por enzimas endógenas presentes naturalmente nos tecidos de seres vivos (SANTOS, 1996), sua produção foi pequena quando comparada com as aminas exógenas

Foi observado que o teor de algumas aminas, principalmente da espermidina e da espermina, foi subestimado na presença de formaldeído. As amostras de farinhas comerciais analisadas foram provenientes de vários estabelecimentos no Brasil e alguns utilizam produtos contendo o formaldeído para fins de controle e prevenção de *Salmonella*. A subestimação de espermina e espermidina pode estar associada à formação de um complexo entre o formaldeído e as aminas biogênicas (BINZ, 1940; FALCK et al., 1962; FERNANDEZ; BUTLER, 1963; LATYPOVA et al., 2013). A formação deste complexo ocorre em meio básico, onde também ocorre a reação de derivatização entre as aminas e o derivatizante cloreto de dansila, o que resulta na competição pelo sítio ativo do analito, com consequente efeito sobre a quantificação e posteriormente sobre o índice de aminas biogênicas.

A adequação do índice de aminas biogênicas como um indicador de qualidade de farinhas de origem animal deve ter por base a utilização em sua equação de aminas que aumentam durante o processo de putrefação (STADNIK; DOLATOWSKI, 2010). A equação 2b demonstrou comportamento semelhante à equação registrada por Hernández-Jover et al. (1996).

Diferentes fórmulas são propostas para indicar o índice de aminas biogênicas. No entanto, para farinha de suínos, a utilização de equações que não incluem aminas endógenas pode apresentar resultados homogêneos. A partir do coeficiente de variação, é possível avaliar a consistência de dados e sua homogeneidade, permitindo a comparação de séries de valores de medidas distintas. Portanto,

quanto menor o coeficiente de variação mais homogêneo será o grupo de dados. Segundo Garcia (1989), medidas de dispersão, como o CV, também devem ser utilizadas para a interpretação dos resultados, juntamente com a média, a fim de obter conclusões mais assertivas.

O índice proposto por Mietz & Karmas (1977) (Equação 1) apresentou CV elevado. Esse índice é de difícil aplicabilidade em matrizes de farinha porque inclui aminas endógenas, cuja quantificação pode ser alterada na presença de formaldeído, adicionado durante ou após a fabricação de farinhas. Entretanto, o índice de aminas biogênicas de Hernández-Jover et al. (1996) (Equação 2) e o índice sugerido no presente trabalho (Equação 2b) apresentaram coeficientes de variação próximos.

Ainda, quanto a definição de um limite máximo aceitável apresentado por um índice de aminas biogênicas para estabelecer padrões de qualidade de farinhas de suínos deve ser mais pesquisada, especialmente quanto à sua toxicidade quando utilizada na alimentação animal.

3.5 Conclusões

O tempo e a forma de acondicionamento interferem na produção de aminas biogênicas das farinhas, onde farinhas oriundas de matrizes suínas mortas e após 24 horas de armazenamento em temperatura ambiente apresentam teores de feniletilamina, putrescina e tiramina superiores quando comparadas à condição de armazenamento refrigerado.

Os teores de espermidina e espermina apresentam decréscimos após 24 horas de armazenamento em temperatura ambiente.

O índice adaptado (BAI = putrescina + cadaverina + histamina + tiramina + feniletilamina) demonstra maior afinidade com farinha de origem suína, contemplando maior número de aminas biogênicas envolvidas no processo de deterioração.

Amostras que apresentam maiores índices de aminas biogênicas, sofreram elevada deterioração.

4 Artigo 2 – Utilização de farinhas de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas na nutrição de frangos de corte

4.1 Introdução

A criação intensiva e o adensamento da produção animal nas regiões produtivas geram um importante problema, relacionado à destinação de animais que morrem durante a criação. Com base em informações do IBGE (2016) e da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), estima-se que o volume de animais mortos pode atingir três milhões de toneladas/ano no Brasil, considerando toda a produção pecuária. Calcula-se que em se tratando apenas de frangos de corte e suínos, a quantidade de animais mortos no Brasil ultrapasse 300.000 toneladas/ano, representando mais de R\$200 milhões/ano de perdas (KRABBE; WILBERT, 2016), além de eventuais passivos ambientais.

Dentre os possíveis destinos das carcaças de animais mortos está a produção de farinha e gordura, tema controverso e objeto deste estudo. As farinhas de origem animal são ingredientes importantes, seu uso na formulação de dietas é facilitado devido ao seu alto valor nutricional, pois contêm aminoácidos, energia, minerais, como cálcio e fósforo e vitamina B12 (NUNES et al.; 2006; BUTOLO, 2010), além de possuir um preço de mercado atrativo, e têm despertado interesse para a alimentação e melhoria do desempenho animal (FIRMAN, 2006).

Contudo, deve haver cautela quanto aos aspectos relativos às amins biogênicas, peróxidos, bactérias, odor e cor das farinhas, pois esses fatores podem afetar a qualidade final das rações e, conseqüentemente, a qualidade da carne das aves alimentadas com dietas utilizando essa matéria-prima (BELLAVÉR, 2010).

Durante os anos de 1968 e 1970, no Peru, ocorreram relatos de mortalidade de frangos de corte, considerando como causa o vômito negro, originado de erosões de moela (JOHNSON; PINEDO, 1971). Os autores relacionaram o aparecimento das

lesões da moela com o uso de farinha de peixe na alimentação das aves, justificando assim que as causas seriam substâncias tóxicas, provavelmente de natureza química, encontradas nas farinhas em deterioração.

A deterioração de produtos proteicos está relacionada a teores de aminas biogênicas, que por sua vez, quando em elevadas quantidades nos alimentos, podem interferir no crescimento e diferenciação celular, resposta imune, problemas metabólicos, alterações histológicas e toxicidade (SHALABY, 1996; MAFRA et al., 1999; LADERO et al., 2010). A toxicidade destes compostos, ainda é pouco descrita na literatura, sendo seus fundamentos fisiológicos e bioquímicos pouco compreendidos em aves, devido à interação entre aminas de base dietética e fisiológicas serem complexas (BARNES et al., 2001).

Na produção animal o desencontro de informações quanto à presença de aminas biogênicas e suas consequências fisiológicas em aves é grande, não existindo atualmente um valor máximo para o conjunto de aminas encontradas em fontes de origem animal (JANSSEN, 1971; LU et al., 1982; FOSSUM et al., 1988; MORSI et al., 1992; BAKKER; HUISMAN, 1994; BARNES et al., 2001; HASHEMI et al., 2014; OHH et al., 2016). No entanto, visando minimizar a presença destes compostos em farinhas de origem animal, o processamento das porções não aproveitáveis do abate animal deve ser realizado no menor intervalo de tempo possível após o abate (BELLAVÉR, 2005). A legislação brasileira (MAPA – IN 34/2008), preconiza que esse tempo não ultrapasse 24 horas seguidas do abate, evitando assim a putrefação (BELLAVÉR, 2005).

Considerando a inexistência de legislação que estabeleça as condições operacionais para a coleta e industrialização de animais mortos por causas não infecciosas em propriedades rurais, e devido à alta exigência quanto à qualidade nutricional e sanitária, faz-se necessário um estudo sobre a padronização de procedimentos, visando boas práticas de fabricação e assegurando maior confiabilidade e qualidade da farinha de origem animal produzida.

Assim, objetivou-se por meio do presente estudo avaliar o uso de farinhas oriundas de carcaças de suínos mortos por causas não infecciosas armazenadas em temperatura ambiente e sob refrigeração por diferentes tempos, sobre parâmetros produtivos e fisiológicos de frangos de corte.

4. 2 Materiais e métodos

Todos os procedimentos de experimentação animal utilizados no presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Embrapa Suínos e Aves, sob o número 012/2016.

O estudo foi realizado na Embrapa Suínos e Aves, no município de Concórdia, Santa Catarina (SC), Brasil (27°14'02”S, 52°01'40”O e altitude de 550m), como parte dos estudos vinculados ao projeto “Tecnologias para Destinação de Animais Mortos” (TEC-DAM).

4. 2. 1 Animais, instalações e manejo experimental

Foram utilizados 770 frangos de corte machos, da linhagem Cobb500, com um dia de idade, oriundos de incubatório comercial, alojados em gaiolas de metal, 10 animais por gaiola, equipadas com um comedouro tipo calha e dois bebedouros tipo *nipple* por gaiola, com fornecimento de água e ração à vontade. As condições de ventilação, temperatura, umidade relativa do ar e iluminação foram controladas, conforme o manual da linhagem (COBB, 2015).

4. 2. 2 Delineamento e dietas experimentais

O delineamento experimental foi em blocos completamente ao acaso, em esquema de fatorial, com 11 repetições, sendo o fatorial composto pelos acondicionamentos (ambiente e refrigerado) e os tempos de acondicionamento (24, 48 e 72 horas), além do tempo zero que correspondeu ao grupo controle.

No primeiro dia de vida as aves foram pesadas individualmente e distribuídas de acordo com o peso, permitindo que todos os tratamentos tivessem 11 blocos, que corresponderam às repetições, com aves de peso uniforme dentro de cada bloco, em uma faixa de peso que variou de 41 a 53g.

A farinha de origem animal utilizada no presente trabalho foi produzida a partir de carcaças de suínos mortos por causas não infecciosas mantidas sob duas

temperaturas, por até 72 horas, sendo os tratamentos uma combinação da temperatura de armazenamento e o tempo em horas, conforme descrito a seguir (Quadro 1).

Quadro 2 - Armazenamento das matrizes suínas pré-processamento de farinhas.

| Farinhas | Armazenamento das carcaças de suínos pré-processamento da farinha |
|-----------------|--|
| Farinha 1 | momento 0 hora |
| Farinha 2 | momento 24 horas sob acondicionamento refrigerado (-6°C) |
| Farinha 3 | momento 24 horas sob acondicionamento ambiente (25°C) |
| Farinha 4 | momento 48 horas sob acondicionamento refrigerado (-6°C) |
| Farinha 5 | momento 48 horas sob acondicionamento ambiente (25°C) |
| Farinha 6 | momento 72 horas sob acondicionamento refrigerado (-6°C) |
| Farinha 7 | momento 72 horas sob acondicionamento ambiente (25°C) |

As dietas foram elaboradas de acordo com as exigências nutricionais para frangos de corte, conforme proposto por Rostagno et al. (2011). Assumiu-se que níveis de 10% de inclusão das farinhas nas dietas estariam dentro de uma faixa fisiologicamente aceitável, a ponto de não afetar o desempenho animal e as respostas avaliadas, estando de acordo com faixas de utilização praticadas pela indústria do setor e em consonância com Rostagno et al. (2011), conforme apresentado no Anexo A.

Assim, os tratamentos (dietas) consistiram em: T1 = dieta com inclusão de 10% de Farinha 1; T2 = dieta com inclusão de 10% de Farinha 2; T3 = dieta com inclusão de 10% de Farinha 3; T4 = dieta com inclusão de 10% de Farinha 4; T5 = dieta com inclusão de 10% de Farinha 5; T6 = dieta com inclusão de 10% de Farinha 6; T7 = dieta com inclusão de 10% de Farinha 7. As farinhas encontram-se descritas no quadro 1.

Por meio do índice de aminos biogênicas, foram mensurados os valores totais de aminos biogênicas para cada tratamento do presente estudo, conforme o quadro 2.

Quadro 2 - Índice de aminos biogênicas de farinha de matrizes suínas mortas por causa não infecciosa.

| Tratamentos | Índice de Aminos Biogênicas ($\mu\text{g g}^{-1}$) |
|----------------|--|
| T1 – Farinha 1 | 45,24 |
| T2 – Farinha 2 | 117,01 |
| T3 – Farinha 3 | 276,70 |
| T4 – Farinha 4 | 97,01 |
| T5 – Farinha 5 | 481,88 |
| T6 – Farinha 6 | 47,06 |
| T7 – Farinha 7 | 705,74 |

As variáveis de desempenho foram avaliadas aos sete, 14 e 21 dias de idade, onde as aves foram pesadas para obter o peso médio corporal (PMC) e para determinação do ganho de peso médio (GPM). A ração fornecida e as sobras também foram pesadas em cada fase de idade avaliada, para determinar o consumo médio de ração (CMR) e a conversão alimentar (CA), obtida através da relação CMR/GPM.

Aos 21 dias, foi avaliado também o peso relativo dos órgãos, considerando duas aves por unidade experimental. A moela (sem conteúdo), o proventrículo, o fígado e a bolsa cloacal foram pesados, utilizando-se uma balança digital, com precisão de 0,001g, para mensurar o peso relativo (% PR = peso do órgão x 100/peso corporal) em relação ao peso corporal de cada ave no momento da eutanásia.

Foram coletadas amostras de sangue de duas aves por repetição, das quais os seguintes parâmetros foram avaliados: ácido úrico, creatina, transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e albumina. As análises foram realizadas pelo Laboratório Concórdia, por meio do Kit Analisa[®], sendo TGO e TGP por método Cinético-UV, creatinina por método Cinético colorimétrico, albumina por método Colorimétrico Verde de Bromocresol, e ácido úrico por método Enzimático Colorimétrico.

4. 2. 3 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ($p \leq 0,05$). Constatando-se significância estatística, o efeito do acondicionamento foi comparado pelo teste t ($p \leq 0,05$). Os efeitos do tempo (horas) foram avaliados por modelos de regressão ($p \leq 0,05$), conforme segue:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + \varepsilon_i, \quad (6)$$

em que: Y_i = variável resposta; β_0 = variável resposta correspondente ao ponto mínimo da curva; β_1 e β_2 = coeficientes de regressão de efeito linear e quadrático, respectivamente; X_i = i-ésimo nível da variável independente (horas); X_i^2 = i-ésimo nível da variável independente ao quadrado; ε_i = erro aleatório. A seleção do modelo foi baseada no baixo resíduo, baixo p -valor, e altos R^2 (coeficiente de determinação) e R^2 *adj* (coeficiente de determinação ajustado).

4.3 Resultados

Os efeitos da condição de acondicionamento e do tempo de armazenamento das carcaças foram avaliados através das respostas de peso corporal (Tabela 8). Os frangos apresentaram pesos médios semelhantes entre os tratamentos, não havendo diferença estatística ($p > 0,05$) para a variável, durante os períodos avaliados. A interação entre tempo e acondicionamento também não foi constatada ($p > 0,05$).

Tabela 8 – Peso vivo (PV) de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas (média \pm erro padrão)

| Fatores | PV inicial | PV 7 dias | PV 14 dias | PV 21 dias |
|-------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| Tempo pré-processo (h) | g/ave | | | |
| 0 | 47,24 \pm 2,98 | 207,12 \pm 6,43 | 555,70 \pm 16,64 | 1022,30 \pm 22,92 |
| 24 | 47,35 \pm 2,94 | 207,33 \pm 8,39 | 557,29 \pm 25,58 | 1032,80 \pm 36,31 |
| 48 | 47,36 \pm 2,87 | 210,84 \pm 6,37 | 567,26 \pm 19,14 | 1034,10 \pm 30,86 |
| 72 | 47,29 \pm 2,92 | 207,24 \pm 8,45 | 553,72 \pm 21,15 | 1019,10 \pm 26,56 |
| Acondicionamento pré-processo | g/ave | | | |
| Refrigerado (-6°C) | 47,31 \pm 2,86 | 208,96 \pm 7,74 | 561,74 \pm 21,60 | 1029,20 \pm 28,60 |
| Ambiente (25°C) | 47,30 \pm 2,93 | 207,26 \pm 7,28 | 555,25 \pm 20,48 | 1025,60 \pm 31,48 |
| Probabilidade (p) | | | | |
| Tempo | 0,9991 | 0,3113 | 0,1498 | 0,3231 |
| Acondicionamento (A) | 0,9893 | 0,2841 | 0,1498 | 0,5495 |
| TvsA | 1 | 0,771 | 0,702 | 0,1025 |

Na tabela 9 são apresentados os valores médios observados para consumo de ração. É possível verificar que não ocorreu diferença entre tratamentos ($p > 0,05$), permitindo inferir que nem o tempo de pré-processamento ou a condição de acondicionamento dos animais mortos previamente à sua transformação em farinha, assim como a interação entre estes fatores, não afetaram o consumo alimentar para os períodos compreendidos entre um a sete, sete a 14 e 14 a 21 dias. Contudo, os resultados mostram que houve interação entre o tempo e a condição de acondicionamento, impactando no consumo alimentar na semana correspondente ao período de 14 a 21 dias. Possivelmente, à medida que as aves passam a ter consumos mais expressivos, e, por consequência, ingerindo maiores níveis de aminos biogênicas, podem estar se intoxicando de forma mais significativa. Estudos mais prolongados podem inferir sobre essa hipótese com mais detalhamento.

Tabela 9 – Consumo alimentar (CR) de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas (média ± erro padrão)

| Fatores | CR 1-7 dias | CR 7-14 dias | CR 14-21 dias | CR 1-21 dias |
|-------------------------------|---------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Tempo pré-processo (h) | g/ave/período | | | |
| 0 | 163,94 ± 5,45 | 381,02 ± 16,61 | 568,68 ± 25,78 | 1105,20 ± 48,45 |
| 24 | 164,66 ± 7,66 | 384,50 ± 21,28 | 572,40 ± 30,06 | 1126,10 ± 44,34 |
| 48 | 166,37 ± 6,92 | 391,61 ± 19,82 | 582,59 ± 30,548 | 1135,60 ± 45,04 |
| 72 | 166,40 ± 7,15 | 381,19 ± 18,24 | 565,61 ± 21,16 | 1124,50 ± 32,60 |
| Acondicionamento pré-processo | g/ave/período | | | |
| Refrigerado (-6°C) | 165,88 ± 7,10 | 385,26 ± 19,77 | 570,79 ± 26,21 | 1120,5 ± 48,55 |
| Ambiente (25°C) | 164,81 ± 6,55 | 383,90 ± 18,86 | 574,34 ± 29,04 | 1124,7 ± 39,18 |
| Probabilidade | | | | |
| Tempo | 0,557 | 0,2432 | 0,2457 | 0,1404 |
| Acondicionamento | 0,4751 | 0,7452 | 0,6056 | 0,6513 |
| TvsA | 0,9383 | 0,9815 | 0,0386 | 0,2922 |

Na tabela 10, observa-se o ganho de peso, sendo possível a constatação de que não houve influência significativa ($p > 0,05$) dos tratamentos sobre este parâmetro, assim como não foi verificada interação entre os fatores que constituíram os tratamentos. Durante os períodos semanais e no período total de um a 21 dias de idade, os frangos apresentaram ganho de peso crescentes, como esperado de acordo com o manual da linhagem.

Tabela 10 – Ganho de peso (GP) de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas (média \pm erro padrão)

| Fatores | GP 1-7 dias | GP 7-14 dias | GP 14-21 dias | GP 1-21 dias |
|-------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Tempo pré-processo (h) | g/ave/período | | | |
| 0 | 159,88 \pm 5,47 | 348,59 \pm 11,84 | 465,27 \pm 11,86 | 974,81 \pm 22,22 |
| 24 | 160,97 \pm 6,71 | 349,95 \pm 18,54 | 475,50 \pm 25,15 | 985,44 \pm 36,41 |
| 48 | 164,23 \pm 6,70 | 355,68 \pm 13,39 | 466,82 \pm 26,01 | 986,72 \pm 29,73 |
| 72 | 159,95 \pm 7,61 | 346,48 \pm 15,99 | 466,46 \pm 27,32 | 971,62 \pm 26,62 |
| Acondicionamento pré-processo | g/ave/período | | | |
| Refrigerado (-6°C) | 162,07 \pm 7,56 | 352,36 \pm 15,50 | 457,14 \pm 25,10 | 981,77 \pm 27,77 |
| Ambiente (25°C) | 160,44 \pm 5,88 | 347,99 \pm 14,91 | 470,05 \pm 22,16 | 978,23 \pm 31,52 |
| Probabilidade (p) | | | | |
| Tempo | 0,1185 | 0,2277 | 0,4445 | 0,3030 |
| Acondicionamento | 0,2598 | 0,1816 | 0,5692 | 0,5531 |
| TvsA | 0,9261 | 0,6651 | 0,0595 | 0,0997 |

A conversão alimentar (Tabela 11) para o período um a 21 dias idade não apresentou diferença estatística entre os tratamentos ($p > 0,05$). É possível observar que durante o período entre 14 e 21 dias ocorreu diferença para o tempo de armazenamento ($p = 0,0160$) e no período entre um a sete dias foi observada resposta significativa para o fator condição de acondicionamento ($p = 0,021$). No entanto, os valores não se mantêm ao longo dos períodos, bem como no período acumulado de vida das aves. A interação entre acondicionamento e tempo não foi observada para a variável analisada ($p > 0,05$).

Tabela 11 – Conversão alimentar (CA) de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas (média \pm erro padrão)

| Fatores | CA 1-7 dias | CA 7-14 dias | CA 14-21 dias | CA 1-21 dias |
|-------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Tempo pré-processo (h) | | | | |
| 0 | 1,04 \pm 0,02 | 1,09 \pm 0,02 | 1,24 \pm 0,05 | 1,15 \pm 0,02 |
| 24 | 1,03 \pm 0,03 | 1,10 \pm 0,03 | 1,21 \pm 0,04 | 1,14 \pm 0,03 |
| 48 | 1,03 \pm 0,03 | 1,10 \pm 0,03 | 1,24 \pm 0,05 | 1,15 \pm 0,03 |
| 72 | 1,05 \pm 0,03 | 1,10 \pm 0,04 | 1,21 \pm 0,03 | 1,15 \pm 0,02 |
| Acondicionamento pré-processo | | | | |
| Refrigerado (-6°C) | 1,03 \pm 0,03 | 1,09 \pm 0,03 | 1,22 \pm 0,04 | 1,14 \pm 0,02 |
| Ambiente (25°C) | 1,04 \pm 0,03 | 1,10 \pm 0,03 | 1,23 \pm 0,04 | 1,15 \pm 0,03 |
| Probabilidade (p) | | | | |
| Tempo | 0,3174 | 0,8422 | 0,0160 | 0,2643 |
| Acondicionamento | 0,0210 | 0,1808 | 0,3901 | 0,0871 |
| TvsA | 0,1915 | 0,6782 | 0,7974 | 0,7481 |

Para os parâmetros sanguíneos analisados, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$), assim como o tempo pré-processamento e o acondicionamento da farinha não alteraram significativamente a resposta dos frangos de corte criados até 21 dias de idade (Tabela 12).

Tabela 12 – Parâmetros sanguíneos de frangos de corte Cobb 500, machos, criados até 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo 10% de farinha de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenagem sobre parâmetros sanguíneos de frangos de corte Cobb500, machos, criados até os 21 dias de idade (média \pm erro padrão)

| Fatores | Ácido Úrico (mg/dL) | Creatinina (mg/dL) | TGO (U/L)* | TGP (U/L)** | Albumina (g/dL) |
|-------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|------------------|-----------------|
| Tempo pré-processo (h) | | | | | |
| 0 | 5,12 \pm 2,17 | 0,26 \pm 0,10 | 367,21 \pm 51,05 | 25,38 \pm 3,89 | 1,48 \pm 0,11 |
| 24 | 5,44 \pm 2,04 | 0,24 \pm 0,11 | 402,05 \pm 97,51 | 25,90 \pm 3,80 | 1,46 \pm 0,16 |
| 48 | 6,10 \pm 2,41 | 0,23 \pm 0,13 | 407,74 \pm 107,66 | 26,34 \pm 2,95 | 1,48 \pm 0,16 |
| 72 | 5,91 \pm 2,08 | 0,29 \pm 0,14 | 415,63 \pm 102,96 | 27,24 \pm 4,82 | 1,52 \pm 0,19 |
| Acondicionamento pré-processo | | | | | |
| Refrigerado (-6°C) | 5,92 \pm 2,14 | 0,27 \pm 0,12 | 401,19 \pm 90,67 | 26,05 \pm 3,76 | 1,50 \pm 0,16 |
| Ambiente (25°C) | 5,34 \pm 2,22 | 0,24 \pm 0,12 | 395,69 \pm 97,55 | 26,38 \pm 4,18 | 1,47 \pm 0,16 |
| Probabilidade (p) | | | | | |
| Tempo | 0,1493 | 0,0944 | 0,1328 | 0,1788 | 0,4262 |
| Acondicionamento | 0,0847 | 0,0798 | 0,7589 | 0,6126 | 0,4054 |
| TvsA | 0,5883 | 0,356 | 0,1406 | 0,6403 | 0,5299 |

*TGO: transaminase glutâmico-oxalacética

**TGP: transaminase glutâmico-pirúvica

Na tabela 13 é possível constatar que ocorreram alterações a nível de proventrículo para o tempo de armazenagem ($p = 0,0014$), de modo que os animais que receberam dietas em que foram utilizadas farinhas de matrizes suínas mortas a partir de 24 horas apresentaram efeito quadrático para o tempo (Figura 6A), demonstrando assim aumento no percentual de proventrículo. Já com 48 horas, foi constatado o acréscimo de 46% no percentual de proventrículo, sendo o maior quando comparado ao tempo zero. Embora não tenha sido feito análise histológica, o aumento do proventrículo pode indicar edema, um dos sintomas de inflamação (STUART et al., 1986; BARNES et al., 2001).

Tabela 13 – Peso relativo de órgãos de frangos de corte Cobb 500, machos, criados até 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo farinhas de matrizes suínas mantidas sob diferentes tempos e condições de armazenagem previamente à sua transformação em farinhas (média ± erro padrão)

| Fatores | Proventrículo ¹ | Moela | Bolsa cloacal | Fígado |
|-------------------------------|----------------------------|-------------|---------------|-------------|
| Tempo pré-processo (h) | | | | |
| 0 | 0,43 ± 0,03 | 2,18 ± 0,03 | 0,25 ± 0,03 | 2,07 ± 0,14 |
| 24 | 0,44 ± 0,04 | 2,11 ± 0,40 | 0,25 ± 0,07 | 2,07 ± 0,19 |
| 48 | 0,47 ± 0,06 | 2,12 ± 0,41 | 0,23 ± 0,06 | 2,16 ± 0,19 |
| 72 | 0,45 ± 0,04 | 2,08 ± 0,42 | 0,22 ± 0,05 | 2,12 ± 0,20 |
| Acondicionamento pré-processo | | | | |
| Refrigerado (-6°C) | 0,46 ± 0,05 | 2,13 ± 0,42 | 0,24 ± 0,06 | 2,12 ± 0,17 |
| Ambiente (25°C) | 0,44 ± 0,04 | 2,11 ± 0,32 | 0,24 ± 0,05 | 2,08 ± 0,19 |
| Probabilidade | | | | |
| Tempo | 0,0014* | 0,6948 | 0,007** | 0,0725 |
| Acondicionamento | 0,0613 | 0,6993 | 0,3699 | 0,1782 |
| TvsA | 0,7529 | 0,6718 | 0,1566 | 0,5127 |

¹Peso dos órgãos expressos em percentual relativo ao peso vivo do animal.

*Efeito quadrático: $y = 0,4316 + 0,0014x - 0,00001575x^2$

** Efeito quadrático: $y = 0,2571 - 0,0001x - 0,00005455x^2$

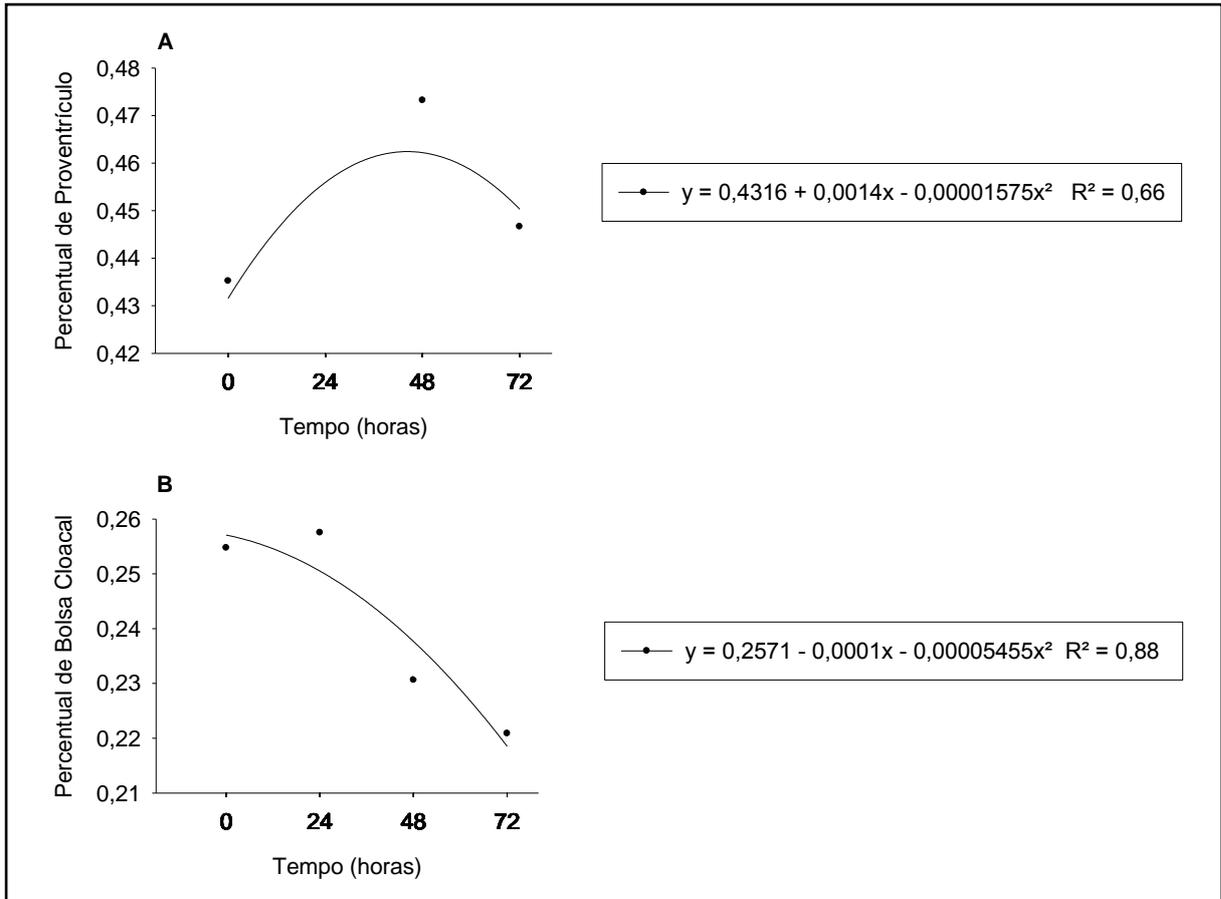


Figura 6 - Percentual de proventrículo (A) e bolsa cloacal (B) de frangos de corte alimentados com farinhas de matrizes suínas mortas por causas não infecciosas submetidas a diferentes tempos de acondicionamentos em temperatura ambiente e refrigerada.

A variável bolsa cloacal apresentou diferença significativa entre tratamento em função do tempo pré-processamento ($p = 0,0071$), ocorrendo o decréscimo no seu percentual conforme o aumento do tempo decorrido entre a espera dos animais mortos e a fabricação da farinha (Figura 6B). Em 72 horas foi observado o decréscimo de 112,8% em relação ao tempo zero.

O fígado e a moela não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) para o tempo e acondicionamento. Não foi possível observar nenhuma interação entre os fatores testados.

4. 4 Discussão

As farinhas utilizadas no experimento derivaram de matrizes suínas abatidas e submetidas a diferentes tempos e condições de armazenamento antes do processamento, podendo apresentar variantes na qualidade quanto à produção de compostos oriundos da decomposição da carcaça.

As farinhas apresentaram quantidades de aminas biogênicas diferenciadas, conforme o acondicionamento (ambiente ou refrigerado) e o tempo (horas) em que os animais mortos foram submetidos previamente à produção das farinhas. Para Ruiz- Capillas & Jiménez-Colmenero (2004), a formação de aminas biogênicas sofre influência de condições de processamento e armazenamento da carne. Os autores ressaltam a inadequada refrigeração durante o armazenamento como fator determinante de interferência na formação de aminas. Tapingkae et al. (2010) observaram que aminas biogênicas são termoestáveis à exposição ao calor prolongado, considerando o processo de cozimento incapaz de eliminá-las.

Alimentos ricos em proteínas, como as farinhas de origem animal, podem apresentar grandes quantidades de aminas biogênicas, principalmente cadaverina, histamina e putrescina (BARNES et al., 2001; KAROVIČOVÁ; KOHAJDOVÁ, 2005; DE LA TORRE, 2013). Essas aminas estudadas são relacionadas com síndromes de má absorção e patologias associadas a proventriculites (STUART et al., 1986; BARNES et al., 2001).

Em pesquisas relacionadas com aminas biogênicas, Friday et al. (1999), utilizando 10% de farinhas de peixes na dieta de frangos de corte, e considerando o desempenho das aves quando ingeriram 9,6 mg/kg de feniletilamina, 98 mg/kg de putrescina, 214 mg/kg de cadaverina e/ou 262 mg/kg de histamina, observaram que não ocorreu diferença significativa no desempenho dos animais que receberam as diferentes aminas biogênicas ou o conjunto delas. Esta observação corrobora com os dados observados no presente estudo, onde as respostas de desempenho não apresentaram diferença entre os tratamentos, se mantendo superiores aos indicados no manual da linhagem, que considera a média de 42 g, 186 g, 470 g e 971 g para peso inicial, aos sete, aos 14 e aos 21 dias, respectivamente.

Na literatura não foram encontradas informações acerca de farinhas de animais mortos. No entanto, há registro de consumo por animais que receberam

dietas com inclusão de 3% e 6% de farinha de origem animal convencional, com médias de 1118 e 1096g, respectivamente (FARIA FILHO et al., 2002). Segundo os autores, os valores apresentados demonstram que o aumento da inclusão tende a diminuir o consumo quando comparados à dietas sem farinha.

Os valores obtidos para consumo de ração no presente trabalho foram 9% menores do que o esperado de 1228 g, previsto no manual da linhagem Cobb 500.

Os valores apresentados nas tabelas 10 e 11, para ganho de peso e conversão alimentar, respectivamente, assemelham-se com os mencionados no trabalho de Sousa et al. (2017), que utilizaram no máximo 5% de inclusão de farinha de origem animal nas dietas de frangos. A média entre os tratamentos se encontram similares às médias de ganho de peso de animais que receberam dietas sem farinha de origem animal, as quais foram formuladas conforme as do presente trabalho, com níveis nutricionais recomendados por Rostagno et al. (2011). Os autores ainda relataram que diferenças encontradas na literatura podem estar relacionadas a variações na composição nutricional das farinhas utilizadas nos experimentos.

Barnes et al. (2001), ao utilizarem dietas contendo 0,2% de cadaverina e 0,2% de histamina, observaram menor ganho de peso dos frangos comparado aos tratamentos com menores inclusões de aminas biogênicas e concluíram que somente altas quantidades dessas aminas podem afetar o desenvolvimento das aves. Entretanto, em estudo adicionando putrescina na dieta de frangos de corte, em níveis crescentes até 0,05%, observou-se que ocorreu melhoria no peso corporal até 21 dias (HASHEMI et al., 2014). Os níveis de putrescina, segundo os autores, podem ter efeito no crescimento dos animais, sendo que o peso e o consumo melhoraram e a conversão não foi alterada, fato não observado no presente trabalho.

Os dados de desempenho de frangos de corte desse estudo corroboram com Friday et al. (1999) que ao utilizarem um conjunto de aminas biogênicas não foi possível a constatação de ação sobre o desempenho dos frangos. Contudo, Barnes et al. (2001), ao realizarem dois ensaios onde adicionaram aminas biogênicas nas dietas das aves em valores de 0,1; 0,2% de histamina, 0,1% de cadaverina e 0,1% de cadaverina somado a 0,1% de histamina observaram que a presença de histamina e cadaverina na dieta podem causar patologias associadas ao proventrículo. Além disso, relataram que a ação da histamina e da cadaverina parece ser aditiva ou sinérgica, indicando que a quantidade total de aminas

biogênicas nas dietas seriam melhores indicadores para inferir efeitos sobre o desempenho e outros potenciais problemas.

Embora não havendo diferenças entre acondicionamentos, é possível constatar que com o passar do tempo de armazenamento ocorre aumento percentual do proventrículo. Este pode ter ocorrido por edema, um dos sintomas de inflamação registrados por Stuart et al. (1986) e Barnes et al. (2001). Ohh et al. (2016), ao usarem 0,4% de histamina adicionada na dieta de frangos de corte, também observaram alterações a nível de proventrículo, constatando ainda que a histamina induziu várias patologias associadas à proventriculite do epitélio glandular, fibrose ou edema.

Não existem relatos de diminuição de tamanho de bolsa cloacal em decorrência da utilização de farinhas de origem animal. Acredita-se que a alteração da bolsa tenha relação com a quantidade de amins biogênicas devido à putrefação das carcaças previamente à produção de farinha, existindo, segundo Tamim & Doerr (2003), um aumento linear de amins biogênicas de zero a 72 horas, semelhante às condições utilizadas neste estudo. Casos semelhantes são encontrados em dietas contendo aflatoxina, sendo possível a constatação dos efeitos de toxicidade através da alteração de órgãos como a bolsa cloacal (TESSARI; CARDOSO, 2012). Estes dados sugerem que o sistema humoral adquirido pode estar comprometido pela presença de amins biogênicas.

O fato mencionado acima sugere que o mecanismo de resposta à intoxicação seja muito parecido. Porém, não ocorreram alterações para as variáveis de moela e fígado, como observado na tabela 13, assim como não houve impacto nos parâmetros sanguíneos, que se encontram relacionados com os órgãos avaliados, os quais refletem informações referentes a alterações metabólicas e saúde dos animais, conforme Yari et al. (2014).

Os resultados para os parâmetros sanguíneos indicam que não existiu interferência das amins biogênicas presentes na dieta sobre as variáveis analisadas, decorrentes tanto do tempo como do acondicionamento de carcaças previamente ao processamento e transformação em farinhas. A literatura não apresenta trabalhos analisando o efeito da qualidade de farinhas e a presença de amins biogênicas sobre variáveis sanguíneas. No entanto, os valores encontrados no presente estudo encontram-se dentro dos limites aceitáveis na literatura para

frangos de corte (STRINGHINI, 1998; BORSA et al., 2006; MINAFRA et al., 2008; DOURADO et al., 2017).

Valores alterados para parâmetros sanguíneos poderiam indicar possíveis lesões hepatocelulares e alterações na função renal (STRINGHINI, 1998; SCHMIDT et al., 2007; DOURADO et al., 2017). Contudo, no presente estudo não foram constatadas alterações desta grandeza.

Visto que os animais foram mantidos durante o período de 21 dias e que o consumo de ração contendo farinhas com diferentes teores de aminos biogênicas apresentou efeitos sobre proventrículo e bolsa cloacal, sugere-se novos estudos com o consumo mais prolongado, a fim de verificação de lesões e sinais clínicos, como aumento glandular do proventrículo e, conseqüentemente, ulcerações de moela, e estudos envolvendo outros agentes limitadores de desempenho, pois segundo Barnes et al. (2001), não é descartada a interação de aminos com outros agentes causadores, por exemplo, de proventriculites, tais como micotoxinas.

4.5 Conclusões

O uso de farinha de matrizes de suínas mortas por causas não infecciosas não influencia os parâmetros sanguíneos e o desempenho de frangos de corte criados até 21 dias de idade.

O uso de farinha de matrizes de suínas mortas por causas não infecciosas promove efeito deletério no proventrículo e bolsa cloacal.

5 Considerações Finais

Com base nos resultados obtidos no presente estudo é possível observar que farinhas produzidas a partir de matrizes suínas sofrem interferências na produção de aminas biogênicas sob diferentes temperaturas de armazenamento e tempo após morte do animal.

Farinhas oriundas de matrizes mortas, após 24 horas, armazenadas em temperatura ambiente apresentam teores de espermidina e espermina apresentam decréscimo após 24 horas de armazenamento em temperatura ambiente. Entretanto, putrescina, cadaverina, histamina, tiramina e feniletilamina os valores são superiores para armazenamento em temperatura ambiente, após 24 horas, indicando processo de deterioração.

A utilização do índice adequado para farinhas de origem suínas como o adaptado ($BAI = \text{putrescina} + \text{cadaverina} + \text{histamina} + \text{tiramina} + \text{feniletilamina}$) no presente estudo, demonstra maior afinidade, contemplando maior número de aminas biogênicas envolvidas no processo de deterioração. Assim, amostras que apresentam maiores índices de aminas biogênicas indicam elevado grau de deterioração.

Farinha de matrizes suínas quando utilizadas em 10% na dieta não afeta parâmetros sanguíneos e o desempenho de frangos de corte criados até 21 dias de idade. Entretanto, em proventrículo e bolsa cloacal são observados efeitos deletérios.

Preconizando a qualidade das farinhas utilizadas como ingredientes em rações a serem fornecidas a produção animal, a adoção e adaptação do BAI (Índice de aminas biogênicas) como um indicador de qualidade de farinhas de origem animal auxiliaria na escolha de farinhas com menores índices de putrefação. A definição de um limite máximo aceitável de aminas biogênicas para estabelecer padrões de qualidade de farinhas de suínos ainda necessita de mais investigações, especialmente quanto à sua toxicidade quando utilizada na alimentação animal.

Referências

ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Brasília-DF. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/>>. Acesso em: 21 ago. 2018.

ALVAREZ, M. A.; MORENO-ARRIBAS, M. V. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. **Trends in food science & technology**, v. 39, n. 2, p. 146-155, 2014.

ANLI, R. E.; BAYRAM, M. Biogenic Amines in Wines. **Food Reviews International**, v. 25, n. 1, p. 86-102, 2008.

ASSIS, D. C. S. et al. Evaluation of the internal quality of commercial eggs by searching of the bioactive levels. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 2, p. 517-524, 2016.

BAKKER, N. P. M.; HUISMAN, J. The effect of biogenic amines in young chickens. In: PROCEEDINGS OF INTERNATIONAL CONFERENCE ON EUROPEAN FOOD TOXICOLOGY, 4., 1994. **Proc...** p. 72-76, 1994.

BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 10, p. 341-346, 1995.

BARNES, D. M. et al. Effects of biogenic amines on growth and the incidence of proventricular lesions in broiler chickens. **Poultry science**, v. 80, n. 7, p. 906-911, 2001.

BEDENDO, G. et al. **Levantamento do teor de aminos biogênicas em farinhas de origem animal provenientes de diferentes estabelecimentos**. Comunicado Técnico 551. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2018. 8 p.

BELLAVER, C. Limitações e vantagens do uso de farinhas de origem animal na alimentação de suínos e de aves. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO ALLTECH DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2, 2005, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Alltech, 2005.

BELLAVER, C. Farinhas e gorduras de origem animal. In: REGINA, R. **Nutrição animal, principais ingredientes e manejo de aves e suínos**. 1ed. São Paulo: Fundação Cargill, 2010. p. 126-153.

BINZ, H. A. et al. The Reaction between Hydrogen Selenide, Formaldehyde, and Secondary Amines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 62, n. 1, p. 7-8, 1940.

BORSA, A. et al. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 675-677, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa 34, de 25 maio de 2008**. Regulamento técnico da inspeção higiênico sanitária e tecnológica do processamento de resíduos de animais. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997**. Institui o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Peixe Fresco (Inteiro ou Eviscerado). Diário Oficial da União, Brasília, 19 de maio de 1997.

BUTOLO, J. E. Ingredientes de Origem Animal. In: BUTOLO, J.E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. 2ed. Campinas: Mundo Agro Editora, 2010. p. 239-280.

CARDOZO, M. et al. Aminos Biogênicas: Um problema de Saúde Pública. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 5, p. 149-168, 2013.

CARVALHO, C. M. et al. Uso de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 111, p. 69-73, 2012.

CHENG, W. et al. Pork biogenic amine index (BAI) determination based on chemometric analysis of hyperspectral imaging data. **LWT-Food Science and Technology**, v. 73, p. 13-19, 2016.

COBB. **Suplemento de nutrição e desempenho de frangos de corte Cobb500**. Manual de linhagem. 2015. Disponível em: <<https://www.cobb-vantress.com>>. Acesso em: 10 ago. 2016.

CORRÊA, J. C. et al. O uso dos resíduos animais como fertilizantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS AGROPECUÁRIOS E AGROINDUSTRIAIS, 2., 2011. Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SIGERA, 2011. p. 91-94.

DAINTY, R. H. et al. Bacterial sources of putrescine and cadaverine in chill stored vacuum-packaged beef. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 61, p. 117-123, 1986.

DE LA TORRE, C. A. L. **Utilização da cromatografia líquida de alta eficiência na determinação de aminos biogênicos como ferramenta para a avaliação da qualidade carne de aves**. 2013. 147f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

DE MELO SILVA, V. L. et al. Aminos biogênicos como indicadores de qualidade de salames e produtos cárneos fermentados. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 69, 2013.

DEN BRINKER, C. A. et al. Biogenic amines in Australian animal by-product meals. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 43, p. 113-119, 2003.

DOURADO, L. R. et al. Performance and broiler health was not affected by glycerin with high methanol content included in diets. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 537-543, 2017.

DUARTE, K. F.; JUNQUEIRA, O. M. **Importância da Qualidade das Matérias-Primas para a Produção de Rações para Frangos de Corte**. 2009. Disponível em: <<https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/materias-primas-racoes-frangos-t36760.htm>>. Acesso em: 28 ago. 2018.

EAGLESON, C. et al. Impact of meat and bone meal nutritional variability on broiler performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 27, n. 2, p. 172-179, 2018.

ERIM, F. B. Recent analytical approaches to the analysis of biogenic amines in food samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 52, p. 239-247, 2013.

EYNG, C. et al. Composição química, valores energéticos e digestibilidade verdadeira dos aminoácidos de farinhas de carne e ossos e de peixe para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 3, p. 575-580, 2011.

FALCK, B. et al. Fluorescence of Catechol Amines and Related Compounds Condensed with Formaldehyde. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 9, n. 1-6, p. 11-15, 1962.

FARIA FILHO, D. E. et al. Avaliação da farinha de carne e ossos na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 1, 2002.

FAROL. **Farinha de carne e ossos suínos**. Disponível em: <<http://www.farol.ind.br/>>. Acesso em: 27 dez. 2018.

FERNANDEZ J. E; BUTLER, G. B. The Reaction of Secondary Amines with Formaldehyde. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 28, n. 11, p. 3258-3259, 1963.

FIRMAN, J.D. Rendered products in poultry nutrition. In: MEEKER, D.L. **Essential Rendering**. 1ed. Arlington: National Renderers Association, 2006. p. 125-139.

FOSSUM, O. K. et al. Gizzard erosions as a cause of mortality in white leghorn chickens. **Avian Pathology**, v. 17, p. 519-525, 1988.

FRAQUEZA, M. J. et al. Biogenic amine formation in turkey meat under modified atmosphere packaging with extended shelf life: Index of freshness. **Poultry science**, v. 91, n. 6, p. 1465-1472, 2012.

FRIDAY, M. L. et al. Effects of biogenic amines on broiler performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 8, n. 4, p. 408-413, 1999.

GARCIA, C. H. **Tabelas para classificação do coeficiente de variação**. Piracicaba: IPEF, 1989. 11 p.

GARDINI, F. et al. Technological factors affecting biogenic amine content in foods: a review. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 1218, 2016.

GOMES, M. B. et al. O risco das aminas biogênicas nos alimentos. **Ciência Saúde Coletiva (Online)**, v. 19, n. 4, p. 1123-1134, 2014.

HALÁSZ, A. et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 5, n. 2, p. 42-49, 1994.

HASHEMI, S. M. et al. Small intestine morphology, growth performance and nutrient digestibility of young broilers affected by different levels of dietary putrescine. **Journal of Animal and Poultry Sciences**, v. 3, n. 3, p. 95-104, 2014.

HERNÁNDEZ-JOVER, T. et al. Biogenic Amine Sources in Cooked Cured Shoulder Pork. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 10, p. 3097-3101, 1996.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas**. Brasília-DF. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 21 ago. 2018.

JAIRATH, G. et al. Biogenic amines in meat and meat products and its public health significance: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 11, p. 6835-6846, 2015.

JANSSEN, W. M. M. A. The influence of feeding on gizzard erosion in broilers. **Archiv für Geflügelkunde**, v. 35, p. 137-141, 1971.

JOHNSON, D. C.; PINEDO, D. C. Case Report: Gizzard Erosion and Ulceration in Peru Broilers. **Avian Diseases**, v. 15, n. 4, p. 835-837, 1971.

KALAC, P. Recent advances in the research on biological roles of dietary polyamines in man. **Journal of Applied Biomedicine (De Gruyter Open)**, v. 7, n. 2, 2009.

KAROVÍČOVÁ, J.; KOHAJDOVÁ, Z. Biogenic Amines in Food. **Chemical Papers**, v. 59, n. 1, p. 70-79, 2005.

KHAJARERN, J.; KHAJARERN, S. **Quick Quality Tests for Protein Meals**. American Soybean Association: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Thailand, 1998.

KRABBE, L.E; WILBERT, C.A. Os passivos das cadeias de produção de proteína animal - animal mortos. **Avicultura Industrial**, ed. 1251, n. 1, p. 24-31, 2016.

KUMUDAVALLY, K. V. et al. Effect of ethanolic extract of clove on the keeping quality of fresh mutton during storage at ambient temperature (25±2 C). **Journal of food science and technology**, v. 48, n. 4, p. 466-471, 2011.

LADERO, V. et al. Toxicological Effects of Dietary Biogenic Amines. **Current Nutrition & Food Science**, v. 6, n. 2, p.145-156, 2010.

LATYPOVA, D. R. et al. Reaction of Ethyl Acetoacetate with Formaldehyde and Primary Amines. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 49, p. 860-865, 2013.

LU, Y. S. et al. Gizzard erosion and ulceration of broilers due to feed (fish meal). **Journal of the Chinese Society of Veterinary Science**, v. 8, p. 1-6, 1982.

MAFRA, I. et al. Evaluation of Biogenic Amines in Some Portuguese Quality Wines by HPLC Fluorescence Detection of OPA Derivatives. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 50, p. 128-132, 1999.

MIETZ, J. L.; KARMAS, E. Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 1, p. 155-158, 1977.

MIN, J. S. et al. Relationship between the Concentration of Biogenic Amines and Volatile Basic Nitrogen in Fresh Beef, Pork, and Chicken Meat. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 8, p. 1278-1284, 2007.

MINAFRA, C. S. et al. Perfil bioquímico e nutricional do ácido glutâmico e da vitamina K no soro e no fígado de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 11, p. 1973-1977, 2008.

MORSI, M. K. H. S. et al. Chemical and biological evaluations of fish meals. **Egyptian Journal of Comparative Pathology and Clinical Pathology**, p. 261-283, 1992.

MURAD, H. O. et al. The Biochemical Assessment of Imported Frozen Chicken and Detection The Effect of Biogenic Amines on The Meat Quality. **Science Journal of University of Zakho**, v. 1, n. 2, p. 452-462, 2013.

NUNES, R. V. et al. Valores energéticos de diferentes alimentos de origem animal para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1752-1757, 2006.

OHH, M. H. et al. Efeitos da suplementação dietética com astaxantina sobre lesões induzidas por histamina na moela e proventrículo de pintos de corte. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 29, n. 6, p. 872, 2016.

OLIVO, G. **Validação e estimativa da incerteza de medição de um método para determinação de amins biogênicas por cromatografia líquida de alta eficiência em matriz de atum (*Thunnus spp.*)**. 2013. 123f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

PACHECO, J. C. et al. Desempenho ambiental da produção de ração para frango de corte no Piauí. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 4, p. 707-716, 2018.

PERAI, A. H. et al. A comparison of artificial neural networks with other statistical approaches for the prediction of true metabolizable energy of meat and bone meal. **Poultry Science**, v. 89, n. 7, p. 1562-1568, 2010.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252 p.

RUIZ-CAPILLAS, C.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Biogenic Amines in Meat and Meat Products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, p. 489-599, 2004.

SANTOS, M. H. S. Biogenic amines: their importance in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 29, n. 2-3, p. 213-231, 1996.

SCHMIDT, E. M. S. et al. Patologia clínica em aves de produção—uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola - Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 9-20, 2007.

SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International**, v. 29, n. 7, p. 675-690, 1996.

SMĚLÁ, D. et al. Liquid chromatographic determination of biogenic amines in a meat product during fermentation and long-term storage. **Czech Journal of Food Sciences-UZPI**, v. 21, n. 5, p. 167-175, 2003.

SOUZA, L. F. A. et al. Farinha de carne e ossos e butirato de sódio sobre o desempenho semanal de frangos de corte. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n. 1, p. 25-32, 2017.

STADNIK, J.; DOLATOWSKI, Z. J. Biogenic amines in meat and fermented meat products. **ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 9, n. 3, p. 251-263, 2010.

STRINGHINI, J. H. **Níveis de proteína e aminoácidos em rações para frangos de corte criados em duas densidades populacionais**. 1998. 123p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

STUART, B. P. et al. Proventricular hyperplasia (malabsorption syndrome) in broiler chickens. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, v. 6, n. 3, p. 369-385, 1986.

TAMIM, N. M.; DOERR, J. A. Effect of Putrefaction of Poultry Carcasses Prior to Rendering on Biogenic Amine Production. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 12, n. 4, p. 456-460, 2003.

TAPINGKAE, W. et al. Degradation of histamine by extremely halophilic archaea isolated from high salt-fermented fishery products. **Enzyme Microbial Technology**, v. 46, n. 2, p. 92-99, 2010.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. Efeitos da aflatoxina sobre as aves: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 18, 2012.

TRONI, A. R. et al. Composição química e energética de alimentos para frangos de corte. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 4, p. 755-760, 2016.

VECIANA-NOGUÉS, M. T. et al. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 2036-2041, 1997.

YARI, P. et al. Productive and serum biological responses of broiler chicks to use of different patterns of diet formulation. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 4, n. 3, p. 459-464, 2014.

ZEGOTA, H. High-performance liquid chromatography of released from pectins after its oxidation to formaldehyde and condensation with 2,4-dinitrophenylhydrazine. **Journal of Cromatography A**, v. 863, n. 2, p. 227-233, 1999.

Anexos

Anexo A - Dietas contendo 10% de farinha de suínos mortos mantidos sob diferentes tempos e condições de armazenamento previamente à sua transformação em farinhas

| Ingredientes | Quantidades % |
|--------------------------------|----------------------|
| Milho | 49,33 |
| Farelo soja | 32,00 |
| Farinha | 10,00 |
| Óleo soja | 3,20 |
| Fosfato bicalcico | 1,87 |
| Calcário | 1,19 |
| Sal | 0,53 |
| L-lisina | 0,39 |
| DI - Metionina | 0,34 |
| cloreto de colina | 0,21 |
| L-treonina | 0,19 |
| Seq toxina | 0,18 |
| Arginina | 0,16 |
| Valina | 0,13 |
| Premix Vitamínico | 0,09 |
| Tilosina | 0,09 |
| Premix Mineral | 0,04 |
| Coban (anticoccidiano) | 0,03 |
| BHT (antioxidante) | 0,02 |
| Triptofano | 0,00 |
| Nutrientes | Níveis |
| Energia metabolizável, Kcal/Kg | 3.080 |
| Amido, % | 34,88 |
| Proteína bruta, % | 25 |

| | |
|-----------------------|------|
| Extrato etéreo, % | 6,31 |
| Cinzas, % | 6,04 |
| Ácido linoleico, % | 2,93 |
| Fibra bruta, % | 2,65 |
| Cálcio,% | 1,76 |
| Fenil+Tir Dig, % | 1,38 |
| Leucin Dig., % | 1,35 |
| ArgininaDig, % | 1,26 |
| Lisina Dg., % | 1,17 |
| Fósforo Total, % | 1,07 |
| Met+Cis Dig., % | 0,85 |
| Fósforo disponível, % | 0,84 |
| Fenil Dig, % | 0,8 |
| Treonina Dig, % | 0,76 |
| Isoleuc Dig., % | 0,69 |
| Metionina Dig., % | 0,57 |
| Histidina Dig., % | 0,44 |
| Cloro, % | 0,41 |
| Sódio, % | 0,27 |
| Triptofano Dig, % | 0,2 |