

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DAS RAÇÕES NA
RASTREABILIDADE DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL PELA
TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS EM FRANGOS DE CORTE**

ROSANA GOTTMANN

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre

BOTUCATU – SP
Junho de 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DAS RAÇÕES NA
RASTREABILIDADE DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL PELA
TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS EM FRANGOS DE CORTE**

ROSANA GOTTMANN

Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. ANTONIO CELSO PEZZATO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. CARLOS DUCATTI

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre

BOTUCATU – SP

Junho de 2007

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Carlos e Suely, pelo amor, carinho, educação e apoio para que pudesse conquistar esse objetivo.

Ao meu esposo Aydison pelo amor, carinho, companheirismo, compreensão, paciência e por nunca me deixar desanimar.

AGRADECIMENTOS

À Deus por estar comigo em mais uma conquista;

Ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ, Botucatu – SP, pelo apoio durante a realização da pesquisa e do curso;

Ao Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato, pela compreensão e orientação;

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti pela atenção e dedicação, na realização das análises isotópicas e discussão dos resultados;

Ao Prof. Dr. Francisco Stefano Weschler pela atenção e disposição no auxílio para as análises estatísticas;

Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, pela colaboração na realização do experimento;

À Prof^ª. Valquíria Cação da Cruz pela amizade e atenção disponibilizada;

À amiga Jane Cristina Gonçalves pela amizade, paciência, atenção, dedicação e ajuda, fundamentais, para realização deste trabalho;

À amiga Anália Maria Ribeiro da Silva pela amizade, incentivo, convivência durante esses anos, e ajuda no experimento;

Aos amigos Thais, Thiago e Fabiana e Neide Ige Marquesim e Thiago W. Ferrari pela amizade, atenção e carinho;

Aos amigos Cleusa Mori, Juliana Célia Denadai, Mariela Akie Okino Mituo, André Bordinhon, pela amizade, ajuda na finalização do experimento, convivência, pelos momentos de descontração e boas risadas;

Ao amigo Rodrigo Martins de Souza Emediato pela amizade, apoio, convivência e auxílio durante a parte experimental;

Ao Sr. Arlindo, funcionário do Laboratório de Nutrição de Aves, pela dedicação e auxílios prestados;

Aos funcionários e amigos do Centro de isótopos Estáveis Ambientais: Cibele de Souza, Evandro Tadeu da Silva e Silvia Américo Maschette, pela amizade, convivência e auxílio nas análises isotópicas;

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Carmen Sílvia de Oliveira Pólo, Seila Cristina Cassinelli Vieira e Danilo Juarez Teodoro Dias pela atenção e auxílios prestados;

A Caroline de Lima, Vivian Minniti e demais estagiários de Laboratório de Nutrição de aves, que colaboraram na parte experimental;

Ao Aydison Takiguchi Nogueira Silva companheiro de todos os momentos;

E a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
CAPITULO 1	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	2
1. INTRODUÇÃO	2
2. ISÓTOPOS ESTÁVEIS	4
3. ISÓTOPOS ESTÁVEIS NA CERTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS	7
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
CAPITULO 2	17
RESUMO	18
ABSTRACT	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
CAPITULO 3	38
IMPLICAÇÕES	39

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Identificação dos tratamentos experimentais.	22
Tabela 2 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculado para as rações experimentais iniciais (1 a 21 dias).....	23
Tabela 3 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculado para as rações experimentais finais (22 a 42 dias).	24
Tabela 4 - Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, e seus desvios-padrão, da ração de frangos de corte criados até os 42 dias de idade.	27
Tabela 5 - Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, e seus desvios-padrão, do músculo peitoral de frangos de corte criados até os 42 dias de idade.....	30

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo <i>Pectoralis major</i> de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento controle.	31
Figura 2. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo <i>Pectoralis major</i> de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento controle.	32

Considerações Iniciais

1. Introdução

A prática de alimentar as aves com dietas contendo farinha de carnes, vísceras e penas como fonte de proteína, em substituição ao farelo de soja, é comum em empresas brasileiras, por essas matérias-primas apresentarem custo relativamente baixo e serem boas fontes de nutrientes quando bem processadas (Moura et al., 1994; Pereira et al., 1994; Bellaver et al., 2001). Porém, para manter as exportações para a Europa e Oriente Médio, que proíbem o uso de farinhas de origem animal nas rações dos frangos de corte, tem ocorrido direcionamento para a fabricação de rações vegetais com base em milho e farelo de soja (Bellaver et al., 2005).

Episódios como salmonelose em ovos na Grã-Bretanha, a contaminação com dioxina em frangos e suínos na Bélgica, surtos de febre aftosa em vários países, a encefalopatia espongiforme bovina (BSE), conhecida como doença da vaca louca na Inglaterra e Canadá e recentemente a Influenza Aviária na Ásia, contribuíram para o aumento da preocupação dos consumidores em relação à qualidade dos alimentos comercializados.

Para aumentar as garantias ao consumidor do alimento seguro, a Comunidade Européia (CE) fez modificações em suas normas sanitárias (Sacco et al., 2005), estabelecendo regime de identificação, registro e a rotulagem da carne e produtos à base de carne bovina (CE nº. 1760/2000). Outra modificação foi a restrição do uso de subprodutos de origem animal em rações de animais da mesma espécie (CE nº. 1774/2002).

Nesse contexto, surge a rastreabilidade como ferramenta para fornecer maior segurança ao consumidor. Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1994), pela norma NBR ISO 8402, rastreabilidade é definida como a habilidade de descrever a história, aplicação, processos ou eventos e localização do produto em determinada organização por meios de registros e identificação.

A rastreabilidade aplicada isoladamente não traz segurança ao produto nem ao processo, devendo estar associada a outros sistemas de controle, como complemento no gerenciamento da qualidade (Iba et al., 2003).

É importante atentar que sob o manto da rastreabilidade também podem aparecer outros interesses, além da qualidade, da segurança alimentar e da sanidade animal, podendo ser usados como barreira comercial, com intuito de dificultar as exportações do país (Moreira & Mendes, 2004).

No Brasil, o único sistema de rastreabilidade oficialmente implantado é o da cadeia de bovinos e bubalinos, denominado Sisbov - Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem Bovina e Bubalina, criado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2002) como resposta imediata do governo brasileiro às pressões da União Européia, que exigia um programa oficial de rastreabilidade para a cadeia de bovinos.

A avicultura ainda não dispõe de sistema de identificação oficial como a pecuária de corte, mas já utiliza diversas ferramentas de gestão e controle de qualidade em sua cadeia, como o HACCP (Análise de Risco e Controle de Pontos Críticos) ou o BPF (Boas Práticas de Fabricação), além de atuar no sentido de definir normas para outros pontos da cadeia produtiva (Cerutti, 2002).

Seria desejável que houvesse na indústria avícola, além de um programa eficiente de rastreabilidade, análise de contra prova que auxilie atestar a veracidade das informações constantes no histórico alimentar de lotes de produtos diferenciados (ex. frango verde), que pudesse monitorar o processo de rastreabilidade e fornecer laudos técnicos para as auditorias, como instrumento de confiabilidade (Oliveira, 2005).

Muitos métodos têm sido propostos para identificar a presença de subprodutos de origem animal em rações para animais, tais como, hibridização de DNA, ELISA e PCR (Bloch Junior, 2002).

A espectrometria de massas, através da análise da razão isotópica do carbono e nitrogênio, vem sendo utilizada neste sentido na tentativa de identificar a presença de subprodutos de origem animal na alimentação de frangos de corte (Oliveira, 2005; Carrijo et al., 2006).

A razão isotópica para o elemento químico carbono-13 tem sido utilizada com sucesso para testar a autenticidade, a qualidade e a origem geográfica de vários produtos como sucos de frutas (Bricout & Koziat, 1987; Koziat et al., 1993), vinhos (Martin et al., 1988), méis (Brookes et al., 1991; White et al., 1998), produtos lácteos (Rossmann et al., 2000; Manca et al., 2001), óleos vegetais (Kelly et al., 1997), além de

caracterização e diferenciação do regime dietético de suínos ibéricos de acordo com a alimentação recebida no período de engorda (Gonzalez-Martin et al., 1999). Associado a razão isotópica do nitrogênio permitiu a certificação da origem geográfica e tipos de alimentação de ovinos (Piasentier et al., 2003) e a detecção da inclusão de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte (Oliveira, 2005; Carrijo et al., 2006).

2. Isótopos estáveis

O termo isótopo vem do grego: *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato de ocuparem o mesmo lugar na tabela periódica. Isótopos são átomos do mesmo elemento químico que diferem em número de nêutrons, por isso apresentam diferentes massas nucleares. A expressão *estável* significa dizer que não emitem radiação.

Os isótopos do carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O), nitrogênio (N) ocorrem naturalmente na biosfera. Cada elemento apresenta um isótopo estável leve dominante: carbono-12 (^{12}C), hidrogênio-1 (^1H), oxigênio-16 (^{16}O) e nitrogênio-14 (^{14}N) e um ou dois isótopos estáveis pesados: carbono-13 (^{13}C), hidrogênio-2 (^2H), oxigênio-17 (^{17}O), oxigênio-18 (^{18}O) e nitrogênio-15 (^{15}N), com abundância ou concentração natural expressa em átomos %.

A abundância natural para os isótopos estáveis de carbono é de aproximadamente 98,89 e 1,11 átomos % para ^{12}C e ^{13}C , respectivamente (Kennedy & Krouse, 1990) e 99,64 e 0,36 átomos % para ^{14}N e ^{15}N , respectivamente (Ducatti, 2004).

A medida da relação entre isótopos é realizada pelo espectrômetro de massas, que mede a concentração dos diferentes isótopos do elemento, admitido no sistema sob a forma gasosa (H_2 , CO_2 , N_2 e SO_2).

A razão entre os isótopos estáveis, mensurados por espectrometria de massa de baixa resolução, com leitura em delta (δ) é obtida pela expressão:

$$\delta X_{(amostra, padrão)} = [(R_{amostra} - R_{padrão}) / R_{padrão}] \times 1000$$

onde:

δX = enriquecimento do isótopo mais pesado do elemento químico X (C ou N) da amostra em relação ao respectivo padrão internacional.

R = representa a razão isotópica entre o isótopo menos e o mais abundante, em particular $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$.

Os valores do delta do carbono-13 são expressos em delta per mil da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação a um padrão internacional ($\delta\text{‰}^{13}\text{C}$).

O padrão internacional para os isótopos estáveis de carbono é o Peedee Belemnite (PDB). Segundo Friedman & O'Neil (1977), citados por Ducatti et al. (1979), o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono. Trata-se de um carbonato sólido de *Belemnitela americana*, da formação *Peedee* da Carolina do Sul, Estados Unidos, empregado inicialmente como padrão por Craig (1957). Para os isótopos estáveis de nitrogênio o padrão internacional aceito é o ar atmosférico e os valores do delta do nitrogênio-15 também são expressos, na terminologia dos isótopos estáveis, em delta per mil da razão isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ da amostra em relação a esse padrão ($\delta\text{‰}^{15}\text{N}$).

As plantas, na sua maioria, podem ser classificadas em dois grupos principais, de acordo com a via fotossintética de fixação do CO_2 : plantas do ciclo fotossintético C_3 e plantas do ciclo fotossintético C_4 . Nestas plantas o primeiro composto orgânico a ser formado é um ácido carboxílico, que nas plantas C_3 possui três átomos de carbono e nas plantas C_4 possui quatro átomos de carbono.

A via fotossintética C_3 inclui a maioria das árvores, arbustos, soja, arroz, trigo, cevada, algodão entre outros, e a via fotossintética C_4 é encontrada no milho, cana de açúcar, sorgo, e outros capins de origem tropical ou subtropical.

O CO_2 atmosférico que possui valor de $\delta^{13}\text{C}$ de aproximadamente $-7,7\text{‰}$ (Kennedy & Krouse, 1990), é a fonte primária de carbono para as plantas terrestres. Este carbono sofre discriminação isotópica ao longo do processo de fotossíntese, ocorrendo diminuição da concentração de ^{13}C e aumento da concentração de ^{12}C . Durante a assimilação fotossintética, as plantas do ciclo fotossintético C_3 fixam o CO_2 atmosférico através do ciclo *Calvin-Benson* e apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -22 e -34‰ (valor modal = $-26,7\text{‰}$), enquanto as plantas do ciclo fotossintético C_4 fixam o

CO₂ atmosférico através do ciclo *Hatch-Slack* e apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -9 e -16‰ (valor modal = -12,6‰). O sinal negativo indica que a planta ou seu subproduto apresenta menor concentração de ¹³C que o padrão internacional. Portanto, as plantas C₃ e C₄ possuem assinaturas isotópicas diferentes, devido ao fracionamento que ocorre durante a fixação fotossintética do carbono (Smith & Epstein, 1971; O'leary, 1981; Kennedy & Krouse, 1990; Voguel, 1993).

A diferença natural, da ordem de 14 per mil mais rico em carbono-13 nas plantas do ciclo fotossintético C₄, em relação às do ciclo fotossintético C₃, torna possível a utilização destas plantas e seus subprodutos como marcadores em animais, sem a necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados, além de evitar problemas de saúde e segurança associados ao uso de isótopos radioativos (Jones et al., 1979; Tieszen et al., 1979; Boutton et al., 1988; Metges et al., 1990), podendo ser aplicados sem o risco de contaminação ambiental em estudos com aves de postura (Carrijo et al., 2000; Denadai, 2004), frangos de corte (Cruz et al., 2004; Oliveira, 2005; Carrijo et al., 2006), peixes (Zuanon, 2003) e ovinos (Silva, 2003).

Diferentemente do carbono, a razão isotópica ¹⁵N/¹⁴N nas plantas não depende do ciclo fotossintético realizado. Mesmo a atmosfera sendo abundante em N₂, somente as plantas que possuem bactéria fixadora de nitrogênio conseguem fixá-lo do ar. As demais plantas o fixam através da incorporação de compostos nitrogenados do solo. Quando o nitrogênio é absorvido do ar atmosférico pelas bactérias fixadoras ou pelo uso de fertilizantes industriais, o valor do $\delta^{15}\text{N}$ no solo é baixo em torno de 0‰. Se absorvido da matéria orgânica decomposta, o valor do $\delta^{15}\text{N}$ é mais significativo, ao redor de 5‰. Valores negativos de $\delta^{15}\text{N}$ são observados em solos com baixa porcentagem de matéria orgânica, em particular solos secos e arenosos. Quando for adicionado esterco como fertilizante natural, a taxa de fracionamento é alto, com valores de $\delta^{15}\text{N}$ em torno de 10‰ (Shibuya et al., 2006).

3. Isótopos estáveis na certificação de alimentos

Os isótopos estáveis inicialmente foram utilizados em estudos geológicos e arqueológicos servindo como técnica para a reconstrução de dieta prévia de animais (Van der Merve, 1982; De Niro, 1987). Ultimamente sua utilização vem crescendo em pesquisas agrícola, ecológicas e fisiológicas (Gannes et al., 1998), mostrando-se como uma alternativa promissora para estudos de processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo de nutrientes em humanos e animais e em estudos para identificar a procedência e qualidade de produtos de origem animal e vegetal.

Estas investigações demonstraram que as composições isotópicas dos tecidos de animais geralmente assemelham-se com as de suas dietas, em relação ao carbono-13 (Minson & Ludlow, 1975; De Niro & Epstein, 1976, 1978; Hobson & Clark, 1992a, 1992b), por estarem ligados aos processos metabólicos (Kennedy & Krouse, 1990), presentes em todos os nutrientes capazes de gerar energia aos animais e representarem cerca de 50% dos elementos químicos que compõem o corpo dos animais superiores (Murray, 1990). A integração da composição isotópica do carbono incorporado no corpo do animal e o que foi perdido na respiração e excreção deve ser igual à composição isotópica de carbono da dieta, isto é a base da maioria dos pressupostos dos experimentos que utilizam os isótopos estáveis do carbono, segundo DeNiro & Epstein (1978).

O crescente interesse do consumidor em saber a origem e a qualidade do produto que vai consumir e o interesse pela carne de frango produzida exclusivamente com rações de origem vegetal faz aumentarem as pesquisas com métodos que permitam a certificação de origem e qualidade de produtos de origem animal (Hargin, 1996; Monin, 1998; Gonzales-Martin et al., 1999; Gonzales-Martin et al., 2001; Piasentier et al., 2003). Neste sentido, a técnica de isótopos estáveis para detectar o tipo de alimento consumido pelo animal torna-se apropriada.

Schimidt et al. (2005) sugerem que as análises das razões isotópicas de carbono, nitrogênio e enxofre da carne bovina podem pressupor a origem geográfica da carne bovina, além de poder detectar diferenças entre seus sistemas de produção (convencional e orgânico). A possibilidade de rastrear a origem geográfica e diferir

sistemas produtivos, convencional e orgânico, da carne bovina, a partir de análises isotópicas também foi encontrada por Boner & Förstel (2004).

Os resultados obtidos por Piasentier et al. (2003) mostraram a possibilidade de certificar a origem geográfica e o regime de alimentação de ovinos, por meio da técnica dos isótopos estáveis do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$. Devido às diferenças no regime alimentar foram encontradas diferenças nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ na proteína destes animais e as variações nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ ocorreram em função do tipo de solo, da presença de plantas leguminosas ou do próprio metabolismo animal.

O uso da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ também foi utilizado por Gonzáles-Martin et al. (2001), porém para caracterização do regime dietético de suínos de diferentes linhagens durante a fase de terminação, em amostras de tecido adiposo, por meio de análises isotópicas conjuntas de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e enxofre ($\delta^{34}\text{S}$).

A inclusão gradativa de farinha de carne e ossos bovina nas dietas de frangos de corte pode ser observada em músculo peitoral de frangos de corte, segundo Carrijo et al. (2006), por meio do enriquecimento isotópico do carbono-13 e nitrogênio-15 à medida que os sinais dos pares isotópicos se distanciavam do sinal da dieta vegetal, conforme a inclusão da farinha aumentava.

Pesquisas utilizando a técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio vêm sendo desenvolvidas, no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais (CIEA) do Instituto de Biociências (IB) em conjunto com a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), ambos da UNESP - Botucatu, na tentativa de identificar a utilização de subprodutos de origem animal na alimentação de frangos de corte. Estes estudos ocorrem visto a necessidade de se produzir carne de frango dentro dos padrões exigidos pelo mercado externo, quanto à utilização destes ingredientes na alimentação animal.

Com o desenvolvimento destas pesquisas surgiu a necessidade de verificar se outros ingredientes, além dos que compõem a base da dieta de frangos de corte, poderiam interferir nessa detecção.

Como o milho e a soja são os ingredientes que mais contribuem para a elevação dos custos das dietas das aves, pois constituem aproximadamente 70% da composição, e sofrem constantes oscilações nos preços, tem havido crescente busca por alimentos alternativos, principalmente os subprodutos da agroindústria, que possuem baixo custo e são encontrados facilmente em certas regiões e em algumas épocas do ano (Granjeiro et

al., 2001). Entre estes ingredientes alternativos, encontram-se a levedura de cana-de-açúcar (Butolo, 1991) e o farelo de trigo (Bellaver, 2003).

O Capítulo 2, intitulado “**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DAS RAÇÕES NA RASTREABILIDADE DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL PELA TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS EM FRANGOS DE CORTE**” encontra-se redigido de acordo com as normas editoriais da Revista *PAB – Pesquisa Agropecuária Brasileira*. O presente trabalho teve por objetivo verificar se a inclusão de outros ingredientes, como farelo de trigo e levedura de cana-de-açúcar, na dieta de frangos de corte, interfere na detecção de subprodutos de origem animal pelo uso da técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

Referências bibliográficas

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 8402. Gestão da qualidade e garantia da qualidade - Terminologia**. Rio de Janeiro: ABNT, 1994.

BELLAVER, C.; BRUM, P.A.R.; LIMA, G.M.M.; BOFF, J.; KERBER, J. Substituição parcial do farelo de soja pela farinha de vísceras de aves em dietas balanceadas com base na proteína e em aminoácidos totais ou digestíveis para frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. 2001, v.3, n.3, p.233-240.

BELLAVER, C. **Sistema de Produção de Frangos de Corte**. Versão Eletrônica janeiro de 2003. Acesso em 22 fev. 2007.

<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaodeFrangodeCorte/Alimentos.html>>

BELLAVER, C.; COSTA, C.A.F.; FRAHA, V.S.A.; LIMA, G.J.M.M.; HACKERNHAR, L.; BALDI, P. Substituição de farinhas de origem animal por ingredientes de origem vegetal em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.671-677, 2005.

BLOCH JUNIOR, C. Monitoramento da qualidade de rações brasileiras para ruminantes por espectrometria de massa. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS E TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p.251-252.

BONER, M., FÖRSTEL, H. Stable isotope variation as tool to trace the authenticity of beef. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.378, n.2, p.301-310, 2004.

BOUTTON, T. W.; TYRRELL, H.F.; PATTERSON, B.W. Carbon Kinetics of milk formation Holstein cows in late lactation. **Journal of Animal Science**, v.66, p.2636-2645, 1988.

BRICOUT, J.; KOZIET, J. Control of the authenticity of orange juice by isotopic analysis. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.35, p.758-760, 1987.

BROOKES, S. T.; BARRIE, A.; DAVIES, J. E. A rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ test for determination of corn-syrups in honey. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.74, p.627-629, 1991.

BUTOLO, J.E. Avaliação biológica da levedura de cana (*Saccharomyces cerevisiae*) na alimentação de frangos de corte, fase inicial e engorda, substituindo-se total e parcialmente a suplementação de vitaminas do complexo B, presentes na levedura de cana. In: SEMINÁRIO DE PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE LEVEDURA DE CANA, 2, 1991, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, SP: CTC, 1991. p.47.

CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C. Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.3, p. 209-218, 2000.

CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; TRINCA, L.; SILVA, E. T. Traceability of Bovine Meat and Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.8, n.1, p.37-42, 2006.

CERUTTI, M. **Avisite especial: rastreabilidade na avicultura** (06/08/2002). 2002. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/reportagem/rastreabilidade/default2.asp>> Acesso em: 30 mar.2005

COMUNIDADE EUROPÉIA. Regulamento (CE) No. 1760/2000. **Official Journal of the European Communities**. Disponível em: <http://europa.eu.int/smartapi/cgi/sga_doc?smartapi!celexapi!prod!CELEXnumdoc&lg=PT&numdoc=32000R1760&model=guichett> Acesso em: 20 jan.2005.

COMUNIDADE EUROPÉIA. Regulamento (CE) No. 1774/2002. **Official Journal of the European Communities**. Disponível em: <http://europa.eu.int/smartapi/cgi/sga_doc?smartapi!celexapi!prod!CELEXnumdoc&lg=PT&numdoc=32002R1774&model=guichett> Acesso em: 20 out.2004.

CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.12, p.133-149, 1957.

CRUZ, V. C.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; PINHEIRO, D. F.; SARTORI, J. R.; GONÇALVES, J. C. Tracing metabolic routes of feed ingredients in tissues of broiler chickens using stable isotopes. **Poultry Science**, v.83, p.1376-1381, 2004.

DENADAI, J. C. **Avaliação Metabólica de dietas C₃ e C₄ na formação do ovo (gema e albúmen), pelo uso da técnica dos isótopos estáveis do carbono**. 2004. 43 f.
Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. You are what you eat (plus a few ‰) the carbon isotope cycle in food chains. **Geological Society of America**, Boulder, v.6, p.834, 1976.
(Abstract).

DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, London, v.42, p.495-506, 1978.

DeNIRO, M.J. Stable isotopes and archaeology. **American Scientist**, v.75, p.182-191. 1987.

DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. Método de análise da razão ¹³C/¹²C em matéria orgânica e das razões ¹³C/¹²C e ¹⁸O/¹⁶O em carbonatos. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.51, p.275-286, 1979.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. 2004 [apostila]. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004. 184 p.

GANNES, L.Z.; DEL-RIO, C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v.119A, n.3, p.725-737, 1998.

GONZALEZ-MARTIN, I., GONZALEZ-PÉREZ, C., HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J., SÁNCHEZ GONZÁLEZ, C. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine. **Meat Science**, v.52, p.437-441, 1999.

GONZÁLEZ-MARTIN, I.; GONZÁLEZ-PÉREZ, C.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J.; SÁNCHEZ GONZÁLEZ, C. Differentiation of dietary regimen of Iberian swine by

means of isotopic analysis of carbon and sulphur in hepatic tissue. **Meat Science**, v.58, p.25-30, 2001.

GRANJEIRO, M. G. A.; FUENTES, M. F. F.; FREITAS, E. R.; ESPÍNDOLA, G. B.; SOUZA, F. M. de. Inclusão da Levedura de Cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30, n.3,p.766-773, 2001.

HARGIN, K.D. Authenticity issues in meat and meat products. **Meat Science**, v.43, p.S277-S289, 1996.

HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of ^{13}C in tissues. **The Condor**, Los Angeles, v.94, p.181-188, 1992a.

HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. **The Condor**, Los Angeles, v.94, p.189-197, 1992b.

IBA, S. K.; BRABET, C.; OLIVEIRA, I. J. O.; PALLET, D. **Um panorama da rastreabilidade dos produtos agropecuários do Brasil destinados à exportação - carnes, soja e frutas 2003** - Disponível em <<http://www.cendotec1.org.br/dossier/cirad/produitsbrpr.pdf>> Acessado em 15 mar.2005.

JONES, R.; LUDLOW, M.; TROUGHTON, J. Estimation of the proportion of C_3 and C_4 plant species in diet of animals from the ratio of natural ^{12}C and ^{13}C isotopes in the faeces. **Journal of Agricultural Science**, v.92, p.91-100. 1979.

KELLY, S.; PARKER, I.; SHARMAN, M.; DENNIS, J.; GOODALL, I. Assessing the authenticity of single seed vegetable oils using fatty acid stable carbon isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). **Food Chemistry**, v.59, n.2, p.181-186, 1997.

KENNEDY, B.V.; KROUSE; H.R. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. **Canadian Journal Physiology and Pharmacology**. v.68, p.960-972, 1990.

KOZIET, J.; ROSSMANN, A.; MARTIN, G.J.; ASHURST, P.R. Determination of carbon-13 content of sugars of fruit and vegetable juices. **Analytica Chimica Acta**, v.271, p.31-38, 1993.

MANCA, G.; CAMIN, F.; COLORU, G.; Del CARO, A.; DETENTORI, D.; FRANCO, M. A.; VERSINI, G. Characterization of the geographical origin of *Pecorino Sardo* cheese by casein stable isotope ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) ratios and free amino acid ratios. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.49, p.1404-1409, 2001.

MAPA Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 1, DE 09 DE JANEIRO DE 2002**. Institui o Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem Bovina e Bubalina - SISBOV. 2002. Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1777>> Acesso em 24 jun.2005.

MARTIN, G. J.; GUILLOU, C.; MARTIN, M. L.; CABANIS, M. T.; TEP, X.; AERNY, J. Natural factors of isotope fractionation and the characterization of wines. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.36, p.316-322, 1988.

METGES, C.; KEMPE, K.; SCHIMIDT, H.L. Dependence of the carbon isotope contents of breath carbon dioxide, milk, serum and rumen fermentation products on the $\delta^{13}\text{C}$ value of food in dairy cows. **British Journal of Nutrition**, v.63, p.187-196, 1990.

MINSON, D.J.; LUDLOW, M.M. Differences in natural carbon isotope ratios of milk and hair from cattle grazing tropical and temperate pastures. **Nature**, Washington, v.256, p.602, 1975.

MONIN, G. Recent methods for predicting quality of whole meat. **Meat Science**, v.49, p.S231-S243, 1998.

MOREIRA, J.; MENDES, A. Rastreabilidade e Certificação Redação AI. (Edição 1121/2004). Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=8864&tipo_tabela=cet&categoria=ped> Acesso em 24 jun.2005.

MOURA, C.C.; DONZELE, J.L.; MELLO, H.V.; COSTA, P.M.A.; TAFURI, M.L. Farinha de penas e sangue em rações para suínos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.23, n.4, p.632-641, 1994.

MURRAY, R.K. Biomoléculas e métodos bioquímicos. In: MURRAY, R.K. **Harper: Bioquímica**. São Paulo: Atheneu. p.4-11, 1990.

O'LEARY, M. H. Carbon isotope fractionation plants. **Phytochemistry**, v.20, n.4, p.553-567, 1981.

OLIVEIRA, R. P. **Rastreabilidade da farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$)**. 2005. 109 f Tese. (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

PEREIRA, L.E.J.; DONZELE, J.L.; MELLO, H.V.; LEÃO, M.I. Farinha de vísceras de aves em substituição ao farelo de soja na alimentação de suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.23, n.6, p.930-939, 1994.

PIASSENTIER, E.; VALUSSO, R.; CAMIN, F.; VERSINI, G. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. **Meat Science**, v.64, p.239-247, 2003.

ROSSMANN, A.; HABERHAUER, G.; HOLZL, S.; HORN, P.; PICHLMAYER, F.; VOERKELIUS, S. The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. **European Food Research & Technology**, v.211, p.32-40, 2000.

SACCO, D. BRESCIA, M.A.; BUCCOLIERI, A.; JAMBRENGHI, A.C. Geographical origin and breed discrimination of Apulian Lamb meat samples by means of analytical and spectroscopic determinations. **Meat Science**, v.79, p.542-548. 2005.

SHIBUYA, E. K.; SARKIS, J. E. S.; NETO, O. N.; MOREIRA, M. Z.; VICTORIA, R. L. Sourcing Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, v.160, p.35-43, 2006.

SCHIMIDT, O.; QUILTER, J.M; BAHAR, B.; MOLONEY, A.P.; SCRIMGEOUR, C.M.; BEGLEY, I.S.; MONAHAN, F.J. Inferring the origin and dietary history of beef from C, N and S stable analysis. **Food Chemistry**, v.91, p.545-549, 2005.

SILVA, J. J. **Determinação da fase lactente - ruminante em cordeiros pelas técnicas do $\delta^{13}\text{C}$ e micro - histologia fecal**. 2003. 43 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SMITH, B. N.; EPSTEIN, S. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of higher plants. **Plant Physiology**, v.47, p.380-384, 1971.

TIESZEN, L.L.; HEIN, D.; QVORTRUO, S.; TROUGHTON, J.; IMBAMBA, S. Use of $\delta^{13}\text{C}$ values to determine vegetation selectivity in East African herbivores. **Oecologia**, v.37, p.32-37. 1979

VAN DER MERVE, N.J. Carbon isotopes, photosynthesis and archaeology. **American Scientist**, New Haven, v.70, p.596-606, 1982.

VOGEL, J. C. Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis. In: EHLERINGER, J. R.; HALL; A. E.; FAQUHAR, G. D. (ed). **Stable isotopes and plant carbon-water relations**. San Diego: Academic Press Inc., p.29-46, 1993.

WHITE, J. W.; WINTERS, K.; MARTIN, P.; ROSSMANN, A. Stable carbon isotope ratio analysis of honey: validation of internal standard procedure for worldwide application. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.81, p.610-619, 1998.

ZUANON, J. A. S.; PEZZATO, A.C.; DUCATTI, C.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; PASSOS, J.R.S. Muscle $\delta^{13}\text{C}$ change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, cichlidae) fingerling fed on C3 – or C4 cycle plants grain-based diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v.147, p.761-765, 2007.

Influência da composição das rações na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis em frangos de corte

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar se a inclusão de farelo de trigo (T) e levedura de cana-de-açúcar (L) pode interferir na detecção da farinha de carne e ossos bovina (C) e da farinha de vísceras de aves (V), na alimentação de frangos de corte, utilizando a técnica de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio no músculo peitoral (*Pectoralis major*). Foram utilizados 480 pintos machos (*Cobb*), com um dia de idade, distribuídos aleatoriamente em dezesseis tratamentos, com 30 aves cada, sendo uma dieta controle à base de milho e soja e os demais tratamentos, possíveis combinações da inclusão C, V, L e T. As dietas foram padronizadas para serem equivalentes em proteína bruta ao tratamento com 6% de C. Para análise da razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), expressa em delta per mil ($\delta\text{‰}$), aos 42 dias de idade foram separadas ao acaso quatro aves ($n = 4$) por tratamento e coletado o músculo peitoral. Os tratamentos com adição de C + T e o tratamento com inclusão de V + T não diferiram do tratamento controle. A levedura ou a levedura com farelo de trigo em rações a base de milho e farelo de soja, pode atrapalhar a rastreabilidade das farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte.

Termos para indexação: carbono-13, nitrogênio-15, ingrediente de origem animal, aves, certificação.

Rations composition influence in traceability of animal meal using the stable isotopes technique in broilers

ABSTRACT

This paper aims to verify if wheat meal (W) and sugar cane yeast (Y) inclusion in broilers diet can interfere on the detection of meat and bones meal (M) and visceral meal (V) using carbon and nitrogen stable isotopes technique in breast muscle (*Pectoralis major*). Four hundred and eighty one-day-old male chicks (*Cobb*), were randomly distributed on sixteen treatments (30 birds each), using a control diet (corn and soybean meal basically) and all the others where composed by the possible combinations of M, V, Y and W inclusion. Diets were standardized to be equivalent to 6% M treatment in crude protein. To isotopic ratio analysis ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) in delta per mil ($\delta\text{‰}$), at 42 days of age were randomly sampled 4 broilers ($n = 4$) per treatment to collect breast muscle (*Pectoralis major*). The treatments with addition of M + W and the treatment with inclusion of V + W didn't differ of the control treatment. The yeast or the yeast with wheat middling in diets with maize and soybean meal, can interfere in the animal meal traceability of broiler feeding.

Indexing terms: carbon-13, nitrogen-15, animal origin ingredients, broiler, certification.

Introdução

Diante de tendências internacionais, onde o mercado impõe exigências cada vez mais rigorosas à exportação de produtos brasileiros, a rastreabilidade torna-se ferramenta relevante para assegurar produto de qualidade aos consumidores. Muitos importadores da carne de frango brasileira, como a União Européia e o Oriente Médio, exigem que as aves não recebam alimentação com ingredientes de origem animal e promotores de crescimento (Bellaver et al., 2005), ocorrendo direcionamento para produção de animais alimentados com rações estritamente vegetais.

Em função de problemas ocorridos nas últimas décadas como a encefalopatia espongiforme bovina (BSE), a preocupação com questões relacionadas a organismos geneticamente modificados (GMO), febre aftosa e influenza aviária fez-se necessário o desenvolvimento de um sistema que permita controlar toda a cadeia alimentar (Regattieri et al., 2007).

Assim, foram adotadas medidas internacionais ligadas à manutenção da qualidade dos produtos de origem animal, à ausência de resíduos de substâncias químicas nas rações; identificação, registro e a rotulagem da carne e produtos à base de carne bovina (Comunidade Européia, 2000) e restrição da utilização de subprodutos de origem animal em rações de animais da mesma espécie (Comunidade Européia, 2002).

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1994), pela norma NBR ISO 8402, rastreabilidade é definida como a habilidade de descrever a história, aplicação, processos ou eventos e localização do produto a uma determinada organização por meios de registros e identificação. Porém, aplicada isoladamente não traz segurança ao produto nem ao processo, devendo assim, estar associada a outros sistemas de controle de qualidade (Iba et al., 2003). Por isso, há necessidade do desenvolvimento de tecnologias independentes para a autenticação de carnes, de modo a tranquilizar os consumidores, proteger designações regionais e assegurar competição justa (Ilbery et al., 2000).

Deste modo, pesquisas relacionadas a metodologias que permitam a certificação de origem e qualidade de produtos de origem animal vêm crescendo a cada ano (Hargin, 1996; Monin, 1998; González-Martin et al., 1999; González-Martin et al., 2001; Piasentier et al., 2003) e a técnica de isótopos estáveis, para rastrear o tipo de alimento consumido pelo animal, é bastante apropriada.

A detecção da presença de produtos de origem animal na alimentação de frangos de corte, como na de outras espécies animais, torna-se possível considerando que a assinatura isotópica da dieta é refletida no organismo dos animais, pois o animal é o que consome isotopicamente, até $\pm 2,0\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ e até $\pm 3,0\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$, segundo DeNiro & Epstein (1976, 1978).

A razão isotópica do carbono em associação a do nitrogênio permite a certificação da origem geográfica e tipos de alimentação de ovinos (Piasentier et al., 2003), caracterização e diferenciação do regime dietético de suínos ibéricos (González-Martin et al., 1999) e a rastreabilidade de produtos de origem animal na dieta de frangos de corte (Oliveira, 2005; Carrijo et al., 2006).

Com base no exposto, nota-se que o sistema de rastreabilidade é tema de primordial relevância e requer estudos mais aprofundados sobre seu desenvolvimento e técnicas envolvidas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo verificar se a inclusão de outros ingredientes, como o farelo de trigo e a levedura de cana-de-açúcar na dieta de frangos de corte, pode interferir na rastreabilidade da farinha de carne e ossos bovina e da farinha de vísceras de aves, pela técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – *Campus* de Botucatu no período de 13 de setembro a 24 de outubro de 2005. Foram utilizados 480 pintos de corte machos da linhagem *Cobb*, com um dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro, Marek e Bouda Aviária.

As aves foram alojadas em aviário tipo convencional, sendo distribuídas aleatoriamente em 16 tratamentos com lotação de 30 aves/boxe, em uma densidade de 12 aves/m², em 16 boxes de 2,5m² e 4 repetições por tratamento, sendo cada ave abatida considerada uma repetição.

Inicialmente cada boxe continha um bebedouro tipo copo de pressão para o fornecimento de água, e um comedouro tipo tubular inicial para o fornecimento da ração. Estes equipamentos foram substituídos gradativamente por bebedouro pendular e comedouro tubular definitivos, um para cada boxe, respectivamente. O fornecimento de água e ração foi *ad libitum* durante todo o período experimental. Para aquecimento

inicial dos pintos, cada boxe foi equipado com uma campânula com lâmpada infravermelha de 250 watts, que foi retirada no sétimo dia de idade dos pintos.

O controle da temperatura e ventilação ambiental foi feito manualmente pelo manejo das cortinas laterais do galpão. Um termômetro de máxima e mínima foi colocado na altura do piso da instalação para auxiliar no controle da temperatura interna do galpão. O programa de luz adotado foi constante com 24 horas de luz diárias utilizando lâmpadas incandescentes.

As aves foram submetidas a dietas com base em milho e soja e poderiam conter: farinha de carne e ossos bovina (C), farinha de vísceras de aves (V), levedura de cana-de-açúcar (L) e farelo de trigo (T), conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Identificação dos tratamentos experimentais.

Tratamento	Inclusão, %	Proteína Bruta, %			
		C	V	L	T
T1	Dieta controle a base de milho e farelo de soja	-	-	-	-
T2	6 C	2,4	-	-	-
T3	4,3 V	-	2,4	-	-
T4	6,7 L	-	-	2,4	-
T5	15,8 T	-	-	-	2,4
T6	3 C + 2,2 V	1,2	1,2	-	-
T7	3 C + 3,4 L	1,2	-	1,2	-
T8	3 C + 7,9 T	1,2	-	-	1,2
T9	2 C + 2,3 L + 5,3 T	0,8	-	0,8	0,8
T10	2,2 V + 3,4 L	-	1,2	1,2	-
T11	2,2 V + 7,9 T	-	1,2	-	1,2
T12	1,4 V + 2,3 L + 5,3 T	-	0,8	0,8	0,8
T13	3,4 L + 7,9 T	-	-	1,2	1,2
T14	2 C + 1,4 V + 2,3 L	0,8	0,8	0,8	-
T15	2 C + 1,4 V + 5,3 T	0,8	0,8	-	0,8
T16	1,5 C + 1,1 V + 1,7 L + 3,9 T	0,6	0,6	0,6	0,6

O programa de arraçamento foi dividido em duas fases: inicial - 1 a 21 dias (Tabela 2) e final - 22 a 42 dias (Tabela 3). As rações foram elaboradas para serem isoprotéicas e isoenergéticas, sendo formuladas à base de milho, farelo de soja, óleo de soja, fosfato bicálcico, calcário calcítico, sal comum, DL-metionina, L-lisina e suplementos vitamínico e mineral, conforme adaptações das recomendações de Rostagno et al. (2005). A inclusão de levedura, farelo de trigo, farinha de vísceras de aves e farinha de carne e ossos bovina nas dietas foi padronizada para que estas fossem equivalentes em proteína bruta ao tratamento T2, com 6% de farinha de carne e ossos bovina.

Tabela 2 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculado para as rações experimentais iniciais (1 a 21 dias).

Ingredientes, %	Rações Experimentais															
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16
Milho, grão	62,40	63,04	62,25	60,80	44,88	62,63	62,17	57,51	57,21	61,78	55,67	56,55	53,24	62,20	59,10	60,10
Soja, Farelo	33,66	28,01	28,28	28,66	31,42	28,14	28,29	28,45	29,19	28,42	29,45	29,40	29,90	28,28	28,79	28,65
Soja, óleo	0,20			0,17	4,18			0,55	1,13		1,38	0,98	2,10		0,59	0,45
Carne e ossos, farinha		6,00				3,00	3,00	3,00	2,00					2,00	2,00	1,50
Visceras, farinha			4,30			2,20				2,20	2,20	1,40		1,40	1,40	1,10
Trigo, farelo					15,80			7,90	5,30		7,90	5,30	7,90		5,3	3,90
Levedura, cana-de-açúcar				6,70			3,40		2,30	3,40		2,30	3,40	2,30		1,70
Calcário calcítico	1,00	0,80	0,97	1,02	1,09	0,92	0,95	0,98	0,99	0,98	1,04	1,03	1,06	0,95	0,98	0,99
Fosfato bicálcico	1,78		1,22	1,75	1,62	0,43	0,69	0,63	1,01	1,50	1,40	1,53	1,68	0,87	0,81	1,05
DL-Metionina	0,23	0,25	0,20	0,23	0,22	0,23	0,24	0,23	0,23	0,22	0,21	0,22	0,23	0,23	0,22	0,23
L-Lisina	0,18	0,23	0,18	0,10	0,19	0,21	0,16	0,21	0,17	0,14	0,19	0,16	0,15	0,17	0,20	0,18
Caulim		1,10	2,00			1,7	0,57			0,88				1,05		
Sal comum	0,37	0,37	0,37	0,37	0,40	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Cloreto de colina ¹	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Suplemento vitamínico ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral ³	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Composição Calculada

EM, kcal/kg	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900	2900
PB, %	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70	20,70
Ca, %	0,93	1,00	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
P disp, %	0,44	0,51	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
Met, %	0,54	0,56	0,54	0,56	0,55	0,55	0,56	0,54	0,55	0,54	0,53	0,54	0,54	0,55	0,54	0,55
Met + Cys, %	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
Lys, %	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22

¹Cloreto de colina (70%); ²Suplemento vitamínico (níveis por kg de ração): vit. A - 9.900 UI; vit. D - 2.750 UI; vit. E - 22 mg; ác. nicotínico - 27,5 mg; vit. K - 2,75 mg; ác. pantotênico - 13,2 mg; ac. fólico - 0,88 mg; vit. B₁ - 1,65 mg; vit. B₂ - 6,6 mg; vit. B₆ - 3,3 mg; vit. B₁₂ - 13,2 mcg; selênio - 0,275 mg; veículo q.s.p. - 1,1 g; ³Suplemento mineral (por kg de ração): cobre - 10 mg; ferro - 50 mg; todo - 1 mg; manganês - 80 mg; zinco - 50 mg; cobalto - 1 mg; veículo q.s.p. - 0,5 g.

Tabela 3 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculado para as rações experimentais finais (22 a 42 dias).

Ingredientes, %	Rações Experimentais															
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16
Milho, grão	65,31	66,95	66,47	66,89	54,320	66,54	66,23	63,70	66,64	66,64	65,09	64,50	63,06	64,54	64,79	66,77
Soja, Farelo	25,57	19,74	19,94	19,95	22,119	19,87	19,98	20,54	19,88	19,97	20,15	21,20	18,63	21,60	21,10	19,85
Soja, óleo	2,86	2,37	2,26	1,81	4,680	2,38	2,32	2,10	1,63	2,05	1,89	2,20	2,50	2,26	2,15	1,73
Carne e ossos, farinha		6,00				3,00	3,00	3,00	2,00					2,00	2,00	1,50
Visceras, farinha			4,30			2,20				2,2	2,2	1,40		1,40	1,40	1,10
Trigo, farelo					15,80			7,90	5,30		7,90	5,30	7,90		5,30	3,90
Levedura, cana-de-açúcar				6,70			3,40	2,30	2,30	3,40		2,30	3,40	2,30		1,70
Calcário calcítico	0,90	0,24	0,86	0,92	1,01	0,80	0,84	0,88	0,89	0,88	0,93	0,93	0,89	0,84	0,80	0,89
Fosfato bicálcico	1,35		0,78	1,30	1,15		0,24	0,18	0,56	1,06	0,97	1,08	0,15	0,43	0,50	0,60
DL-Metionina	0,15	0,17	0,13	0,16	0,15	0,15	0,17	0,17	0,16	0,14	0,14	0,14	0,17	0,15	0,16	0,15
L-Lisina	0,16	0,21	0,17	0,10	0,19	0,19	0,15	0,23	0,18	0,13	0,20	0,17	0,19	0,16	0,21	0,19
Caulim	3,13	3,76	4,50	1,60		4,35	3,15			3,06			2,5	3,54		1,06
Sal comum	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Cloreto de colina ¹	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Suplemento vitamínico ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral ³	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Composição Calculada

EM, kcal/kg	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050	3050
PB, %	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20	17,20
Ca, %	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
P disp, %	0,35	0,50	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Met, %	0,43	0,44	0,42	0,44	0,42	0,43	0,44	0,44	0,43	0,43	0,42	0,42	0,44	0,43	0,42	0,43
Met + Cys, %	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,73	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71
Lys, %	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	1,02	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

¹Cloreto de colina (70%); ²Suplemento vitamínico (níveis por kg de ração): vit. A - 7.200 UI; vit. D - 2.000 UI; vit. E - 16 mg; ác. nicotínico - 20 mg; vit. K - 2 mg; ác. pantotênico - 9,6 mg; ac. fólico - 0,64 mg; vit. B₁ - 1,2 mg; vit. B₂ - 4,8 mg; vit. B₆ - 2,4 mg; vit. B₁₂ - 9,6 mcg; selênio - 0,2 mg; veículo q.s.p. - 0,8 g; ³Suplemento mineral (por kg de ração): cobre - 10 mg; ferro - 50 mg; iodo - 1 mg; manganês - 80 mg; zinco - 50 mg; cobalto - 1 mg; veículo q.s.p. - 0,5 g.

Para coleta das amostras, aos 42 dias de idade, foram retiradas aleatoriamente 4 aves ($n = 4$) por tratamento e identificadas individualmente em uma das patas por anilhas numeradas. O abate foi realizado no abatedouro experimental da FMVZ, UNESP – Botucatu, por meio de sangria, após as aves serem atordoadas por choque elétrico. Após a evisceração, sem passar pelo *chiller*, as carcaças foram cortadas para retirada do músculo peitoral (*Pectoralis major*).

Amostras de músculo peitoral foram coletadas retirando-se uma fatia de aproximadamente 5 mm no sentido transversal do terço médio longitudinal do *Pectoralis major* esquerdo. Devidamente identificadas e acondicionadas em sacos plásticos, as amostras foram congeladas à -20°C para posteriores análises isotópicas que foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu.

Para a realização das análises isotópicas, as amostras foram descongeladas, lavadas em água destilada e secas em estufa de ventilação forçada (Marconi – Ma 035), à temperatura de 56°C por 48 horas. Após este período, cada amostra foi colocada em um tubo para que fosse moída, em moinho criogênico de nitrogênio líquido (Spex – modelo 6700 freezer/Mill), à -190°C por três minutos (tecido) e cinco minutos (rações) em frequência máxima, para obter-se um material homogêneo e de finíssima granulometria, com aspecto microscópico (Licatti, 1997; Ducatti, 2004).

Foram pesadas em cápsulas de estanho, aproximadamente 50 a 60 μg e 500 a 600 μg de amostras para a determinação das razões isotópicas do carbono e nitrogênio, respectivamente. As cápsulas foram introduzidas por meio de amostrador automático no analisador elementar (EA 1108 - CHN - Fisons Instruments, Rodano, Itália) no qual, em presença de oxigênio (O_2) e óxido de cobre (CuO) a amostra foi queimada quantitativamente para a obtenção de CO_2 e NO_x ; este último foi então reduzido a N_2 na presença de cobre. Os gases formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massas de razões isotópicas (Delta S - Finnigan MAT, Bremen, Alemanha).

Os resultados das análises foram expressos em delta per mil ($\delta\text{‰}$) relativos aos padrões internacionais *Peedee Belemnite* (PDB) para o ^{13}C e nitrogênio do ar atmosférico para ^{15}N , de acordo com a seguinte equação geral:

$$\delta X_{(amostra, padrão)} = [(R_{amostra} - R_{padrão}) / R_{padrão}] \times 1000$$

Onde:

δX = enriquecimento do isótopo mais pesado do elemento químico X (C ou N) da amostra em relação ao respectivo padrão internacional.

R = razão isotópica entre o isótopo menos e o mais abundante, em particular $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$.

Os resultados isotópicos obtidos foram submetidos à análise multivariada de variância (MANOVA) com auxílio do procedimento GLM do programa estatístico SAS (1996). A partir dos dados gerados pelas matrizes de erro, foram determinadas regiões com 95% de confiança para verificar as diferenças entre as médias dos tratamentos.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das rações utilizadas neste estudo estão contidos na Tabela 4. Foi possível observar que as dietas, em um mesmo tratamento, apresentaram enriquecimento nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das dietas iniciais (1 a 21 dias) para as finais (22 a 42 dias). Este enriquecimento isotópico também foi observado quando os tratamentos foram comparados ao tratamento vegetal, a não ser pelos tratamentos T5, T8, T9, T11, T13 e T15 que se mostraram “empobrecidos” em ^{13}C em relação a este tratamento. Este “empobrecimento” pode ter ocorrido devido à inclusão de farelo de trigo ($\delta^{13}\text{C} = -26,65\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 4,47\text{‰}$) nas dietas destes tratamentos.

Tabela - 4 Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, e seus desvios-padrão, da ração de frangos de corte criados até os 42 dias de idade.

Tratamentos*	Ração inicial		Ração final	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
T1	-17,35 ± 0,09	1,57 ± 0,08	-17,01 ± 0,07	1,79 ± 0,10
T2	-16,24 ± 0,11	2,14 ± 0,20	-16,38 ± 0,14	2,38 ± 0,08
T3	-16,58 ± 0,14	2,47 ± 0,07	-16,02 ± 0,08	2,60 ± 0,11
T4	-17,02 ± 0,08	2,33 ± 0,10	-16,13 ± 0,09	2,58 ± 0,13
T5	-19,96 ± 0,20	1,64 ± 0,12	-19,18 ± 0,13	1,89 ± 0,10
T6	-16,03 ± 0,12	2,03 ± 0,12	-16,19 ± 0,05	2,35 ± 0,15
T7	-16,33 ± 0,15	2,09 ± 0,09	-15,71 ± 0,06	2,63 ± 0,06
T8	-18,11 ± 0,16	2,13 ± 0,11	-17,40 ± 0,19	2,23 ± 0,08
T9	-18,10 ± 0,06	2,10 ± 0,08	-17,04 ± 0,12	2,62 ± 0,06
T10	-16,85 ± 0,17	2,08 ± 0,05	-16,03 ± 0,19	2,61 ± 0,09
T11	-18,17 ± 0,20	2,06 ± 0,15	-17,23 ± 0,20	2,31 ± 0,08
T12	-17,28 ± 0,14	1,90 ± 0,07	-16,65 ± 0,06	2,37 ± 0,11
T13	-17,48 ± 0,14	1,93 ± 0,05	-16,57 ± 0,05	2,74 ± 0,06
T14	-16,66 ± 0,10	2,35 ± 0,12	-16,02 ± 0,07	2,90 ± 0,10
T15	-17,92 ± 0,09	1,99 ± 0,04	-17,32 ± 0,05	2,65 ± 0,13
T16	-17,10 ± 0,07	1,92 ± 0,04	-16,05 ± 0,09	2,71 ± 0,13

*T1: Dieta controle a base de milho e farelo de soja; T2: 6% farinha de carne e ossos bovina; T3: 4,3% farinha de vísceras de aves; T4: 6,7% levedura de cana-de-açúcar; T5: 15,8% farelo de trigo; T6: 3% farinha de carne e ossos bovina + 2,2% farinha de vísceras de aves; T7: 3% farinha de carne e ossos bovina + 3,4% levedura de cana-de-açúcar; T8: 3% farinha de carne e ossos bovina + 7,9% farelo de trigo; T9: 2% farinha de carne e ossos bovina + 2,3% levedura de cana-de-açúcar + 5,3% farelo de trigo; T10: 2,2% farinha de vísceras de aves + 3,4% levedura de cana-de-açúcar; T11: 2,2% farinha de vísceras de aves + 7,9% farelo de trigo; T12: 1,4% farinha de vísceras de aves + 2,3% levedura de cana-de-açúcar + 5,3% farelo de trigo; T13: 3,4% levedura de cana-de-açúcar + 7,9% farelo de trigo; T14: 2% farinha de carne e ossos bovina + 1,4% farinha de vísceras de aves + 2,3% levedura de cana-de-açúcar; T15: 2% farinha de carne e ossos bovina + 1,4% farinha de vísceras de aves + 5,3% farelo de trigo; T16: 1,5% farinha de carne e ossos bovina + 1,1% farinha de vísceras de aves + 1,7% levedura de cana-de-açúcar + 3,9% farelo de trigo.

O fato das rações finais serem mais energéticas e menos protéicas, em relação às iniciais, faz com que seja alterada a composição percentual dos ingredientes dentro da mesma dieta, havendo maior quantidade de milho e menor quantidade de farelo de soja nas rações finais. Esta proporção pode tornar a dieta mais rica em ^{13}C , pois o milho, uma planta do ciclo fotossintético C_4 , possui valor isotópico $\delta^{13}\text{C} = -12,6\text{‰}$ enquanto a soja, planta do ciclo fotossintético C_3 , possui valor isotópico $\delta^{13}\text{C} = -27,6\text{‰}$.

Deste modo, a detecção da presença de produtos de origem animal na alimentação de frangos de corte, como na de outras espécies animais, torna-se possível considerando que a assinatura isotópica da dieta é refletida no organismo dos animais, pois o animal é o que consome isotopicamente, até $\pm 2,0\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ e até $\pm 3,0\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$, segundo DeNiro & Epstein (1976, 1978).

A levedura por possuir sinal isotópico $\delta^{13}\text{C} = -10,49\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 4,36\text{‰}$, quando incluída na dieta também pode levar a um enriquecimento em carbono-13 e nitrogênio-15, o mesmo ocorre com a inclusão de farinha de vísceras de aves ($\delta^{13}\text{C} = -16,28\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 4,29\text{‰}$) e farinha de carne e ossos bovina ($\delta^{13}\text{C} = -12,82\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 7,72\text{‰}$) na dieta de frangos de corte. Enriquecimento em carbono-13 e nitrogênio-15 quando utilizado farinhas de origem animal na dieta de frangos de corte também foi observado por Oliveira (2005) e Carrijo et al. (2006).

Do mesmo modo que o valor de $\delta^{13}\text{C}$, o $\delta^{15}\text{N}$ da ração também varia, de acordo com a composição percentual dos ingredientes na dieta. O sinal isotópico do nitrogênio das plantas varia dependendo de como ele é fixado por elas. A soja, por fixar o nitrogênio do ar possui valor de $\delta^{15}\text{N}$ ao redor de uma unidade, próximo ao valor do padrão N_2 ($\delta^{15}\text{N} \cong 0,0 \pm 1,0\text{‰}$) (Handley & Raven, 1992; Werner & Schimidt, 2002). As plantas que não conseguem fixar o nitrogênio atmosférico dependem, em grande parte, da abundância deste isótopo no solo e da adubação (Choi et al., 2002). Quando o nitrogênio é absorvido de matéria orgânica, o $\delta^{15}\text{N}$ é mais significativo, ao redor de 5‰ . Valores negativos de $\delta^{15}\text{N}$ são observados em solos com baixa proporção de matéria orgânica, em particular solos secos e arenosos. Onde é adicionado esterco como fertilizante natural, o fracionamento é alto, com $\delta^{15}\text{N}$ em torno de 10‰ (Shibuya et al., 2006).

As médias encontradas para os sinais isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das amostras de peito de cada tratamento, no final do período experimental (Tabela 5), foram comparadas estatisticamente à média do tratamento controle, gerando regiões com 95% de confiança (Figuras 1 e 2).

Tabela - 5 Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, e seus desvios-padrão, do músculo peitoral de frangos de corte criados até os 42 dias de idade.

Tratamentos*	Músculo <i>Pectoralis major</i>	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
T1	-18,24 ± 0,12	2,06 ± 0,13
T2	-17,41 ± 0,15	2,94 ± 0,16
T3	-17,03 ± 0,14	2,85 ± 0,09
T4	-17,16 ± 0,07	2,82 ± 0,07
T5	-19,98 ± 0,08	2,39 ± 0,19
T6	-16,98 ± 0,10	2,77 ± 0,09
T7	-16,69 ± 0,14	3,04 ± 0,10
T8	-18,21 ± 0,09	2,77 ± 0,15
T9	-17,73 ± 0,12	3,02 ± 0,16
T10	-16,85 ± 0,06	2,98 ± 0,10
T11	-18,08 ± 0,11	2,72 ± 0,14
T12	-17,56 ± 0,09	2,55 ± 0,08
T13	-17,38 ± 0,12	3,05 ± 0,13
T14	-16,95 ± 0,15	3,09 ± 0,12
T15	-17,87 ± 0,20	2,89 ± 0,16
T16	-16,96 ± 0,20	3,01 ± 0,11

*T1: Dieta controle a base de milho e farelo de soja; T2: 6% farinha de carne e ossos bovina; T3: 4,3% farinha de vísceras de aves; T4: 6,7% levedura de cana-de-açúcar; T5: 15,8% farelo de trigo; T6: 3% farinha de carne e ossos bovina + 2,2% farinha de vísceras de aves; T7: 3% farinha de carne e ossos bovina + 3,4% levedura de cana-de-açúcar; T8: 3% farinha de carne e ossos bovina + 7,9% farelo de trigo; T9: 2% farinha de carne e ossos bovina + 2,3% levedura de cana-de-açúcar + 5,3% farelo de trigo; T10: 2,2% farinha de vísceras de aves + 3,4% levedura de cana-de-açúcar; T11: 2,2% farinha de vísceras de aves + 7,9% farelo de trigo; T12: 1,4% farinha de vísceras de aves + 2,3% levedura de cana-de-açúcar + 5,3% farelo de trigo; T13: 3,4% levedura de cana-de-açúcar + 7,9% farelo de trigo; T14: 2% farinha de carne e ossos bovina + 1,4% farinha de vísceras de aves + 2,3% levedura de cana-de-açúcar; T15: 2% farinha de carne e ossos bovina + 1,4% farinha de vísceras de aves + 5,3% farelo de trigo; T16: 1,5% farinha de carne e ossos bovina + 1,1% farinha de vísceras de aves + 1,7% levedura de cana-de-açúcar + 3,9% farelo de trigo.

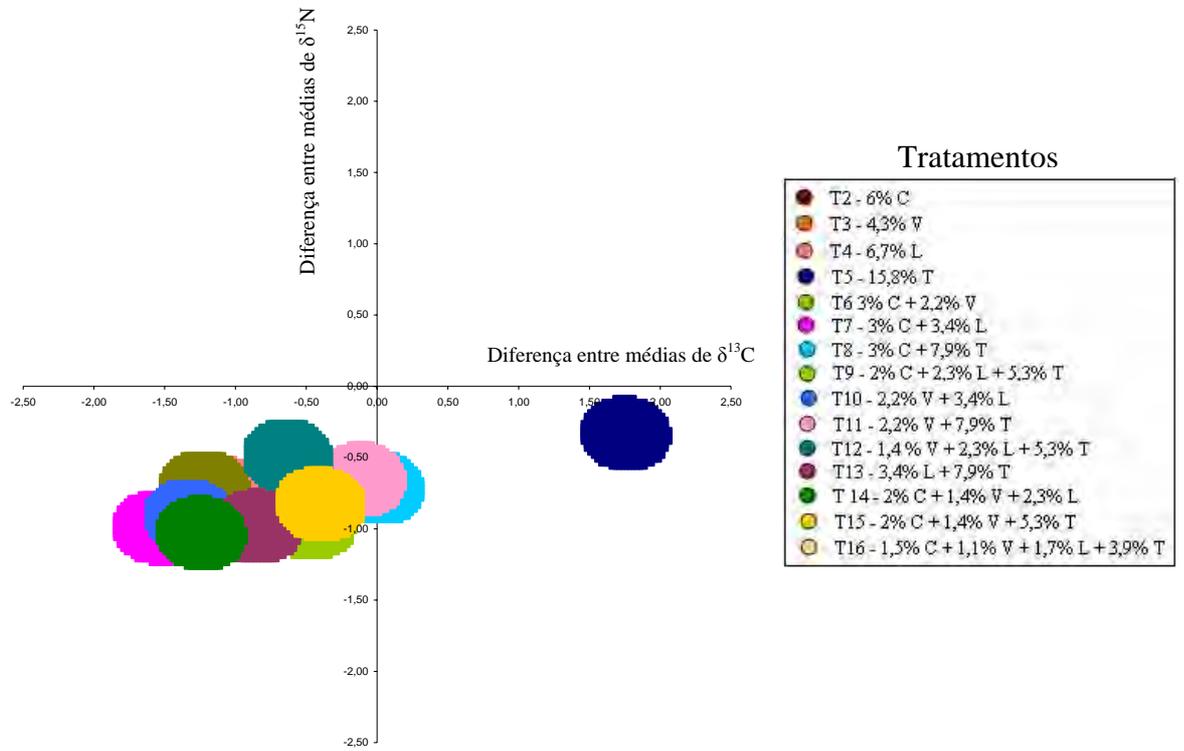


Figura 1. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento controle.

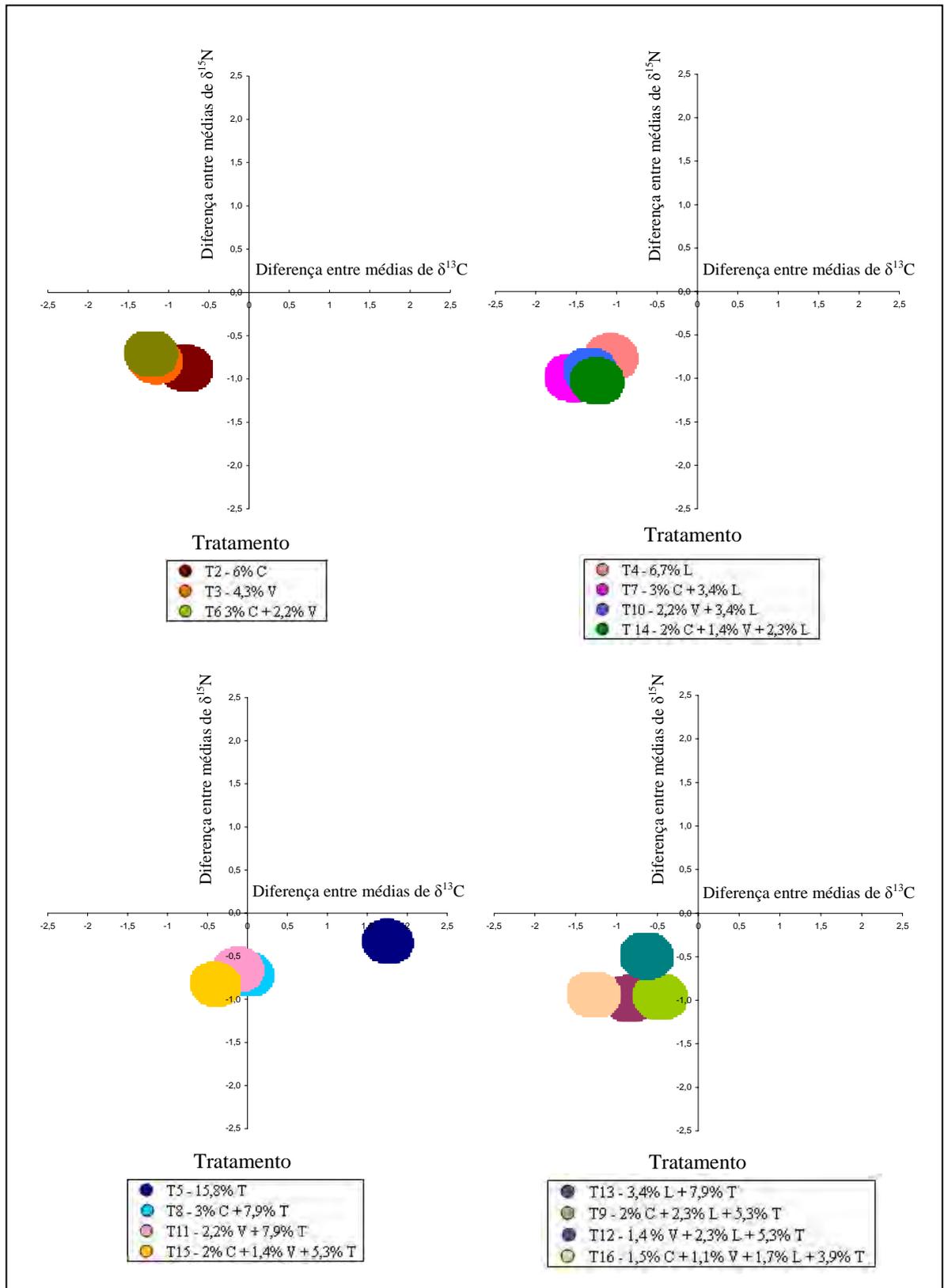


Figura 2. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento controle.

Os tratamentos comparados são diferentes quando a diferença entre suas médias de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ forem diferentes de zero, e assim, a região de confiança não sobrepor a nenhum dos eixos do gráfico. O fato da elipse sobrepor um dos eixos mostra que a diferença entre médias de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos tratamentos comparados é igual a zero, e assim os tratamentos não diferem.

Sendo assim, observando as Figuras 1 e 2, é possível notar que o tratamento com adição de farinha de carne e ossos mais farelo de trigo (T8) e o tratamento com inclusão de farinha de vísceras mais farelo de trigo (T11) não diferem do tratamento controle, pois suas elipses sobrepõe ao eixo das diferenças de $\delta^{15}\text{N}$. Essa sobreposição indica que não há diferença para o carbono-13 entre esses tratamentos. Também é possível observar que todos os tratamentos tiveram diferença entre as médias de $\delta^{15}\text{N}$ diferente de zero, ocorrida pela inclusão de diferentes ingredientes (levedura, farelo de trigo e farinhas de origem animal) nas dietas, o que enriqueceu em $\delta^{15}\text{N}$ os tratamentos, distanciando-os do valor da dieta controle, para este isótopo.

Os tratamentos T8 e T11 não diferiram do tratamento controle, possivelmente devido a pouca inclusão de farinha de carne e ossos bovina e farinha de vísceras de aves, respectivamente, visto que Oliveira (2005) e Carrijo (2006) somente detectaram a presença de farinhas de origem em frangos alimentados com dieta que continham mais de 4% de inclusão destas farinhas. Outro fato pode ter sido a inclusão de farelo de trigo ($\delta^{13}\text{C} = -26,65$) na dieta destes tratamentos, que pode ter ocasionado esse “empobrecimento” isotópico de $\delta^{13}\text{C}$, aproximando o sinal isotópico destas dietas ao sinal da dieta controle.

Nos demais tratamentos, foi possível observar diferença em relação ao tratamento controle. Oliveira (2005) e Carrijo et al. (2006) também observaram diferenças ao comparar tratamentos que continham farinha de vísceras de aves e farinha de carne e ossos bovina com tratamentos com dieta padrão a base de milho e farelo de soja.

Entretanto, pelas figuras 1 e 2 é possível notar que, na mesma região onde se encontram os tratamentos com inclusão de farinha de vísceras e farinha de carne e ossos na dieta, também estão o tratamento com inclusão de levedura (T4) e o tratamento com inclusão de levedura e trigo (T13), que não possuem nenhuma destas farinhas em sua composição. Este comportamento pode ter ocorrido devido à presença de levedura ($\delta^{13}\text{C}$

= -10,49 ‰ e $\delta^{15}\text{N} = 4,36\text{‰}$) nas dietas destes tratamentos, já que o sinal isotópico da levedura se aproxima ao destas farinhas (vísceras de aves $\delta^{13}\text{C} = -16,28\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 4,29\text{‰}$ e farinha de carne e ossos bovina $\delta^{13}\text{C} = -12,82\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 7,72\text{‰}$).

Este fato demonstra que a utilização da técnica da razão isotópica dos isótopos de carbono e nitrogênio na certificação de carcaças de frangos de corte pode ser influenciada pela adição de outros ingredientes na dieta das aves, haja vista que neste estudo a detecção de farinhas de origem animal na dieta de frangos de corte foi interferida pela presença de levedura e farelo de trigo nas dietas.

Sendo assim, é necessária a realização de outros estudos envolvendo diferentes ingredientes na alimentação animal, onde possam ser observados seus sinais isotópicos e o comportamento dessas assinaturas nos tecidos dos animais. Estes estudos podem ser realizados com a utilização de farinhas de origem animal comparado à levedura de cana-de-açúcar e ao farelo de trigo, porém em níveis práticos de utilização, ou a outros ingredientes.

Conclusão

Nas condições do presente trabalho e através dos resultados obtidos, a inclusão de levedura ou da levedura com o farelo de trigo em rações a base de milho e farelo de soja, pode confundir a rastreabilidade das farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis.

Referências bibliográficas

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 8402. Gestão da qualidade e garantia da qualidade - Terminologia**. Rio de Janeiro: ABNT, 1994.

BELLAVER, C.; COSTA, C.A.F.; FRAHA, V.S.A.; LIMA, G.J.M.M.; HACKERNHAR, L.; BALDI, P. Substituição de farinhas de origem animal por ingredientes de origem vegetal em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p. 671-677, 2005.

CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; TRINCA, L.; SILVA, E. T. Traceability of Bovine Meat and Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.8, n.1, p.37-42, 2006.

CHOI, W.J., LEE, S.M., RO, H.M., KIM, K.C., YOO, S.H. Natural ¹⁵N abundances of maize and soil amended with urea and composted pig manure. **Plant and Soil**, v.245, p.223-232, 2002.

COMUNIDADE EUROPÉIA. Regulamento (CE) No. 1760/2000. **Official Journal of the European Communities**. Disponível em:

<http://europa.eu.int/smartapi/cgi/sga_doc?smartapi!celexapi!prod!CELEXnumdoc&lg=PT&numdoc=32000R1760&model=guichett> Acesso em: 20.jan.2007.

COMUNIDADE EUROPÉIA. Regulamento (CE) No. 1774/2002. **Official Journal of the European Communities**. Disponível em:

<http://europa.eu.int/smartapi/cgi/sga_doc?smartapi!celexapi!prod!CELEXnumdoc&lg=PT&numdoc=32002R1774&model=guichett> Acesso em: 20.out.2004.

DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. You are what you eat (plus a few ‰) the carbon isotope cycle in food chains. **Geological Society of America**, Boulder, v. 6, p. 834, 1976. (Abstract).

DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, London, v. 42, p. 495-506, 1978.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. 2004 [apostila]. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004. 184 p.

GONZALEZ-MARTIN, I., GONZALEZ-PÉREZ, C., HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J., SÁNCHEZ GONZÁLEZ, C. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine. **Meat Science**, v.52, p.437-441, 1999.

GONZÁLEZ-MARTIN, I.; GONZÁLEZ-PÉREZ, C.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J.; SÁNCHEZ GONZÁLEZ, C. Differentiation of dietary regimen of Iberian swine by means of isotopic analysis of carbon and sulphur in hepatic tissue. **Meat Science**, v.58, p.25-30, 2001.

HARGIN, K.D. Authenticity issues in meat and meat products. **Meat Science**, v.43, p.S277-S289, 1996.

HANDLEY, L.L.; RAVEN, J.A. The use of natural abundance of nitrogen isotopes in plant physiology and ecology. **Plant Cell and Environment**, v.15, p. 965-985, 1992.

IBA, S. K.; BRABET, C.; OLIVEIRA, I. J. O.; PALLET, D. **Um panorama da rastreabilidade dos produtos agropecuários do Brasil destinados à exportação - carnes, soja e frutas** - Disponível em <<http://www.cendotec1.org.br/dossier/cirad/produitsbrpr.pdf>> Acessado em 15 mar. 2003 p.1-68.

ILBERY, B., KNEAFSEY, M., BAMFORD, M. Protecting and promoting regional speciality food and drink products in the European Union. **Outlook on Agriculture**. v.29, p.31–37, 2000.

LICATTI, F. **Isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) em plantas do ciclo bioquímico C_3 e C_4** . 1997. 40 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Biologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

MONIN, G. Recent methods for predicting quality of whole meat. **Meat Science**, v.49, p.S231-S243, 1998.

OLIVEIRA, R. P. **Rastreabilidade da farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$)**. Tese. (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

PIASENTIER, E.; VALUSSO, R.; CAMIN, F.; VERSINI, G. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. **Meat Science**, v.64, p.239-247, 2003.

REGATTIERI, A.; GAMBERI, M.; MANZINI, R. Traceability of food products: General framework and experimental evidence. **Journal of Food Engineering**, v.81, p. 347-356, 2007.

ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T, DONZELE, J.L., GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. Composição de alimentos e exigências nutricionais. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**; 2. ed. Editora UFV, Viçosa, 2005. 186p.

SAS Institute Inc., SAS/STAT. **User's guide**. Version 6.11. 4. ed., v. 2. Cary: SAS Institute Inc., 1996. 842 p.

SHIBUYA, E. K.; SARKIS, J. E. S.; NETO, O. N.; MOREIRA, M. Z.; VICTORIA, R. L. Souring Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, v.160, p.35-43, 2006.

WERNER, R.A.; SCHIMIDT, H.L. The in vivo nitrogen isotope discrimination among organic plant compounds. **Phytochemistry** v.61, p.465-784 2002.

Implicações

A rastreabilidade de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte, por meio da variação natural dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, se mostrou promissora, diante de estudos realizados por Oliveira (2005) e Carrijo (2006). Estas pesquisas surgiram da necessidade de uma tecnologia independente para a certificação de frangos de corte que não fossem alimentados com produtos de origem animal, visto a exigência de mercados importadores dessas aves.

Porém novos estudos são necessários para contribuir com o desenvolvimento da técnica dos isótopos estáveis na rastreabilidade de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte.

Considerando o presente estudo, novos estudos são possíveis, como por exemplo, utilizando-se nível fixo de farinha de origem animal e diferentes níveis de inclusão de determinados ingredientes para verificar em quais proporções estes ingredientes poderiam interferir na detecção desta farinha na alimentação das aves. Avaliar o comportamento de outros ingredientes, além dos utilizados neste estudo (levedura de cana-de-açúcar e farelo de trigo) também seria interessante.

Para que a técnica fosse utilizada de modo prático na indústria como ferramenta para a rastreabilidade, seria interessante que houvesse acompanhamento de todo desenvolvimento do lote.

Como os ingredientes utilizados na confecção das rações têm seus sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ variados de acordo com o lote de que provêm e da proporção utilizada na dieta, duas rações estritamente vegetais podem ter sinais diferentes. Assim, é interessante que de um mesmo lote sejam coletadas amostras de ração e de tecido animal, para que haja maior certeza do histórico alimentar das aves. E, se uma eventual inclusão ou retirada de farinha de origem animal ocorresse na dieta das aves, seria possível detectar pela utilização da técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio no tecido das aves.