

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Campus de Botucatu

**DETECÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS NAS FASES DE ALIMENTAÇÃO  
EM FRANGOS DE CORTE PELA TÉCNICA DOS ISOTÓPOS ESTÁVEIS**

ROSANA GOTTMANN

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

BOTUCATU – SP  
Dezembro de 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Campus de Botucatu

**DETECÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS NAS FASES DE ALIMENTAÇÃO  
EM FRANGOS DE CORTE PELA TÉCNICA DOS ISOTÓPOS ESTÁVEIS**

ROSANA GOTTMANN  
Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Ass. Dr. CARLOS DUCATTI

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

BOTUCATU – SP  
Dezembro de 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

G685d Gottmann, Rosana, 1978-  
Detecção de farinha de vísceras nas fases de alimentação em frangos de corte pela técnica de isótopos estáveis / Rosana Gottmann. - Botucatu : [s.n.], 2010  
vi, 95 f. : tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2010  
Orientador: Carlos Ducatti  
Inclui bibliografia.

1. Rastreabilidade. 2. Certificação. 3. Frangos de corte - Alimentação. 4. Isótopos estáveis. I. Ducatti, Carlos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Carlos e Suely, pela vida de luta e sacrifícios que tiveram para que eu chegasse até aqui, pelo amor incondicional e por nunca deixarem de acreditar e investirem em mim.

Aos "meninos delícias" Davi e Lucas, meus filhos, minha vida, razões do meu viver, que enchem nossas vidas de alegria!!!

Ao marido, Aydison, pelo amor, carinho, companheirismo, compreensão, paciência, por sempre estar ao lado a me apoiar em todas as situações, por ter cuidado dos meninos praticamente sozinho muitas vezes, mesmo a mamãe estando em casa, e por nunca me deixar desanimar.

Amo vocês

## 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;

A Tortuga® pela doação dos suplementos vitamínicos-minerais;

Ao Prof. Dr., Carlos Ducatti pela oportunidade, ensinamentos, compreensão e orientação;

Ao Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato pela amizade, ensinamentos, estímulo e auxílio para realização do experimento;

Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, pela amizade, ensinamentos, e colaboração na realização dos experimentos;

À Prof<sup>a</sup> Maria Márcia Pereira Sartori pela amizade, paciência, auxílio para as análises estatísticas e pelo tempo dispensado a me ajudar no desenvolvimento da discussão desta pesquisa.

Às amigas Juliana Célia Denadai, Luciene Aparecida Madeira, Priscila Cavalca de Araújo, Marcela Buosi Martins, pela amizade, paciência, e discussão dos resultados, além da imensa ajuda com a parte experimental e momentos de babá cuidando do Davi e do Lucas.

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

À Cleusa Móri, Juliana Spanguero Kanayama, Ana Cristina Stradiotti, Vanessa Cristina Pelícia, Mariana Kiyomi Maruno, Carolina Carvalho de Miranda, Vitor Barbosa Fascina pela ajuda com as coletas.

A estagiária Jéssica Malheiros pela grande ajuda com o experimento e processamento das amostras.

Aos demais estagiários do Laboratório de Nutrição de aves que colaboraram na parte experimental;

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Seila Cristina Cassinelli Vieira, Danilo Juarez Teodoro Dias e Carlos Pazini Júnior, pela prestação de serviços nos momentos requeridos;

Ao funcionário do Laboratório de Nutrição de Aves da Thiago da Silva, pela imensa ajuda com as coletas;

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

## SUMÁRIO

	Página
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	1
1. INTRODUÇÃO .....	2
2. FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL.....	3
3. RASTREABILIDADE .....	6
4. ISÓTOPOS ESTÁVEIS NA CERTIFICAÇÃO E RASTREABILIDADE DE ALIMENTOS.....	8
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	13
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	21
ISÓTOPOS ESTÁVEIS DO CARBONO E NITROGÊNIO NA DETECÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES NAS DIFERENTES FASES DE ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE.....	22
RESUMO .....	22
ABSTRACT .....	23
INTRODUÇÃO .....	24
MATERIAL E MÉTODOS .....	26
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	51
DETECÇÃO DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE DURANTE TODO O PERÍODO DA CRIAÇÃO, PELA TÉCNICA DOS ISÓTOPOS DO CARBONO ( $\delta^{13}\text{C}$ ) E DO NITROGÊNIO ( $\delta^{15}\text{N}$ ) .....	52
RESUMO .....	52
ABSTRACT .....	53
INTRODUÇÃO .....	54
MATERIAL E MÉTODOS .....	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	62
CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS .....	72
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	75
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	76
<b>ANEXO 1</b> .....	77
<b>ANEXO 2</b> .....	81
<b>ANEXO 3</b> .....	88

## LISTA DE TABELAS

Página

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1.</b> Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais pré-iniciais (1 a 7 dias).....	27
<b>Tabela 2.</b> Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais iniciais (8 a 21 dias). ....	28
<b>Tabela 3.</b> Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais de crescimento (22 a 35 dias). ....	29
<b>Tabela 4.</b> Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais finais (36 a 42 dias).....	30
<b>Tabela 5.</b> Valores isotópicos do carbono e nitrogênio nas rações. ....	33
<b>Tabela 6.</b> Classificação das amostras de sangue coletadas aos 7 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	35
<b>Tabela 7.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 7 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	35
<b>Tabela 8.</b> Classificação das amostras de sangue coletadas aos 14 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	36
<b>Tabela 9.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 14 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	37
<b>Tabela 10.</b> Classificação das amostras de sangue coletadas aos 21 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	38
<b>Tabela 11.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 21 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	38
<b>Tabela 12.</b> Classificação das amostras de sangue coletadas aos 28 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	39
<b>Tabela 13.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 28 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	40
<b>Tabela 14.</b> Classificação das amostras de sangue coletadas aos 35 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	41
<b>Tabela 15.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 35 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	41
<b>Tabela 16.</b> Classificação das amostras de sangue coletadas aos 42 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	42
<b>Tabela 17.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 42 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras. ....	43



### CAPÍTULO 3

<b>Tabela 1.</b> Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais pré-iniciais (1 a 7 dias).....	57
<b>Tabela 2.</b> Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais iniciais (8 a 21 dias).....	58
<b>Tabela 3.</b> Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais de crescimento (22 a 35 dias).....	59
<b>Tabela 4.</b> Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais finais (36 a 42 dias).....	60
<b>Tabela 5.</b> Classificação das amostras de sangue coletado aos 7 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves. ....	63
<b>Tabela 6.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 7 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves. ....	63
<b>Tabela 7.</b> Classificação das amostras de sangue coletado aos 14 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves. ....	64
<b>Tabela 8.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 14 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves. ....	64
<b>Tabela 9.</b> Classificação das amostras de sangue coletado aos 21 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves. ....	65
<b>Tabela 10.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 21 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.....	65
<b>Tabela 11.</b> Classificação das amostras de sangue coletado aos 28 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves. ....	66
<b>Tabela 12.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 28 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.....	66
<b>Tabela 13.</b> Classificação das amostras de sangue coletado aos 35 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves. ....	67
<b>Tabela 14.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 35 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.....	67
<b>Tabela 15.</b> Classificação das amostras de sangue coletado aos 42 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves. ....	68
<b>Tabela 16.</b> Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 42 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.....	69

## **CAPÍTULO 1**

## Considerações iniciais

### 1. Introdução

A partir da década de 60, a avicultura brasileira passou a ter maior intensidade no seu processo de produção, devido a melhoria genética, à introdução de novas tecnologias, ao uso de instalações mais apropriadas, de alimentação racional e da parceria entre produtor e a agroindústria através de contratos de integração (Carmo, 1999).

A avicultura leva o Brasil ao terceiro lugar entre os maiores produtores de frango mundiais desde 2003, precedido pela China em segundo e Estados Unidos em primeiro lugar. A produção de carne frango do Brasil, hoje está em 10,98 milhões de toneladas, da China está em 12,1 milhões de toneladas e os Estados Unidos seguem com 15,98 milhões de toneladas produzidas (Ubabef, 2010).

No que diz respeito às exportações, o Brasil encerrou 2009 com embarques de 3,63 milhões de toneladas de carne de frango, o que representa 64,3% das carnes exportadas pelo país. A carne bovina representa 22,0% das exportações, a suína 10,8% e a de peru 2,9%. Da carne de frango brasileira exportada, 1,37 milhão de tonelada segue para o Oriente Médio, 946,9 mil toneladas para a Ásia e 507,7 mil toneladas são exportadas para União Européia (Ubabef, 2010).

Em conjunto, Arábia Saudita, Emirados Árabes, Iraque, Lêmen, Kuwait, Qatar, Jordânia, Omã, Turquia, Bahrein compraram 37,6% do volume total da carne de frango exportada pelo Brasil, sem contar os países muçulmanos que não estão localizados no Oriente Médio, e as comunidades muçulmanas espalhadas por todos os continentes. A Arábia Saudita foi líder, adquirindo 496.400 toneladas (Brchicken, 2010). Os países muçulmanos são hoje o principal destino das exportações brasileiras de carne de frango.

Segundo os preceitos do islamismo, religião seguida pelos muçulmanos, só é permitido comer carne de animais que não sejam carnívoros, que tenham sido mortos sem sofrimento e sacrificados em homenagem a Alá (Deus). Por isso, as empresas brasileiras fazem questão de certificar que os seus produtos estão dentro das especificações (Mdice, 2002).

O Brasil é hoje o principal exportador mundial de frango Halal. Halal significa lícito, permitido, autorizado (permitido ao consumo humano, legal). Alimentos Halal são aqueles cujo consumo é permitido por Deus, pois noo sagrado alcorão, Deus ordena

aos muçulmanos e a toda a humanidade comer apenas alimentos Halal. Halal também é a base de tudo que é lícito, na política, no social, nos atos praticados (conduta), na justiça, nas vestimentas, nas finanças, sendo o resultado de um sistema de produção que busca criar mecanismos que contribuam com a saúde humana, criando equilíbrio sustentável em todo seu processo, segundo a Central Islâmica Brasileira de Alimentos Halal - CIBAL.

Para exportar carnes para União Européia deve-se levar em consideração que é proibida a alimentação de animais terrestres de uma determinada espécie, exceto animais destinados à produção de peles com pêlo, com proteínas animais transformadas, derivadas dos corpos, ou partes de corpos, de animais da mesma espécie, conforme capítulo II, seção I, artigo 11º do regulamento (CE) Nº1069/2009 do parlamento europeu e do conselho de 21 de outubro de 2009.

Medidas relacionadas à segurança alimentar para proteger a saúde e os interesses dos consumidores ganharam destaque a partir de episódios ocorridos na década de 90 como a encefalopatia espongiforme bovina (EEB), conhecida como doença da vaca louca, surtos de febre aftosa, contaminação com dioxina, e a gripe aviária nos países orientais. Diante destes episódios a utilização de subprodutos de origem animal na alimentação animal passou a ser mais discutida e novos conceitos, como a rastreabilidade, começaram a ser impostos.

Deste modo, para atender esses mercados que correspondem a 51,6% da exportação brasileira de carne de frango são necessárias medidas que assegure que aves não tenham sido alimentadas com produtos de origem animal em sua dieta, e neste sentido, a técnica dos isótopos estáveis é adequada.

## **2. Farinhas de Origem Animal**

O uso das farinhas de origem animal é vantajoso na formulação de rações de aves, pois implica na redução dos custos de produção de rações e por conseqüência no custo de produção animal (Bellaver et al., 2001a; Bellaver, 2005). As boas fontes protéicas têm em geral alto custo e os ingredientes alternativos podem ser usados, mas na dependência do conhecimento de sua qualidade, preço e o resultado que pode gerar no desempenho dos animais.

Porém, quando se trata do mercado externo a utilização de subprodutos de origem animal é proibida, seja por questões religiosas como é o caso do Oriente Médio, ou por medidas relacionadas à segurança alimentar, como na União Européia.

O processo básico de produção de farinhas animais consiste na retirada dos excessos de água, picar e/ou triturar os resíduos não comestíveis de matança, quando isso for necessário devido ao tamanho das peças, levá-los aos digestores para cocção com ou sem pressão, por tempo variável dependendo do processo, sendo a gordura drenada, prensada ou centrifugada e o resíduo sólido moído na forma de farinha com especificações de granulometria variáveis (Bellaver, 2005).

Algumas farinhas de origem animal foram caracterizadas segundo Bellaver (2001).

- a) Farinha de penas e vísceras (FPV): é o produto resultante da cocção, sob pressão, de penas limpas e não decompostas, bem como vísceras de aves abatidas. É permitida a participação de carcaças, desde que a sua inclusão não altere significativamente a composição estipulada;
- b) Farinha de penas hidrolisadas (FP): é o produto resultante da cocção, sob pressão, de penas limpas e não decompostas, obtidas no abate de aves;
- c) Farinha de vísceras (FV): é o produto resultante da cocção de vísceras de aves, sendo permitida a inclusão de cabeças e pés. Não deve conter penas e, resíduos de incubatórios e outras matérias estranhas à sua composição. Não deve apresentar contaminação com casca de ovo. Na definição da Farmland (2001), citado por Bellaver (2001) na FV é permitida a inclusão de todas as partes resultantes do abate, inclusive ovos não desenvolvidos, mas não é permitida a inclusão de penas, cuja inclusão caracteriza adulteração. A proteína varia de 55 a 65% e sua cor é dourada a marrom, com densidade de 545 a 593 kg/m<sup>3</sup>;
- d) Farinha de carne e ossos (FCO): é produzida em graxarias e frigoríficos a partir de ossos e tecidos animais, após a desossa completa da carcaça de bovinos e/ou suínos. Não deve conter cascos, chifres, pêlos, conteúdo estomacal, sangue e outras matérias estranhas. Nos EUA a definição da FCO implica em ter no mínimo 4 % de fósforo, o cálcio não deve exceder a 2,2 vezes o seu nível e a proteína deve ter solubilidade em pepsina superior a 86%. A composição do material bruto terá significativo efeito na qualidade do produto obtido sendo que a gordura protege a lisina no processamento

da FCO. O sobreaquecimento influencia na palatabilidade e qualidade da FCO e cuidados especiais devem ser tomados para eliminar os microrganismos prevenindo a contaminação da FCO após o processamento. Sua cor é de dourada a marron com densidade de 657 a 689 kg/m<sup>3</sup>;

- e) Farinha de carne (FC): é o produto oriundo do processamento industrial de tecidos animais. São especificados 5 tipos de FC com base na PB (35, 40, 45, 50 e 55% de PB).
- f) Farinha de ossos (FO): é o produto obtido após a moagem e calcinação de ossos;
- g) Farinha de ossos autoclavada (FOA): é o produto seco e moído, obtido de ossos não decompostos e submetidos a tratamento térmico em autoclave;
- h) Farinha de sangue (FS): é o produto resultante do processo de cozimento e secagem do sangue fresco. A farinha de sangue convencional é produzida de sangue fresco, sem conteúdo digestivo, exceto em quantidades que podem ser admitidas nas boas praticas de processamento. A umidade é removida no cozimento convencional. O produto obtido é vermelho escuro tendendo a preto, insolúvel em água. O método de secagem do sangue é provavelmente o fator que mais contribui para a qualidade. Em altas temperaturas formam complexos com a lisina que é indisponível aos animais. É um produto que apresenta problemas de palatabilidade se usado em grandes quantidades. Sua densidade é de 609 kg/m<sup>3</sup>;
- i) Farinha integral de peixe (FIP): é o produto seco e moído, obtido de peixes inteiros de várias espécies, com ou sem extração de óleo;
- j) Farinha residual de peixe (FP): é o produto seco moído, obtido pela cocção de cortes de peixes, com ou sem extração de óleo;

### **3. Rastreabilidade**

Cada vez mais os consumidores estão exigindo alimentos seguros, de qualidade e com origem conhecida e que, de preferência, tragam certificação que assegure estes atributos, o desenvolvimento de sistemas que permitam controlar toda a cadeia produtiva torna-se necessário (Regattieri et al., 2007).

A capacidade de traçar o histórico, a aplicação ou a localização de um item através de informações previamente registradas (ABNT, 2005).

No que diz respeito à segurança alimentar, segundo Lombardi (1998), a rastreabilidade é garantia dada ao consumidor do consumo um produto que é controlado em todas as fases da produção. A rastreabilidade é instrumento cada vez mais importante, pois privilegia as preferências e a satisfação do consumidor; decorre da crescente preocupação com qualidade e segurança dos alimentos e é a base para a implantação de um programa de qualidade em toda a cadeia produtiva.

A implementação do sistema de rastreabilidade em um aviário de corte deverá abranger desde a produção dos avós até os pintinhos de corte, identificando a origem e o controle das aves, o produtor de onde se originou, os insumos utilizados, os abatedouros e as unidades produtivas. A identificação dos frangos de corte deverá ser feita por lote e não por unidade. A caracterização do lote é muito importante, porque é com base nela que se tem garantia das informações para um possível rastreamento, se necessário. Nesse sentido, torna-se necessário que os frangos de corte tenham a mesma idade, origem e sejam alojados em condições idênticas em um mesmo aviário (Cima et al., 2006).

A rastreabilidade complementa o gerenciamento da qualidade de um produto, pois aplicada isoladamente não representa garantia de segurança ao produto ou ao processo. Portanto, deve estar agregada a outros sistemas de controle de qualidade, como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e códigos de boas práticas (Peixoto, 2008). Por isso, há necessidade do desenvolvimento de tecnologias independentes para a autenticação de carnes, de modo a tranquilizar os consumidores (Ilbery et al., 2000).

A certificação é definida pela ABNT como um conjunto de atividades desenvolvidas por um organismo independente da relação comercial, com o objetivo de atestar publicamente, por escrito, que determinado produto, processo ou serviço está em

conformidade com os requisitos especificados. Estes requisitos podem ser: nacionais ou internacionais. As atividades de certificação podem envolver: análise de documentação, auditorias/inspeções na empresa, coleta e ensaios de produtos, no mercado e/ou na fábrica, com o objetivo de avaliar a conformidade e sua manutenção (Pessoa et al., 2002).

Em um cenário de aumento do comércio internacional é mais fácil dimensionar o tamanho das barreiras tarifárias impostas aos países exportadores, sendo que o mesmo não ocorre com as barreiras não tarifárias, abrindo espaço para a colocação de restrições ambientais, sociais, sanitárias e padrões de qualidade distintos. Identifica-se a criação de um novo padrão de concorrência no qual a obtenção de custos baixos é necessária, mas deixa de ser condição suficiente. Nesse contexto, a certificação é vista como atividade importante, tendo como objetivo principal proporcionar ao comprador ou usuário do produto a garantia de conformidade às normas ou especificações técnicas estabelecidas. A questão da certificação pode ser vista sob dois enfoques: atendimento às exigências internacionais (barreira técnicas) e ao mercado interno (diferenciação do produto com a sua conseqüente valorização). Assim, atributos de qualidade dos produtos ligados à segurança alimentar, boas práticas agrícolas e biotecnologia são temas presentes no setor agroindustrial, mobilizando decisões do setor privado e apresentando impactos imediatos no desenho de políticas públicas para o setor agrícola/agroindustrial (Conceição & Barros, 2005).

Segundo Szyszka (2001) certificação pode ser classificada de acordo com os benefícios obtidos com o sistema de certificação quanto a sua importância em três diferentes dimensões:

- a) Empresas – A certificação resulta, além do aumento do nível de qualidade de seus processos, produtos ou serviços, em aumento da sua competitividade, pela diferenciação em relação aos seus concorrentes além de permitir às empresas exportadoras atender as exigências técnicas nas relações de comércio internacional;
- b) Consumidores – A certificação resulta em oferecer novo parâmetro de decisão de compra: a melhoria da qualidade dos produtos ou serviços, corroborando com o Código de Defesa do Consumidor, pois é por meio da certificação que se garante a conformidade de um produto ou serviço;



c) Sociedade – O processo de globalização, conquanto necessário para as relações de comércio internacional, proporciona o surgimento de alguns aspectos estratégicos que devem ser levados em conta por meio das avaliações sistemáticas consideradas pelos mecanismos de certificação. Assim, observa-se um grande número de clientes exigindo de seus fornecedores a obtenção da certificação de seus produtos ou serviços como demonstração de sua qualificação e garantia de melhor atendimento aos requisitos contratuais e ainda outras pressões de diferentes partes interessadas no processo de certificação tais como consultorias, organismos certificadores, assessorias de imprensa, prêmios da qualidade, etc.

O constante aprimoramento do processo de certificação da carne de aves pode prevenir a indústria avícola brasileira das barreiras não-tarifárias impostas pelos países importadores, além de funcionar como ferramenta de exploração e conquista de novos nichos de mercados (Oliveira, 2005).

#### **4. Isótopos estáveis na certificação e rastreabilidade de alimentos**

Isótopos são átomos de um mesmo elemento químico que diferem em número de nêutrons, e por consequência apresentam diferentes massas nucleares. A expressão *estável* significa que não emitem radiação.

Isótopo é um termo que vem do grego: *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato dos elementos ocuparem o mesmo lugar na tabela periódica. Naturalmente na biosfera são encontrados os isótopos dos elementos carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O) e, nitrogênio (N).

A medida da relação entre isótopos, expressa em delta per mil ( $\delta\%$ ), é realizada pelo espectrômetro de massas de baixa resolução que mede a concentração dos diferentes isótopos do elemento admitido no sistema sob a forma gasosa ( $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $N_2$  e  $SO_2$ ) em relação a um padrão internacional definido.

O padrão internacional para os isótopos estáveis do carbono é o Peedee Belemnite (PDB), sendo aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono (Friedman & O'Neil, 1977). O PDB é 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 do nitrogênio, o

padrão internacional é o nitrogênio do ar atmosférico, o qual é considerado mistura isotópica homogênea na superfície terrestre.

A análise da variação natural da abundância dos isótopos estáveis é uma ferramenta, utilizada em estudos de geologia e arqueologia, que possibilita a reconstrução de dieta prévia de animais (Van der Merve, 1982; DeNiro, 1987) e vem sendo aplicada de forma crescente e contínua em pesquisas agrícolas, ecológicas e fisiológicas (Gannes et al., 1998). Os isótopos estáveis são alternativa promissora em estudos de processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo de nutrientes em humanos e animais, assim como, para identificar a origem e a qualidade de produtos de origem animal e vegetal.

As composições isotópicas dos tecidos de animais assemelham-se às suas dietas, em relação ao carbono-13 (Minson & Ludlow, 1975; DeNiro & Epstein, 1976, 1978; Hobson & Clark, 1992a, 1992b), por estar ligado aos processos metabólicos (Kennedy & Krouse, 1990), estar presentes em todos os nutrientes capazes de gerar energia aos animais e por representarem cerca de 50% dos elementos químicos que compõem o corpo dos animais superiores (Murray, 1990).

O sinal isotópico das dietas refletido nos tecidos corporais animais varia por volta de 1‰ para o  $\delta^{13}\text{C}$  (DeNiro & Epstein, 1978) e em torno de 3‰ (2-5‰), para o  $\delta^{15}\text{N}$ , devido o nitrogênio do organismo animal sofrer enriquecimento em cada elevação do nível trófico (DeNiro & Epstein, 1981; Koch et al., 1994).

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 conhecer 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.

Para identificar a presença de subprodutos de origem animal em rações para animais, muitos métodos têm sido propostos, como, hibridização de DNA, ELISA e PCR (Bloch Junior, 2002). A hibridização de DNA consiste na extração do DNA animal

da ração e sua amplificação pela reação de polimerase em cadeia. O método de ELISA é um ensaio imuno-enzimático de anticorpos para os subprodutos de origem animal na ração e o método de PCR consiste em testar *primers* específicos para o gene do citocromo B do DNA mitocondrial de bovinos e suínos e do gene de colágeno para detecção de produto de aves em rações animais (Denadai, 2008).

A técnica estabelecida como padrão para detecção de proteína animal em rações é a microscopia por sedimentação, capaz de identificar a presença de farinha de carne e ossos em concentrações de 0,1%, por meio da identificação de fragmentos de ossos presentes na ração (Wobeto et al., 2006).

Entretanto, nenhum destes métodos é realizado com o produto final da produção animal, o que permite adulteração da ração após análises. Nesse sentido, a técnica dos isótopos estáveis garante segurança ao consumidor e ao produtor, pois é aplicada a carne, leite, ovos, entre outros.

Estudos sobre a aplicação da análise de isótopos na certificação de origem e determinação adulteração foram realizados em vinho (Robmann et al, 1996; Robmann et al., 1998; Rossmann, 2001; Majcenovic et al., 2002), queijo (Manca et al., 2001), manteiga (Rossmann et al., 2000), mel (Padovan, et al., 2003; Schellenberg et al., 2010), suco de frutas (Simpkins, et al., 2000; Rossmann, 2001; Serra et al., 2005) e leite (Crittenden et al., 2007).

O uso da razão isotópica  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  foi utilizado por Gonzáles-Martin et al. (2001), 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 ( $\delta^{34}\text{S}$ ).

Piasentier et al. (2003) diferenciaram 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.

Schimidt et al. (2005) usando os isótopos de carbono, nitrogenio e enxofre, identificaram a origem geográfica da carne bovina, além de diferenciar entre sistemas de produção (convencional e orgânico). Boner & Förstel (2004), utilizando análises

isotópicas também identificaram a origem geográfica e diferiram sistemas produtivos, convencional e orgânico, da carne bovina.

Associando isótopos de carbono, nitrogênio e oxigênio, Nakashita et al. (2008), diferenciaram carne de bovinos da Austrália, Japão e USA e de diferentes regiões do Japão. Horacek & Min et al. (2010), observaram padrões típicos na carne de bovino proveniente da Coreia, E.U.A., México, Austrália e Nova Zelândia, ao utilizar isótopos de C, N e H.

No Brasil, pesquisas utilizando os isótopos estáveis do carbono e nitrogênio estão 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, no intuito de identificar a utilização de subprodutos de origem animal na alimentação de frangos de corte. Tais estudos estão sendo desenvolvidos, visto a necessidade de métodos que auxiliem na certificação da carne de frango, visto as exigências do mercado externo, quanto à utilização de subprodutos de origem animal na alimentação destas aves.

Deste modo, a razão isotópica do carbono em associação à razão isotópica do nitrogênio permitiu identificar na alimentação de frangos de corte a presença de farinha de carne e ossos bovina (Carrizo et al., 2006), de farinha de vísceras de aves (Oliveira et al., 2010), de farinha de vísceras de aves e farinha de carne e ossos bovina, juntamente com levedura e farelo de trigo (Gottmann et al., 2008).

Os estudos realizados para avaliar a inclusão das farinhas de origem animal na dieta de frangos de corte realizados até o presente momento, dividiram o período de criação das aves em duas fases (inicial e final), o que não condiz com a realidade das indústrias avícolas. A utilização de duas fases de criação e ingredientes provenientes de um mesmo lote ocorreu para diminuir a variação do sinal isotópico das dietas entre cada fase. Esta variação isotópica é ocasionada pela alteração na quantidade dos ingredientes utilizados para compor a dieta de cada fase de criação de acordo com balanço nutricional.

Porém, para aplicação prática da técnica dos isótopos estáveis, estudo utilizando quatro fases de criação: pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias), de modo a ficar mais próximo a realidade da produção de frango de corte, com dietas formuladas com ingredientes provenientes de lotes diferentes e com a coleta de amostras realizadas a cada semana, durante o período de

criação faz-se necessário para o aprimoramento da técnica e sua aplicação no processo de certificação e rastreabilidade de produtos avícolas.

O Capítulo 2, intitulado “**Isótopos estáveis do carbono e nitrogênio na detecção de farinha de vísceras de aves nas diferentes fases de alimentação de frangos de corte**” encontra-se redigido de acordo com as normas editoriais da Revista *PAB – Pesquisa Agropecuária Brasileira*. O presente trabalho teve por objetivo identificar a inclusão de níveis crescentes de farinha de vísceras na alimentação de frangos de corte, usando os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na análise de sangue e músculo peitoral a cada semana de criação.

O Capítulo 3, intitulado “**Detecção da farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte durante todo o período da criação, pela técnica dos isótopos do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e do nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ )**” encontra-se redigido de acordo com as normas editoriais da Revista *PAB – Pesquisa Agropecuária Brasileira*. O presente trabalho objetivou, identificar a utilização de farinha de vísceras de aves na dieta de algum período de criação (pré-inicial, inicial, crescimento e/ou final) de frangos de corte, utilizando os isótopos estáveis do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) para análise de sangue e músculo peitoral coletados semanalmente.

## 5. Referências Bibliográficas

ABNT 2005- Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 9000. Sistema de gestão da qualidade – Fundamentos e vocabulários**. Rio de Janeiro: ABNT, 2005. 35p.

(CE) n.o 1069/2009 **Regulamento do parlamento europeu e do conselho de 21 de Outubro de 2009**. Disponível em: <<http://eur-ex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:300:0001:0033:PT:PDFABN>> 2005. Acesso em: 17 set 2010.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: 2001, p.167-190.

BELLAVER, C., BRUM, P.A.R. de. et al. Utilização de dietas com base na proteína ideal para frangos de corte de 1 a 42 dias utilizando farinha de vísceras de aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Suplemento 3. Trabalhos de Pesquisa. p.44-45. FACTA. Campinas. 2001a.

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**. v.3, n.3, p.233-240, 2001b.

BELLAVER, C. **Limitações e vantagens do uso de farinhas de origem animal na alimentação de suínos e de aves**. In: 2º Simpósio Brasileiro Alltech da Indústria de 2005. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_arquivos/palestras\\_r2v84s4u.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_arquivos/palestras_r2v84s4u.pdf)> Acesso em: 19 set. 2010.

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.

BRCHICKEN. **Brazil's Rigorous Production of Halal Chicken is Sign of Respect for Muslim Markets**. 2010 Disponível em:

<<http://www.brazilianchicken.com.br/publicacoes/br-chicken-04.pdf>> Acesso em: 17 set. 2010.

CARMO, R. B. A. Perspectivas para a avicultura de corte na Bahia. **Revista Bahia Agrícola**. v.3, n.3, 1999. Disponível em:

<[http://www.seagri.ba.gov.br/revista/rev\\_1199/avi\\_cort.htm](http://www.seagri.ba.gov.br/revista/rev_1199/avi_cort.htm)> Acesso em: 17 set. 2010.

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.

CIMA, E. G.; AMORIM, L. S. B.; SHIKIDA, P. F. A. A importância da rastreabilidade para o sistema de segurança alimentar na indústria avícola. **Revista FAE**, Curitiba, v.9, n.1, p.1-12, 2006.

CONCEIÇÃO, J.C.P.R. da & BARROS, A.L.M. 2005. **Certificação e rastreabilidade no agronegócio**: Instrumentos cada vez mais necessários. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, Texto para Discussão Nº 1122, Brasília, outubro de 2005, 47p. Disponível em:

<[http://agencia.ipea.gov.br/images/stories/PDFs/TDs/td\\_1122.pdf](http://agencia.ipea.gov.br/images/stories/PDFs/TDs/td_1122.pdf)> Acesso em 17 set. 2010.

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.

CRITTENDEN, R. G., ANDREW, A. S., LEFOURNOUR, M., YOUNG, M. D., MIDDLETON, H., & STOCKMANN, R. Determining the geographical origin of milk in Australasia using multi-element stable isotope ratio analysis. **International Dairy Journal**, v.17, p.421–428, 2007.

DENADAI, J. C. Rastreabilidade de farinhas de origem animal em ovos de poedeiras comerciais pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e do nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ), 2008. 101f. **Tese**. (Doutorado 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**, 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**, v.42, p.495-506, 1978.

DeNiro M.J, Epstein S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.45, p.341-351, 1981.

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

FRIEDMAN I, O'NEIL JR. Compilation of stable isotope fractionation factors of geochemical interest. In Fleischer M. Editors. *Data of Geochemistry* 6<sup>a</sup> ed. United States government printing office, 1977. p. kk1-kk12.



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.

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.

GOTTMANN, R. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.43, n.12, p.1641-1647, 2008.

HOBSON KA, CLARK RG. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of  $^{13}\text{C}$  in tissues. **The Condor**, v.94, p.181-188, 1992a.

HOBSON KA, CLARK RG. Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. **The Condor**, v.94, p.189-197, 1992b.

HORACEK, M.; MIN, J.S. Discrimination of Korean beef of other origin by stable isotope measurements. **Food Chemistry**, v.121, p.517-520., 2010.

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.

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.

KOCK PL, FOGEL ML, TURONS N. Tracing the Diets of Fossil Animals Using Stable Isotope in: Lajtha K, Michener RH. editors. **Stable in Ecology and Environmental Science**. Blackwell Scientific Publication. p.63-92, 1994.

LOMBARDI, M. C. Rastreabilidade: exigência sanitária dos novos mercados. *In: Congresso brasileiro das raças zebuínas. A integração da cadeia produtiva*, 3, 1998, Minas Gerais. Anais. Uberaba: Associação de Criadores de Zebu, 1998, p. 30-96.

MAJCENOVIC, A. B., SCHNEIDER, R. M., LEPOUTRE, J.-P., LEMPEREUR, V. R., BAUMES, R. Synthesis and stable isotope dilution assay of ethane thiol and diethyl disulfide in wine using solid phase microextraction. Effect of aging on their levels in wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 6653–6658, 2002.

MANCA, G.; CAMIN, F.; COLORU, G.; Del CARO A.; DETENTORI, D.; FRANCO M.A.; VERSINI, G. Characterisation 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 and Food Chemistry**, v.49, p.1404-1409, 2001.

MDICE – Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Exportações para o Oriente Médio segundo o Alcorão**. 2002. Disponível em: <http://www.mdic.gov.br/sitio/interna/noticia.php?area=5&noticia=4153>. Acesso em: 17 set. 2010.

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

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.

NAKASHITA, R., SUZUKI, Y., AKAMATSU, F., IIZUMI, Y., KORENAGA, T., & CHIKARAISHI, Y. Stable carbon, nitrogen, and oxygen isotope analysis as a potential tool for verifying geographical origin of beef. **Analytica Chimica Acta**, 617, 148–152, 2008.

OLIVEIRA, R.P ; DUCATTI, C. ; PEZZATO, A.C. ; DENADAI, J. C. ; CRUZ, V.C. ; SARTORI, J.R. ; CARRIJO, A.S. ; CALDARA, F. R.. Traceability of poultry offal meal in broiler feeding using isotopic analysis ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of different tissues. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, p.13-20, 2010.

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.

PADOVAN, G.J.; DE JONG, D.; RODRIGUES, L.P.; MARCHINI, J.S. Detection of adulteration of commercial honey sample by the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  isotope ratio. **Food Chemistry**, v.82, p. 633–636, 2003.

PEIXOTO, M. Rastreabilidade alimentar: reflexões para o caso da carne bovina. Textos para discussão 47. **Consultoria Legislativa do Senado Federal**. 2008. Disponível em: <[http://www.senado.gov.br/senado/conleg/textos\\_discussao/NOVOS%20TEXTOS/texto47%20-%20Marcus%20Peixoto.pdf](http://www.senado.gov.br/senado/conleg/textos_discussao/NOVOS%20TEXTOS/texto47%20-%20Marcus%20Peixoto.pdf)> Acesso em: 10.jul. 2010.

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.

PESSOA, Maria Conceição P. Y.; SILVA, Aderaldo. S.; CAMARGO, Silas, P.

**Qualidade e Certificação de produtos Agropecuários.** Texto para Discussão 14, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, 2002, 191p.

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.

ROBMANN, A.; SCHMIDT, H.L.; HERMANN, A.; RISTOW, R. Multielement stable isotope ratio analysis of glycerol to determine its origin in wine. **European Food Research and Technology**, v.207, p.237-243, 1998.

ROBMANN, A.; SCHMIDT, H. L.; RENIERO, F.; VERSINI, G.; MOUSSA, I.; MERLE, M. H. Stable carbon isotope content in ethanol of EC data bank wines from Italy, **European Food Research and Technology**, v.203, p.293-301, 1996.

ROSSMANN, A. Determination of stable isotope ratios in food analysis. **Food Reviews International**, v.17, 347–381, 2001.

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 and Technology**, v.211, p.32-40, 2000.

SCHELLENBERG, A., CHMIELUS, S., SCHLICHT, C., CAMIN, F., PERINI, M., BONTEMPO, L., et al. Multielement Stable Isotope Ratios (H, C, N, S) of honey from different European regions. **Food Chemistry** v.121, p.770–777, 2010.

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.

SERRA, F., GUILLOU, C. G., RENIERO, F., BALLARIN, L., CANTAGALLO, M. I., WIESER, M., et al. Determination of the geographical origin of green coffee by principal component analysis of carbon, nitrogen and boron stable isotope ratios. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.19, p.2111–2115, 2005.

SIMPKINS, W. A., PATEL, G., HARRISON, M., & GOLDBERG, D. Stable carbon isotope ratio analysis of Australian orange juices. **Food Chemistry**, v.70, p.385–390, 2000.

SZYSZKA, I. **Implantação de Sistemas da Qualidade ISO 9000 e mudanças organizacionais**. 2001. 205f. Dissertação (Mestrado em Administração) – Escola de Administração. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.

UBABEF – União Brasileira de Avicultura. **Relatório Anual 2009/2010**. Disponível em: <<http://www.brazilianchicken.com.br/publicacoes/relatorio-anual-2010.pdf>>. Acesso em: 17 set. 2010.

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

WOBETO AP, FONSECA ASK, LUNGE VR, IKUTA N. Detecção de proteína animal em ração pela técnica da reação em cadeia da polimerase. In: Conferência APINCO 2006 de Ciência e Tecnologias Avícolas, 2006, Campinas. **Suplemento da Revista Brasileira de Ciência Avícola** - Prêmio José Maria Lamas da Silva 2006. Campinas : FACTA, 2006. p.162.

## **CAPÍTULO 2**

**Isótopos estáveis do carbono e nitrogênio na detecção de farinha de vísceras de aves nas diferentes fases de alimentação de frangos de corte**

Resumo – O objetivo deste trabalho foi identificar a inclusão de níveis crescentes de farinha de vísceras (FV) na alimentação de frangos de corte, usando os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na análise do sangue e músculo peitoral das aves coletados semanalmente. Foram utilizados 560 pintos machos (*Cobb*), com um dia de idade, distribuídos aleatoriamente em tratamentos: controle (dieta vegetal), os demais tratamentos tiveram a inclusão de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 e 8,0% de FV na dieta. A cada 7 dias foram separadas ao acaso oito aves ( $n = 8$ ) por tratamento e coletados sangue e músculo peitoral para análise da razão isotópica do carbono e nitrogênio. Tanto no sangue quanto no músculo peitoral das aves aos 7 dias de idade a FV foi detectada a partir de 3,5%, valor que é mantido para o sangue aos 14 dias de idade. No músculo peitoral aos 14 dias a detecção foi a partir de 4,0%. Com 21 dias de idade no sangue a FV foi detectada a partir 2,0% e no músculo peitoral acima de 0,5% de inclusão. Aos 28, 35 e 42 dias no sangue foi detectado a partir de 4,0; 2,5 e 3,0%; respectivamente. No músculo peitoral aos 28 e 35 dias de idade foi identificada a FV em nível a partir de 2,0% e aos 42 dias a partir de 1,5%. A coleta de amostras ao longo do período de criação é necessária para acompanhar a variação do nível de inclusão de FV na alimentação de frangos de corte, devido as mudanças de dieta de acordo com as fase de criação de aves. O músculo peitoral comparado ao sangue das aves identifica a FV na alimentação de frangos de corte em menores níveis. A análise estatística linear discriminante é boa ferramenta para identificação de menores níveis de inclusão de FV na alimentação de frangos de corte comparada a análise estatística manova.

Termos para indexação: *Gallus gallus*, carbono-13, nitrogênio-15, subproduto de origem animal, certificação.

**Stable isotopes of carbon and nitrogen in the detection of poultry offal meal at different stages of feeding broilers**

Abstract – The aim of this paper was to identify the increasing levels of poultry offal meal (POM) in feed for broiler chickens using stable isotopes of carbon and nitrogen in the blood analysis and breast muscle of birds at each week. They were used 560 male chicks (Cobb), one day age. They were randomly assigned to treatments: control (vegetable diet), all other treatments had the inclusion of 0.5, 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; 4.0 and 8.0% of POM in the diet. For analysis of the isotope ratio carbon and nitrogen at every 7 days were separated at random eight birds (n = 8) per treatment and collected blood and breast muscle. Both in blood as in breast muscle at 7 days old POM was detected at 3.5%, which is maintained for the blood at 14 days old. In the breast muscle at 14 days the detection was from 4.0%. Within 21 days of age in the POM blood was detected from 2.0% in the breast muscle and above the 0.5% inclusion. At 28, 35 and 42 days in the blood was detected from 4.0, 2.5 and 3.0%, respectively. In the breast muscle at 28 and 35 days of age was identified in the POM level from 2.0% and 42 days from 1.5%. The collection of samples throughout the growing period is needed to monitor the level of inclusion *variação* POM in feed for broiler chickens, because of changes in diet according to the phase of poultry. The breast muscle compared to the blood of birds identified the POM in the supply of broilers at lower levels. Statistical analysis of linear discriminant is a good tool for identification of lower levels of inclusion of POM in feed for broiler chickens compared to Manova statistical analysis.

Indexing terms: *Gallus gallus*, carbon-13, nitrogen-15, animal byproducts, certification.



## 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).

A busca por alimentos de qualidade, com origem conhecida e que, de preferência, tragam certificação que assegure estes atributos, cada vez mais é exigida pelos consumidores. O desenvolvimento de um sistema que permita acompanhar toda a cadeia produtiva torna-se necessário (Regattieri et al., 2007).

No que diz respeito à segurança alimentar, a rastreabilidade é garantia ao consumidor de um produto acompanhado em todas as fases da produção. A rastreabilidade é instrumento cada vez mais importante para a implantação de um programa de qualidade em toda a cadeia produtiva (Lombardi, 1998).

Rastreabilidade, segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas-ABNT (2005) definir é definida capacidade de traçar o histórico, a aplicação ou a localização de um item através de informações previamente registradas. Porém, aplicada isoladamente, a rastreabilidade 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).

Para identificar a presença de subprodutos de origem animal em rações para animais, muitos métodos têm sido propostos, como, hibridização de DNA, ELISA e PCR (Bloch Junior, 2002). Segundo Wobeto et al. (2006), a técnica estabelecida como padrão para detecção de proteína animal em rações é a microscopia por sedimentação.

Entretanto, nenhum método para detecção da presença de produtos de origem animal é aplicado no produto final da produção animal, o que permite adulteração da ração após análises. A técnica dos isótopos estáveis pode ser utilizada neste sentido, garantindo segurança ao consumidor e ao produtor, pois é aplicada ao produto final, como carne, leite, ovos, entre outros.

A detecção da presença de produtos de origem animal na alimentação de frangos de corte, como nas de outras espécies animais, torna-se possível por meio dos isótopos estáveis, visto que a assinatura isotópica da dieta é refletida no organismo dos animais, pois o animal é o que consome isotopicamente, até  $\pm 1,0\%$  para  $\delta^{13}\text{C}$  e até  $\pm 3,0\%$  para  $\delta^{15}\text{N}$ , segundo DeNiro & Epstein (1976, 1978).

Piasentier et al. (2003), por meio da técnica dos isótopos estáveis do  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , diferenciaram a origem geográfica e o regime de alimentação de ovinos. 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.

A razão isotópica do carbono em associação à razão isotópica do nitrogênio permitiu rastrear no produto final animal, a farinha de carne e ossos bovino na alimentação de frangos de corte (Carrizo et al., 2006); farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte (Oliveira, et al., 2010) e codornas (Móri et al., 2007); farinha de vísceras de aves, juntamente com levedura e farelo de trigo, na alimentação de frangos de corte (Gottmann et al., 2008) e farinha de carne e ossos bovino na alimentação de poedeiras (Denadai et al., 2008).

Trabalhos realizados até o presente momento para identificar a presença de farinha de vísceras na dieta de aves dividiram o período criação em duas fases (inicial e final), o que distancia da realidade das indústrias avícolas e coletaram amostras apenas ao final do período de criação.

Deste modo, na intenção de aprimorar esta técnica o presente trabalho teve por objetivo identificar a cada semana a inclusão de níveis crescentes de farinha de vísceras (FV) na alimentação de frangos de corte, usando os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na análise de sangue e músculo peitoral.

### Material e Métodos

O experimento foi conduzido na UNESP – *Campus* de Botucatu, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, no período de 3 de fevereiro a 17 de março 2009. Foram utilizados 560 pintos de corte machos da linhagem *Cobb*, com um dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro, Marek e Bouda Aviária, dos quais oito foram abatidos no instante do alojamento para obtenção do sinal isotópico inicial das aves.

As aves foram alojadas em aviário experimental do tipo convencional, distribuídas aleatoriamente em boxes de 2,5m<sup>2</sup> e em dez tratamentos: controle (dieta vegetal) e os demais tratamentos tiveram a inclusão de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 e 8,0% de farinha de vísceras de aves (FV) na dieta.

O programa de arraçamento foi dividido em: pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e as dietas de cada tratamento (Tabelas 1, 2, 3 e 4) em cada fase foram formuladas para serem isoprotéicas e isoenergéticas, 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).

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.

**Tabela 1.** Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais pré-iniciais (1 a 7 dias).

Ingredientes, %	Inclusão de farinha de vísceras, %									
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	8,0
Milho, moído	56,44	56,90	57,44	57,90	58,36	58,82	59,28	59,74	60,22	61,20
Soja, farelo	37,48	36,77	36,00	35,29	34,58	33,87	33,16	32,47	31,73	26,55
Soja, óleo bruto	1,98	1,80	1,60	1,42	1,24	1,06	0,88	0,70	0,52	
Vísceras, farinha	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	3,00	3,50	4,00	8,00
Calcário calcítico	0,93	0,92	0,91	0,91	0,91	0,90	0,90	0,88	0,88	0,84
Fosfato bicálcico	1,94	1,88	1,81	1,74	1,67	1,61	1,54	1,48	1,42	0,88
DL-Metionina	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,20	0,20	0,19
L-Lisina	0,32	0,32	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Sal comum	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,25
Suplemento vitamínico e mineral <sup>(1)</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de colina	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Caulim										1,42
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Níveis nutricionais calculados</b>										
EM, Kcal/kg	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950
PB, %	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22
Ca, %	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
P disp., %	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Metionina, %	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,53	0,53	0,52	0,53	0,52
Metionina + Cistina, %	0,81	0,81	0,82	0,82	0,82	0,83	0,83	0,83	0,83	0,84
Lisina, %	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33

<sup>(1)</sup>Suplemento vitamínico-mineral inicial TORTUGA® (por kg de ração): manganês 559,86 mg, ferro 434,37 mg, zinco 433,56 mg, cobre 85,65 mg, iodo 5,61 mg, selênio 3,39 mg, vitamina A 106.560 U.I., vitamina D<sub>3</sub> 25.537,5 U.I., vitamina E 148,77 mg, vitamina K<sub>3</sub> 18 mg, vitamina B<sub>1</sub> 20,1 mg, vitamina B<sub>2</sub> 45 mg, vitamina B<sub>6</sub> 24,9 mg, vitamina B<sub>12</sub> 120 mcg, niacina 300 mg, ácido fólico 117,45 mg, ácido pantotênico 7,5 mg, biotina 0,99 mg, antioxidante 42 mg.

**Tabela 2.** Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais iniciais (8 a 21 dias).

Ingredientes, %	Inclusão de farinha de vísceras, %									
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	8,0
Milho, moído	59,62	60,05	60,55	61,00	61,47	61,96	62,39	62,89	63,35	64,98
Soja, farelo	34,45	33,77	33,04	32,34	31,62	30,90	30,22	29,47	28,76	23,44
Soja, óleo bruto	2,19	2,02	1,83	1,65	1,47	1,28	1,11	0,92	0,74	0,00
Vísceras, farinha	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	3,00	3,50	4,00	8,00
Calcário calcítico	0,90	0,89	0,88	0,88	0,87	0,87	0,86	0,86	0,85	0,81
Fosfato bicálcico	1,80	1,74	1,67	1,60	1,54	1,46	1,40	1,33	1,27	0,73
DL-Metionina	0,16	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,14	0,14	0,14	0,13
L-Lisina	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,19	0,19	0,19
Sal comum	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Suplemento vitamínico e mineral <sup>(1)</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de colina	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Caulim	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,02
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Níveis nutricionais calculados</b>										
EM, Kcal/kg	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000
PB, %	20,8	20,8	20,8	20,8	20,8	20,8	20,8	20,8	20,8	20,8
Ca, %	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
P disp., %	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
Metionina, %	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,46
Metionina + Cistina, %	0,74	0,73	0,74	0,74	0,74	0,75	0,74	0,74	0,74	0,76
Lisina, %	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,14	1,14	1,15	1,15	1,15

<sup>(1)</sup>Suplemento vitamínico-mineral inicial TORTUGA® (por kg de ração): manganês 559,86 mg, ferro 434,37 mg, zinco 433,56 mg, cobre 85,65 mg, iodo 5,61 mg, selênio 3,39 mg, vitamina A 106.560 U.I., vitamina D<sub>3</sub> 25.537,5 U.I., vitamina E 148,77 mg, vitamina K<sub>3</sub> 18 mg, vitamina B<sub>1</sub> 20,1 mg, vitamina B<sub>2</sub> 45 mg, vitamina B<sub>6</sub> 24,9 mg, vitamina B<sub>12</sub> 120 mcg, niacina 300 mg, ácido fólico 117,45 mg, ácido pantotênico 7,5 mg, biotina 0,99 mg, antioxidante 42 mg.

**Tabela 3.** Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais de crescimento (22 a 35 dias).

Ingredientes, %	Inclusão de farinha de vísceras, %									
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	8,0
Milho, moído	62,39	62,85	63,37	63,83	64,25	64,75	65,17	65,63	66,13	69,83
Soja, farelo	30,88	30,17	29,43	28,72	28,03	27,30	26,63	25,92	25,19	19,52
Soja, óleo bruto	3,17	2,99	2,80	2,62	2,45	2,26	2,09	1,91	1,72	0,28
Vísceras, farinha	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	3,00	3,50	4,00	8,00
Calcário calcítico	0,85	0,84	0,83	0,83	0,83	0,83	0,82	0,81	0,80	0,76
Fosfato bicálcico	1,66	1,60	1,53	1,46	1,40	1,32	1,26	1,20	1,13	0,60
DL-Metionina	0,16	0,16	0,15	0,15	0,15	0,15	0,14	0,14	0,14	0,12
L-Lisina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Sal comum	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Suplemento vitamínico e mineral <sup>(1)</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de Colina	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
<b>Níveis nutricionais calculados</b>										
EM, Kcal/kg	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
PB, %	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4
Ca, %	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,83	0,82
P disp., %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Metionina, %	0,44	0,44	0,43	0,43	0,44	0,44	0,43	0,43	0,43	0,43
Metionina + Cistina, %	0,71	0,71	0,70	0,71	0,71	0,72	0,71	0,71	0,72	0,73
Lisina, %	1,08	1,08	1,08	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07

<sup>(1)</sup>Suplemento vitamínico-mineral engorda TORTUGA® (por kg de ração): manganês 559,85 mg, ferro 434,37 mg, zinco 433,56 mg, cobre 85,65 mg, iodo 5,61 mg, selênio 3,39 mg, vitamina A 88,054,5 U.I., vitamina D<sub>3</sub> 21.264,23 U.I., vitamina E 124,17 mg, vitamina K<sub>3</sub> 15 mg, vitamina B<sub>1</sub> 16,74 mg, vitamina B<sub>2</sub> 37,47 mg, vitamina B<sub>6</sub> 20,73 mg, vitamina B<sub>12</sub> 99,9 mcg, niacina 249,75 mg, ácido fólico 97,74 mg, ácido pantotênico 6,27 mg, biotina 0,84 mg, antioxidante 42 mg.

**Tabela 4.** Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais finais (36 a 42 dias).

Ingredientes, %	Inclusão de farinha de vísceras, %									
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	8,0
Milho, moído	66,40	66,88	67,34	67,78	68,26	68,72	69,22	69,64	70,16	73,87
Soja, farelo	27,06	26,34	25,63	24,95	24,21	23,52	22,79	22,10	21,34	15,67
Soja, óleo bruto	3,17	2,99	2,81	2,63	2,45	2,27	2,08	1,91	1,72	0,27
Vísceras, farinha	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	3,00	3,50	4,00	8,00
Calcário calcítico	0,80	0,79	0,79	0,79	0,78	0,77	0,77	0,76	0,76	0,72
Fosfato bicálcico	1,52	1,46	1,39	1,31	1,26	1,19	1,11	1,06	0,99	0,45
DL-Metionina	0,15	0,14	0,14	0,14	0,14	0,13	0,13	0,13	0,13	0,12
L-Lisina	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Sal comum	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Suplemento vitamínico e mineral <sup>(1)</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de Colina	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
<b>Níveis nutricionais calculados</b>										
EM, Kcal/kg	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150
PB, %	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
Ca, %	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
P disp., %	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Metionina, %	0,41	0,40	0,41	0,41	0,41	0,40	0,40	0,41	0,41	0,42
Metionina + Cistina, %	0,67	0,66	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,68	0,70
Lisina, %	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,00

<sup>(1)</sup> Suplemento vitamínico-mineral engorda TORTUGA® (por kg de ração): manganês 559,85 mg, ferro 434,37 mg, zinco 433,56 mg, cobre 85,65 mg, iodo 5,61 mg, selênio 3,39 mg, vitamina A 88.054,5 U.I., vitamina D<sub>3</sub> 21.264,23 U.I., vitamina E 124,17 mg, vitamina K<sub>3</sub> 15 mg, vitamina B<sub>1</sub> 16,74 mg, vitamina B<sub>2</sub> 37,47 mg, vitamina B<sub>6</sub> 20,73 mg, vitamina B<sub>12</sub> 99,9 mcg, niacina 249,75 mg, ácido fólico 97,74 mg, ácido pantotênico 6,27 mg, biotina 0,84 mg, antioxidante 42 mg.

A cada 7 dias, a partir do alojamento das aves até os 42 dias de idade, foram tomadas aleatoriamente 8 aves por tratamento para coletas de amostras de sangue e de músculo peitoral, sendo que, cada ave abatida foi considerada uma repetição.

O sangue foi coletado por punção na veia braquial com seringa e agulha descartável e acondicionado em tubos plásticos descartáveis, sendo que posteriormente a ave foi sacrificada por deslocamento da articulação crânio-cervical para coleta de amostras de músculo. As amostras do músculo peitoral foram obtidas a partir de corte de uma fatia de 5mm do terço médio longitudinal do esquerdo e acondicionadas em sacos plásticos. Após a coleta, tanto as amostras de sangue quanto as amostras de músculo peitoral foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da preparação para as análises isotópicas que foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu.

Para realização das análises isotópicas, as amostras de sangue e músculo peitoral foram descongeladas, sendo que as de músculo peitoral foram lavadas em água destilada e secadas em estufa de ventilação forçada (Marconi – Ma 035), à temperatura de  $56^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Após a secagem, foram moídas criogenicamente em moinho criogênico de nitrogênio líquido (Spex – modelo 6750 freezer/Mill). Para moagem em torno de 2,0 g de cada amostra foi colocada em tubo de policarbonato, juntamente com a barra magnética, que devidamente fechado, foi imerso em nitrogênio líquido (à  $-190^{\circ}\text{C}$ ) dentro do moinho, onde permaneceu por um minuto (pré-congelamento). A pulverização da amostra ocorreu então pelo impacto da barra magnética, submetida ao campo magnético oscilante (15 impactos/s), com esta amostra congelada durante três minutos. Obtendo, deste modo, partículas de granulometria menor que  $60\ \mu\text{m}$  (Licatti, 1997; Ducatti, 2004).

Das amostras de sangue foram pipetados, em cápsulas de estanho,  $0,2\ \mu\text{L}$  para determinação da razão isotópica do carbono e  $1,5\ \mu\text{L}$  para razão isotópica do nitrogênio, das de músculo peitoral, foram pesados, aproximadamente 50 a  $60\ \mu\text{g}$  para carbono e 500 a  $600\ \mu\text{g}$  para nitrogênio. As cápsulas foram introduzidas por meio de amostrador automático no analisador elementar (EA 1108 - CHN - Fisons Instruments, Rodano, Itália) 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 ( $\delta\%$ ), na terminologia isotópica, relativos aos padrões internacionais *Peedee Belemnite* (PDB) para o  $^{13}\text{C}$  e nitrogênio do ar atmosférico para  $^{15}\text{N}$ , de acordo com a seguinte equação geral:

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

Onde:

$\delta X$  = 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 dados isotópicos foram submetidos à análise estatística multivariada discriminante linear por meio do pacote estatístico do software Minitab 16 (2010) para verificar a distinção e classificação das classes homogêneas entre os tratamentos.

A análise das tabelas, onde foram representados os grupos de resposta, foi realizada da seguinte forma: na vertical observou-se a redistribuição dos indivíduos para cada tratamento a partir da análise estatística utilizada, observando a variação isotópica de cada indivíduo e na horizontal foram representados os grupos de resposta formados pela análise em questão. Deste modo, diagonalmente foram observados os indivíduos alocados corretamente conforme tratamento a que pertence e fora da diagonal o grupo de resposta gerado pela análise estatística. Sendo assim, os tratamentos com inclusão de FV foram considerados diferentes do tratamento controle, quando estes não fizeram parte de grupo onde havia indivíduos do tratamento controle. Em cada tabela foi formado um retângulo delimitando onde houve sobreposição dos grupos de resposta que incluem o tratamento controle.

### **Resultados e Discussão**

As médias dos valores isotópicos encontrados para as amostras de ração estão contidos na Tabela 5 e os valores encontrados para o sangue e o músculo peitoral encontram-se no Anexo 1.

Por meio da análise discriminante foram geradas funções de classificação para o sangue e músculo peitoral (Anexo 2), para cada período avaliado (7, 14, 21, 28, 35 e 42

dias), a partir das quais formou-se os grupos de resposta para comparação dos tratamentos.

**Tabela 5.** Valores isotópicos do carbono e nitrogênio nas rações.

% FV	Pré-inicial		Inicial		Crescimento		Final	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0,0	-18,26	1,51	-17,84	1,59	-17,59	2,02	-17,38	1,84
0,5	-18,74	1,68	-17,65	1,58	-17,59	1,71	-17,17	1,67
1,0	-17,93	1,63	-17,54	1,50	-17,51	2,08	-17,29	1,95
1,5	-17,81	1,98	-17,43	1,40	-17,81	2,16	-16,89	2,01
2,0	-17,84	1,56	-17,08	1,82	-17,83	2,15	-16,80	2,04
2,5	-17,49	1,46	-17,11	1,84	-17,49	2,42	-16,56	2,36
3,0	-17,77	1,80	-16,95	1,70	-17,43	2,08	-16,25	2,34
3,5	-17,30	1,25	-16,90	1,38	-17,17	2,14	-16,32	2,20
4,0	-17,94	2,11	-16,87	1,94	-16,36	2,42	-16,31	2,37
8,0	-17,25	1,87	-16,03	2,15	-16,17	2,78	-15,43	2,82

Na Tabela 5 observou-se enriquecimento isotópico tanto para o carbono quanto para nitrogênio das dietas pré-iniciais para as dietas finais, em quase todos os tratamentos. Esse comportamento ocorreu pelo fato das rações finais serem mais energéticas e menos protéicas, em relação às pré-iniciais, e isto fez com que fosse 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 tornou a dieta mais rica em  $^{13}\text{C}$ , pois o milho, uma planta do ciclo fotossintético  $\text{C}_4$ , possui valor isotópico  $\delta^{13}\text{C} = -12,6\text{‰}$  enquanto a soja, planta do ciclo fotossintético  $\text{C}_3$ , possui valor isotópico  $\delta^{13}\text{C} = -27,6\text{‰}$ .

Além disso, a inclusão de FV ( $\delta^{13}\text{C} = -16,28\text{‰}$  e  $\delta^{15}\text{N} = 4,29\text{‰}$ ) na dieta também contribui para enriquecimento em carbono-13 e nitrogênio-15.

Enriquecimento em carbono-13 e nitrogênio-15 quando utilizado farinhas de origem animal na dieta de frangos de corte também foi observado por Carrijo et al. (2006), Móri et al. (2007), Gottmann et al. (2008) e Oliveira et al. (2010) em estudos utilizando aves criadas em duas fases.

Assim como o valor de  $\delta^{13}\text{C}$ , o  $\delta^{15}\text{N}$  da ração também variou, de acordo com a composição percentual dos ingredientes na dieta. A diminuição da inclusão do farelo de soja, leguminosa que realiza simbiose com micorrizas, de valor isotópico próximo ao padrão (Handley & Raven, 1992; Werner & Schmidt, 2002), associada ao aumento do milho, rico isotopicamente em nitrogênio-15, que depende do nitrogênio do solo (Choi et al., 2002) e da FV também rica em nitrogênio-15, causada pelo reflexo da dieta do animal que a deu origem associada ao enriquecimento à cada elevação no nível trófico do organismo animal (DeNiro & Epstein, 1981), poderia ser a causa do enriquecimento destas dietas.

Os tratamentos com inclusão de 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 8,0% de FV não apresentaram enriquecimento isotópico em carbono das dietas iniciais para dietas de crescimento, talvez devido a utilização do milho e do farelo de soja disponíveis na fábrica de ração experimental da UNESP-FMVZ no momento do preparo das rações e estes talvez possam ter apresentado sinais isotópicos diferentes se provenientes de lotes diferentes. E as variações em relação ao enriquecimento em nitrogênio, a não ser nos tratamentos com inclusão de 3,5 e 8,0% de FV, podem ter ocorrido pelo mesmo fato.

Avaliando os resultados representados na Tabela 6, observou-se que com 7 dias de idade, o sinal isotópico do sangue das aves possibilitou diferir do tratamento controle quando a inclusão de FV foi a partir de 3,5%, visto que houve sobreposição dos grupos de resposta do tratamento controle ao grupo 3,0% de inclusão da FV.

Para o músculo peitoral das aves aos 7 dias de idade de criação, a detecção da FV também ocorreu quando o nível de inclusão da farinha foi a partir de 3,5%, visto que houve sobreposição do tratamento controle até o grupo de resposta 1,0%, grupo que continha indivíduos do tratamento com 3,0% de inclusão de FV (Tabela 7).

A detecção de níveis a partir de 3,5% de inclusão de FV, tanto para o sangue quanto para o músculo peitoral, pode ter ocorrido, visto que na primeira semana de vida que a ave atravessa um dos momentos fisiologicamente mais difíceis, deixando de se alimentar da dieta endógena (fundamentalmente rica em proteínas e lipídios presentes no saco vitelino) e iniciando a alimentação por dieta exógena à base de proteínas, lipídios e carboidratos complexos, estes de difícil digestão pelo trato gastrointestinal, já que nesta fase as aves ainda não apresentam o complexo enzimático completamente

desenvolvido, (Vieira & Moran; 1998 e Rutz et al. 2006) e assim a diferença isotópica entre os tecidos não ser significativa.

**Tabela 6.** Classificação das amostras de sangue coletadas aos 7 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras.

	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%	4,0%	8,0%
0,0%	3	1	1	2	1	0	0	0	0	0
0,5%	1	4	3	1	0	0	0	0	0	0
1,0%	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0
1,5%	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0
2,0%	0	0	1	0	2	1	0	1	0	0
2,5%	2	0	0	1	1	3	2	1	0	0
3,0%	1	2	1	1	1	2	5	0	0	0
3,5%	0	0	0	0	2	1	0	4	2	0
4,0%	0	0	0	3	0	0	0	1	5	2
8,0%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

**Tabela 7.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 7 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras.

	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%	4,0%	8,0%
0,0%	5	0	0	2	0	0	0	0	0	0
0,5%	1	6	2	0	0	0	0	0	0	0
1,0%	2	0	4	1	1	0	2	0	0	0
1,5%	0	2	1	4	0	0	0	0	1	0
2,0%	0	0	1	0	4	0	1	0	0	0
2,5%	0	0	0	0	2	6	2	1	0	0
3,0%	0	0	0	0	1	1	3	0	0	0
3,5%	0	0	0	0	0	0	0	4	2	0
4,0%	0	0	0	1	0	1	0	1	4	1
8,0%	0	0	0	0	0	0	0	2	1	7
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

Com 14 dias, no sangue, o sinal isotópico do tratamento controle continua a diferir do sinal isotópico dos demais tratamentos quando a inclusão de FV foi a partir de 3,5%, pois observou-se sobreposição do grupo de resposta do tratamento controle ao



**Tabela 9.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 14 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras.

	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%	4,0%	8,0%
0,0%	4	0	2	0	0	0	0	1	0	0
0,5%	1	2	1	0	0	0	1	2	0	0
1,0%	2	0	1	4	1	0	0	1	0	0
1,5%	0	1	3	2	1	2	0	0	0	1
2,0%	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0
2,5%	0	0	1	1	2	4	0	0	1	0
3,0%	0	2	0	0	0	0	6	3	0	0
3,5%	1	3	0	0	0	0	1	1	0	0
4,0%	0	0	0	0	1	1	0	0	4	3
8,0%	0	0	0	1	2	0	0	0	1	4
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

Já com 21 dias, o sinal isotópico do sangue foi considerado diferente do tratamento controle quando a inclusão de FV foi a partir de 2,0%, visto que houve sobreposição do grupo controle ao grupo 1,0% que continha indivíduos do tratamento com 1,5% de inclusão de FV (Tabela 10).

Para o músculo peitoral, todos os tratamentos foram considerados diferentes do tratamento controle, pois o tratamento controle teve todos seus indivíduos alocados corretamente, por não houve variação isotópica entre os indivíduos (Tabela 11).

**Tabela 10.** Classificação das amostras de sangue coletadas aos 21 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras.

	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%	4,0%	8,0%
0,0%	5	2	1	0	0	0	0	0	0	0
0,5%	2	5	1	0	0	0	0	0	0	0
1,0%	1	1	3	2	0	0	0	0	0	0
1,5%	0	0	2	3	2	0	0	0	0	0
2,0%	0	0	1	2	5	4	0	0	0	0
2,5%	0	0	0	0	0	0	2	2	1	0
3,0%	0	0	0	0	0	3	3	2	1	0
3,5%	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0
4,0%	0	0	0	1	1	1	2	4	3	0
8,0%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

**Tabela 11.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 21 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras.

	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%	4,0%	8,0%
0,0%	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5%	0	5	0	0	2	1	0	0	0	0
1,0%	0	1	4	0	2	0	1	1	0	0
1,5%	0	0	0	1	0	1	1	1	2	0
2,0%	0	1	2	0	3	1	1	0	0	0
2,5%	0	1	2	0	0	1	1	1	0	0
3,0%	0	0	0	2	1	3	2	0	0	0
3,5%	0	0	0	3	0	1	1	3	1	0
4,0%	0	0	0	2	0	0	1	2	5	0
8,0%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

No sangue, aos 28 dias, foi possível diferir o sinal isotópico do tratamento controle dos tratamentos que continham inclusão de FV superior a 4,0%. Devido à sobreposição do grupo de resposta controle ao grupo 1,5% que continha indivíduos do tratamento 3,5%, não foi possível detectar diferenças entre esses grupos (Tabela 12).





**Tabela 13.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 28 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras.

	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%	4,0%	8,0%
0,0%	7	2	1	1	0	0	0	0	0	0
0,5%	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0
1,0%	0	3	4	0	0	0	0	0	0	0
1,5%	0	2	1	5	2	0	0	0	0	0
2,0%	0	0	0	1	3	3	0	0	0	0
2,5%	0	0	0	0	2	4	0	0	1	0
3,0%	0	0	0	0	0	1	7	1	0	0
3,5%	0	0	0	0	1	0	1	7	0	0
4,0%	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0
8,0%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

No sangue das aves, com 35 dias de idade, verificou-se que o sinal isotópico que diferenciou do tratamento controle foi do tratamento onde a inclusão de FV foi acima 2,5% (Tabela 14), sendo que a sobreposição dos grupos de resposta, nesta idade ocorreu do grupo controle ao grupo com indivíduos do tratamento com 2,0% de inclusão de FV.

Para o músculo peitoral, assim como ocorreu aos 28 dias, aos 35 dias de idade diferiu-se do tratamento controle quando a inclusão de FV foi a partir de 2,0%, visto a sobreposição do grupo controle até o grupo 1,0% que continha indivíduos do tratamento com 1,5% de inclusão de FV (Tabela 15).





**Tabela 17.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 42 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme a inclusão de farinha de vísceras.

	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%	4,0%	8,0%
0,0%	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0
0,5%	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0
1,0%	0	0	3	2	3	0	0	0	0	0
1,5%	0	0	0	1	2	1	0	0	0	0
2,0%	0	0	2	3	2	1	0	0	0	0
2,5%	0	0	1	2	0	4	0	2	0	0
3,0%	0	0	0	0	1	1	6	2	0	0
3,5%	0	0	0	0	0	1	1	3	1	0
4,0%	0	0	0	0	0	0	1	1	7	0
8,0%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

O tratamento com inclusão de 8,0% de FV foi o que teve seus indivíduos alocados corretamente o maior número de vezes, tanto no sangue quanto no músculo peitoral, ficando clara a diferença isotópica em carbono e nitrogênio existente entre este tratamento e o tratamento controle. Nos tratamentos com níveis de inclusão de até 4,0% de FV a incidência de indivíduos alocados corretamente foi menor. Fato que pode ter ocorrido devido à variabilidade isotópica individual das aves e/ou pela diferença isotópica destes indivíduos comparados aos do tratamento controle não ser tão expressiva.

Na Tabela 20, observou-se que os menores níveis de inclusão de FV detectados na alimentação das aves, a cada semana, foi no músculo peitoral, além de ser observado que o menor nível de inclusão da farinha, no sangue músculo peitoral, que diferenciou do tratamento controle foi aos 21 dias de idade.

**Tabela 20.** Níveis de inclusão de farinha de vísceras identificados.

Dias	Sangue	Músculo peitoral
7	3,5%	3,5%
14	3,5%	4,0%
21	2,0%	0,5%
28	4,0%	2,0%
35	2,5%	2,0%
42	3,0%	1,5%

A presença de FV na alimentação de frangos de corte também foi estudada por Oliveira et al. (2010). Estes pesquisadores identificaram aos 42 dias de idade, 4,0% de FV, analisando a quilha e a tíbia das aves, quando avaliaram o músculo peitoral observaram a inclusão de 8,0%, porém utilizando para análise estatística a Manova. No presente estudo, aos 42 dias avaliando o músculo peitoral indentificou-se a presença de FV a partir de 1,5% de inclusão, por meio da análise estatística multivariada discriminante.

Estudo para identificação de subprodutos de origem animal na alimentação de aves também foram realizados por Denadai et al. (2008 e 2009), porém analisando ovos e por Móri et al. (2007 e 2008), com codornas.

A análise discriminante foi utilizada por Franke et al. (2008) para autenticação da origem geográfica da carne de frango por meio da análise de multi-elementos e isótopo de oxigênio, por Horacek & Min (2010) para diferenciar a carne bovina coreana usando os isótopos do carbono, nitrogênio e hidrogênio, por Guo et al. (2010), para rastrear a origem geográfica do gado da China, com isótopos do carbono e do nitrogênio e Sant'Ana et al. (2010) para diferenciar peixes silvestres e de cativeiro utilizando isótopos de carbono e nitrogênio.

Segundo Horacek & Min (2010), isótopos de carbono, nitrogênio e hidrogênio na carne bovina da Coréia, EUA, México, Austrália e Nova Zelândia mostraram um padrão típico para os respectivos países. Estes pesquisadores sugerem ainda, que os principais fatores para diferenciação da carne foram o  $\delta^{13}\text{C}$ , definido pela alimentação com plantas  $\text{C}_3$  ou  $\text{C}_4$ , o  $\delta^2\text{H}$  que foi influenciado principalmente pela água consumida pelo gado e o  $\delta^{15}\text{N}$  que foi semelhante para as amostras avaliadas, a não ser para as

australianas, que poderiam conter na alimentação material marinho, produtos de origem animal ou o gado ter sido alimentado em solos ricos em  $\delta^{15}\text{N}$ .

Heaton et al. (2008) mostraram ser possível, usando multi-isótopos, diferir a origem da carne bovina. Porém a utilização da análise discriminante canônica foi útil quando se tinha informações sobre a origem das amostras a serem diferenciadas. A diferenciação de amostras sem informações prévias poderia ser mais complicada. Estes pesquisadores sugerem que para fornecer informações confiáveis seria necessário o conhecimento de informações sobre a origem das amostras e compreensão mais profunda sobre as concentrações elementares e a forma com que foram transferidos a partir do solo e forragem para os tecidos animais e seus respectivos *turnover*.

Estas colocações sugerem a necessidade da coleta de amostra da alimentação para análise conjunta com o tecido do animal. Visto as variações no nível de inclusão de FV identificável na alimentação das aves seria interessante que as coletas das amostras fossem realizadas semanalmente.

A técnica dos isótopos estáveis mostrou que diferencia a inclusão de FV na alimentação das aves, porém mais estudos devem ser realizados para aplicação da mesma de forma oficial.

### **Conclusão**

A coleta de amostras ao longo do período de criação é necessária para acompanhar a variação do nível de inclusão de FV na alimentação de frangos de corte, devido as mudanças de dieta de acordo com as fase de criação de aves.

O músculo peitoral comparado ao sangue das aves identifica a FV na alimentação de frangos de corte em menores níveis.

A análise estatística linear discriminante é boa ferramenta para identificação de menores níveis de inclusão de FV na alimentação de frangos de corte comparada a análise estatística manova.

### Referências Bibliográficas

ABNT 2005- Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 9000. Sistema de gestão da qualidade – Fundamentos e vocabulários**. Rio de Janeiro: ABNT, 2005. 35p.

BELLAVER, C. **Limitações e vantagens do uso de farinhas de origem animal na alimentação de suínos e de aves**. In: 2º Simpósio Brasileiro Alltech da Indústria de 2005. Disponível em:

<[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_arquivos/palestras\\_r2v84s4u.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_arquivos/palestras_r2v84s4u.pdf)> Acesso em: 19 set. 2010.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: 2001, p.167-190.

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.

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.

DENADAI, J.C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J.R.; PEZZATO, A..C, MÓRI, C.; GOTTMANN, R ; MITUO, M.A.O. Rastreabilidade da farinha de carne e ossos bovinos em ovos de poedeiras alimentadas com ingredientes alternativos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p. 1-7, 2009.

DENADAI, J.C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R ; PEZZATO, A.C. ; MORI, C ; MITUO, M.A.O. ; BORDINHON, A . The traceability of animal meals in layer diets as

detected by stable carbon and nitrogen isotope analyses of eggs. Revista **Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 147-152, 2008.

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.

FRANKE B.M. HADORN A.B.C. R.. BOSSET B.J.O. GREMAUD B.G. KREUZER C.M. Is authentication of the geographic origin of poultry meat and dried beef improved by combining multiple trace element and oxygen isotope analysis? **Meat Science**, v.8, p.944-947, 2008.

GOTTMANN, R. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.12, p.1641-1647, 2008.

GUO, B.L.; WEI, Y.M., PAN, J.R.; LI, Y. Stable C and N isotope ratio analysis for regional geographical traceability of cattle in China **Food Chemistry**, v.118, p. 915-920, 2010.

HEATON, K.; KELLY, S.D.; HOOGEWERFF, J.; WOOLFE, M. Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace analysis. **Food Chemistry**, v.107, p.506-515, 2008.

HORACEK, M.; MIN, J.S. Discrimination of Korean beef of other origin by stable isotope measurements. **Food Chemistry**, v.121, p.517-520, 2010



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>> Acesso em: 15 mar.2005.

LICATTI, F. **Isótopos estáveis do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) em plantas do ciclo bioquímico  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$** . 1997. 40 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Biologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

LOMBARDI, M. C. Rastreabilidade: exigência sanitária dos novos mercados. *In: Congresso brasileiro das raças zebuínas. A integração da cadeia produtiva*, 3, 1998, Minas Gerais. Anais. Uberaba: Associação de Criadores de Zebu, 1998, p. 30-96.

MINITAB Statistical Software [computer program], version 16. State College, PA: **Minitab Inc**, 2010.

MÓRI, C.; GARCIA, E.A.; DUCATTI, C.; DENADAI, J.C.; PELÍCIA, K.; GOTTMANN, R.; MITUO, M.A.O.; BORDINHON, A.M. Traceability of animal byproducts in quail (*Coturnix coturnix japonica*) tissues using carbon ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) and nitrogen ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) stable isotopes. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.9, p.263-269, 2007.

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.

OLIVEIRA, R.P ; DUCATTI, C. ; PEZZATO, A.C. ; DENADAI, J. C. ; CRUZ, V.C. ; SARTORI, J.R. ; CARRIJO, A.S. ; CALDARA, F. R.. Traceability of poultry offal meal in broiler feeding using isotopic analysis ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of different tissues. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, p.13-20, 2010.

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.

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.

RUTZ F, RECH JL, XAVIER EG, ANCIUTI MA, ROSSI P. Cuidados críticos na nutrição inicial de aves: alternativas para melhorar o desempenho e o papel essencial dos nucleotídeos. In: **Anais Brasil-Sul Avicultura**. 2006. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=poblicacoesecod\\_publicacao=770](http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=poblicacoesecod_publicacao=770)> Acesso em: 21 jun. 2010.

Sant'Ana, L.S.; Ducatti, C., Ramires, D.G. Seasonal variations in chemical composition and stable isotopes of farmed and wild Brazilian freshwater fish. **Food Chemistry**, v.22 p.74–77, 2010.

VIEIRA, S.L.; MORAN, E.T. Broiler yields using chicks from extremes in breeder age and dietary propionate. **Journal of Applied Poultry Research**, v.7, n.3, p.320-327,1998.

WOBETO AP, FONSECA ASK, LUNGE VR, IKUTA N. Detecção de proteína animal em ração pela técnica da reação em cadeia da polimerase. In: Conferência APINCO

2006 de Ciência e Tecnologias Avícolas, 2006, Campinas. **Suplemento da Revista Brasileira de Ciência Avícola** - Prêmio José Maria Lamas da Silva 2006. Campinas : FACTA, 2006. p.162.

### **CAPÍTULO 3**

**Detecção da farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte durante todo o período da criação, pela técnica dos isótopos do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e do nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ )**

Resumo - O presente trabalho objetivou, identificar a utilização de farinha de vísceras de aves (FV) na dieta de alguma período de criação (pré-inicial, inicial, crescimento e/ou final) de frangos de corte, utilizando os isótopos estáveis do carbono e nitrogênio na análise de sangue e músculo peitoral das aves, coletados semanalmente. Foram utilizados 448 pintos machos (*Cobb*), com um dia de idade. Os tratamentos experimentais foram: dieta controle (sem inclusão de FV) durante todo o período experimental; dieta com 4% de FV durante todo o período experimental; dieta vegetal até 7 dias e a partir do 8º dia dieta com 4% FV; dieta vegetal até 21 dias, sendo alterada para dieta com 4% FV; dieta vegetal até 35 dias e substituída por dieta com 4% FV; dieta com 4% FV até 7 dias, sendo substituída por dieta vegetal; dieta com 4% FV até os 21 dias, seguida de dieta vegetal; dieta com 4% FV até 35 dias, alterada para dieta vegetal até o final do período experimental. Aos 42 dias, foram separadas ao acaso oito aves ( $n = 8$ ) por tratamento e coletados sangue e músculo peitoral para realização da análise isotópica. A presença de FV na dieta de algum período de criação das aves foi identificada, a não ser quando a alimentação com FV aconteceu até os 7 dias. A utilização de dois tecidos (sangue e músculo peitoral) é necessária para garantir a detecção da FV na alimentação de frangos de corte nas fases de criação (pré-inicial, inicial, crescimento e final). Para identificar a presença de FV em algum período da alimentação de frangos de corte é necessária a coleta de amostras ao longo dos períodos de criação. A análise estatística linear discriminante é adequada para detectar de FV na alimentação de frangos de corte.

Termos para indexação: *Gallus gallus*, carbono-13, nitrogênio-15, subprodutos de origem animal, certificação.

**Detection of poultry offal meal in feed for broiler during the whole period of creation, using technique of carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ) isotopes**

Abstract - This study aimed to identify the use of poultry offal meal (POM) in the diet for some period of creation (pre-starter, starter, grower and / or end) of broiler chickens using stable isotopes of carbon and nitrogen in the blood test and breast muscle of birds, collected weekly. They were used 448 male chicks (*Cobb*), at one day old. The treatments were: control diet (without including VF) during the experimental period, diet with 4% POM during the entire experimental period; vegetable diet until 7 days and from the 8th day diet with 4% POM; vegetable diet until 21 days, being changed to a diet with 4% POM; vegetable diet until 35 days and replaced with 4% POM diet, diet with 4% POM up to 7 days, being ousted by vegetable diet, diet with 4% until 21 days POM followed by vegetable diet, diet with 4% POM 35 days, changed to vegetable diet until the end of the experiment. At 42 days, were divided at random eight birds ( $n = 8$ ) per treatment and collected blood and breast muscle to perform the isotopic analysis. The presence of FV in the diet for some period of the chickens has been identified, unless the feeding of FV occurred until 7 days. The use of two tissues (blood and breast muscle) is necessary to ensure detection of POM in the feeding of broiler chickens in phases (pre-starter, starter, grower and finisher). To identify the presence of POM in some period of feeding of broilers is necessary to collect samples over periods of creation. The linear discriminant statistical analysis is adequate to detect POM in the diet of broiler chickens.

Index terms: *Gallus gallus*, carbon-13, nitrogen-15, animal byproducts, certification.

## Introdução

As crises alimentares decorrentes dos surtos do “mal da vaca louca” e de febre aftosa na Europa provocaram a instituição de novos paradigmas nos padrões de consumo de alimentos em diversos mercados, sobretudo nos de países desenvolvidos (Peixoto, 2008).

Diante das tendências internacionais, onde o mercado impõe exigências 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.

Os riscos de contaminação alimentar são físicos, químicos ou microbiológicos e podem ocorrer em todos os estágios do processo de produção, desde a matéria prima até o produto ser finalmente consumido. A legislação de países desenvolvidos é cada vez mais dura e obriga a adoção das boas práticas de gestão da qualidade do International Standard for Quality Management Systems (ISO) e os princípios do sistema Hazard Analysis of Critical Points (HACCP) em toda a cadeia de alimentos, como medida fundamental de controle de qualidade e segurança (Machado, 2005).

Rastreabilidade é definida como a capacidade de traçar o histórico, a aplicação ou a localização de um item através de informações previamente registradas, de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2005). 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).

Neste sentido, a técnica de isótopos estáveis para detectar o tipo de alimento consumido pelo animal torna-se apropriada.

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 razão isotópica do carbono em associação à razão isotópica do nitrogênio permitiu rastrear a farinha de carne e ossos bovino na alimentação de frangos de corte (Carrijo et al., 2006), farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte (Oliveira et al., 2010) e codornas (Móri, et al. 2007) e farinha de vísceras de aves, juntamente com levedura e farelo de trigo, na alimentação de frangos de corte (Gottmann et al., 2008).

Deste modo, o presente trabalho teve por objetivo identificar a presença de farinha de vísceras de aves (FV) na dieta de determinado período de criação (pré-inicial, inicial, crescimento e/ou final) de frangos de corte, utilizando os isótopos estáveis do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) para análise de sangue e músculo peitoral coletados semanalmente.

### **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 3 de fevereiro a 17 de março 2009. Foram utilizados 448 pintos de corte machos da linhagem *Cobb*, com um dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro, Marek e Boubá Aviária.

As aves foram alojadas em aviário experimental tipo convencional, distribuídas aleatoriamente em boxes de 2,5m<sup>2</sup>, sendo que os tratamentos experimentais foram: dieta controle (sem inclusão de FV) durante todo o período experimental; dieta com 4% de FV durante todo o período experimental; dieta vegetal até 7 dias e a partir do 8º dia dieta com 4% FV; dieta vegetal até 21 dias, sendo alterada para dieta com 4% FV; dieta vegetal até 35 dias e substituída por dieta com 4% FV; dieta com 4% FV até 7 dias, sendo substituída por dieta vegetal; dieta com 4% FV até os 21 dias, seguida de dieta vegetal; dieta com 4% FV até 35 dias, alterada para dieta vegetal até o final do período experimental.



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.

O programa de arrazoamento foi dividido em: pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e as dietas (Tabelas 1, 2, 3 e 4) formuladas para serem isoprotéicas e isoenergéticas, 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).

**Tabela 1.** Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais pré-iniciais (1 a 7 dias).

Ingredientes, %	Inclusão de farinha de vísceras, %	
	0	4
Milho, moído	56,44	60,22
Soja, farelo	37,48	31,73
Soja, óleo bruto	1,98	0,52
Vísceras, farinha	0,00	4,00
Calcário calcítico	0,93	0,88
Fosfato bicálcico	1,94	1,42
DL-Metionina	0,21	0,20
L-Lisina	0,32	0,33
Sal comum	0,35	0,35
Suplemento vitamínico e mineral <sup>(1)</sup>	0,30	0,30
Cloreto de Colina	0,05	0,05
TOTAL	100,00	100,00
<b>Níveis nutricionais calculados</b>		
EM, Kcal/kg	2950	2950
PB, %	22	22
Ca, %	0,94	0,94
P disp., %	0,47	0,47
Metionina, %	0,52	0,52
Metionina + Cistina, %	0,81	0,83
Lisina, %	1,33	1,33
<b>Sinal isotópico</b>		
$\delta^{13}\text{C}$	-18,26	-17,94
$\delta^{15}\text{N}$	1,51	2,11

<sup>(1)</sup>Suplemento vitamínico-mineral inicial TORTUGA® (por kg de ração): manganês 559,86 mg, ferro 434,37 mg, zinco 433,56 mg, cobre 85,65 mg, iodo 5,61 mg, selênio 3,39 mg, vitamina A 106.560 U.I., vitamina D<sub>3</sub> 25.537,5 U.I., vitamina E 148,77 mg, vitamina K<sub>3</sub> 18 mg, vitamina B<sub>1</sub> 20,1 mg, vitamina B<sub>2</sub> 45 mg, vitamina B<sub>6</sub> 24,9 mg, vitamina B<sub>12</sub> 120 mcg, niacina 300 mg, ácido fólico 117,45 mg, ácido pantotêmico 7,5 mg, biotina 0,99 mg, antioxidante 42 mg.

**Tabela 2.** Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais iniciais (8 a 21 dias).

Ingredientes, %	Inclusão de farinha de vísceras, %	
	0	4
Milho, moído	59,62	63,35
Soja, farelo	34,45	28,76
Soja, óleo bruto	2,19	0,74
Vísceras, farinha	0,00	4,00
Calcário calcítico	0,90	0,85
Fosfato bicálcico	1,80	1,27
DL-Metionina	0,16	0,14
L-Lisina	0,18	0,19
Sal comum	0,35	0,35
Suplemento vitamínico e mineral <sup>(1)</sup>	0,30	0,30
Cloreto de colina	0,05	0,05
TOTAL	100,00	100,00
<b>Níveis nutricionais calculados</b>		
EM, Kcal/kg	3000	3000
PB, %	20,8	20,8
Ca, %	0,88	0,88
P disp., %	0,44	0,44
Metionina, %	0,45	0,45
Metionina + Cistina, %	0,74	0,74
Lisina, %	1,15	1,15
<b>Sinal isotópico</b>		
$\delta^{13}\text{C}$	-17,84	-16,87
$\delta^{15}\text{N}$	1,59	1,94

<sup>(1)</sup>Suplemento vitamínico-mineral inicial TORTUGA® (por kg de ração): manganês 559,86 mg, ferro 434,37 mg, zinco 433,56 mg, cobre 85,65 mg, iodo 5,61 mg, selênio 3,39 mg, vitamina A 106.560 U.I., vitamina D<sub>3</sub> 25.537,5 U.I., vitamina E 148,77 mg, vitamina K<sub>3</sub> 18 mg, vitamina B<sub>1</sub> 20,1 mg, vitamina B<sub>2</sub> 45 mg, vitamina B<sub>6</sub> 24,9 mg, vitamina B<sub>12</sub> 120 mcg, niacina 300 mg, ácido fólico 117,45 mg, ácido pantotênico 7,5 mg, biotina 0,99 mg, antioxidante 42 mg.

**Tabela 3.** Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais de crescimento (22 a 35 dias).

Ingredientes, %	Inclusão de farinha de vísceras, %	
	0	4
Milho, moído	62,39	66,13
Soja, farelo	30,88	25,19
Soja, óleo bruto	3,17	1,72
Vísceras, farinha	0,00	4,00
Calcário calcítico	0,85	0,80
Fosfato bicálcico	1,66	1,13
DL-Metionina	0,16	0,14
L-Lisina	0,20	0,20
Sal comum	0,35	0,35
Suplemento vitamínico e mineral <sup>(1)</sup>	0,30	0,30
Cloreto de Colina	0,04	0,04
TOTAL	100,00	100,00
<b>Níveis nutricionais calculados</b>		
EM, Kcal/kg	3100	3100
PB, %	19,4	19,4
Ca, %	0,82	0,83
P disp., %	0,41	0,41
Metionina, %	0,44	0,43
Metionina + Cistina, %	0,71	0,72
Lisina, %	1,08	1,07
<b>Sinal isotópico</b>		
$\delta^{13}\text{C}$	-17,59	-16,36
$\delta^{15}\text{N}$	2,02	2,42

<sup>(1)</sup>Suplemento vitamínico-mineral engorda TORTUGA® (por kg de ração): manganês 559,85 mg, ferro 434,37 mg, zinco 433,56 mg, cobre 85,65 mg, iodo 5,61 mg, selênio 3,39 mg, vitamina A 88.054,5 U.I., vitamina D<sub>3</sub> 21.264,23 U.I., vitamina E 124,17 mg, vitamina K<sub>3</sub> 15 mg, vitamina B<sub>1</sub> 16,74 mg, vitamina B<sub>2</sub> 37,47 mg, vitamina B<sub>6</sub> 20,73 mg, vitamina B<sub>12</sub> 99,9 mcg, niacina 249,75 mg, ácido fólico 97,74 mg, ácido pantotênico 6,27 mg, biotina 0,84 mg, antioxidante 42 mg.

**Tabela 4.** Composição percentual dos ingredientes e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais finais (36 a 42 dias).

Ingredientes, %	Inclusão de farinha de vísceras, %	
	0	4
Milho, moído	66,40	70,16
Soja, farelo	27,06	21,34
Soja, óleo bruto	3,17	1,72
Vísceras, farinha	0,00	4,00
Calcário calcítico	0,80	0,76
Fosfato bicálcico	1,52	0,99
DL-Metionina	0,15	0,13
L-Lisina	0,23	0,23
Sal comum	0,35	0,35
Suplemento vitamínico e mineral <sup>(1)</sup>	0,30	0,30
Cloreto de Colina	0,02	0,02
TOTAL	100,00	100,00
<b>Níveis nutricionais calculados</b>		
EM, Kcal/kg	3150	3150
PB, %	18	18
Ca, %	0,76	0,76
P disp., %	0,38	0,38
Metionina, %	0,41	0,41
Metionina + Cistina, %	0,67	0,68
Lisina, %	1,01	1,01
<b>Sinal isotópico</b>		
$\delta^{13}\text{C}$	-17,38	-16,31
$\delta^{15}\text{N}$	1,84	2,37

<sup>(1)</sup>Suplemento vitamínico-mineral engorda TORTUGA® (por kg de ração): manganês 559,85 mg, ferro 434,37 mg, zinco 433,56 mg, cobre 85,65 mg, iodo 5,61 mg, selênio 3,39 mg, vitamina A 88.054,5 U.I., vitamina D3 21.264,23 U.I., vitamina E 124,17 mg, vitamina K3 15 mg, vitamina B1 16,74 mg, vitamina B2 37,47 mg, vitamina B6 20,73 mg, vitamina B12 99,9 mcg, niacina 249,75 mg, ácido fólico 97,74 mg, ácido pantotênico 6,27 mg, biotina 0,84 mg, antioxidante 42 mg.

A cada 7 dias, até os 42 dias, foram tomadas aleatoriamente 8 aves por tratamento para coleta de amostras de músculo peitoral e sangue.

O sangue foi coletado por punção na veia braquial da ave com seringa e agulha descartável e acondicionadas em tubos plásticos descartáveis e congeladas, posteriormente o animal foi sacrificada por deslocamento da articulação crânio-cervical para coleta de amostras de músculo peitoral, que foram obtidas a partir de corte de uma fatia de 5mm do terço médio longitudinal do *Pectoralis major* esquerdo. As amostras de músculo peitoral foram acondicionadas em sacos plásticos, e congeladas a -20°C até a preparação para as análises isotópicas que foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu.

Para realização das análises isotópicas, as amostras foram preparadas segundo metodologia utilizada por Carrijo et al. (2006), Móri et al. (2007), Gottmann et al. (2008) e Denadai et al. (2009).

Em cápsulas de estanho, foram pipetados 0,2 µL de sangue para determinação dos enriquecimentos isotópicos do carbono e 1,5 µL para nitrogênio, e pesados, aproximadamente 50 a 60 µg de peito para carbono e 500 a 600 µg para nitrogênio. As cápsulas foram introduzidas por meio de amostrador automático no analisador elementar (EA 1108 - CHN - Fisons Instruments, Rodano, Itália) 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 (‰), na terminologia isotópica, relativos aos padrões internacionais *Peedee Belemnite* (PDB) para o <sup>13</sup>C e nitrogênio do ar atmosférico para <sup>15</sup>N, de acordo com a seguinte equação geral:

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

Onde:

$\delta X$  = 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 <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C e <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N.

Os dados isotópicos foram submetidos à análise estatística multivariada discriminante linear por meio do pacote estatístico do software Minitab 16 (2010) para verificar a distinção e classificação das classes homogêneas entre os tratamentos.

Nas tabelas com os grupos de resposta formados, verticalmente encontram-se informações sobre a distribuição dos indivíduos de cada tratamentos pelos grupos de resposta formados e na horizontal encontram-se os grupos de resposta formados. Para comparação dos tratamentos foi observado se havia ou não indivíduos dos tratamentos verificados na mesma linha. Assim, os tratamentos avaliados foram considerados diferentes quando não foram observados indivíduos dos tratamentos comparados na mesma linha, ou seja, a presença de FV na alimentação das aves foi indicada quando os tratamentos diferiram do tratamento controle.

### **Resultados e Discussão**

As médias dos valores isotópicos encontrados para as amostras de sangue e músculo peitoral encontram-se no Anexo 3.

A análise discriminante gerou funções de classificação para sangue e músculo peitoral (Anexo 2), para cada período avaliado (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias), a partir das quais foram gerados grupos de resposta para comparação dos tratamentos com inclusão de FV e o tratamento controle.

Os grupos de resposta formados para o sangue estão representados nas Tabelas 5, 7, 9, 11, 13 e 15; e os grupos formados para o músculo peitoral constam nas Tabelas 6, 8, 10, 12, 14 e 16, de acordo com os períodos de coleta de amostras 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias.

Avaliando o sangue e músculo peitoral das aves aos 7 dias de idade, observou-se que o tratamento em que as aves foram alimentadas com dieta contendo FV durante todo o período experimental diferiu do tratamento controle, pois as aves destes tratamentos foram alocadas corretamente de acordo com o tratamento a que pertenciam e o grupo de resposta formado (Tabelas 5 e 6). Esse comportamento foi observado em todos os períodos em que o sangue e músculo peitoral foram avaliados (Tabelas 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 e 16).

**Tabela 5.** Classificação das amostras de sangue coletado aos 7 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4%
0%	8	0
4%	0	8
n	8	8

**Tabela 6.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletadas aos 7 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4%
0%	8	0
4%	0	8
n	8	8

Na avaliação do sangue aos 14 dias, verificou-se que o tratamento em que as aves foram alimentadas com FV até os 7 dias de idade, tendo então a dieta substituída por dieta vegetal; e o tratamento em que as aves foram alimentadas com dieta vegetal até 7 dias e tiveram a dieta substituída por dieta contendo FV, não diferiram do tratamento controle, não sendo possível identificar a presença da farinha na alimentação dessas aves. Porém, observou-se no sangue que 6 aves do tratamento em que a mudança da dieta foi de FV para dieta vegetal aos 7 dias faziam parte do mesmo grupo de resposta onde foram alocadas as aves do tratamento controle e que 7 aves do tratamento em que a substituição da dieta foi de dieta vegetal para dieta contendo FV aos 7 dias faziam parte do mesmo grupo de resposta onde foram alocadas as aves do tratamento controle. Estas considerações demonstram que as aves desses tratamentos estavam incorporando o sinal isotópico da nova dieta no sangue (Tabela 7).

No músculo peitoral, aos 14 dias, também observou-se que os tratamentos em que as aves foram alimentadas com FV até os 7 dias de idade, tendo a dieta substituída por dieta vegetal e o tratamento em que as aves foram alimentadas com dieta vegetal até 7 dias e tiveram a dieta substituída por dieta com FV, não diferiram do tratamento controle (Tabela 8).



**Tabela 7.** Classificação das amostras de sangue coletado aos 14 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4% → 0% (7 dias)	0% → 4% (7 dias)	4%
0%	7	3	0	0
4% → 0% (7 dias)	1	3	1	0
0% → 4% (7 dias)	0	2	6	2
4%	0	0	1	6
n	8	8	8	8

**Tabela 8.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 14 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4% → 0% (7 dias)	0% → 4% (7 dias)	4%
0%	6	1	2	0
4% → 0% (7 dias)	0	7	0	0
0% → 4% (7 dias)	2	0	6	0
4%	0	0	0	8
n	8	8	8	8

Foi possível observar que, no sangue aos 21 dias, as aves alimentadas com dieta contendo FV até 7 dias de idade não diferiram do tratamento controle, pois faziam parte do mesmo grupo de resposta, não sendo possível a identificar a presença da FV na alimentação destas aves. Já as aves que foram alimentadas com dieta vegetal até os 7 dias e passaram a receber dieta com FV diferiram das do tratamento controle, o que permitiu a detecção da FV na dieta dessas aves (Tabela 9).

Nas amostras de músculo peitoral coletadas aos 21 dias, verificou-se que tanto o tratamento em que as aves foram alimentadas com FV até 7 dias quanto o tratamento em que as aves foram alimentadas com dieta vegetal até os 7 dias, diferiram do tratamento controle, sendo possível a identificação da FV na alimentação das aves desses tratamentos (Tabela 10).

**Tabela 9.** Classificação das amostras de sangue coletado aos 21 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4% → 0% (7 dias)	0% → 4% (7 dias)	4%
0%	5	3	0	0
4% → 0% (7 dias)	3	5	0	0
0% → 4% (7 dias)	0	0	5	3
4%	0	0	3	5
n	8	8	8	8

**Tabela 10.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 21 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4% → 0% (7 dias)	0% → 4% (7 dias)	4%
0%	8	0	0	0
4% → 0% (7 dias)	0	6	4	0
0% → 4% (7 dias)	0	2	4	0
4%	0	0	0	8
n	8	8	8	8

Na avaliação tanto do sangue quanto do músculo peitoral aos 28 dias (Tabelas 11 e 12, respectivamente) não foi possível verificar a presença da FV na alimentação das aves quando a dieta com FV foi substituída por dieta vegetal aos 7 dias, pois as aves deste tratamento foram alocadas num mesmo grupo de resposta que continha as aves do tratamento controle. Entretanto, observou-se a presença da FV na alimentação das aves quando aos 7 dias as aves tiveram a dieta vegetal substituída para dieta com FV.

Aos 28 dias de avaliação, também foi possível observar que no tratamento em que as aves receberam dieta com FV até 21 dias, a identificação da FV na alimentação das aves só ocorreu na avaliação do sangue, visto que nas observações realizadas com o músculo peitoral, as aves deste tratamento foram alocadas em grupos que continham aves do tratamento controle. Para o tratamento que iniciou com dieta vegetal até 21 dias sendo substituída por dieta contendo FV, a presença da FV somente foi observada, no músculo peitoral (Tabelas 11 e 12).

**Tabela 11.** Classificação das amostras de sangue coletado aos 28 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4% → 0% (7 dias)	4% → 0% (21 dias)	0% → 4% (21 dias)	0% → 4% (7 dias)	4%
0%	5	4	0	1	0	0
4% → 0% (7 dias)	3	3	0	0	0	0
4% → 0% (21 dias)	0	0	5	1	0	1
0% → 4% (21 dias)	0	1	1	5	2	0
0% → 4% (7 dias)	0	0	1	1	5	1
4,0%	0	0	1	0	1	6
n	8	8	8	8	8	8

**Tabela 12.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 28 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4% → 0% (7 dias)	4% → 0% (21 dias)	0% → 4% (21 dias)	0% → 4% (7 dias)	4%
0%	4	2	2	0	0	0
4% → 0% (7 dias)	2	5	0	0	0	0
4% → 0% (21 dias)	2	1	5	0	0	0
0% → 4% (21 dias)	0	0	1	6	0	1
0% → 4% (7 dias)	0	0	0	0	8	2
4%	0	0	0	2	0	5
n	8	8	8	8	8	8

Na avaliações realizadas aos 35 dias, observou-se tanto no sangue quanto no músculo peitoral (Tabela 13 e 14) que não foi possível verificar a presença da FV na alimentação das aves quando a dieta com FV foi substituída por dieta vegetal aos 7 dias. No entanto, a presença da farinha na alimentação das aves foi observada nas aves do tratamento em que a dieta vegetal foi substituída para dieta com FV aos 7 dias, avaliando o sangue (Tabela 13).

Ainda aos 35 dias de avaliação, também foi possível notar presença de FV na alimentação das aves, tanto pela análise do sangue quanto do músculo peitoral, das aves que iniciaram com dieta vegetal até 21 dias e tiveram a mesma substituída por dieta contendo FV. No tratamento em que as aves que receberam dieta com FV até 21 dias, não observou-se a presença da FV alimentação das aves (Tabelas 13 e 14).

**Tabela 13.** Classificação das amostras de sangue coletado aos 35 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4% → 0% (7 dias)	4% → 0% (21 dias)	0% → 4% (21 dias)	0% → 4% (7 dias)	4%
0%	5	3	0	0	0	0
4% → 0% (7 dias)	3	5	1	0	0	0
4% → 0% (21 dias)	0	0	6	2	0	0
0% → 4% (21 dias)	0	0	1	4	3	2
0% → 4% (7 dias)	0	0	0	1	2	2
4%	0	0	0	1	3	4
n	8	8	8	8	8	8

**Tabela 14.** Classificação das amostras de músculo peitoral coletado aos 35 dias de idade, usando isótopos do carbono e nitrogênio, conforme alimentação das aves.

	0%	4% → 0% (7 dias)	4% → 0% (21 dias)	0% → 4% (21 dias)	0% → 4% (7 dias)	4%
0%	6	2	0	0	0	0
4% → 0% (7 dias)	1	3	1	0	0	0
4% → 0% (21 dias)	1	3	6	0	2	0
0% → 4% (21 dias)	0	0	0	6	0	3
0% → 4% (7 dias)	0	0	1	1	5	0
4%	0	0	0	1	1	5
n	8	8	8	8	8	8

Aos 42 dias de avaliação, a presença de FV na alimentação foi observada, tanto no sangue quanto no músculo peitoral, das aves dos tratamentos que tiveram a dieta vegetal substituída por dieta com FV aos 7 e 21 dias e do tratamento que teve a dieta com FV alterada para dieta vegetal aos 35 dias, pois as aves desses tratamentos não foram alocadas em grupos que continham as aves do tratamento controle. A FV ainda foi observada na alimentação das aves que foram alimentadas com dieta vegetal até 35 dias e tiveram a dieta substituída por dieta com FV (Tabela 15 e 16).





A inclusão da FV na alimentação das aves até 7 não foi identificada no sangue em nenhum dos momentos avaliados e no músculo peitoral apenas aos 21 dias, visto que nesta idade o tratamento controle não apresentou variação isotópica entre as aves (as aves deste tratamento foram alocadas corretamente de acordo com o tratamento a que pertenciam e grupo de resposta formado 0%).

A presença da FV podem não ter sido observada na alimentação das aves na primeira semana de vida, pois nesta fase a ave sofre um processo de adaptação, do qual muda seu suprimento nutricional vindo do conteúdo do saco vitelino, rico em lipídios, para uma fonte exógena à base de proteínas, lipídios e carboidratos complexos, estes de difícil digestão pelo trato gastrointestinal, já que nesta fase as aves ainda não apresentam o complexo enzimático completamente desenvolvido, (Vieira e Moran; 1998 e Rutz et al. 2006).

No músculo peitoral quando a FV foi utilizada até 21 dias, também não foi possível detectar a presença da farinha em todos os períodos avaliados. Para as demais substituições de dieta foi possível identificar a presença da FV em algum momento avaliado.

Oliveira (2005), também não identificou a presença FV, quando esta foi utilizada na alimentação das aves até 7 dias e em 8% de inclusão na dieta, utilizando a Manova como análise estatística.

Dietas mais recentes são refletidas por tecidos com rápido *turnover*, enquanto tecidos com taxas de *turnover* mais lentas refletem dietas de períodos anteriores. De modo geral, os tecidos mais ativos metabolicamente (fígado, pâncreas e tecido adiposo) apresentam taxas de *turnover* mais rápidas que os menos ativos, como o colágeno dos ossos (Hobson & Clark, 1992a). Assim, a utilização de um tecido de metabolismo mais lento e a utilização da análise estatística multivariada discriminante linear talvez pudessem identificar a presença da FV na alimentação das aves quando esta farinha fosse utilizada na alimentação das aves até 7 dias.

A presença da FV na alimentação das aves, foi observada por Oliveira (2005) quando a adição da farinha na dieta ocorreu 7, 14, 21, 28 e 35 após alimentação com dieta vegetal, analisando quilha e tíbia aos 42 dias. Quando a substituição da dieta ocorreu para dieta vegetal, 7, 14, 21, 28 e 35 dias após alimentação com FV, a detecção

da farinha só ocorreu quando as aves foram alimentadas com dieta com FV a partir de 21 dias, analisando aos mesmos tecidos.

Embora, como Oliveira (2005) ressalta, na indústria avícola, a maior redução de custo obtida com inclusão de FV nas rações de frangos de corte coincide com o maior consumo de ração pelas aves, ou seja, nas rações de crescimento e final.

Sendo assim, tanto o sangue quanto o músculo peitoral mostraram-se eficientes na detecção da FV na dieta de determinado período de criação das aves, a não ser quando a alimentação com FV aconteceu até os 7 dias, o que demonstra a importância de um acompanhamento semanal, para aplicação da técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na verificação da adulteração e certificação da carne de frango.

### **Conclusão**

A utilização de dois tecidos (sangue e músculo peitoral) é necessária para garantir a detecção da FV na alimentação de frangos de corte nas fases de criação (pré-inicial, inicial, crescimento e final).

Para identificar a presença de FV em determinado período da alimentação de frangos de corte é necessária a coleta de amostras ao longo dos períodos de criação.

A análise estatística linear discriminante é adequada para detectar de FV na alimentação de frangos de corte.



### Referências Bibliográficas

ABNT 2005- Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 9000. Sistema de gestão da qualidade – Fundamentos e vocabulários**. Rio de Janeiro: ABNT, 2005. 35p.

BELLAVER, C. **Limitações e vantagens do uso de farinhas de origem animal na alimentação de suínos e de aves**. In: 2º Simpósio Brasileiro Alltech da Indústria de 2005. Disponível em:

<[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_arquivos/palestras\\_r2v84s4u.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_arquivos/palestras_r2v84s4u.pdf)> Acesso em: 19 set. 2010.

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.

DENADAI, J.C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J.R.; PEZZATO, A..C, MÓRI, C.; GOTTMANN, R ; MITUO, M.A.O. Rastreabilidade da farinha de carne e ossos bovinos em ovos de poedeiras alimentadas com ingredientes alternativos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1-7, 2009.

GONZÁLES-MARTÍN, I, GONZÁLES-PERÉZ, C., HERNANDEZ MENDÉZ, J., SÁNCHEZ GONZÁLES, C. Differentiation of dietary regimene of Iberian swine by means of isotopic analysis of carbon and sulphur in hepatic tissue. **Meat Science**, v.58, p.25-30, 2001.

GOTTMANN, R. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.43, n.12, p.1641-1647, 2008.

HOBSON KA, CLARK RG. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of <sup>13</sup>C in tissues. **The Condor**, v.94, p.181-188, 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 2003** - Disponível em <<http://www.cendotec1.org.br/dossier/cirad/produitsbrpr.pdf>> Acesso em: 15 mar.2005.
- 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.
- MACHADO, R.T.M. Sinais de qualidade e rastreabilidade de alimentos: uma visão sistêmica. **Organizações rurais e agroindustriais**, v. 7, n. 2, p. 227-237, 2005
- MINITAB Statistical Software [computer program], version 16. State College, PA: **Minitab Inc**, 2010.
- MÓRI, C.; GARCIA, E.A.; DUCATTI, C.; DENADAI, J.C.; PELÍCIA, K.; GOTTMANN, R.; MITUO, M.A.O.; BORDINHON, A.M. Traceability of animal byproducts in quail (*Coturnix coturnix japonica*) tissues using carbon ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) and nitrogen ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) stable isotopes. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.9, p.263-269, 2007.
- 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.
- OLIVEIRA, R.P ; DUCATTI, C. ; PEZZATO, A.C. ; DENADAI, J. C. ; CRUZ, V.C. ; SARTORI, J.R. ; CARRIJO, A.S. ; CALDARA, F. R.. Traceability of poultry offal meal in broiler feeding using isotopic analysis ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of different tissues. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, p.13-20, 2010.

PEIXOTO, M. Rastreabilidade alimentar: reflexões para o caso da carne bovina. Textos para discussão 47. **Consultoria Legislativa do Senado Federal**. 2008. Disponível em: <[http://www.senado.gov.br/senado/conleg/textos\\_discussao/NOVOS%20TEXTOS/texto47%20-%20Marcus%20Peixoto.pdf](http://www.senado.gov.br/senado/conleg/textos_discussao/NOVOS%20TEXTOS/texto47%20-%20Marcus%20Peixoto.pdf)> Acesso em: 10.jul.2010.

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.

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.

RUTZ F, RECH JL, XAVIER EG, ANCIUTI MA, ROSSI P. **Cuidados críticos na nutrição inicial de aves: alternativas para melhorar o desempenho e o papel essencial dos nucleotídeos**. In: Anais Brasil-Sul Avicultura. 2006. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoesecod\\_publicacao=770](http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoesecod_publicacao=770)> Acesso em: 21 jun. 2010.

VIEIRA, S.L.; MORAN, E.T. Broiler yields using chicks from extremes in breeder age and dietary propionate. **Journal of Applied Poultry Research**, v.7, n.3, p.320-327, 1998.

**CAPÍTULO 4**  
**Considerações Finais**

### **Considerações Finais**

Visto as imposições do mercado consumidor da carne de frango brasileira diante das crises ocorridas na década de 90, dentre elas a encefalopatia espongiforme bovina (EEB), conhecida como doença da vaca louca, surgiu a necessidade da certificação do padrão alimentar vegetal das aves e seus produtos.

Deste modo, vem sendo desenvolvida a linha de pesquisa que visa rastrear as farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte, poedeiras e codornas por meio da razão isotópica do carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ), em associação a razão isotópica do nitrogênio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ). Essa ferramenta apresenta grande potencial de aplicação em estudos com animais de produção, e tem sido utilizada com sucesso nas mais diversas áreas da produção animal, como por exemplo, avicultura, suinocultura, piscicultura, ovinocultura, bovinocultura e apicultura, dentre outras.

A técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio mostra-se eficiente para auxiliar no processo de certificação do padrão alimentar vegetal. A avaliação dos dados isotópicos pela análise estatística multivariada discriminante linear foram detectados na alimentação das aves menores valores de inclusão de farinha de vísceras dos que os encontrados quando a análises estatística utilizada foi a Manova.

Visto que a análise estatística multivariada discriminante linear utiliza os valores isotópicos de todas as amostras para comparação entre grupos de resposta, diferentemente da Manova que utiliza a média dos valores para comparação entre tratamentos, novos estudos podem ser realizados a fim de comparar os resultados entre essas duas análises. A determinação da quantidade de amostra a ser coletada, de maneira que a variação individual das amostras seja minimizada, na análise estatística multivariada discriminante linear, também deve ser determinada.

A avaliação de tecidos com metabolismos distintos para detecção da utilização de farinha de vísceras em alguma fase da alimentação das aves por meio da análise estatística multivariada discriminante linear também pode ser proposta.

Para uma padronização da base alimentar das aves, o conhecimento da variação isotópica existente entre os ingredientes utilizados na avicultura também é importante, considerando que principalmente para o nitrogênio parece haver diferenças.

**ANEXO 1**

As médias dos valores isotópicos do carbono e nitrogênio, encontradas para as amostras de sangue e músculo peitoral dos tratamentos do estudo que consta no Capítulo 2, estão contidas nas Tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

**Tabela 1.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte aos 7 dias de idade.

% inclusão farinha de vísceras	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0,0	-20,10 ± 0,16	4,49 ± 0,21	-19,56 ± 0,17	2,20 ± 0,13
0,5	-20,35 ± 0,20	4,26 ± 0,35	-19,49 ± 0,18	2,51 ± 0,10
1,0	-20,26 ± 0,13	4,23 ± 0,32	-19,40 ± 0,20	2,16 ± 0,33
1,5	-19,99 ± 0,19	4,57 ± 0,35	-19,33 ± 0,20	2,31 ± 0,19
2,0	-19,92 ± 0,18	4,42 ± 0,21	-19,11 ± 0,18	2,01 ± 0,12
2,5	-19,93 ± 0,14	4,25 ± 0,32	-18,86 ± 0,15	2,06 ± 0,16
3,0	-20,05 ± 0,12	4,11 ± 0,33	-19,06 ± 0,18	2,12 ± 0,09
3,5	-19,68 ± 0,20	4,39 ± 0,32	-18,51 ± 0,20	2,31 ± 0,15
4,0	-19,69 ± 0,18	4,78 ± 0,29	-18,76 ± 0,19	2,49 ± 0,16
8,0	-19,24 ± 0,20	4,61 ± 0,22	-18,31 ± 0,18	2,54 ± 0,06

**Tabela 2.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte aos 14 dias de idade.

% inclusão farinha de vísceras	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0,0	-20,44 ± 0,17	2,97 ± 0,27	-19,37 ± 0,19	1,91 ± 0,26
0,5	-20,70 ± 0,18	4,08 ± 0,24	-18,67 ± 0,18	2,18 ± 0,15
1,0	-20,28 ± 0,13	2,97 ± 0,26	-19,46 ± 0,21	2,25 ± 0,35
1,5	-20,13 ± 0,14	3,13 ± 0,31	-19,09 ± 0,15	2,05 ± 0,27
2,0	-20,22 ± 0,18	3,15 ± 0,32	-18,97 ± 0,18	2,21 ± 0,26
2,5	-20,11 ± 0,14	2,89 ± 0,29	-18,80 ± 0,19	2,22 ± 0,22
3,0	-19,94 ± 0,18	3,07 ± 0,35	-18,86 ± 0,16	2,14 ± 0,22
3,5	-19,83 ± 0,12	3,10 ± 0,30	-19,73 ± 0,18	2,29 ± 0,14
4,0	-19,72 ± 0,18	3,31 ± 0,23	-19,55 ± 0,19	2,13 ± 0,11
8,0	-19,18 ± 0,14	3,69 ± 0,35	-18,73 ± 0,18	2,44 ± 0,23

**Tabela 3.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte aos 21 dias de idade.

% inclusão farinha de vísceras	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0,0	-20,71 ± 0,16	2,98 ± 0,31	-20,07 ± 0,18	2,63 ± 0,23
0,5	-20,70 ± 0,12	3,12 ± 0,33	-19,29 ± 0,16	2,63 ± 0,34
1,0	-20,28 ± 0,08	3,11 ± 0,31	-19,10 ± 0,14	2,57 ± 0,32
1,5	-20,24 ± 0,19	3,09 ± 0,28	-18,79 ± 0,16	2,73 ± 0,26
2,0	-20,19 ± 0,17	3,29 ± 0,24	-19,20 ± 0,18	2,70 ± 0,16
2,5	-20,07 ± 0,18	3,50 ± 0,24	-19,00 ± 0,21	2,69 ± 0,09
3,0	-19,97 ± 0,20	3,52 ± 0,32	-18,92 ± 0,17	2,69 ± 0,32
3,5	-19,89 ± 0,17	3,37 ± 0,24	-18,82 ± 0,19	2,67 ± 0,20
4,0	-19,89 ± 0,12	3,35 ± 0,31	-18,61 ± 0,16	2,75 ± 0,26
8,0	-18,99 ± 0,10	3,88 ± 0,22	-17,99 ± 0,10	2,88 ± 0,12

**Tabela 4.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte aos 28 dias de idade.

% inclusão farinha de vísceras	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0,0	-20,23 ± 0,21	3,80 ± 0,26	-19,51 ± 0,20	2,67 ± 0,20
0,5	-20,38 ± 0,21	3,91 ± 0,32	-19,29 ± 0,20	2,28 ± 0,26
1,0	-20,26 ± 0,14	3,94 ± 0,30	-19,28 ± 0,20	2,20 ± 0,21
1,5	-20,05 ± 0,15	3,90 ± 0,29	-19,01 ± 0,17	2,25 ± 0,18
2,0	-19,93 ± 0,20	3,83 ± 0,27	-18,66 ± 0,20	2,14 ± 0,16
2,5	-19,85 ± 0,18	4,19 ± 0,30	-18,59 ± 0,18	2,20 ± 0,17
3,0	-19,69 ± 0,15	3,81 ± 0,33	-18,04 ± 0,19	2,03 ± 0,22
3,5	-19,94 ± 0,18	3,77 ± 0,34	-18,20 ± 0,20	2,33 ± 0,14
4,0	-19,44 ± 0,16	4,26 ± 0,28	-18,68 ± 0,17	2,83 ± 0,26
8,0	-18,97 ± 0,15	4,17 ± 0,35	-17,57 ± 0,20	2,62 ± 0,24



**Tabela 5.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte aos 35 dias de idade.

% inclusão farinha de vísceras	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0,0	-20,35 ± 0,20	3,76 ± 0,26	-19,48 ± 0,16	2,32 ± 0,28
0,5	-20,13 ± 0,16	3,67 ± 0,35	-19,09 ± 0,14	2,25 ± 0,25
1,0	-20,13 ± 0,16	3,89 ± 0,32	-19,13 ± 0,15	2,24 ± 0,18
1,5	-20,16 ± 0,14	3,73 ± 0,18	-18,90 ± 0,19	2,32 ± 0,16
2,0	-19,77 ± 0,20	3,90 ± 0,31	-18,65 ± 0,17	2,50 ± 0,31
2,5	-19,66 ± 0,12	3,71 ± 0,31	-18,64 ± 0,15	2,52 ± 0,26
3,0	-19,37 ± 0,14	3,50 ± 0,35	-18,53 ± 0,17	2,59 ± 0,29
3,5	-19,56 ± 0,13	3,71 ± 0,35	-18,44 ± 0,14	2,67 ± 0,23
4,0	-19,48 ± 0,18	3,94 ± 0,31	-18,48 ± 0,18	2,44 ± 0,23
8,0	-18,47 ± 0,17	4,16 ± 0,34	-17,41 ± 0,16	2,94 ± 0,29

**Tabela 6.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte aos 42 dias de idade.

% inclusão farinha de vísceras	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0,0	-20,33 ± 0,13	3,45 ± 0,35	-19,17 ± 0,15	2,37 ± 0,16
0,5	-20,04 ± 0,11	3,58 ± 0,33	-19,21 ± 0,10	2,50 ± 0,20
1,0	-20,10 ± 0,21	3,86 ± 0,30	-18,86 ± 0,20	2,41 ± 0,16
1,5	-19,94 ± 0,18	3,81 ± 0,33	-18,70 ± 0,18	2,43 ± 0,16
2,0	-19,75 ± 0,14	3,73 ± 0,30	-18,73 ± 0,17	2,40 ± 0,14
2,5	-19,81 ± 0,19	3,75 ± 0,32	-18,50 ± 0,16	2,51 ± 0,14
3,0	-19,50 ± 0,16	3,60 ± 0,22	-18,18 ± 0,16	2,26 ± 0,14
3,5	-19,46 ± 0,11	3,94 ± 0,31	-18,24 ± 0,16	2,44 ± 0,09
4,0	-19,34 ± 0,18	3,70 ± 0,34	-18,06 ± 0,17	2,60 ± 0,09
8,0	-18,55 ± 0,15	4,37 ± 0,32	-17,38 ± 0,15	2,82 ± 0,18

**ANEXO 2**

No Capítulo 2, as funções discriminantes geradas a partir da análise estatística encontram-se nas Tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6, para as amostras de sangue e nas Tabelas 7, 8, 9, 10, 11 e 12 para as de músculo peitoral.

**Tabela.1** Funções discriminantes para sangue coletado aos 7 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -613,6*\delta^{13}C+3,70*\delta^{15}N-6173,6$
0,5%	$D = -622,0*\delta^{13}C+0,50*\delta^{15}N-6329,9$
1,0%	$D = -621,1*\delta^{13}C+0,20*\delta^{15}N-6308,9$
1,5%	$D = -610,2*\delta^{13}C+4,90*\delta^{15}N-6110,5$
2,0%	$D = -608,4*\delta^{13}C+3,30*\delta^{15}N-6066,5$
2,5%	$D = -608,9*\delta^{13}C+1,30*\delta^{15}N-6069,1$
3,0%	$D = -613,2*\delta^{13}C-0,60*\delta^{15}N-6146,2$
3,5%	$D = -601,1*\delta^{13}C+3,50*\delta^{15}N-5923,5$
4,0%	$D = -600,2*\delta^{13}C+7,90*\delta^{15}N-5927,2$
8,0%	$D = -586,8*\delta^{13}C+7,10*\delta^{15}N-5661,8$

**Tabela 2.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 14 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -1009*\delta^{13}C-213*\delta^{15}N-9997$
0,5%	$D = -1008*\delta^{13}C-201*\delta^{15}N-10.028$
1,0%	$D = -1001*\delta^{13}C+211*\delta^{15}N-9845$
1,5%	$D = -991*\delta^{13}C-207*\delta^{15}N-9648$
2,0%	$D = -995*\delta^{13}C-208*\delta^{15}N -9738$
2,5%	$D = -993*\delta^{13}C-210*\delta^{15}N-9680$
3,0%	$D = -982*\delta^{13}C-206*\delta^{15}N-9470$
3,5%	$D = -976*\delta^{13}C-204*\delta^{15}N-9364$
4,0%	$D = -967*\delta^{13}C-199*\delta^{15}N-9207$
8,0%	$D = -935*\delta^{13}C-187*\delta^{15}N-8624$

**Tabela 3.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 21 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -817,7 * \delta^{13}C - 80,3 * \delta^{15}N - 8348,8$
0,5%	$D = -816,3 * \delta^{13}C - 78,2 * \delta^{15}N - 8325,1$
1,0%	$D = -806,0 * \delta^{13}C - 77,0 * \delta^{15}N - 8118,5$
1,5%	$D = -798,0 * \delta^{13}C - 76,0 * \delta^{15}N - 7958,3$
2,0%	$D = -794,9 * \delta^{13}C - 73,1 * \delta^{15}N - 7904,8$
2,5%	$D = -788,9 * \delta^{13}C - 69,5 * \delta^{15}N - 7796,5$
3,0%	$D = -784,5 * \delta^{13}C - 68,7 * \delta^{15}N - 7711,8$
3,5%	$D = -782,0 * \delta^{13}C - 70,2 * \delta^{15}N - 7.660,0$
4,0%	$D = -782,3 * \delta^{13}C - 70,5 * \delta^{15}N - 7660,1$
8,0%	$D = -743,0 * \delta^{13}C - 58,0 * \delta^{15}N - 6.945,0$

**Tabela 4.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 28 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -660,3 * \delta^{13}C - 1,5 * \delta^{15}N - 6674,7$
0,5%	$D = -665,0 * \delta^{13}C - 0,5 * \delta^{15}N - 6774,0$
1,0%	$D = -661,3 * \delta^{13}C + 0,0 * \delta^{15}N - 6700,2$
1,5%	$D = -654,3 * \delta^{13}C + 0,0 * \delta^{15}N - 6559,6$
2,0%	$D = -650,6 * \delta^{13}C - 0,5 * \delta^{15}N - 6483,0$
2,5%	$D = -647,0 * \delta^{13}C + 3,6 * \delta^{15}N - 6427,6$
3,0%	$D = -642,7 * \delta^{13}C - 0,2 * \delta^{15}N - 6327,0$
3,5%	$D = -651,0 * \delta^{13}C - 1,2 * \delta^{15}N - 6487,9$
4,0%	$D = -633,3 * \delta^{13}C + 5,3 * \delta^{15}N - 6165,5$
8,0%	$D = -618,2 * \delta^{13}C + 5,2 * \delta^{15}N - 5874,8$

**Tabela 5.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 35 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -775,4 * \delta^{13}C + 21,0 * \delta^{15}N - 7929,6$
0,5%	$D = -767,0 * \delta^{13}C + 20,3 * \delta^{15}N - 7758,1$
1,0%	$D = -766,6 * \delta^{13}C + 22,6 * \delta^{15}N - 7758,1$
1,5%	$D = -768,2 * \delta^{13}C + 20,9 * \delta^{15}N - 7783,4$
2,0%	$D = -753,2 * \delta^{13}C + 22,9 * \delta^{15}N - 7491,3$
2,5%	$D = -748,8 * \delta^{13}C + 21,2 * \delta^{15}N - 7399,0$
3,0%	$D = -738,1 * \delta^{13}C + 19,2 * \delta^{15}N - 7181,8$
3,5%	$D = -745,0 * \delta^{13}C + 21,2 * \delta^{15}N - 7324,2$
4,0%	$D = -741,9 * \delta^{13}C + 23,6 * \delta^{15}N - 7272,6$
8,0%	$D = -702,9 * \delta^{13}C + 26,7 * \delta^{15}N - 6545,0$

**Tabela 6.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 42 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -886,4*\delta^{13}C-91,5*\delta^{15}N-8850,9$
0,5%	$D = -872,9*\delta^{13}C-88,2*\delta^{15}N-8590,2$
1,0%	$D = -867,8*\delta^{13}C-84,6*\delta^{15}N-8500,2$
1,5%	$D = -866,7*\delta^{13}C-84,9*\delta^{15}N-8477,9$
2,0%	$D = -859,0*\delta^{13}C-84,7*\delta^{15}N-8326,6$
2,5%	$D = -861,2*\delta^{13}C-84,8*\delta^{15}N-8369,1$
3,0%	$D = -848,3*\delta^{13}C-84,5*\delta^{15}N-8116,7$
3,5%	$D = -844,6*\delta^{13}C-80,5*\delta^{15}N-8060,2$
4,0%	$D = -840,6*\delta^{13}C-82,4*\delta^{15}N-7975,4$
8,0%	$D = -801,3*\delta^{13}C-69,9*\delta^{15}N-7280,5$

**Tabela 7.** Funções discriminantes para músculo peitoral coletado aos 7 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -633,6*\delta^{13}C+97,6*\delta^{15}N-6288,0$
0,5%	$D = -633,1*\delta^{13}C+109,2*\delta^{15}N-6305,6$
1,0%	$D = -629,6*\delta^{13}C+96,1*\delta^{15}N-6208,5$
1,5%	$D = -627,7*\delta^{13}C+101,5*\delta^{15}N-6183,0$
2,0%	$D = -620,2*\delta^{13}C+90,4*\delta^{15}N-6016,0$
2,5%	$D = -612,4*\delta^{13}C+92,0*\delta^{15}N-5869,3$
3,0%	$D = -618,7*\delta^{13}C+94,4*\delta^{15}N-5995,0$
3,5%	$D = -599,6*\delta^{13}C+100,6*\delta^{15}N-5651,1$
4,0%	$D = -608,9*\delta^{13}C+107,8*\delta^{15}N-5839,9$
8,0%	$D = -594,9*\delta^{13}C+109,3*\delta^{15}N-5585,0$

**Tabela 8.** Funções discriminantes para músculo peitoral coletado aos 14 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -727,7 \cdot \delta^{13}C - 197,5 \cdot \delta^{15}N - 6854,1$
0,5%	$D = -730,2 \cdot \delta^{13}C - 192,0 \cdot \delta^{15}N - 6913,4$
1,0%	$D = -715,6 \cdot \delta^{13}C - 191,1 \cdot \delta^{15}N - 6633,9$
1,5%	$D = -709,6 \cdot \delta^{13}C - 186,2 \cdot \delta^{15}N - 6530,8$
2,0%	$D = -703,5 \cdot \delta^{13}C - 184,0 \cdot \delta^{15}N - 6420,1$
2,5%	$D = -705,5 \cdot \delta^{13}C - 186,1 \cdot \delta^{15}N - 6453,4$
3,0%	$D = -738,1 \cdot \delta^{13}C - 193,9 \cdot \delta^{15}N - 7064,2$
3,5%	$D = -732,6 \cdot \delta^{13}C - 195,0 \cdot \delta^{15}N - 6954,7$
4,0%	$D = -697,6 \cdot \delta^{13}C - 182,9 \cdot \delta^{15}N - 6311,2$
8,0%	$D = -696,8 \cdot \delta^{13}C - 177,8 \cdot \delta^{15}N - 6308,6$

**Tabela 9.** Funções discriminantes para músculo peitoral coletado aos 21 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -716,9 \cdot \delta^{13}C - 42,2 \cdot \delta^{15}N - 7138,2$
0,5%	$D = -688,5 \cdot \delta^{13}C - 38,7 \cdot \delta^{15}N - 6588,3$
1,0%	$D = -681,8 \cdot \delta^{13}C - 39,0 \cdot \delta^{15}N - 6459,6$
1,5%	$D = -669,9 \cdot \delta^{13}C - 34,7 \cdot \delta^{15}N - 6245,7$
2,0%	$D = -685,2 \cdot \delta^{13}C - 37,2 \cdot \delta^{15}N - 6529,0$
2,5%	$D = -677,9 \cdot \delta^{13}C - 36,4 \cdot \delta^{15}N - 6391,2$
3,0%	$D = -674,8 \cdot \delta^{13}C - 36,1 \cdot \delta^{15}N - 6333,9$
3,5%	$D = -671,3 \cdot \delta^{13}C - 36,0 \cdot \delta^{15}N - 6267,4$
4,0%	$D = -663,4 \cdot \delta^{13}C - 33,8 \cdot \delta^{15}N - 6127,0$
8,0%	$D = -640,5 \cdot \delta^{13}C - 28,8 \cdot \delta^{15}N - 5721,1$

**Tabela 10.** Funções discriminantes para músculo peitoral coletado aos 28 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -524,8*\delta^{13}C-9,4*\delta^{15}N-5107,9$
0,5%	$D = -520,2*\delta^{13}C-17,7*\delta^{15}N-4997,5$
1,0%	$D = -520,1*\delta^{13}C-19,6*\delta^{15}N-4991,9$
1,5%	$D = -512,6*\delta^{13}C-17,5*\delta^{15}N-4851,6$
2,0%	$D = -503,5*\delta^{13}C-18,7*\delta^{15}N-4678,9$
2,5%	$D = -501,2*\delta^{13}C-16,9*\delta^{15}N-4640,1$
3,0%	$D = -486,9*\delta^{13}C-18,9*\delta^{15}N-4372,6$
3,5%	$D = -490,2*\delta^{13}C-12,6*\delta^{15}N-4447,4$
4,0%	$D = -501,4*\delta^{13}C-2,6*\delta^{15}N-4679,7$
8,0%	$D = -471,9*\delta^{13}C-3,4*\delta^{15}N-4141,4$

**Tabela 11.** Funções discriminantes para músculo peitoral coletado aos 35 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -841,2*\delta^{13}C-163,6*\delta^{15}N-8004,8$
0,5%	$D = -824,5*\delta^{13}C-160,8*\delta^{15}N-7689,4$
1,0%	$D = -826,2*\delta^{13}C-161,3*\delta^{15}N-7721,2$
1,5%	$D = -815,4*\delta^{13}C-157,5*\delta^{15}N-7524,5$
2,0%	$D = -802,3*\delta^{13}C-151,5*\delta^{15}N-7292,5$
2,5%	$D = -801,5*\delta^{13}C-151,0*\delta^{15}N-7278,0$
3,0%	$D = -795,9*\delta^{13}C-148,5*\delta^{15}N-7180,1$
3,5%	$D = -791,1*\delta^{13}C-146,1*\delta^{15}N-7097,5$
4,0%	$D = -795,4*\delta^{13}C-150,8*\delta^{15}N-7166,4$
8,0%	$D = -742,7*\delta^{13}C-130,4*\delta^{15}N-6275,1$

**Tabela 12.** Funções discriminantes para músculo peitoral coletado aos 42 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0,0%	$D = -739,3 * \delta^{13}C - 21,1 * \delta^{15}N - 7062,3$
0,5%	$D = -740,1 * \delta^{13}C - 15,6 * \delta^{15}N - 7090,4$
1,0%	$D = -726,7 * \delta^{13}C - 17,2 * \delta^{15}N - 6831,5$
1,5%	$D = -720,3 * \delta^{13}C - 15,2 * \delta^{15}N - 6716,3$
2,0%	$D = -721,6 * \delta^{13}C - 16,8 * \delta^{15}N - 6737,5$
2,5%	$D = -712,0 * \delta^{13}C - 10,3 * \delta^{15}N - 6573,9$
3,0%	$D = -700,9 * \delta^{13}C - 19,6 * \delta^{15}N - 6348,1$
3,5%	$D = -702,1 * \delta^{13}C - 11,6 * \delta^{15}N - 6389,0$
4,0%	$D = -694,0 * \delta^{13}C - 3,50 * \delta^{15}N - 6262,2$
8,0%	$D = -665,9 * \delta^{13}C - 11,0 * \delta^{15}N - 5803,2$



**ANEXO 3**

No capítulo 3, os valores isotópicos das amostras do sangue e do músculo peitoral encontram-se nas Tabelas 1, 2, 3, 4, 5, e 6.

**Tabela 1.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte criados até os 7 dias de idade.

Tratamento	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0%	-20,10 ± 0,16	4,49 ± 0,21	-19,51 ± 0,12	2,20 ± 0,13
4%	-19,69 ± 0,18	4,78 ± 0,29	-18,74 ± 0,18	2,49 ± 0,16

**Tabela 2.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte criados até os 14 dias de idade.

Tratamento	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0%	-20,44 ± 0,17	2,97 ± 0,27	-19,36 ± 0,21	1,91 ± 0,26
4% → 0% (7 dias)	-20,29 ± 0,19	3,16 ± 0,30	-19,88 ± 0,23	2,02 ± 0,17
0% → 4% (7 dias)	-20,00 ± 0,17	3,40 ± 0,31	-19,37 ± 0,20	2,28 ± 0,20
4%	-19,72 ± 0,18	3,31 ± 0,23	-18,67 ± 0,18	2,18 ± 0,11

**Tabela 3.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte criados até os 21 dias de idade.

Tratamento	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0%	-20,71 ± 0,16	2,98 ± 0,31	-20,07 ± 0,18	2,63 ± 0,23
4% → 0% (7 dias)	-20,68 ± 0,20	3,06 ± 0,32	-19,25 ± 0,21	2,68 ± 0,32
0% → 4% (7 dias)	-19,95 ± 0,19	3,26 ± 0,29	-19,21 ± 0,17	2,63 ± 0,23
4%	-19,89 ± 0,12	3,35 ± 0,31	-18,61 ± 0,16	2,75 ± 0,26

**Tabela 4.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte criados até os 28 dias de idade.

% inclusão farinha de vísceras	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0%	-20,23 ± 0,20	3,80 ± 0,26	-19,51 ± 0,20	2,67 ± 0,20
4% → 0% (7 dias)	-19,82 ± 0,18	3,87 ± 0,30	-18,87 ± 0,14	2,86 ± 0,35
4% → 0% (21 dias)	-19,74 ± 0,15	4,25 ± 0,32	-19,27 ± 0,20	2,82 ± 0,30
0% → 4% (21 dias)	-20,24 ± 0,15	3,92 ± 0,33	-19,62 ± 0,20	2,68 ± 0,10
0% → 4% (7 dias)	-19,54 ± 0,20	3,87 ± 0,23	-18,74 ± 0,19	2,29 ± 0,13
4%	-19,44 ± 0,16	4,26 ± 0,28	-18,68 ± 0,17	2,83 ± 0,26

**Tabela 5.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte criados até os 35 dias de idade.

Tratamento	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0%	-20,35 ± 0,20	3,76 ± 0,26	-19,48 ± 0,16	2,32 ± 0,28
4 → 0 % (7 dias)	-19,64 ± 0,18	4,15 ± 0,35	-19,25 ± 0,19	2,43 ± 0,24
0 → 4% (21 dias)	-20,22 ± 0,15	3,71 ± 0,29	-19,07 ± 0,09	2,48 ± 0,27
4 → 0% (21 dias)	-19,93 ± 0,14	4,19 ± 0,35	-18,67 ± 0,10	2,36 ± 0,30
0 → 4% (7 dias)	-19,47 ± 0,20	4,12 ± 0,16	-18,86 ± 0,19	2,36 ± 0,08
4%	-19,48 ± 0,18	3,94 ± 0,31	-18,48 ± 0,18	2,44 ± 0,23

**Tabela 6.** Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ , e seus desvios-padrão, do sangue e músculo peitoral de frangos de corte criados até os 42 dias de idade.

Tratamento	Sangue		Músculo peitoral	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
0%	-20,33 ± 0,13	3,45 ± 0,35	-19,17 ± 0,15	2,37 ± 0,16
4 → 0% (7 dias)	-19,74 ± 0,14	3,67 ± 0,28	-19,07 ± 0,19	2,32 ± 0,16
4 → 0% (21 dias)	-19,76 ± 0,20	3,64 ± 0,31	-19,14 ± 0,15	2,46 ± 0,18
4 → 0% (35 dias)	-19,15 ± 0,18	3,90 ± 0,28	-18,23 ± 0,17	2,40 ± 0,15
0 → 4% (35 dias)	-19,35 ± 0,16	3,82 ± 0,30	-18,58 ± 0,12	2,51 ± 0,15
0 → 4% (21 dias)	-19,88 ± 0,12	3,53 ± 0,30	-18,54 ± 0,20	2,30 ± 0,12
0 → 4% (7 dias)	-19,24 ± 0,12	4,06 ± 0,28	-18,29 ± 0,17	2,47 ± 0,12
4%	-19,34 ± 0,18	3,70 ± 0,34	-18,06 ± 0,17	2,60 ± 0,09

**ANEXO 4**

No capítulo 3, as funções discriminantes estão representadas nas Tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6 para sangue e Tabelas 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13 para o músculo peitoral.

**Tabela 1.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 7 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -924,7 * \delta^{13}C - 271,2 * \delta^{15}N - 8681,7$
4%	$D = -899,0 * \delta^{13}C - 257,4 * \delta^{15}N - 8234,7$

**Tabela 2.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 14 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -664,3 * \delta^{13}C + 89,5 * \delta^{15}N - 6923,3$
4% → 0% (7 dias)	$D = -659,8 * \delta^{13}C + 91,6 * \delta^{15}N - 6838,1$
0% → 4% (7 dias)	$D = -651,0 * \delta^{13}C + 93,9 * \delta^{15}N - 6669,2$
4%	$D = -641,8 * \delta^{13}C + 92,1 * \delta^{15}N - 6479,3$

**Tabela 3.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 21 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -712,1 * \delta^{13}C - 38,8 * \delta^{15}N - 7316,9$
4% → 0% (7 dias)	$D = -710,5 * \delta^{13}C - 37,8 * \delta^{15}N - 7287,3$
0% → 4% (7 dias)	$D = -684,6 * \delta^{13}C - 33,2 * \delta^{15}N - 6774,4$
4%	$D = -682,0 * \delta^{13}C - 32,0 * \delta^{15}N - 6728,0$

**Tabela 4.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 28 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -648,7 * \delta^{13}C + 92,4 * \delta^{15}N - 6735,6$
4% → 0% (7 dias)	$D = -649,5 * \delta^{13}C + 93,9 * \delta^{15}N - 6755,9$
4% → 0% (21 dias)	$D = -634,6 * \delta^{13}C + 96,8 * \delta^{15}N - 6469,8$
0% → 4% (21 dias)	$D = -636,1 * \delta^{13}C + 92,3 * \delta^{15}N - 6483,1$
0% → 4% (7 dias)	$D = -627,2 * \delta^{13}C + 91,7 * \delta^{15}N - 6304,2$
4%	$D = -624,9 * \delta^{13}C + 96,2 * \delta^{15}N - 6277,5$

**Tabela 5.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 35 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -659,7 \cdot \delta^{13}C + 65,7 \cdot \delta^{15}N - 6836,8$
4% → 0% (7 dias)	$D = -655,6 \cdot \delta^{13}C + 65,1 \cdot \delta^{15}N - 6749,3$
4% → 0% (21 dias)	$D = -646,6 \cdot \delta^{13}C + 70,3 \cdot \delta^{15}N - 6590,2$
0% → 4% (7 dias)	$D = -631,9 \cdot \delta^{13}C + 69,0 \cdot \delta^{15}N - 6294,2$
0% → 4% (21 dias)	$D = -637,2 \cdot \delta^{13}C + 69,6 \cdot \delta^{15}N - 6401,3$
4%	$D = -631,9 \cdot \delta^{13}C + 66,9 \cdot \delta^{15}N - 6286,1$

**Tabela 6.** Funções discriminantes para sangue coletado aos 42 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -862,3 \cdot \delta^{13}C - 65 \cdot \delta^{15}N - 8652,1$
4% → 0% (7 dias)	$D = -842,4 \cdot \delta^{13}C - 61 \cdot \delta^{15}N - 8264,2$
4% → 0% (21 dias)	$D = -835,8 \cdot \delta^{13}C - 59 \cdot \delta^{15}N - 8140,8$
4% → 0% (35 dias)	$D = -809,1 \cdot \delta^{13}C - 54 \cdot \delta^{15}N - 7642,5$
0% → 4% (35 dias)	$D = -836,9 \cdot \delta^{13}C - 60 \cdot \delta^{15}N - 8161,4$
0% → 4% (21 dias)	$D = -818,3 \cdot \delta^{13}C - 56 \cdot \delta^{15}N - 7811,8$
0% → 4% (7 dias)	$D = -812,3 \cdot \delta^{13}C - 52 \cdot \delta^{15}N - 7709,1$
4%	$D = -818,2 \cdot \delta^{13}C - 57 \cdot \delta^{15}N - 7806,1$

**Tabela 7.** Funções discriminantes para peito coletado aos 7 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -623,8 \cdot \delta^{13}C - 48,3 \cdot \delta^{15}N - 6049,1$
4%	$D = -594,5 \cdot \delta^{13}C - 27,5 \cdot \delta^{15}N - 5536,9$

**Tabela 8.** Funções discriminantes para peito coletado aos 14 dias

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -669,1 * \delta^{13}C - 287,4 * \delta^{15}N - 6200,6$
4% → 0% (7 dias)	$D = -684,9 * \delta^{13}C - 292,6 * \delta^{15}N - 6501,0$
0% → 4% (7 dias)	$D = -662,8 * \delta^{13}C - 274,1 * \delta^{15}N - 6106,6$
4%	$D = -639,0 * \delta^{13}C - 264,8 * \delta^{15}N - 5675,1$

**Tabela 9.** Funções discriminantes para peito coletado aos 21 dias

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -586,8 * \delta^{13}C + 19,4 * \delta^{15}N - 5913,9$
4% → 0% (7 dias)	$D = -562,8 * \delta^{13}C + 21,0 * \delta^{15}N - 5445,8$
0% → 4% (7 dias)	$D = -561,5 * \delta^{13}C + 21,9 * \delta^{15}N - 5423,1$
4%	$D = -543,8 * \delta^{13}C + 22,7 * \delta^{15}N - 5091,6$

**Tabela 10.** Funções discriminantes para peito coletado aos 28 dias

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -656,5 * \delta^{13}C + 197,0 * \delta^{15}N - 6668,1$
4% → 0% (7 dias)	$D = -660,1 * \delta^{13}C + 198,0 * \delta^{15}N - 6741,3$
4% → 0% (21 dias)	$D = -649,7 * \delta^{13}C + 198,0 * \delta^{15}N - 6538,8$
0% → 4% (21 dias)	$D = -637,1 * \delta^{13}C + 195,8 * \delta^{15}N - 6293,0$
0% → 4% (7 dias)	$D = -628,4 * \delta^{13}C + 183,9 * \delta^{15}N - 6097,9$
4%	$D = -630,6 * \delta^{13}C + 193,7 * \delta^{15}N - 6163,6$

**Tabela 11.** Funções discriminantes para peito coletado aos 35 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -799,5 \cdot \delta^{13}C + 70,5 \cdot \delta^{15}N - 7869,8$
4% → 0% (7 dias)	$D = -790,4 \cdot \delta^{13}C + 72,8 \cdot \delta^{15}N - 7699,5$
4% → 0% (21 dias)	$D = -782,6 \cdot \delta^{13}C + 70,6 \cdot \delta^{15}N - 7544,7$
0% → 4% (21 dias)	$D = -766,5 \cdot \delta^{13}C + 71,1 \cdot \delta^{15}N - 7242,5$
0% → 4% (7 dias)	$D = -774,0 \cdot \delta^{13}C + 70,2 \cdot \delta^{15}N - 7380,0$
4%	$D = -758,8 \cdot \delta^{13}C + 70,9 \cdot \delta^{15}N - 7098,3$

**Tabela 12.** Funções discriminantes para peito coletado aos 42 dias.

Tratamentos	Função discriminante linear
0%	$D = -741,5 \cdot \delta^{13}C - 174,3 \cdot \delta^{15}N - 6902,2$
4% → 0% (7 dias)	$D = -692,7 \cdot \delta^{13}C - 144,0 \cdot \delta^{15}N - 6068,0$
4% → 0% (21 dias)	$D = -704,0 \cdot \delta^{13}C - 154,5 \cdot \delta^{15}N - 6248,0$
4% → 0% (35 dias)	$D = -713,7 \cdot \delta^{13}C - 156,4 \cdot \delta^{15}N - 6420,3$
0% → 4% (35 dias)	$D = -715,9 \cdot \delta^{13}C - 159,9 \cdot \delta^{15}N - 6452,9$
0% → 4% (21 dias)	$D = -738,5 \cdot \delta^{13}C - 176,6 \cdot \delta^{15}N - 6838,2$
0% → 4% (7 dias)	$D = -741,2 \cdot \delta^{13}C - 176,7 \cdot \delta^{15}N - 6890,1$
4%	$D = -702,8 \cdot \delta^{13}C - 157,8 \cdot \delta^{15}N - 6217,0$