

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

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE C ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) E N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) NA
RASTREABILIDADE DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL EM
FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÃO
CONTENDO LEVEDURA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

JULIANA SPANGUERO KANAYAMA

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

BOTUCATU – SP

Janeiro - 2010

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

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE C ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) E N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) NA
RASTREABILIDADE DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL EM
FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÃO
CONTENDO LEVEDURA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

JULIANA SPANGUERO KANAYAMA
Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. ANTONIO CELSO PEZZATO

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

BOTUCATU – SP
Janeiro – 2010

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

1

K16i Kanayama, Juliana Spanguero, 1983-
Isótopos estáveis de C ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) na rastreabilidade de farinhas de origem animal em frangos de corte alimentados com ração contendo levedura de cana-de-açúcar / Juliana Spanguero Kanayama. - Botucatu : [s.n.], 2010.
vii, 36 f. : gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2010
Orientador: Antonio Celso Pezzato
Inclui bibliografia.

1. Aves - Nutrição. 2. Certificação. 3. Dieta. 4. Ingre-
diente de origem animal. 5. Peito. I. Pezzato, Antonio Celso. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

“Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e viver com ousadia. Pois o triunfo pertence a quem se atreve, e a vida é muito bela para ser insignificante.”

(Charles Chaplin)

DEDICO

Aos meus queridos pais, CIRO e SONIA, pelo amor, carinho e apoio incondicional que deram em todas as fases de minha vida. Pela educação que recebi, pelos bons exemplos e por sempre me conduzirem no caminho certo.

Ao meu irmão ANDRÉ, por estar sempre presente em minha vida e por sempre me ajudar quando precisei.

Ao meu tão amado noivo, VITORHUGO, por todo amor, dedicação, compreensão e apoio nas escolhas que fiz. Por nunca me deixar esmorecer e por tudo o que representa em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp/ Botucatu, por me proporcionar a oportunidade e as condições para a realização deste curso;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato, pela orientação, amizade e pelos bons conselhos;

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

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti, pela colaboração na realização das análises isotópicas;

Às amigas Juliana Célia Denadai e Rosana Gottmann, pela atenção e auxílio nas análises estatísticas e discussão dos resultados;

À minha grande amiga e companheira de casa, Brenda Batista Lemos Medeiros, pela amizade, pelos bons momentos, pelas risadas que demos juntas, enfim, por tudo o que compartilhamos nestes dois anos de convivência;

À amiga de todas as horas, Natália Bortoleto Athayde, pelo carinho, amizade e compreensão;

Às amigas Cynthia Pieri Zeferino e Estela Valéria Siloto, pela grande amizade e pela ajuda na realização do experimento;

Aos amigos do Laboratório de Nutrição de Aves, Vitor Barbosa Fascina, Priscila Cavalca de Araújo, Ana Cristina Stradiotti, Fabyola Barros de Carvalho e Carolina Carvalho de Miranda, pela amizade e pela imensa ajuda na realização do experimento;

Ao amigo Marcio Tomazela, pelo auxílio na aquisição das farinhas de origem animal;

Ao ex-funcionário do Laboratório de Nutrição de Aves, Arlindo Braga, pela dedicação e auxílios prestados;

Aos funcionários do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Cibele de Souza Kruliski, Evandro Tadeu da Silva e Silvia Américo Maschette, pelo auxílio nas análises isotópicas;

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Seila Cristina Cassinelli Vieira, Danilo Juarez Teodoro Dias e Carlos Pazini Jr., pela atenção e auxílios prestados;

Aos estagiários do Laboratório de Aves, Luciano Pereira, Marcia Maehara e Karina Tonon pela colaboração na execução do experimento;

À minha linda Teka, por me dar tantas alegrias;

A Ciro Kanayama e Sonia Regina Spanguero Kanayama, meus pais, pelo incentivo, pela força e pela torcida;

A Vitor Hugo Caliman Novaes, por estar comigo em todos os momentos;

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	2
1. Introdução.....	2
2. Isótopos estáveis na nutrição animal.....	4
3. Uso de levedura na nutrição animal.....	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	9
CAPÍTULO 2.....	14
RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	16
INTRODUÇÃO.....	17
MATERIAL E MÉTODOS.....	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIAS.....	33
CAPÍTULO 3.....	35
IMPLICAÇÕES.....	36

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Distribuição dos tratamentos	19
Tabela 2 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculada para as rações experimentais iniciais (1 a 21 dias)	20
Tabela 3 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculada para as rações experimentais de crescimento (22 a 35 dias)	21
Tabela 4 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculada para as rações experimentais finais (36 a 42 dias)	22
Tabela 5 - Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ e seus desvios-padrão da ração de frangos de corte criados até os 42 dias de idade	24
Tabela 6 - Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ e seus desvios-padrão do músculo peitoral de frangos de corte criados até os 42 dias de idade	26

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento controle (Vegetal).....27

Figura 2. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento controle (figura 1 fracionada).....28

Figura 3. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados aos tratamentos contendo 1, 2, 4 e 6% de levedura.....29

Figura 4. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento contendo 6% de levedura.....30

CAPÍTULO 1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

Devido ao grande aumento da população mundial, a demanda por alimentos de produtos de origem animal vem crescendo de maneira cada vez mais rápida. Para atender a essa demanda, os alimentos são produzidos e comercializados em larga escala e em condições extremamente intensivas. Esse fato pode acarretar em consequências indesejáveis e muitas vezes prejudiciais aos consumidores. Intoxicações, infecções e mortes decorrentes de contaminações não intencionais são cada vez mais frequentes (FELÍCIO, 2001).

Episódios como salmonelose em ovos na Grã-Bretanha, a contaminação com dioxina em frangos e suínos na Bélgica, surtos de febre aftosa em vários países, a encefalopatia espongiforme bovina (EEB), conhecida como doença da vaca louca na Inglaterra e Canadá e a Influenza Aviária na Ásia, contribuíram para o aumento da exigência dos consumidores em relação à qualidade e segurança dos alimentos comercializados (GOTTMANN et al., 2008).

Embora de forma não intencional, estas crises acabaram por tornar necessária a adoção de medidas internacionais ligadas à manutenção da qualidade dos produtos de origem animal, bem como: condições de alojamento e bem-estar dos animais, garantias ligadas à segurança e qualidade dos alimentos fornecidos, ausência de resíduos de substâncias químicas nas rações, certificado de procedência do lote e rastreabilidade do produto. Desse modo, a Comunidade Européia editou normas sanitárias, como o regulamento 1774/2002, que restringe o uso de subprodutos de origem animal em rações de animais da mesma espécie (COMUNIDADE EUROPÉIA, 2002).

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1994), pela norma NBR ISO 8402, rastreabilidade é definida como a habilidade de descrever a história, aplicação, processos ou eventos e localização do produto a uma determinada organização por meios de registros e identificação. Mas, segundo Iba et al. (2003), a rastreabilidade aplicada isoladamente não traz segurança ao produto

nem ao processo, devendo assim, estar associada a outros sistemas de controle de qualidade. Por isso, há necessidade de desenvolvimento de tecnologias independentes para a autenticação de carnes (ILBERY et al., 2000).

É importante ressaltar que, sob o manto da rastreabilidade, aparecem outros interesses além da qualidade, da segurança alimentar e da sanidade animal, podendo ser usados como barreira comercial, com o intuito de dificultar as exportações de um país (RASTREABILIDADE, 2004).

No Brasil, a implantação de sistemas de rastreabilidade da produção está limitada por ora e do ponto de vista oficial, à pecuária de corte, pois a grande desconfiança dos consumidores externos permanece concentrada na carne bovina em decorrência, exatamente, dos casos de vaca louca e febre aftosa. Devido a estes fatos, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento criou em 2002, o Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem Bovina e Bubalina – SISBOV, em resposta às pressões da União Européia (MAPA, 2002).

A avicultura ainda não dispõe de um sistema de identificação, como a pecuária de corte, mas já opera com uma série de normas esparsas, oficiais ou emprestadas de organismos internacionais, como o APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) e o BPF (Boas Práticas de Fabricação), além de vir atuando no sentido de definir normas para outros pontos da cadeia produtiva (CERUTTI, 2002).

Baseado nisto, pesquisas relacionadas a metodologias que permitam a certificação de origem e qualidade de produtos de origem animal vem crescendo a cada ano (GONZALES-MARTIN et al., 1999).

Para identificar a presença de subprodutos de origem animal em rações para animais, muitos métodos têm sido propostos, tais como: hibridização de DNA, ELISA e PCR (BLOCH JUNIOR, 2002).

A técnica dos isótopos estáveis foi usada, de início, em estudos geológicos e arqueológicos. Nas últimas décadas, este estudo tem sido aplicado em pesquisas agrícolas, ecológicas e fisiológicas e apresenta-se como ferramenta muito eficiente para a identificação da procedência e da qualidade de produtos de origem animal e vegetal (GANNES et al., 1998).

Denadai et al. (2008) conseguiram detectar a farinha de carne e ossos bovina, utilizada na alimentação de poedeiras, em ovos, utilizando a técnica dos isótopos

estáveis do carbono-13 e do nitrogênio-15. Assim como Mori et al. (2008), detectaram a presença de subprodutos de origem animal no músculo peitoral, quilha e tíbia de codornas adultas, também através da técnica dos isótopos estáveis.

A técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, com a finalidade de detectar a utilização de subprodutos de origem animal na alimentação de frangos de corte por meio da análise da razão isotópica do músculo peitoral (*Pectoralis major*), vem sendo desenvolvida no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais – IB – UNESP – Botucatu, a partir dos trabalhos realizados por Oliveira (2005) e Carrijo et al. (2006). Esses pesquisadores confirmaram que esta técnica é eficaz na detecção de farinhas de origem animal em diversos tecidos de frango.

2. Isótopos Estáveis na Nutrição Animal

A espectrometria de massa, através da análise da razão isotópica para o elemento químico carbono-13 tem sido utilizada com sucesso para testar a autenticidade, a qualidade e a origem geográfica de vários produtos como sucos de frutas (BRICOUT e KOZIET, 1987; KOZIET et al., 1993), vinhos (MARTIN et al., 1988), méis (BROOKES et al., 1991; WHITE et al., 1998), produtos lácteos (ROSSMANN et al., 2000; MANCA et al., 2001), óleos vegetais (KELLY et al., 1997), além de caracterização e diferenciação do regime dietético de suínos ibéricos de acordo com a alimentação recebida no período de engorda (GONZALEZ-MARTIN et al., 1999).

O par isotópico formado pela razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) em associação com a razão isotópica do nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) permitiu a certificação da origem geográfica e tipos de alimentação de ovinos (PIASSENTIER et al., 2003).

Ainda com esta ferramenta, estudos relacionados com a taxa de *turnover* em tecidos metabolicamente ativos em várias espécies de animais (HOBSON e CLARK, 1992; CARRIJO et al., 2000; HERZKA et al., 2001; CRUZ et al., 2004; DENADAI, 2004; ZUANON et al., 2007) e com a rastreabilidade da farinha de carne e ossos bovina na alimentação de frangos de corte (CARRIJO, 2003) vêm sendo desenvolvidos.

Durante a assimilação fotossintética, as plantas do ciclo fotossintético C_3 fixam o CO_2 atmosférico através do ciclo *Calvin-Benson* e apresentam valores de $\delta^{13}C$ entre -22 e -34‰ (valor modal = -26,7‰), enquanto as plantas do ciclo fotossintético C_4 fixam o CO_2 atmosférico através do ciclo *Hatch-Slack* e apresentam valores de $\delta^{13}C$ entre -9 e -16‰ (valor modal = -12,6‰). O sinal negativo indica que a planta ou seu subproduto apresenta menor concentração de ^{13}C que o padrão internacional. Portanto, as plantas C_3 e C_4 possuem assinaturas isotópicas diferentes ($^{13}C/^{12}C$), devido ao fracionamento que ocorre durante a fixação fotossintética do carbono (SMITH e EPSTEIN, 1971; O'LEARY, 1981; KENNEDY e KROUSE, 1990; VOGEL, 1993).

A diferença natural, da ordem de 14 per mil mais rico em carbono-13 nas plantas do ciclo fotossintético C_4 , em relação às do ciclo fotossintético C_3 , oferece a possibilidade de utilizar estas plantas e seus subprodutos como traçadores em animais, sem a necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados, além de evitar problemas de saúde e segurança associados ao uso de isótopos radioativos (TIESZEN et al., 1979; TYRREL et al., 1984) podendo ser aplicados sem o risco de contaminação ambiental em estudos com aves de postura (CARRIJO et al., 2000), frangos de corte (CRUZ et al., 2004), peixes (ZUANON et al., 2007) e ovinos (SILVA, 2003).

Diferentemente do carbono, a razão isotópica $^{15}N/^{14}N$ nas plantas não depende do ciclo fotossintético realizado. Mesmo a atmosfera sendo abundante em N_2 , somente as plantas que possuem bactérias fixadoras de nitrogênio conseguem fixá-lo do ar. As demais plantas o fixam através da incorporação de compostos nitrogenados do solo. Quando o nitrogênio é absorvido do ar atmosférico pelas bactérias fixadoras ou pelo uso de fertilizantes industriais, o valor do $\delta^{15}N$ no solo é baixo, em torno de 0‰. Se absorvido da matéria orgânica decomposta, o valor do $\delta^{15}N$ é mais significativo, ao redor de 5‰. Valores negativos de $\delta^{15}N$ são observados em solos com baixa porcentagem de matéria orgânica, em particular solos secos e arenosos. Quando for adicionado esterco como fertilizante natural, a taxa de fracionamento é alta, com valores de $\delta^{15}N$ em torno de 10‰ (SHIBUYA et al., 2006).

Diante das tendências internacionais, onde o mercado impõe exigências cada vez mais rigorosas à exportação de produtos brasileiros, haja vista os episódios relacionados à saúde animal e humana, a rastreabilidade torna-se uma ferramenta extra para assegurar aos consumidores um produto de qualidade.

Nesse sentido, desenvolvem-se pesquisas relacionadas à produção de frangos de corte com dietas exclusivamente de origem vegetal, dentro dos padrões exigidos pelos consumidores e importadores europeus, e com isto, a técnica de isótopos estáveis para rastrear o tipo de alimento consumido pelo animal é bastante apropriada.

Porém, a inclusão de alguns ingredientes com elevado teor de proteína na ração, pode confundir a rastreabilidade das farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte pela técnica de isótopos estáveis. Segundo Gottmann (2007), a adição de levedura e farelo de trigo, em níveis elevados, na alimentação de frangos de corte confunde a rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis.

3. Uso de Levedura na Nutrição Animal

Muitos mercados importadores, como a União Européia e o Oriente Médio, exigem que as aves não sejam alimentadas com ingredientes de origem animal, antibióticos e promotores de crescimento (BELLAYER et al., 2005) . As aves criadas com essas restrições são denominadas orgânicas, verdes e alternativas (ou naturais) e estão conquistando um espaço cada vez maior no mercado . Na criação destes tipos de frangos, um ingrediente muito utilizado nas rações é a levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*), devido ao seu teor elevado de proteína e às suas propriedades nutracêuticas.

As leveduras pertencem ao reino *fungi* e são distribuídas em três classes: ascomicetos, basidiomicetos e fungos imperfeitos. Existem aproximadamente 350 espécies diferentes de leveduras, separadas em 39 gêneros (WOGAN, 1996).

O principal agente da fermentação alcoólica, *Saccharomyces cerevisiae*, é uma levedura ascomicética. A levedura é utilizada nos processos de fermentação do caldo

extraído da cana-de-açúcar, para que este fermente e se torne um vinho de onde se extrai a aguardente ou o álcool. Contudo, torna-se necessária a cultura *in vivo* destes microorganismos pelas usinas beneficiadoras. Nas indústrias de álcool, devido à rápida velocidade de crescimento destes microorganismos, ocorre sempre excesso de produção de levedura, que pode ser usada para os mais diversos fins depois de desidratada, como por exemplo, na alimentação animal.

As leveduras, vivas ou não, possuem na sua composição uma fração de carboidratos (20 a 40%), que na grande maioria fazem parte da parede celular, que é composta principalmente por β – glucanos e mananos (MOS), os quais têm impacto no sistema imunológico e a capacidade de prevenir a colonização do trato gastrointestinal por bactérias patogênicas. As leveduras possuem nucleotídeos que também têm efeito sobre o trato gastrointestinal, aumentando o crescimento e influenciando positivamente a flora intestinal (BUTOLO, 2002).

A *Saccharomyces cerevisiae* vem sendo utilizada há várias décadas na alimentação animal. Nos últimos anos seu uso foi aprimorado na alimentação de suínos e aves por melhorar significativamente os índices zootécnicos dos animais. Além de elevados valores protéicos (33%), a levedura apresenta como característica um bom balanceamento de aminoácidos, onde os níveis de lisina e metionina sobressaem-se em relação aos de outras fontes protéicas (BUTOLO, 2002). Quanto aos minerais, a levedura apresenta um nível relativamente elevado, com variação entre 9,8 e 14,4%, sendo o potássio o principal componente desta fração. O conteúdo de gordura, ou extrato etéreo, varia com o substrato utilizado, podendo apresentar níveis de 0,9 a 1,6%. Devido à grande riqueza em vitaminas do complexo B, a levedura tem sido utilizada como suplemento vitamínico em dietas para monogástricos (CAMPOS NETO, 1987).

Sabe-se que a levedura quando adicionada em níveis elevados à ração de frangos confunde a rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica de isótopos estáveis (GOTTMANN, 2007). Porém, ainda não foi estudado se quando adicionada em baixos teores na ração (como os níveis utilizados pelos produtores de frangos de corte), a levedura também confunde a rastreabilidade destas farinhas.

O Capítulo 2, intitulado “**ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE C ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) E N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) NA RASTREABILIDADE DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL EM FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÃO CONTENDO LEVEDURA DE CANA-DE-AÇÚCAR**” encontra-se redigido de acordo com as normas editoriais da Revista *PAB – Pesquisa Agropecuária Brasileira*. O presente trabalho teve por objetivo verificar se a inclusão de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), em níveis comumente utilizados pela indústria na alimentação de frangos de corte interfere na rastreabilidade de farinhas de origem animal, pelo método de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

Referências Bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 8402**: gestão da qualidade e garantia da qualidade: terminologia. Rio de Janeiro, 1994.

BELLAVER, C. et al. Substituição de farinhas de origem animal por ingredientes de origem vegetal em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural**, v.35, p.671-677, 2005.

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

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

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

BUTOLO, J.E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: Agros Comunicação, 2002, 430 p.

CAMPOS NETO, O. Utilização dos subprodutos da indústria sucroalcooleira na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL, 4, 1987, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: SBZ, 1987. p. 129-152.

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

CARRIJO, A. S. **Técnica dos isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) em frangos de corte**. 2003. 92 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

CARRIJO, A.S. et al. Traceability of Bovine Meat and Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 8, n.1, p.37-42, 2006.

CERUTTI, M. **Avisite especial:** rastreabilidade na avicultura (06/08/2002). 2002. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/reportagem/reportagem.asp?codigo=11> > Acesso em: 30 mar. 2009

COMUNIDADE EUROPÉIA. Regulamento (CE) No. 1774/2002. **Official Journal of the European Communities**. Disponível em: http://europa.eu.int/smartapi/cgi/sga_doc?smartapi!celexapi!prod!CELEXnumd&=PT&numdoc=32002R1774&model=guichett > Acesso em: 20 out. 2008.

CRUZ, V. C. et al. Tracing metabolic routes of feed ingredients in tissues of broiler chickens using stable isotopes. **Poultry Science**, v. 83, p. 1376-1381, 2004.

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

DENADAI, J.C. et al. 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. 189, 2008.

FELÍCIO, P. E. Rastreabilidade aplicada à carne bovina. 41ª REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41ª, 2001, PIRACICABA. **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p. 294 – 301.

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

GONZALEZ-MARTIN, I. et al. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberianbreed swine. **Meat Science**, v. 52, p. 437-441, 1999.

GOTTMAN, R. **Influência da composição das rações na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis em frangos de corte.** 2007. 39 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

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

HERZKA, S. Z.; HOLT, S. A.; HOLT, G. J. Documenting the settlement history of individual fish larvae using stable isotope ratios: model development and validation. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 265, p. 49-74, 2001.

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

IBA, S. K. et al. **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. 2009.

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.

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

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

KOZIET, J. et al. Determination of carbon-13 content of sugars of fruit and vegetable juices. **Analytica Chimica Acta**, v. 271, p. 31-38, 1993.

MANCA, G. et al. Characterization of the geographical origin of *Pecorino Sardo* cheese by casein stable isotope ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) ratios and free aminoacids ratios. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 49, p. 1404-1409, 2001.

MAPA Brasil, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 1, de 09 de janeiro de 2002**. Institui o sistema brasileiro de identificação e certificação de origem bovina e bubalina – SISBOV. 2002. Disponível em:
<[HTTP:extranet.agricultura.gov.br/sislegiconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1777](http://extranet.agricultura.gov.br/sislegiconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1777)> Acesso em: 02 mar. 2009.

MARTIN, G.J. et al. Natural factors of isotope fractionation and the characterization of wines. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 36, p. 316-322, 1988.

MÓRI, C. et al. Poultry offal meal traceability in meat quail tissues using the technique of stable carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) isotopes. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 45-52, 2008.

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

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

PIASSENTIER, E. et al. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. **Meat Science**, v. 64, p. 239-247, 2003.

RASTREABILIDADE e certificação: um modelo de etapas para implantação de um sistema nacional para rastreabilidade na cadeia de produção de aves. **Revista Avicultura Industrial**, v. 95, n. 3, ed. 1121, 2004.

ROSSMANN, A. et al. The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. **European Food Research & Technology**, v. 211, p. 32-40, 2000.

SHIBUYA, E.K. et al. Souring Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, v. 160, p. 35-43, 2006.

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

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

TIESZEN, L.L. et al. Use of $\delta^{13}\text{C}$ values to determine vegetation selectivity in East African herbivores. **Oecologia**, v. 37, p. 32-37. 1979.

TYRRELL, H. F. et al. Use of carbon 13 as tracer in metabolism studies. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 25, p. 127-129, 1984. Supplement.

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

WHITE, J. W. et al. Stable carbon isotope ratio analysis of honey: validation of internal standard procedure for worldwide application. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 81, p. 610-619, 1998.

WOGAN, G. **Mycotoxins in foodstuffs**. The Massachusetts Institute of Technology, 1996. 245 p.

ZUANON, J. A. S. et al. Muscle $\delta^{13}\text{C}$ change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, cichlidae) fingerling fed on C_3 or C_4 cycle plants grain-based diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 147, p. 761-765, 2007.

CAPÍTULO 2

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE C ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) E N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) NA
RASTREABILIDADE DE FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL EM
FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÃO CONTENDO
LEVEDURA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Isótopos estáveis de C ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) na rastreabilidade de farinhas de origem animal em frangos de corte alimentados com ração contendo levedura de cana-de-açúcar

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar se a inclusão de levedura de cana-de-açúcar (LC), em níveis comumente utilizados pela indústria na alimentação de frangos de corte, interfere na rastreabilidade da farinha de carne bovina (FC) e da farinha de vísceras de aves (FV), utilizando a técnica de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio no músculo peitoral (*Pectoralis major*). Foram utilizados 325 pintainhos machos (*Cobb*), com um dia de idade, distribuídos aleatoriamente em treze tratamentos, com 25 aves cada, sendo uma dieta controle a base de milho e soja e os demais tratamentos com inclusões de 1, 2, 4 e 6% de FC, FV e LC. Para a análise da razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), expressa em delta per mil ($\delta\text{‰}$), aos 42 dias de experimento, foram separadas ao acaso 6 aves ($n=6$) por tratamento e abatidas para a coleta do músculo peitoral. O tratamento com inclusão de 6% de levedura diferiu do tratamento controle, mas não diferiu dos tratamentos com inclusão de 2, 4 e 6% FC e 4 e 6% FV. A levedura em rações a base de milho e soja pode interferir na rastreabilidade das farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte, em níveis a partir de 6% de inclusão.

Termos para indexação: aves, certificação, dieta, ingrediente de origem animal, peito.

Stable isotopes of C ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) in traceability of animal meals in chickens fed with diet containing sugar cane yeast

ABSTRACT

The objective of this work was to verify if sugar cane yeast (SCY) inclusion, in levels used by the industry in chickens feeding, interferes in the traceability of bovine meat meal (BM) and visceral meal (VM), using carbon and nitrogen stable isotopes technique in breast (*Pectoralis major*). For this, 325 one-day-old male chicks (*Cobb*), were randomly distributed on 13 treatments, with 25 birds each, using a control diet (corn and soybean meal basically) and the others treatments with 1, 2, 4 and 6% inclusions of BM, VM and SCY. To isotopic ratio analysis ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$), expressed in delta per mil (δ ‰), at 42 days of experiment were randomly sampled 6 broilers (n=6) per treatment and slaughtered to breast muscle collect. The treatment with 6% SCY inclusion differed from the control treatment, but it didn't differ from the treatments with inclusion of 2, 4 and 6% BM and 4 and 6% VM. The sugar cane yeast in diets with corn and soybean meal, can interfere in the animal meal traceability of broilers feeding, when it is with 6% of inclusion.

Indexing terms: animal origins ingredients, birds, breast, certification, diet.

Introdução

Segundo a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (ABEF, 2009), o Brasil é o terceiro maior produtor e o maior exportador de carne de frango no ranking mundial. Porém, o mercado importador da carne de frango brasileira impôs algumas restrições quanto ao modo de criação, alimentação e comercialização dos animais.

A crescente preocupação do consumidor com a segurança alimentar levou a indústria a propor métodos que permitam a certificação da origem e da qualidade dos produtos de origem animal e vegetal no mundo (Comunidade Européia, 2002).

A rastreabilidade pode ser uma ferramenta chave no sistema de produção de carnes para a sobrevivência e o sucesso das empresas num mercado cada vez mais competitivo e exigente (Iba et al., 2003).

Com base no exposto, nota-se que o sistema de rastreabilidade é um tema de primordial relevância e requer estudos mais aprofundados sobre o seu desenvolvimento e técnicas envolvidas.

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

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

Porém, alguns alimentos, como a levedura de cana e o farelo de trigo, podem interferir na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis, devido ao seu alto teor de proteína e conseqüente enriquecimento em Nitrogênio-15 e Carbono-13 (Gottmann, 2007).

Os níveis de inclusão de levedura praticados pela indústria avícola brasileira são variáveis, pois a tendência é usá-la como um aditivo e, segundo Grangeiro, et al.

(2001), pode-se incluir até 7,5 % de levedura como fonte protéica em rações de frangos de corte, sem afetar o seu desempenho.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar se a inclusão de levedura de cana de açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*), em níveis comumente utilizados pela indústria na alimentação de frangos de corte, interfere na rastreabilidade de farinhas de origem animal, pelo método de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – *Campus* de Botucatu, Laboratório de Nutrição de Aves, no período de 20 de maio a 30 de junho de 2008. Foram utilizados 325 pintainhos de corte machos da linhagem *Cobb*, com um dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro e Marek.

As aves foram alojadas em um galpão experimental, onde 13 tratamentos foram distribuídos aleatoriamente em 13 boxes de 2,5 m², com 25 aves/boxe e densidade de 10 aves/m². Foram tomadas 6 repetições por tratamento, sendo cada ave abatida considerada uma repetição.

Inicialmente cada boxe continha um bebedouro tipo copo de pressão para o fornecimento de água e um comedouro tipo tubular inicial para o fornecimento da ração. Estes equipamentos foram substituídos gradativamente por bebedouro pendular e comedouro tubular definitivos, um para cada boxe, respectivamente. O fornecimento de água e ração foi *ad libitum* durante todo o período experimental. Para o aquecimento inicial dos pintos, cada boxe foi equipado com uma campânula contendo uma lâmpada infravermelha de 250 watts, que foi retirada no décimo dia de idade das aves.

O controle da temperatura e ventilação ambiental foi feito através do manejo das cortinas laterais do galpão. Para auxiliar no controle da temperatura interna do galpão, foram colocados um termômetro de máxima e mínima e um termômetro de bulbo seco e bulbo úmido na altura do piso da instalação. As médias de temperatura, máxima e mínima no galpão foram 25°C e 18°C, respectivamente. O programa de luz adotado foi constante com 24 horas de luz diárias, utilizando-se lâmpadas incandescentes de 60 watts.

As rações foram formuladas a base de milho, farelo de soja, óleo de soja, fosfato bicálcico, calcário calcítico, sal comum, DL-metionina, L-lisina e suplementos vitamínicos e minerais conforme adaptações das recomendações de Rostagno et al. (2005). Foram incluídas também nos tratamentos a levedura de cana-de-açúcar e as farinhas de carne e vísceras, conforme demonstrado na Tabela 1:

Tabela 1. Distribuição dos tratamentos.

VEG = a base de milho + farelo de soja	4FC = VEG + 4% FC
1FC = VEG + 1% farinha de carne (FC)	4FV = VEG + 4% FV
1FV=VEG + 1% farinha de vísceras(FV)	4LC = VEG + 4% LC
1LC = VEG + 1% levedura de cana (LC)	6FC = VEG + 6% FC
2FC = VEG + 2% FC	6FV = VEG + 6% FV
2FV = VEG + 2% FV	6LC = VEG + 6% LC
2LC = VEG + 2% LC	

O programa de arraçãoamento foi dividido em três fases: inicial (1 a 21 dias – Tabela 2), crescimento (22 a 35 dias – Tabela 3) e final (36 a 42 dias – Tabela 4).

Para a coleta das amostras, aos 42 dias de experimento, foram retiradas aleatoriamente 6 aves ($n = 6$) por tratamento e identificadas individualmente em uma das patas por anilhas numeradas para serem abatidas. O abate foi realizado no abatedouro experimental da FMVZ, UNESP – Botucatu, por meio de sangria, após as aves terem sido atordoadas por choque elétrico. Após a retirada das penas e da evisceração, as carcaças foram cortadas para retirada do músculo peitoral (*Pectoralis major*).

Amostras de músculo peitoral foram coletadas retirando-se uma fatia de aproximadamente 5 mm no sentido transversal do terço médio longitudinal do *Pectoralis major* esquerdo (GOTTMANN, 2007). Devidamente identificadas e acondicionadas em sacos plásticos, as amostras foram congeladas a -20°C para posteriores análises isotópicas que foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu.

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

Ingredientes, %	Rações Experimentais												
	VEG	1FC	1FV	1LC	2FC	2FV	2LC	4FC	4FV	4LC	6FC	6FV	6LC
Milho, fubá	60,50	61,34	61,45	60,02	61,90	62,46	59,61	63,54	64,60	59,00	63,92	64,61	58,41
Farelo de soja – 45	33,82	32,77	32,38	33,42	32,03	30,78	32,80	29,89	27,41	31,41	27,99	24,39	29,96
Óleo de soja	1,36	1,09	1,03	1,41	0,90	0,70	1,45	0,37		1,46	0,26		1,46
Farinha de carne e ossos - 40		1,00			2,00			4,00			6,00		
Farinha de vísceras			1,00			2,00			4,00			6,00	
Levedura de cana-de-açúcar				1,00			2,00			4,00			6,00
Calcário calcítico	1,00	0,82	0,98	0,98	0,66	0,98	0,99	0,36	0,98	1,00		0,97	1,00
Fosfato bicálcico	1,80	1,48	1,75	1,78	1,15	1,70	1,77	0,49	1,62	1,75		1,55	1,75
DL-Metionina	0,24	0,24	0,22	0,24	0,23	0,21	0,24	0,23	0,18	0,24	0,23	0,18	0,26
L-Lisina	0,33	0,33	0,25	0,21	0,21	0,24	0,19	0,23	0,29	0,20	0,25	0,35	0,23
Caulim											0,50	1,05	
Sal comum	0,46	0,44	0,44	0,45	0,42	0,43	0,45	0,39	0,42	0,44	0,35	0,40	0,43
Suplem. vitamínico e mineral*	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada													
EM, kcal/kg	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950
PB, %	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04	21,04
Ca, %	0,96	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,97	0,95	0,95
P disp, %	0,45	0,45	0,44	0,44	0,45	0,44	0,44	0,45	0,44	0,44	0,48	0,45	0,45
Met, %	0,56	0,55	0,54	0,56	0,55	0,52	0,56	0,55	0,50	0,56	0,55	0,49	0,57
Met + Cys, %	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,88	0,88	0,89	0,88	0,88	0,89	0,90	0,89
Lys, %	1,35	1,34	1,27	1,27	1,25	1,25	1,26	1,25	1,25	1,27	1,25	1,26	1,30

* Suplemento vitamínico e mineral (níveis por kg de ração): Ác. Fólico - 0,9 mg, Co - 0,4 mg, Cu - 6 mg, Colina - 350 mg, Fe - 50 mg, I - 1 mg, Mn - 60 mg, Metionina - 1750 mg

Niacina - 40 mg, Se - 2,5 mg, Vit.A - 80.000 UI, Vit B1 - 2 mg, Vit B2 - 6 mg, Vit B6 - 4 mg, Vit D3 - 2.000 UI, Vit E - 18 UI, Vit H - 0,1 mg, Vit K3 - 2 mg, Zn - 70 mg

Tabela 3 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculada para as rações experimentais de crescimento (22 a 35 dias)

Ingredientes, %	Rações Experimentais											
	VEG	1FC	1FV	1LC	2FC	2FV	2LC	4FC	4FV	4LC	6FC	6FV
Milho, fubá	62,40	63,82	63,83	62,64	64,65	65,29	62,49	66,33	67,39	61,70	67,28	69,54
Farelo de soja - 45	29,90	28,70	28,15	29,03	27,65	26,26	28,29	25,47	22,99	27,08	23,49	19,62
Óleo de soja	3,40	2,94	2,93	2,03	2,67	2,45	3,18	2,13	1,75	3,24	1,83	1,04
Farinha de carne e ossos - 40		1,00			2,00			4,00			6,00	
Farinha de vísceras			1,00			2,00			4,00			6,00
Levedura de cana-de-açúcar				1,00			2,00			4,00		
Calcário calcítico	0,94	0,78	0,93	0,94	0,63	0,94	0,95	0,32	0,94	0,95		0,93
Fosfato bicálcico	1,62	1,31	1,60	1,62	0,97	1,54	1,61	0,32	1,45	1,60		1,38
DL-Metionina	0,23	0,22	0,21	0,22	0,22	0,20	0,23	0,22	0,19	0,23	0,21	0,17
L-Lisina	0,23	0,25	0,26	0,27	0,25	0,34	0,28	0,29	0,34	0,22	0,30	0,38
Caulim	0,40	0,10	0,22	0,16	0,10	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal comum	0,39	0,38	0,38	0,39	0,36	0,38	0,38	0,33	0,36	0,38	0,29	0,34
Suplem. vitamínico e mineral*	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada												
EM, kcal/kg	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
PB, %	19,31	19,31	19,31	19,31	19,31	19,31	19,31	19,31	19,31	19,31	19,31	19,31
Ca, %	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,95	0,88
P disp, %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,47	0,41
Met, %	0,53	0,51	0,50	0,52	0,51	0,49	0,52	0,51	0,48	0,53	0,50	0,46
Met + Cys, %	0,84	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,85	0,83	0,82	0,85
Lys, %	1,16	1,17	1,17	1,20	1,16	1,21	1,21	1,18	1,17	1,17	1,17	1,16

* Suplemento vitamínico e mineral (níveis por kg de ração): Ác. Fólico - 0,75 mg, Co - 0,4 mg, Cu - 6 mg, Colina - 210 mg, Fe - 50 mg, I - 1 mg, Mn - 60 mg, Metionina - 1350 mg, Niacina - 34 mg, Se - 0,2 mg, Vit.A - 6.800 UI, Vit B1 - 1,7 mg, Vit B2 - 5,1 mg, Vit B12 - 12 mcg, Vit B6 - 3,4 mg, Vit D3 - 1.700 UI, Vit E - 15,3 UI, Vit H - 0,085 mg, Vit K3 - 1,7 mg, Zn - 70 mg

Tabela 4 - Composição percentual dos ingredientes e nutricional calculada para as rações experimentais finais (36 a 42 dias)

Ingredientes, %	Rações Experimentais												
	VEG	1FC	1FV	1LC	2FC	2FV	2LC	4FC	4FV	4LC	6FC	6FV	6LC
Milho, fubá	65,05	65,71	66,35	65,08	67,09	67,54	64,75	68,67	69,72	64,07	69,11	71,86	63,39
Farelo de soja - 45	26,70	25,63	24,96	25,94	24,43	23,26	25,27	22,36	19,89	23,93	20,49	16,53	22,62
Óleo de soja	4,38	4,17	3,95	4,27	3,72	3,56	4,28	3,21	2,83	4,31	3,08	2,12	4,34
Farinha de carne e ossos - 40		1,00			2,00			4,00			6,00		
Farinha de vísceras			1,00			2,00			4,00			6,00	
Levedura de cana-de-açúcar				1,00			2,00			4,00			6,00
Calcário calcítico	0,90	0,74	0,90	0,91	0,59	0,89	0,91	0,29	0,90	0,91		0,89	0,92
Fosfato bicálcico	1,42	1,10	1,38	1,41	0,77	1,35	1,40	0,11	1,25	1,40		1,18	1,38
DL-Metionina	0,17	0,17	0,16	0,17	0,17	0,14	0,17	0,16	0,14	0,18	0,16	0,14	0,18
L-Lisina	0,23	0,25	0,26	0,23	0,27	0,28	0,23	0,27	0,31	0,22	0,27	0,34	0,20
Caulim	0,25	0,35	0,16	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal comum	0,40	0,38	0,39	0,39	0,36	0,38	0,39	0,33	0,36	0,38	0,29	0,34	0,37
Suplem. vitamínico e mineral*	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada													
EM, kcal/kg	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200	3200
PB, %	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05	18,05
Ca, %	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,94	0,80	0,80
P disp, %	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,36	0,37	0,37	0,37	0,47	0,37	0,37
Met, %	0,45	0,45	0,44	0,45	0,45	0,42	0,45	0,44	0,42	0,46	0,44	0,41	0,46
Met + Cys, %	0,75	0,74	0,75	0,75	0,75	0,74	0,74	0,74	0,77	0,74	0,74	0,79	0,74
Lys, %	1,08	1,09	1,08	1,09	1,10	1,08	1,09	1,08	1,07	1,09	1,07	1,05	1,08
* Suplemento vitamínico e mineral (níveis por kg de ração): Ác. Fólico - 0,75 mg, Co - 0,4 mg, Cu - 6 mg, Colina - 210 mg, Fe - 50 mg, I - 1 mg, Mn - 60 mg, Metionina - 1350 mg Niacina - 34 mg, Se - 0,2 mg, Vit.A - 6.800 UI, Vit B1 - 1,7 mg, Vit B2 - 5,1 mg, Vit B12 - 12 mcg, Vit B6 - 3,4 mg, Vit D3 - 1.700 UI, Vit E - 15,3 UI, Vit H - - 0,085 mg, Vit K3 - 1,7 mg, Zn - 70 mg													

* Suplemento vitamínico e mineral (níveis por kg de ração): Ác. Fólico - 0,75 mg, Co - 0,4 mg, Cu - 6 mg, Colina - 210 mg, Fe - 50 mg, I - 1 mg, Mn - 60 mg, Metionina - 1350 mg, Niacina - 34 mg, Se - 0,2 mg, Vit.A - 6.800 UI, Vit B1 - 1,7 mg, Vit B2 - 5,1 mg, Vit B12 - 12 mcg, Vit B6 - 3,4 mg, Vit D3 - 1.700 UI, Vit E - 15,3 UI, Vit H - 0,085 mg, Vit K3 - 1,7 mg, Zn - 70 mg

Para a realização das análises isotópicas, as amostras foram descongeladas, lavadas em água destilada e secas em estufa de ventilação forçada (Marconi – Ma 035), à temperatura de 56°C por 48 horas. Após este período, cada amostra foi colocada em um tubo para que fosse moída, em moinho criogênico de nitrogênio líquido (Spex – modelo 6750 freezer/Mill), à - 190°C por 3 minutos (tecido) e 5 minutos (ração) em frequência máxima, para obter-se um material homogêneo e de finíssima granulometria, com aspecto microscópico (Licatti, 1997; Ducatti, 2004).

Foram pesadas em cápsulas de estanho, aproximadamente 50 a 60 µg e 500 a 600 µg de amostras para a determinação das razões isotópicas do carbono e nitrogênio, respectivamente. As cápsulas foram introduzidas por meio de amostrador automático no analisador elementar (EA 1108 - CHN - Fisons Instruments, Rodano, Itália) no qual, em presença de oxigênio (O₂) e óxido de cobre (CuO) a amostra foi queimada quantitativamente para a obtenção de CO₂ e NO_x; este último foi então reduzido a N₂ na presença de cobre. Os gases formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massas de razões isotópicas (Delta S – Finnigan MAT, Bremen, Alemanha).

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

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

Onde:

δ 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 ¹³C/¹²C e ¹⁵N/¹⁴N.

Os resultados isotópicos obtidos foram submetidos à análise multivariada de variância (MANOVA) com auxílio do procedimento GLM do programa estatístico SAS (2004). A partir dos dados gerados pelas matrizes de erro, foram determinadas regiões com 95% de confiança para verificar as diferenças entre as médias dos tratamentos.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das rações utilizadas neste estudo estão contidos na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores médios¹ de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ e seus desvios-padrão da ração de frangos de corte criados até os 42 dias de idade.

Tratamentos ²	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
VEG	$-17,63 \pm 0,09$	$1,62 \pm 0,33$
1FC	$-17,61 \pm 0,11$	$1,66 \pm 0,07$
1FV	$-16,84 \pm 0,01$	$1,35 \pm 0,10$
1LC	$-17,29 \pm 0,09$	$1,67 \pm 0,03$
2FC	$-17,47 \pm 0,08$	$1,75 \pm 0,16$
2FV	$-17,03 \pm 0,14$	$1,41 \pm 0,01$
2LC	$-17,02 \pm 0,06$	$1,26 \pm 0,29$
4FC	$-17,09 \pm 0,06$	$1,91 \pm 0,16$
4FV	$-16,60 \pm 0,17$	$1,79 \pm 0,10$
4LC	$-18,08 \pm 0,16$	$1,73 \pm 0,24$
6FC	$-18,00 \pm 0,16$	$2,30 \pm 0,32$
6FV	$-15,83 \pm 0,03$	$2,37 \pm 0,04$
6LC	$-16,62 \pm 0,18$	$1,74 \pm 0,03$

¹ Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ obtidos de uma mistura das três rações (inicial, crescimento e final) fornecidas às aves durante a criação.

²VEG: Dieta controle a base de milho e farelo de soja; 1FC: 1% farinha de carne bovina; 1FV: 1% farinha de vísceras de aves; 1LC: 1% levedura de cana-de-açúcar; 2FC: 2% farinha de carne bovina; 2FV: 2% farinha de vísceras de aves; 2LC: 2% levedura de cana-de-açúcar; 4FC: 4% farinha de carne bovina; 4FV: 4% farinha de vísceras de aves; 4LC: 4% levedura de cana-de-açúcar; 6FC: 6% farinha de carne bovina; 6FV: 6% farinha de vísceras de aves; 6LC: 6% levedura de cana-de-açúcar.

A levedura por possuir sinal isotópico $\delta^{13}\text{C} = -10,49\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 4,36\text{‰}$, quando incluída na dieta pode levar a um enriquecimento em carbono-13 e nitrogênio-15, o mesmo ocorre com a inclusão de farinha de vísceras de aves ($\delta^{13}\text{C} = -16,28\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 4,29\text{‰}$) e farinha de carne bovina ($\delta^{13}\text{C} = -12,82\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 7,72\text{‰}$) na dieta de frangos de corte. Enriquecimento em carbono-13 e nitrogênio-15 quando utilizadas farinhas de origem animal na dieta de frangos de corte também foi observado por Oliveira (2005) e Carrijo et al. (2006). Pode-se observar na Tabela 5 que houve enriquecimento tanto em Carbono-13 como em Nitrogênio-15 na maioria das rações quando comparadas com a ração basal e, conforme a porcentagem incluída de farinha de carne, farinha de vísceras e levedura foi aumentando, este enriquecimento também foi crescente.

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

Semelhante ao valor de $\delta^{13}\text{C}$, o $\delta^{15}\text{N}$ da ração também varia de acordo com a composição percentual dos ingredientes na dieta. O sinal isotópico do nitrogênio das plantas varia dependendo de como ele é fixado por elas. A soja, por fixar o nitrogênio do ar, possui valor de $\delta^{15}\text{N}$ próximo ao valor do padrão N_2 ($\delta^{15}\text{N} \cong 0,0 \pm 1,0\text{‰}$) (Handley & Raven, 1992; Werner & Schmidt, 2002).

As plantas que não conseguem fixar o nitrogênio atmosférico dependem, em grande parte, da abundância deste isótopo no solo e da adubação (CHOI et al., 2002). Quando o nitrogênio é absorvido de matéria orgânica, o ^{15}N é mais significativo, ao redor de 5‰. Valores negativos de $\delta^{15}\text{N}$ são observados em solos com baixa proporção de matéria orgânica, em particular solos secos e arenosos e onde é adicionado esterco como fertilizante natural, o fracionamento é alto, com $\delta^{15}\text{N}$ em torno de 10‰ (Shibuya et al., 2006).

As médias encontradas para os sinais isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das amostras de peito de cada tratamento, no final do período experimental, estão contidas na Tabela 6.

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

Tratamentos*	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
VEG	$-18,93 \pm 0,17$	$2,33 \pm 0,17$
1FC	$-18,86 \pm 0,18$	$2,40 \pm 0,13$
1FV	$-18,81 \pm 0,21$	$2,30 \pm 0,12$
1LC	$-18,73 \pm 0,15$	$2,39 \pm 0,17$
2FC	$-18,83 \pm 0,17$	$2,51 \pm 0,21$
2FV	$-18,50 \pm 0,20$	$2,23 \pm 0,13$
2LC	$-18,63 \pm 0,15$	$2,29 \pm 0,10$
4FC	$-18,10 \pm 0,13$	$2,67 \pm 0,08$
4FV	$-18,14 \pm 0,17$	$2,43 \pm 0,14$
4LC	$-18,55 \pm 0,15$	$2,39 \pm 0,16$
6FC	$-17,55 \pm 0,23$	$2,75 \pm 0,21$
6FV	$-17,73 \pm 0,22$	$2,68 \pm 0,16$
6LC	$-18,18 \pm 0,17$	$2,65 \pm 0,12$

*VEG: Dieta controle a base de milho e farelo de soja; 1FC: 1% farinha de carne bovina; 1FV: 1% farinha de vísceras de aves; 1LC: 1% levedura de cana-de-açúcar; 2FC: 2% farinha de carne bovina; 2FV: 2% farinha de vísceras de aves; 2LC: 2% levedura de cana-de-açúcar; 4FC: 4% farinha de carne bovina; 4FV: 4% farinha de vísceras de aves; 4LC: 4% levedura de cana-de-açúcar; 6FC: 6% farinha de carne bovina; 6FV: 6% farinha de vísceras de aves; 6LC: 6% levedura de cana-de-açúcar.

Também para o peito, houve enriquecimento em Carbono-13 e Nitrogênio-15, conforme a adição crescente de farinha de carne, farinha de vísceras e levedura nas rações.

As médias encontradas para os sinais isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das amostras de peito de cada tratamento foram comparadas estatisticamente à média do tratamento controle (Figuras 1 e 2) e à média do tratamento com levedura (Figuras 3 e 4), nos diferentes níveis de adição, gerando regiões com 95% de confiança.

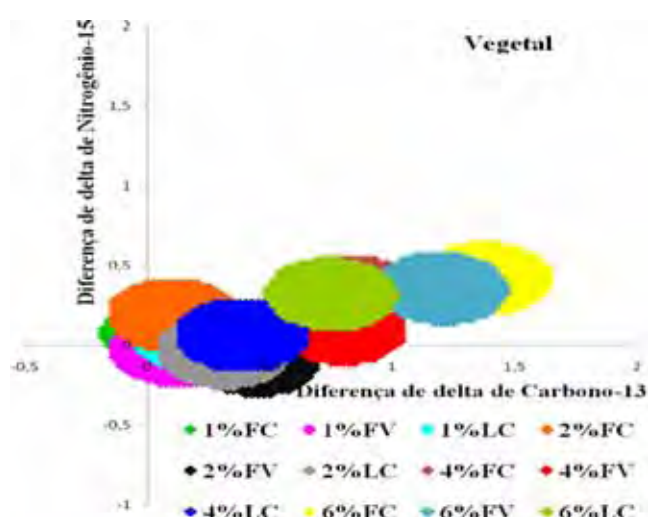


Figura 1. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento controle (Vegetal).

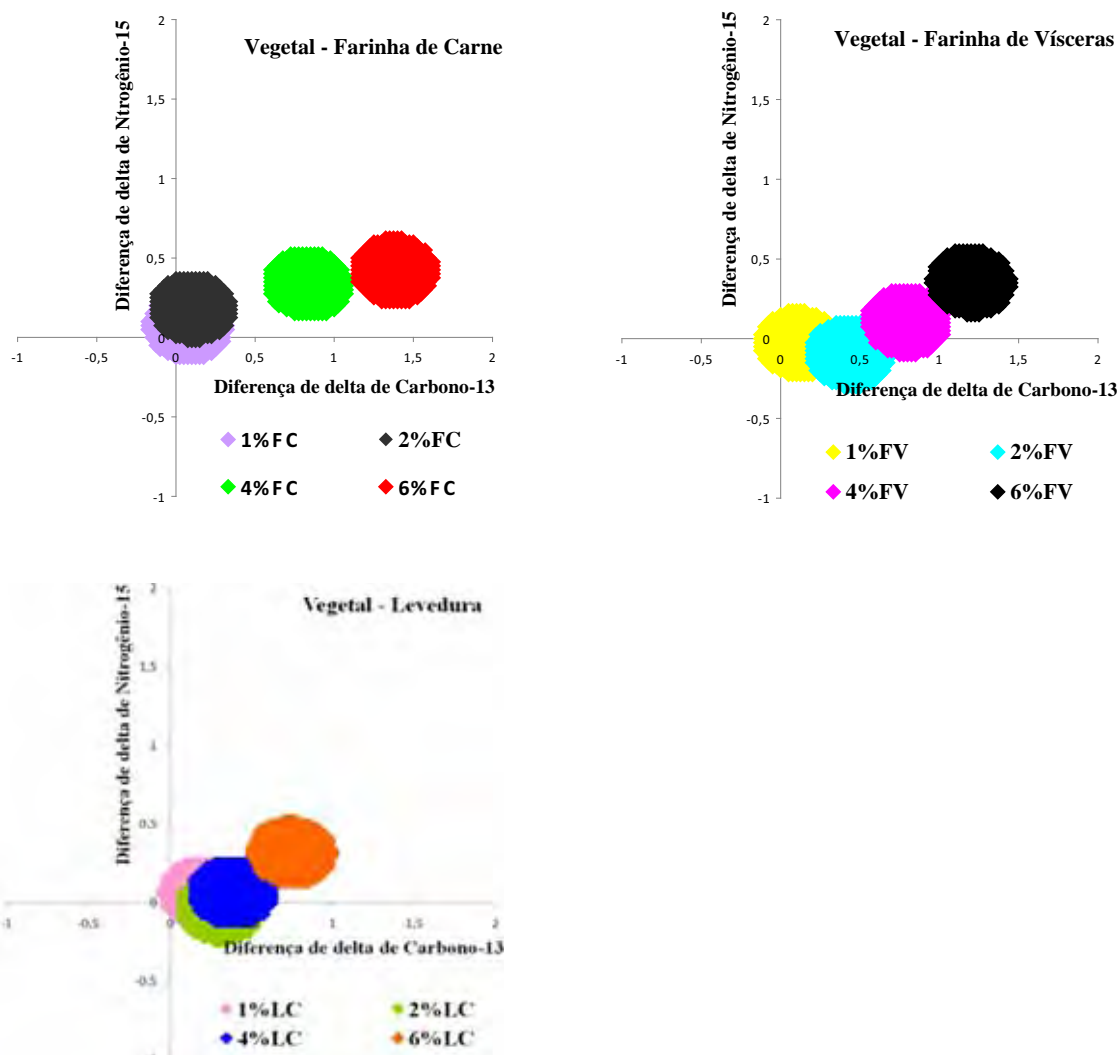


Figura 2. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento controle (Figura 1 fracionada).

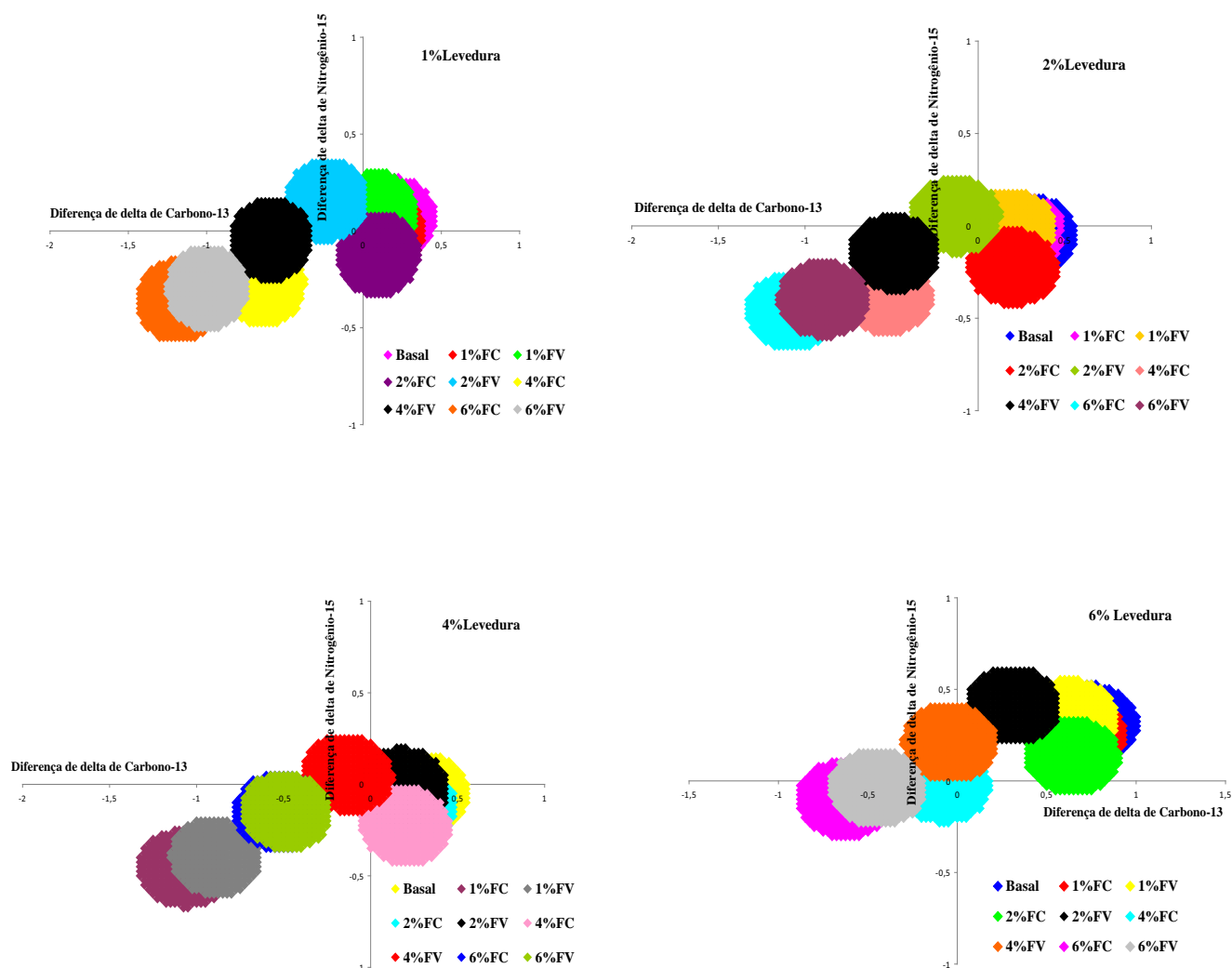


Figura 3. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento contendo 1, 2, 4 e 6% de levedura.

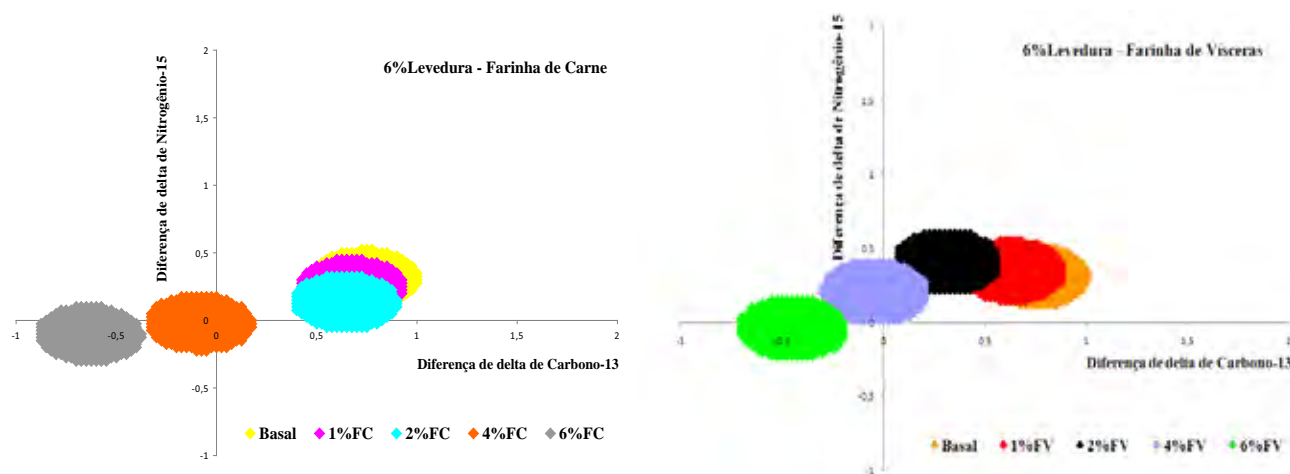


Figura 4. Regiões de confiança formadas pela diferença entre os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de músculo *Pectoralis major* de frangos de corte aos 42 dias de idade de cada tratamento quando comparados ao tratamento contendo 6% de levedura.

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

Sendo assim, observando a Figura 1, e ainda mais claramente na Figura 2, podemos notar que o tratamento com levedura só difere do tratamento controle a partir de 6% de inclusão, a farinha de vísceras a partir de 6% e a farinha de carne a partir de 4%, pois suas elipses não sobrepõem aos eixos de delta de C e ou de N.

Os tratamentos 1FC, 1FV, 1LC, 2FC, 2FV, 2LC, 4FV e 4LC não diferiram do tratamento controle, possivelmente devido a pouca inclusão das farinha de carne bovina, farinha de vísceras de aves e levedura, respectivamente.

Nos demais tratamentos, foi possível observar que houve diferença entre os diferentes níveis de inclusão das farinhas de origem animal e a levedura em relação ao tratamento controle. Oliveira (2005), Carrijo et al. (2006) e Gottmann (2007) também observaram diferenças ao comparar tratamentos que continham farinha de

vísceras de aves e farinha de carne bovina com tratamentos contendo dieta padrão a base de milho e farelo de soja.

Gottmann (2007) demonstrou que a rastreabilidade de farinhas de origem animal no músculo peitoral de frangos de corte, através da técnica dos isótopos estáveis foi comprometida pela presença da levedura e do farelo de trigo.

Os níveis de inclusão de levedura praticados pela indústria avícola brasileira são variáveis, pois a tendência é usá-la como um aditivo e, segundo Grangeiro et al. (2001), pode-se incluir até 7,5 % de levedura como fonte protéica em rações de frangos de corte, sem afetar o seu desempenho.

Na Figura 3, os eixos passam a ser os diferentes níveis de inclusão de levedura e neste caso, as elipses que sobrepõem aos eixos não diferem dos tratamentos com levedura. Na Figura 4, cujo eixo corresponde ao nível de 6% de inclusão de levedura (o único a ser detectado, como visto nas Figuras 1 e 2), podemos observar que as elipses dos tratamentos 2FC, 4FC, 6FC, 4FV e 6FV, sobrepõem aos eixos das diferenças de $\delta^{13}\text{C}$ e/ou $\delta^{15}\text{N}$ e que, portanto, estes tratamentos não diferiram do tratamento com 6% de levedura. Este comportamento pode ter ocorrido devido ao sinal isotópico da levedura ($\delta^{13}\text{C} = -10,49\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 4,36\text{‰}$) ser muito próximo dos sinais isotópicos da farinha de vísceras de aves ($\delta^{13}\text{C} = -16,28\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 4,29\text{‰}$) e da farinha de carne bovina ($\delta^{13}\text{C} = -12,82\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 7,72\text{‰}$).

Este fato demonstra que a utilização da técnica da razão isotópica de carbono e nitrogênio na rastreabilidade de farinhas de origem animal em carcaças de frangos de corte pode ser interferida pela adição de levedura de cana-de-açúcar, uma vez que, a partir de 6% de inclusão, a assinatura isotópica da levedura não pode ser diferenciada da assinatura isotópica das farinhas de vísceras e de carne.

Sendo assim, é necessária a realização de outros estudos envolvendo a detecção da levedura no intervalo de 4 a 6% de inclusão nas rações e estudos que permitam diferenciar a levedura das farinhas de carne e de vísceras pela técnica dos isótopos estáveis, para que esta se torne uma ferramenta de extrema confiabilidade.

Conclusão

Nas condições do presente trabalho e através dos resultados obtidos, a inclusão de 6% de levedura de cana-de-açúcar em rações a base de milho e soja, pode interferir na rastreabilidade das farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS. **Números finais em 2009**. Disponível em: http://www.abef.com.br/portal/_clientes/abef/cat/Relat%F3rio%202007-08_9952.pdf. Acesso em 16 dez. 2009.

CARRIJO, A. S. et al. Traceability of Bovine Meat and Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 8, n. 1, p. 37-42, 2006.

CHOI, W.J. et al. Natural ^{15}N abundances of maize and soil amended with urea and composted pig manure. **Plant and Soil**, v. 245, p. 223-232, 2002.

COMUNIDADE EUROPÉIA. Regulamento (CE) No. 1774/2002. **Official Journal of the European Communities**. Disponível em: http://europa.eu.int/smartapi/cgi/sga_doc?smartapi!celexapi!prod!CELEXnumdoc&lg=PT&numdoc=32002R1774&model=guichett Acesso em: 20 jan. 2009.

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**. Botucatu: UNESP, Instituto de Biociências, 2004. 184 p. Apostila.

GONZALEZ-MARTIN, I. et al. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberianbree swine. **Meat Science**, v. 52, p. 437-441, 1999.

GOTTMAN, R. **Influência da composição das rações na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis em frangos de corte**. 2007. 39p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

GRANGEIRO, M. G. Inclusão da Levedura de Cana-de-Açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em Dietas para Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p.766-773, 2001.

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

IBA, S. K. et al. **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. 2009.

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

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. Tese. (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

PIASENTIER, E. et al. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. **Meat Science**, v. 64, p. 239-247, 2003.

ROSTAGNO, H.S. et al. Composição de alimentos e exigências nutricionais. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2005. 186 p.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: user's guide**. version 6.11. 4th. ed., Cary, 2004. V. 2, 842 p.

SHIBUYA, E. K. et al. Souring Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, v. 160, p. 35-43, 2006.

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

CAPÍTULO 3

Implicações

As pesquisas relacionadas ao uso dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na rastreabilidade de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte surgiram da necessidade de uma tecnologia independente para a certificação de aves que não fossem alimentadas com produtos de origem animal, os chamados frangos verdes, alternativos e orgânicos, o que se tornou também, uma exigência dos mercados importadores da carne de frango brasileira.

Essas pesquisas têm-se mostrado promissoras, porém, alguns ingredientes, como a levedura de cana-de-açúcar e o farelo de trigo, dependendo dos níveis utilizados na ração, podem interferir na rastreabilidade das farinhas de origem animal no músculo peitoral de frangos de corte.

Considerando o presente estudo, com relação à indústria de frangos alternativos, que pode utilizar a levedura como fonte protéica em níveis que chegam a alcançar até 8% de inclusão na ração, a técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio pode levar a um resultado errôneo de que as aves foram alimentadas com farinhas de origem animal, uma vez que a partir de 6% de inclusão, a assinatura isotópica da levedura não pode ser diferenciada das farinhas de carne e de vísceras.

Novos estudos são necessários a fim de que haja a possibilidade de se diferenciar os sinais isotópicos da levedura e das farinhas de origem animal em quaisquer níveis de inclusão, para tanto, poderiam ser testados outros isótopos estáveis de outros elementos químicos, além do carbono e nitrogênio, como por exemplo, o hidrogênio e o oxigênio.