



Pesquisa de constituintes de origem animal em rações de aves utilizando microscopia óptica

Deise Caroline Eckhardt¹, Cláudia Andréia Gräff², Rosângela Uhrig Salvatori³, Andreia Aparecida Guimarães Strohschoen⁴

¹ Graduanda em Ciências Biológicas, Centro Universitário UNIVATES, deisece@gmail.com

² Química Industrial, Especialista em Tecnologia de Alimentos - Univates
Especialista em Educação à Distância – SENAC/RS. Laboratório de UNIANÁLISES da UNIVATES, claudiagraff@univates.br

³ Bióloga, Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Centro Universitário UNIVATES, e-mail: bibituca@univates.br

⁴ Bióloga, Dra. em Ciências, Programa de Pós graduação em Ensino de Ciências Exatas, e-mail: aaguim@univates.br

RESUMO - É cada vez mais preocupante a situação de adulterações em misturas de rações para animais. Para a rotulagem dos alimentos destinados ao consumo destes e considerando as proibições da utilização de certos tipos de proteínas nestes alimentos, exige-se que sejam adotados métodos analíticos para detectar a presença de proteínas de origem animal. Através de análise microscópica pode ser detectada uma quantidade muito pequena de constituintes de origem animal, dependendo da natureza desse constituinte. No caso de alimentos para aves, existe a contaminação de subprodutos de origem animal que é adicionada à mistura para produzir as rações para aves de corte. Visando baratear o custo da alimentação com um maior lucro, empresas ou produtores adicionam ingredientes de origem animal nas misturas para rações. Com isto, neste estudo objetiva-se detectar as adulterações relacionadas a proteínas de origem animal que podem estar prejudicando as aves de corte, sabendo que para exportação geralmente não é permitida a entrada de aves que tenham sido alimentadas com uma ração contaminada com este tipo de material. Foram analisadas 893 amostras de 60 diferentes fornecedores integrados que produzem a ração farelada de origem vegetal utilizada na criação das aves. Em todas as amostras analisadas não detectou-se a presença de constituintes de origem animal, tanto na fração mineral como na fração orgânica. A



técnica de microscopia utilizada mostrou-se adequada para o proposto. Além disso, observou-se que os produtores de rações estão sendo cautelosos quanto à inserção de substâncias não adequadas nas rações para aves.

Palavras-chave: microscopia, rações, aves, contaminantes

Survey on animal ingredients applied in poultry feed using microscopy techniques

ABSTRACT - The adulteration situation on the animal feed mixing is reaching alarming levels. For the labeling process of these products and the use of certain protein sources, are essential the adoption of analytical methods to detect animal proteins. Through the microscopic analysis can be found a little amount of constituents derived from animal sources, depending on the nature of this constituent. In the case of poultry feed, is encountered contamination by sub-products from animal sources, which are added to the mix. Prior to reduce the feeding costs and profit increasing, companies and producers have added animal source ingredients in their feed mixes. Thus, this study aimed to detect adulteration related to animal proteins which can impair poultry, knowing that exporting poultry are not allowed to be feed in contaminated conditions. Were analyzed 893 samples from 60 different suppliers who produce the vegetal based feed for poultry. In all analyzed samples were detected animal constituents in the mineral fraction as well in the organic fraction, which demonstrated the microscopy technique applied was adequate. Moreover, was observed that producers are being carefully with the insertion of not suitable substances in poultry feed.

Key words: microscopy, feeding mix, poultry, contaminants

Introdução

Historicamente, sabe-se que a evolução da espécie humana deve-se ao desenvolvimento cerebral ocasionado pelo fato de conseguirem fabricar

ferramentas especializadas para ter acesso a ingestão de proteína de origem animal (NEVES, 2006).

Para atender a demanda de alimentos, o homem desenvolveu a



criação de animais com a finalidade de abate para disponibilizar a carne, que é proteína de origem animal, e seus produtos derivados (SANCHES, 2006).

A preferência do consumidor, o manejo dos animais e as questões de saúde cardiovascular do homem têm incrementado principalmente o consumo de carne de frango. Neste cenário, o Brasil é hoje um dos principais criadores e exportadores de carne de aves, especialmente os frangos (OLIVO, 2006).

Segundo o relatório anual da UBABEF 2012, a produção Mundial de carne de frango em 2011 foi liderada pelos Estados Unidos com 16.557 (mil toneladas), seguido pela China com 13.200 (mil toneladas), e o Brasil ficou com a terceira colocação, atingindo 13.058 (mil toneladas) da carne. O Destino da Produção Brasileira de Carne de Frango em 2011 foi de 69,8% para o mercado interno e 30,2% para exportações. Em 2001 o consumo per Capita no País era de 29,91 kg/habitantes, em 2011 essa quantidade cresceu para 47,38kg por habitante. O estado do Paraná liderou com 28,36% o maior número de abates de frango em 2011, seguido de Santa Catarina com

17,98% e em terceiro lugar ficou o Rio Grande do Sul com 15,19%.

Nos anos de 2005 a 2006 mais de 70% do frango exportado do estado do Rio Grande do Sul, foi oriundo do Vale do Taquari (PORTAL DO VALE DO TAQUARI, 2012).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a cidade de Lajeado/RS teve 194.000 mil cabeças entre galos, frangas, frangos e pintos, e 737.000 mil cabeças de galinhas no ano de 2010 e 2011 efetivos de rebanhos (IBGE, 2012).

A cadeia produtiva da carne envolve a agricultura, a pecuária, a indústria e o comércio. Iniciando pela plantação e colheita dos grãos no campo, segue para o armazenamento dos grãos nos armazéns e a fabricação das misturas, chamadas de ração. A ração é destinada aos animais confinados em granjas de criação. Após o crescimento e engorda, os animais são encaminhados aos abatedouros, onde ocorre o cumprimento de uma série de normas para que o animal permaneça tranquilo e seja abatido de forma a seguir as legislações nacionais e internacionais. Após o processamento, a carne e seus derivados, seguem à



expedição rumo ao seu destino final (OLIVO, 2006).

A avicultura de corte tem evoluído de maneira contínua apesar das crises econômicas que às vezes assolam o País. É neste setor da agropecuária nacional onde podemos encontrar várias indústrias de máquinas e equipamentos, indústria química, produção de frangos de corte, de soja, de milho, abate e comercialização. Esse setor é responsável por gerar vários empregos na atividade e pela circulação de bilhões de dólares na economia brasileira. Por esses motivos a avicultura tornou-se uma das principais atividades pecuárias do País. A exportação brasileira de frangos teve grandes avanços nos primeiros anos do novo milênio, quando, a “doença da vaca louca” e a febre aftosa estavam em período alarmante o que fez reduzir o comércio mundial de carne bovina. A América do Norte é responsável pela maior produção de carne de aves no Mundo, logo em seguida vem a Europa, a Ásia, a América do Sul e os países da antiga União Soviética. Da produção avícola Mundial, a América Latina participa com 17% e o Brasil com aproximadamente 9% desse total,

salientando que no Brasil os maiores produtores de frangos do país são os estados do Sul e do Sudeste (COTTA, 2003).

Do processo de abate há a geração de resíduos, como penas, vísceras e sangue, que podem ser processados e reaproveitados na fabricação de rações para animais (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, SINDIRAÇÕES 2009).

Para rações de exportação, existe um controle de fiscalização muito grande, visando que pode haver adulterações de subprodutos de origem animal nas misturas para alimentação animal. Por questões sanitárias e até mesmo religiosas, como é o caso de países árabes, muitos países não aceitam a adição de subprodutos de origem animal à ração. Neste contexto, pode-se destacar o caso da vaca-louca noticiado principalmente nos países europeus, doença originada pela transferência de príons (proteínas modificadas) dos subprodutos de origem bovina à ração que alimentava as vacas leiteiras. Além destas questões sanitárias, também há a tendência de consumir alimentos cada vez mais



saudáveis e orgânicos. Nessa linha, segue o consumo de carne de animais alimentados somente com ingredientes vegetais (SANCHES, 2006).

A investigação da presença de proteína de origem animal em rações para bovinos e outros animais de corte, é descrita nas legislações do ministério da Agricultura e da Comunidade Europeia, respectivamente (COMUNIDADE EUROPEIA, 2003).

A *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) para Encefalopatia Espongiforme Bovina o “mal da vaca louca”, é uma doença que afeta o cérebro do animal ocasionando descontrole motor. As células do cérebro morrem e ele fica com uma aparência de esponja, por isso o nome de espongiforme. O animal começa a agir como se estivesse louco, não se conhece tratamento para essa doença. Essa doença já atingiu mais de 20 países da Europa infectando aproximadamente 180 mil cabeças de gado (BLOCH, 2003). A doença ganhou destaques na mídia desde 1986 quando apareceu no Reino Unido (BELLAYER, 2005).

Em 1986 ocorreu uma epidemia na Grã-Bretanha que acometeu o gado bovino, o aparecimento da doença foi

associado ao uso de vísceras de ovelhas contaminadas para a preparação da ração que esses animais teriam como alimentação. A Encefalopatia Espongiforme Bovina teve seu ápice em 1994 atingindo 138.359 animais naquele País. Encefalopatia Espongiforme Bovina (MARTINS, texto eletrônico). Em 1999 ainda eram identificadas reses com BSE, chegavam a ser diagnosticadas 400 a 700 reses por semana com a doença (CABRAL, 2001).

Segundo CAMPESTRINI (2005), tem-se discutido mundialmente devido a problemas decorrentes principalmente na União Europeia como o “mal da vaca louca” sobre a utilização de produtos de origem animal em rações.

Devido à ocorrência da Encefalopatia Espongiforme Bovina na Europa e a proibição do uso de farinhas de origem animal nas rações para alimentação animal no continente, isso obrigou os importadores a exigirem aos brasileiros que seus frangos fossem alimentados somente com dietas formuladas com ingredientes de origem vegetal, como o farelo de soja e o milho por exemplo. Além disso o mercado do



Oriente Médio devido a normas religiosas exige alguns critérios para a produção do frango e também proíbem o uso de farinhas de origem animal nas rações para os frangos (BELLAYER et al., 2005).

A partir daí discutiu-se muito sobre a possível contaminação de humanos com a doença. Foram realizados alguns testes em um hospital de Londres e observou-se que esse agente infeccioso era desprovido de material genético (DNA e RNA), uma vez que utilizaram agentes como a luz ultravioleta ou a radiação ionizante não tiveram nenhum efeito sobre o agente infeccioso, visando que esses agentes normalmente degradam as moléculas de material genético. Devido a isso ele não poderia ser uma bactéria, um vírus ou um fungo, pois todos estes tem material genético. Mais tarde em 1974 o pesquisador Stanley Prusiner começou sua pesquisa na tentativa de isolar o agente infeccioso, e chegou à mesma conclusão inicial, ele utilizou agentes que causavam danos ao material genético, mas o agente infeccioso não reduziu sua infectividade. Depois de perceber que se tratava de um novo agente infeccioso, Prusiner denominou-

o de Príon do inglês "*Proteinaceous infectious particles*", partículas de proteínas presentes em diversos tipos de células (MARTINS, texto eletrônico).

A grande dúvida ainda era como ele conseguia se reproduzir sem ter material genético. Em 1984 com pesquisas de Prusiner e colaboradores, eles detectaram através de células de camundongos e hamster não infectados que tinham um gene que codificava a proteína príon, chamada de príon celular. Após isso observou-se em vários trabalhos que esse gene estava presente em mamíferos que foram avaliados e também em aves. Acredita-se que as TSE (Encefalopatias espongiformes transmissíveis), sejam provocadas pelas transformações na conformação de príons normais com a estrutura predominante alfa-hélice, a príons de conformação anormal onde a estrutura predominante é beta-hélice (MARTINS, texto eletrônico).

Para obter boas fontes proteicas em rações é normal ter um alto custo para o mesmo, em função disso, ingredientes alternativos podem ser utilizados, mas é necessário que se tenha um conhecimento da qualidade, preço e do resultado do desempenho



dos animais. Os nutricionistas buscam alternativas para a alimentação do animal, tentam utilizar cada vez mais a farinha de carne e ossos nas rações, pois, é um alimento com grande potencial para uso, principalmente em avicultura, devido aos altos custos de produção, buscaram essa alternativa, visando como forma de baratear os custos sabendo que é uma excelente fonte proteica contendo cálcio e fósforo necessários para as aves (CAMPESTRINI, 2005).

Para a fabricação da ração animal existem alguns componentes fundamentais como milho e farelo de soja, aos quais são acrescentados proteínas, sais minerais e fibras para ter um aumento no seu valor nutritivo (COTTA, 2003). Segundo DALE 2002, não existem motivos preocupantes para suspender a utilização de subprodutos de origem animal para as aves, visando que essa doença nunca foi vista em aves, e no continente americano não se tem ocorrência da doença.

A Encefalopatia Espongiforme Bovina é transmitida por proteínas específicas chamados príons, ela não é transmitida por vírus, fungos ou bactérias. Segundo BLOCH 2003, a

EMBRAPA de Brasília, DF, desenvolveu um método eficaz e seguro para detecção de proteínas de origem animal em rações para ruminantes. Esse método utiliza equipamentos de última geração denominados espectrofotômetros de massa. Segundo o pesquisador esses aparelhos são hipersensíveis e tem um limite de detecção muito bom. Bloch fala sobre várias técnicas de identificação de proteínas de origem animal nas rações e explica cada uma delas com seus pontos positivos e negativos. O método por microscopia é utilizado para procurar ossos, fragmentos de pele, é o mais utilizado na União Europeia e é o mais falho de todos por não poder detectar proteínas. O outro método é o Elisa que utiliza anticorpos para detectar as proteínas, esse método utiliza anticorpos específicos, identificando certos grupos de proteínas, e impede a identificação de outros grupos de proteínas. O terceiro método é o Polymerase Chain Reaction - PCR que detecta o DNA das proteínas, mas como o DNA é fragmentado depois do processamento de industrialização torna-se difícil a visualização da proteína para a análise. Segundo Bloch



o método que utiliza espectrofotometria de massa é o método mais preciso para esse tipo de análise. Ele consegue detectar proteínas inteiras ou somente fragmentos delas (BLOCH, 2003).

Existe mais uma metodologia que esta sendo utilizada para a detecção de constituintes de origem animal em rações, ela é baseada na microscopia Near Infrared – NIR radiação infravermelha e ferramentas quimiométricas para a detecção da proteína animal. A microscopia de infravermelho (NIRm) é um método com maior alcance para esse fim. As principais vantagens do NIR se comparado com o método da União Europeia isto é, a microscopia óptica, ou com outros métodos como PCR é que, por ser automatizado, não requer muito experiência e qualificação do analista (MARÍN, 2009).

Segundo Araújo 2010 a segurança nos alimentos precisa ser aplicada em toda cadeia produtiva, da produção ate o consumidor. São necessárias algumas ferramentas da qualidade para realizar essa atividade. Alguns sistemas como, a Boa prática de fabricação e a International Organization for Standardization (ISO)

são ferramentas exigidos por órgãos nacionais e internacionais para a exportação de produtos de origem animal (ARAÚJO, 2010).

Certas medidas de proteção respeitantes à encefalopatia espongiforme bovina e à alimentação à base de proteínas derivadas de mamíferos levaram à proibição da utilização de proteínas derivadas de tecidos de mamíferos na alimentação dos ruminantes, com exceção de determinados produtos e subprodutos de origem animal (COMUNIDADE EUROPEIA, 2003).

A proibição da utilização de certos tipos de proteínas animais em alimentos para animais destinados a determinadas categorias de animais exigem que se disponha de métodos analíticos fiáveis para detectar a presença e, se for caso disso, a percentagem dessas proteínas. O método descrito na Diretiva de 1998 era o único método validado para o controle da presença, em alimentos para animais, de proteínas animais, incluindo estas proteínas tratadas a 133 °C e 3 bar durante 20 minutos. No entanto, o mesmo apresentava diferenças significativas de sensibilidade,



especificidade e exatidão por isso foi substituído pela Diretiva de 2003 (COMUNIDADE EUROPEIA, 2009).

A presença de constituintes de origem animal pode ser estabelecida através de um exame microscópico que permita a distinção entre ossos de animais terrestres e espinhas de peixe e entre ossos de mamíferos e ossos de aves de capoeira. A capacidade de estimar a quantidade de constituintes de origem animal depende em grande parte da experiência do analista (COMUNIDADE EUROPEIA, 1998). No Brasil, a metodologia para detecção de subprodutos de origem animal por microscopia é aplicável somente a misturas de Ingredientes para Alimentação de Ruminantes (BRASIL, 2003).

Sabendo-se que é de extrema importância o correto controle de alimentos, através de técnicas microscópicas pode-se identificar adulterações de origem intencional ou contaminantes de origem accidental que podem estar presentes no produto (BARBIERI et al., 2001). A microscopia é um método muito utilizado por ser barato, fácil e de rápida execução, por ser um método de baixo

custo fica possível para as empresas menores que produzem rações poderem analisar seu produto. A técnica consiste na separação da matéria orgânica e matéria mineral através da utilização de solvente orgânico, como clorofórmio por exemplo. O sedimento pode conter constituintes minerais e também fragmentos ósseos, já o sobrenadante consiste do material orgânico como, penas, chifres, perucas, entre outros constituintes.

A literatura é vasta quanto ao estudo de métodos capazes de detectar a presença de proteínas de origem animal, especialmente técnicas de PCR capazes de identificar a origem, mas que possuem um limite de detecção mais alto que a técnica microscópica porque as altas temperaturas de processamento da matéria-prima danifica a estrutura do DNA (HOLST et al, 2012; FUMIÈRE et al, 2009; RAAMSDONK, 2007). Porém, são poucos trabalhos publicados quanto ao controle de qualidade de rações para animais. Considerando o exposto, no presente estudo pretende-se realizar pesquisa de constituintes de origem animal em rações vegetais para aves com utilização da técnica de microscopia, que é um método



confiável, rápido, de baixo custo e possível de implementar na indústria de rações.

Considerando o exposto, no presente estudo pretende-se confirmar a validade da metodologia de análise dos constituintes por microscopia, sendo este método considerado confiável, de baixo custo e que tem sido utilizado na Europa. A escolha deste tema deu-se pelo fato de que é imprescindível a verificação de contaminantes de origem animal na ração para aves, mesmo nunca tendo sido verificado nenhum caso da doença em aves. Isto pois, a União Europeia não permite a entrada de aves no seu território que forem tratadas com rações contendo constituintes de origem animal, e os países Árabes também não aceitam a adição desses constituintes por questões religiosas.

Material e Métodos

Utilizou-se balança analítica marca Bel com três casas após a vírgula,

conjunto de peneiras marca Bertel de abertura de malha 20, 40, 60 e fundo, funil de decantação, copos de béquer, espátula, pinça pontiaguda específica para microscopia, placa de petri, microscópio estereoscópico da marca Bel e microscópio óptico marca Olympus modelo CX3.

A figura 1 ilustra o processo da análise das amostras de ração. O procedimento foi realizado em laboratório e as imagens obtidas por microscopia óptica.

Executou-se a metodologia descrita pela Diretiva nº 152 da Comunidade Europeia (2009) com uma adaptação quanto ao solvente onde substituiu-se o tetracloroetileno por clorofórmio conforme validação publicada por Sanches (2006). Realizou-se os ensaios em duplicata e controlou-se a qualidade dos resultados através de provas em branco e provas adicionadas de constituintes de origem animal. Realizou-se experimentos para identificar o limite de detecção da metodologia no laboratório.



Figura 1 - Imagem apresentando amostra da ração farelada íntegra e com as frações mineral e orgânica separadas. As imagens foram obtidas utilizando microscopia óptica com 20 X de aumento.

Obtiveram-se amostras de 60 diferentes fornecedores integrados que produzem a ração farelada de origem vegetal utilizada na criação das aves. O total de 893 amostras foram analisadas do período de 22 de julho de 2010 até 14 de outubro de 2011. As amostras que foram analisadas eram todas fareladas. Realizou-se teste para o limite de detecção da técnica para a expressão dos resultados das amostras analisadas. Para a identificação de partículas ósseas na fração mineral, prepararam-se quatro amostras com as seguintes percentuais de farinha de carne (FC): 10 (amostra

1); 5 (amostra 2); 2,5 (amostra 3) e 1 (amostra 4). Além da avaliação da fração mineral, conduziu-se fortificação de amostras branco com farinha de vísceras (FV), farinha de penas (FP) e farinha de sangue (FS) na concentração 1% a 0,1% para avaliar o limite de detecção de constituintes de origem animal na fração orgânica.

Na fração mineral, pesquisou-se no sedimento separado a presença dos constituintes de origem animal e, com base nas características típicas das estruturas detectáveis por exame microscópico comparou-se as partículas



separadas com materiais de referência como farinha de ossos não calcinados e de ossos calcinados. Aplicou-se solução de ácido clorídrico 1:1 para diferenciar ossos calcinados de ossos não calcinados de acordo com Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2006).

A solução de ácido clorídrico 1:1 adicionada aos ossos não calcinados reagem lentamente mas de forma constante. Quando adicionado aos ossos calcinados a reação é mais rápida e momentaneamente, e quando adicionado ao calcário a reação é imediatamente (CAMPESTRINI, 2005).

Também aplicou-se glicerina pois os constituintes ósseos podem ser bem identificados com esse reagente, pois na sua maioria permanecem cheias de ar e surgem como buracos negros.

Peneirou-se a fração orgânica com o conjunto de quatro peneiras de malhas de 20, 40, 60 e o fundo onde encontrava-se a parte de menor granulometria e visualizou-se ao microscópio estereoscópico e ao microscópio óptico cada uma das partes individualmente. Nessa etapa foi verificada a possível contaminação de

cascos, chifres, pelos, penas, fibras musculares e outras partículas de carne, cartilagens, cerdas, espinhas ou escamas por exemplo, dispondo de materiais de referências, pode-se fazer comparações que indicavam a presença ou ausência de constituintes de origem animal.

Para as análises e identificação das amostra foi utilizado o microscópio estereoscópico (lupa) da marca Bel com aumento de 20 a 40 vezes, usado para partículas de maiores tamanhos. Também utilizou-se o microscópio óptico da marca Olympus modelo CX3, esse equipamento funciona com um conjunto de lentes (ocular e objetiva) que ampliam a imagem transpassada por um feixe de luz e proporciona um aumento de ate 1000 vezes. É utilizado para amostras a nível celular.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 mostra os resultados da fração mineral em gramas (g) obtida no teste do limite de detecção, realizadas em quatro vias das amostras onde a amostra 5 é o branco.

As médias dos dados do sedimento mineral obtidos nas amostras fortificadas e no branco indicam



pequenas variações na massa, podendo-se sugerir que as partículas ósseas representem pequena diferença percentual nas amostras íntegras. Assim, torna necessário o trabalho minucioso na observação microscópica. Conforme Baeten e Veys (2011) o

sedimento de uma ração composta por trigo, milho, farinha de soja, gordura vegetal, sais e vitaminas corresponde a 11 g.kg^{-1} que equivale a 0,2 g em 15 g, ou seja, dados semelhantes aos obtidos neste estudo.

Tabela 1 – Fração Mineral das amostras do teste de limite de detecção.

Vias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
1	0,239	0,243	0,266	0,314	0,233
2	0,126	0,144	0,241	0,137	0,311
3	0,247	0,267	0,284	0,276	0,215
4	0,279	0,213	0,265	0,214	0,303
Média	0,223	0,217	0,264	0,235	0,266

A presença de partículas ósseas foi identificada nas amostras 1 e 2. Na amostra 3 apenas uma via apresentou fragmentos de ossos. Já na amostra 4 não detectou-se fragmentos ósseos. Para confirmar o limite de detecção da técnica e avaliar a repetibilidade dos resultados utilizou-se uma amostra em branco e uma amostra branco fortificada com farinha de ossos separada em peneira de 1 mm na concentração de 0,1%. Conduziu-se 7 vias para ambas e realizou-se a contagem das partículas

quando presente. A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos.

Os dados indicam que nesta concentração é possível detectar a presença do contaminante, sendo este o limite de detecção do método. Observa-se também a importância de conduzir o ensaio em duplicata visto que em duas vias identificou-se apenas um fragmento ósseo. Conforme Raamsdonk et al. (2007), a rara presença de um partícula óssea em amostras branco não pode ser considerada positiva mas sim



assume-se ser contaminação laboratorial.

Tabela 2 – Número de partículas identificadas para o teste de repetibilidade dos resultados.

Vias	1	2	3	4	5	6	7
Branco	0	0	0	0	0	0	0
Amostra	7	1	7	5	5	8	1

Estes resultados concordam com os sugeridos pela Comunidade Europeia (2009) e com os resultados da validação da metodologia para ração bovina proposta por Sanches (2006). Identificou-se a presença de fragmentos escuros na porção orgânica de menor granulometria em todas as amostras incluindo a de menor concentração que continha 0,02 g de FV e de FP (0,4%) e 0,01g (0,02%) g de FS. Observou-se que as partículas de FS são de fácil identificação em função da coloração e para as partículas suspeitas provenientes das demais farinhas foi necessária a utilização de agentes de coloração como reagente para cistina e agente clarificador como hidróxido de potássio e/ou sódio, para a identificação das mesmas.

As farinhas de carne, de víscera, de penas e de sangue foram obtidas de

frigoríficos inspecionados pelo Ministério da Agricultura e que processam seus próprios resíduos nas fábricas de farinhas de origem animal.

As amostras de ração vegetal para aves de corte, objeto de estudos deste trabalho, analisadas apresentaram resultado negativo para presença de constituintes de origem animal, tanto na fração mineral como na fração orgânica. Tendo em vista que o método afirma que os cálculos só podem ser efetuados se os constituintes de origem animal contiverem fragmentos ósseos, expressou-se os resultados qualitativamente, ou seja, somente como ausência de constituintes de origem animal considerando limite de detecção como 0,1%.

Coletou-se três amostras de ração para aves de corte não denominadas como vegetal e



identificou-se a presença de constituintes de origem animal, ou seja, fragmentos ósseos.

Conclusão

O método de microscopia utilizado mostrou-se adequado para

estudar constituintes de origem animal, sendo fragmentos ósseos com um limite de detecção de 0,1% em rações para aves. Também foi possível observar que os produtores de rações analisadas estão cumprindo o proposto na legislação e não estão inserindo materiais contaminantes nas mesmas.

Referências Bibliográficas

AOAC. Official Methods of Analysis. Capítulo 4, p.68, 2006.

ARAÚJO, A. P. Ferramentas de controle de qualidade na indústria frigorífica de frango. 2010. 50 f. Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

BARBIERI, M. R.; ATHIÉ, I.; DE PAULA, D.C.; CARDOZO, G. M. B. Q. Microscopia em alimentos: Identificação histológica e material estranho. 2.ed. Campinas: Ital, 2001.

BELLAVER, C. Limitações e vantagens do uso de farinhas de origem animal na alimentação de suínos e de aves. Anais do 2º Simpósio Brasileiro Alltech da Indústria de Alimentação Animal; 2005; Curitiba, PR: Alltech.,

BELLAVER, C.; COSTA, C. A. F.; AVILA, V. S.; FRAHA, M.; LIMA, G. J. M. M.; HACKENHAR, L.; BALDI P. Substituição de farinha de origem animal por ingredientes de origem vegetal em dietas para frangos de corte. Ciência Rural, vol.35, nº3, p.671-677. 2005.

REVISTA ELETRÔNICA NUTRITIME – ISSN 1983-9006

www.nutritime.com.br

Pesquisa de constituintes de origem animal em rações em aves utilizando microscopia óptica
Artigo 198 - Volume 10 - Número 03 – p. 2390 – 2407 - Maio - Junho/2013



BLOCH, Carlos. Jr. Nova Tecnologia no combate ao “mal da vaca louca”. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, p. 2-5, Ed: n° 31, julho/dezembro 2003. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio31/entrevista_31.pdf> Acesso em 10 out. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa n° 69. Diário Oficial da União, Seção 1, de 24 de setembro de 2003. Brasília: 2003.

CABRAL, A.L.B. Estudo da regulação da expressão do gene da proteína príon celular. 2001. 100 f. Tese de doutorado – Bioquímica, Universidade de São Paulo Instituto de Química, São Paulo, 2001.

CAMPESTRINI, E. Farinha de carne e ossos. *Revista Eletrônica Nutritime*, v. 2, n°4, p.221-234, 2005.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL SINDIRAÇÕES: Guia de ingredientes e matérias primas, p. 35-43, 2009.

COMUNIDADE EUROPEIA. Diretiva 98/88/CE que estabelece linhas de orientação para a identificação e quantificação por estimativa, dos constituintes de origem animal por exame microscópico, no quadro do controlo oficial dos alimentos para animais. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 318, p. 45-50. Bruxelas: 1998.

COMUNIDADE EUROPEIA. Diretiva 2003/126/CE relativa ao método analítico para a determinação de constituintes de origem animal no quadro do controle oficial dos alimentos para animais. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 339, p. 78-84. Bruxelas: 2003.

COMUNIDADE EUROPEIA. Diretiva 152/2009/CE methods of analysis for the determination of constituents of animal origin for the official control of feed. Conditions for the microscopic detection, identification or estimation of constituents

REVISTA ELETRÔNICA NUTRITIME – ISSN 1983-9006

www.nutritime.com.br

Pesquisa de constituintes de origem animal em rações em aves utilizando microscopia óptica
Artigo 198 - Volume 10 - Número 03 – p. 2390 – 2407 - Maio - Junho/2013



of animal origin in feed. Jornal Oficial da União Europeia, L 54, p. 103-107. Bruxelas: 2009.

COTTA, T. Frangos de Corte: Criação, abate e comercialização. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003.

DALE , N. La Harina de Carne y Hueso: Segura y Eficiente. Indústria Avícola. Ed. Latino Americana de Poultry Internacional. V.49, n 4, p.18, 2002.

FUMIÈRE, O.; VEYS, P.; BOIX, A.; HOLST, C. von; BAETEN, V.; BERBEN, G. Methods of detection, species identification and quantification of processed animal proteins in feedingstuffs. Biotechnological 2009

MARTINS, Regina V. Prion Celular e Infeccioso. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. p.34-36. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio04/4hp_10.pdf> Acesso em: 10 out. 2012.

MARÍN, P. D.; FEARN, T.; GUERREIRO, E. P.; VARO, G. A. A methodology based on NIR-microscopy for the detection of animal protein by-products. Talanta, vol.80, p.48-53, 2009.

NEVES, W. A. E no princípio...era o macaco! Origem do Universo e do Homem. Estudos Avançados, p. 249-285, 2006.

OLIVO, R. O mundo do Frango: cadeia produtiva de carne de frango. Criciúma: Pallotti Editora. 2006.

PORTAL DO VALE DO TAQUARI, Repensando o Agro discute principais cadeias produtivas do VT. Disponível em:

REVISTA ELETRÔNICA NUTRITIME – ISSN 1983-9006 www.nutritime.com.br
Pesquisa de constituintes de origem animal em rações em aves utilizando microscopia óptica
Artigo 198 - Volume 10 - Número 03 – p. 2390 – 2407 - Maio - Junho/2013



<http://www.valedotaquari.org.br/pagina_agro_news.php?id=4365>. Acesso em: 12 nov. 2012.

RAAMSDONK, L.W.D.; HOLST, C. von; BAETEN, V.; BERBEN, G.; BOIX, A.; JONG, J. de. New developments in the detection and identification of processed animal proteins in feeds. *Animal and Feed Science Technology*, nº 133, p. 63-83, 2007.

SANCHES, R. L.; ALKMIN-FILHO, J. F.; DE SOUZA, S. V.C.; JUNQUEIRA, R. G. In-house validation of a method for detection of animal meals in ruminant feeds by microscopy. *Science Direct*. p. 85-92, 2006.

UBABEF. Relatório anual 2012. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=3293>>. Acesso em: 09/11/2012.