

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**JOSIANE APARECIDA VOLPATO**

**FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES E  
AVALIAÇÃO DE MÉTODOS RÁPIDOS PARA O CONTROLE DA QUALIDADE**

**Marechal Cândido Rondon**

**2021**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**JOSIANE APARECIDA VOLPATO**

**FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES E  
AVALIAÇÃO DE MÉTODOS RÁPIDOS PARA O CONTROLE DA QUALIDADE**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em “Produção e Nutrição Animal, para a obtenção do título de “Mestre em Zootecnia”.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho  
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

**Marechal Cândido Rondon**

**2021**

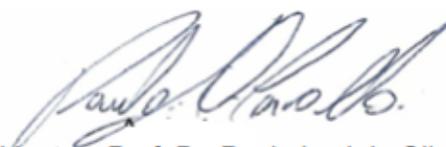
Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Vf	<p>Volpato, Josiane Aparecida Fatores que afetam a produção da farinha de vísceras de aves e avaliação de métodos rápidos para o controle da qualidade / Josiane Aparecida Volpato; orientador Paulo Levi de Oliveira Carvalho; coorientador Ricardo Souza Vasconcellos. - Marechal Cândido Rondon, 2021. 107 p.</p> <p>Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2021.</p> <p>1. Farinha de vísceras de aves. 2. Controle de qualidade. 3. Produção. I. Oliveira Carvalho, Paulo Levi de, orient. II. Vasconcellos, Ricardo Souza, coorient. III. Título.</p>
----	---

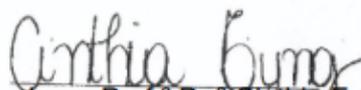
## **JOSIANE APARECIDA VOLPATO**

### **Fatores que afetam a produção da farinha de vísceras de aves e avaliação de métodos rápidos para o controle de qualidade**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de "Mestra em Zootecnia", Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Não-Ruminantes", APROVADA pela seguinte Banca Examinadora:



Orientador / Presidente – Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Membro – Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cinthia Eyng  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Membro – Prof. Dr. Diovani Paiano  
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Marechal Cândido Rondon, 7 de abril de 2021.



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho**, declaro como **ORIENTADOR** que presidi os trabalhos de defesa à distância, de forma síncrona e por videoconferência, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Josiane Aparecida Volpato**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, a apresentação e a arguição dos membros da Banca Examinadora, **formalizo como Orientador**, para fins de registro, por meio desta declaração, a decisão da Banca Examinadora de que a candidata foi considerada **APROVADA** na banca realizada em 07/04/2021, com o trabalho intitulado "**Fatores que afetam a produção da farinha de vísceras de aves e avaliação de métodos rápidos para o controle da qualidade**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Sem restrições.

**Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho** – ORIENTADOR/PRESIDENTE

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

*Modelo 2 – Para orientador(a) da Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE*



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**  
GOVERNO DO ESTADO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cinthia Eyng**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Josiane Aparecida Volpato**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Interno**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada APROVADA na banca realizada em 07/04/2021, com o trabalho intitulado “**Fatores que afetam a produção da farinha de vísceras de aves e avaliação de métodos rápidos para o controle da qualidade**”.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

*Cinthia Eyng*

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cinthia Eyng**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / *Campus* de Mal. Cândido Rondon  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46  
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>  
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000  
Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**  
GOVERNO DO ESTADO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Diovani Paiano**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Josiane Aparecida Volpato**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizoo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada APROVADA na banca realizada em 07/04/2021, com o trabalho intitulado “**Fatores que afetam a qualidade da farinha de vísceras e avaliação de novos métodos para o controle de qualidade em pet food**”.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Comentários e colaborações para o trabalho enviados em arquivo digital para o orientador da mestranda.

**Prof. Dr. Diovani Paiano**  
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Modelo 1 – Para membros de Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Amado e Esposo Jesus por guiar meus passos, Nossa Senhora de todos os títulos por me proteger com seu manto, ao meu Anjo da Guarda pela fiel companhia e por todos os meus santinhos lindos que intercedem por mim, em especial minha florzinha, Santa Terezinha e São João Paulo II por me adotar.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade de concluir o mestrado.

A Universidade Estadual de Maringá, pela parceria e acolhida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos colegas que me ajudaram nesse experimento Ingrid Caroline, Mônica Merenda, Leonir Ribeiro; Isabela Martins.

Aos meus pais, Ismael e Maria Gorete, por me esperar com paciência e orações, aos meus irmãos e sobrinhos que me fazem sentir feliz. Palavras não são suficientes para expressar minha gratidão, vocês são tudo para mim!

A minha irmã Fabiana por estar comigo através das orações.

A minha pequena Mariah, pelo amor puro que me fortaleceu nesse período.

Todos os meus amigos que se eternizaram durante meu caminho até aqui, em especial Silvana Teixeira Carvalho, Jakeline Vieira Romero, Denise Freitas, “Los Faiados” e “3 Marias e 12”.

Ao meu amigo-irmão e aqui meu Orientador e Professor Paulo Levi (Careca feio), Amo você!

Ao meu Coorientador Prof. Ricardo Souza Vasconcellos que é resposta de Deus às minhas orações para me ajudar a ser melhor como pessoa e como profissional. Obrigada por ser essa pessoa INCRÍVEL, sou sua fã!

Aos professores que repassaram seu conhecimento durante o período de formação.

Ao Leonir Palla, que me deu oportunidade da experiência profissional, meu coração é eternamente grato.

À equipe do grupo de pesquisa GEP's.

À equipe do Gatil da UEM – CENUFEL, pela acolhida, companheirismo e conselhos.

E, a todos aqueles, que de maneira direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta conquista. Muito obrigada!

## **BIOGRAFIA**

JOSIANE APARECIDA VOLPATO, filha de Ismael Volpato e Maria Gorete Pereira Volpato, nasceu na cidade de Naviraí-MS, em 27 de setembro de 1980.

No ano de 1997, ingressou no Colégio João Magiano Pinto, concluindo o Ensino Médio, antigo Colegial.

No ano 2000, ingressou na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - UEMS, para a obtenção do título de Zootecnista, concluindo em 2005.

No ano 2007 trabalhou na Bovitel como Gerente de Controle de Qualidade para fabricação de ração e sal mineral.

No ano de 2010, começou a trabalhar na Nutritop como Responsável pelo Controle de Qualidade e em 2012 assumiu a Responsabilidade Técnica da mesma empresa e da filial do Rio de Janeiro (Tuko Pirai).

Em dezembro de 2015, iniciou uma especialização em Nutrição de Cães e Gatos pelo Instituto Qualittas, concluindo em 2017.

Em março de 2018, iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Nível de Mestrado, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Campus de Marechal Cândido Rondon - PR, na área de Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia, submetendo-se aos exames finais de defesa de dissertação em 2021.

## FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES E AVALIAÇÃO DE MÉTODOS RÁPIDOS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE

**RESUMO:** Farinha de Vísceras de Aves (FVA) é uma das principais fontes proteicas utilizadas na fabricação de ração para animais e alimentos *pet*. Porém, a qualidade da FVA ainda não é padronizada e muitos fatores interferem nesse controle. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar os fatores que afetam a qualidade das FVA do processamento na indústria ao produto acabado concomitantemente avaliar e validar novos métodos de controle de qualidade. Durante o processamento foram medidas a temperatura do digestor, pressão e o tempo de processamento. No produto acabado foram analisadas o teor de MS, a atividade de água, crescimento microbiano, residual de antioxidantes sintéticos, coloração, concentração de aminas biogênicas (Histamina), e hidroxiprolina (Colágeno Total) que foram consideradas como variáveis independentes e a sua relação com a oxidação proteica e digestibilidade *in vitro* da FVA, consideradas como variáveis dependente, que foram: Os resultados obtidos foram analisados por Análise Multivariada e para isto, as variáveis independentes foram submetidas a uma Análise Fatorial Exploratória e agrupadas, e, então verificadas as influências das variáveis independentes (fatores) sobre a oxidação proteica e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica. Todos os resultados foram considerados significativos a 5% de probabilidade. Na segunda etapa (validação de metodologias) dentre as análises propostas, as aminas biogênicas foram analisadas pelo método convencional de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e correlacionada com o Kit Elisa (teste rápido) de Histamina. O Kit Elisa teve alta correlação com o a metodologia de HPLC, porém, não apresentou boa estimativa. O processamento não influenciou na Digestibilidade *in vitro* nem na Oxidação proteica e a matéria-prima foi a principal componente de qualidade que diferencia o tipo de FVA fabricada, *low* e *high ash*.

**Palavras-chave:** colágeno, colorimetria, graxaria, oxidação proteica, *pet food*

## **FACTORS THAT AFFECT QUALITY OF POULTRY OFFAL MEAL AND EVALUATION OF NEW METHODS FOR QUALITY CONTROL**

**ABSTRACT:** Poultry by-product meal (PBM) is one of the main protein sources used in pet food manufacturing. However, the poultry offal meal quality is not yet standardized and many factors interfere in this control. Considering that, the objective of this work is to analyze the factors that affect the PBM quality from processing in industry to the finished product and evaluation new quality control methods. In the processing, the digester temperature, pressure, processing time were measured. In the finished product, the bromatological composition, humidity, water activity, residual synthetic antioxidants, coloring, concentration of biogenic amines (Histamine) and hydroxyproline (Total Collagen) were analyzed. These are considered independent variables in the study and their relationship with two dependent variables has been studied, which are: protein oxidation and *in vitro* digestibility of PBM. For the analysis of results the Multivariate Analysis was used, for this, the independent variables were submitted to an Exploratory Factor Analysis and grouped. Then the dependent variables were grouped by means of hierarchical clusters and the influences of the independent variables (factors) on the products of protein oxidation and *in vitro* digestibility of organic matter were verified. All results were considered significant at 5% probability. Among the proposed analyzes, the biogenic amines were validated using the High Efficiency Liquid Chromatography (HPLC) as a conventional method to correlate with the Histamine Elisa Kit (rapid test) and the effect of temperature on protein oxidation using the method Spectrofluorimetry was evaluated. Processing did not influence *in vitro* digestibility or protein oxidation. This study showed that the studied plant presents good process conditions without interfering in the PBM quality, being the raw material the main quality component in which it differentiates the type of PBM manufactured, low and high ash.

**Key words:** collagen, colorimetry, grease, protein oxidation, pet food

## LISTA DE FIGURAS

### Revisão Bibliográfica

Figura 1. Fluxograma da Linha de Produção de FVA.....23

### Capítulo 1 - Fatores de produção que afetam a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica e a oxidação proteica da farinha de vísceras de aves

Figura 1. Temperatura média final do processo na obtenção das FVA dos digestores.....54

Figura 2. Valores da digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) dos dois tipos de FVA. ....55

Figura 3. Relação entre tempo de processamento e valores de proteína bruta, matéria mineral e digestibilidade *in vitro* das FVA.....56

### Capítulo 2 - Avaliação de métodos rápidos de controle de qualidade para farinha de vísceras de aves

Figura 1. Análise gráfica da avaliação do teste de concordância entre os valores de cor e de farinhas de vísceras low ash (A) e high ash (B) por cálculo de delta E ( $\Delta E$ ) e por análise visual (AV): Reta da condição ideal (em preto) e modelo 1º grau dos valores calculados de ( $\Delta E$ ) sobre os mensurados por AV (em vermelho).....74

Figura 2. Análise gráfica da avaliação do teste de concordância entre os valores de histamina mensurados por HPLC e por Kit Elisa: Reta da condição ideal (em preto) e modelo de 1º grau dos valores de histamina mensurados por HPLC sobre os mensurados por kit Elisa (em vermelho).....78

## LISTA DE TABELAS

### Revisão Bibliográfica

Tabela 1. Composição químico-bromatológica da Farinha de Vísceras.....25

### Capítulo 1 - Fatores de produção que afetam a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica e a oxidação proteica da farinha de vísceras de aves.

Tabela 1. Estatística descritiva da Composição bromatológica das Farinhas de Vísceras de Aves (FVA). .....49

Tabela 2. Componentes principais (CP) e porcentagem da variância explicada pelos componentes (% var. CP) das variáveis de processo.....50

Tabela 3. Autovetores associados à Análise Fatorial das características das matérias-primas, parâmetros de processo e qualidade da Farinha de Vísceras de Aves (FVA). .....51

Tabela 4. Valores de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), após agrupamento para os Indicadores Fatoriais dos Componentes Principais e das Variáveis independentes. ...52

Tabela 5. Valores de Proteína Carbonilada (Oxidação Proteica), após agrupamento para os Indicadores Fatoriais dos Componentes Principais e das Variáveis independentes.....57

### Capítulo 2 - Avaliação de métodos rápidos de controle de qualidade para farinha de vísceras de aves

Tabela 1. Valores das Variáveis de cor obtidas pelo Colorímetro e Análise Visual das Farinha de vísceras de aves.....73

Tabela 2. Valores observados de histamina (mg/kg) em amostras de farinha de vísceras de aves *low* e *high ash* mensuradas por HPLC e ELISA.....77

Tabela 3. Valores médios de concentração de histamina medida por HPLC (Y) e por Kit ELISA (X), desvios-padrão amostral (s) e populacional ( $\sigma$ ), erros-padrão da média (EPM), valores mínimos e máximos, coeficiente de variação (CV (%)) e índices de precisão, exatidão e acurácia do modelo.....79

### Capítulo 3- Caracterização das variações no processamento industrial e na composição química de farinhas de vísceras de aves

Tabela 1. Estimativas das médias populacionais na amostra original (*mLA* e *mHA*) e nas 1000 amostras bootstrap (*mLA \** e *mHA \**), estimativas para o viés da média (*BLAm* e *BHAm*) e do desvio-padrão (*BLAs* e *BHAs*) para características de composição química, qualidade nutricional, em farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo *low ash* (LA) e *high ash* (HA). ..95

Tabela 2. Intervalos de confiança (IC) da média populacional estimados por diferentes métodos e probabilidade de significância do IC da diferença entre médias ( $P_{IC\ DIF}$ ) para características de

composição química, qualidade nutricional, em farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo <i>low ash</i> (LA) e <i>high ash</i> (HA).....	96
Tabela 3. Estimativas das médias populacionais na amostra original ( <i>mLA</i> e <i>mHA</i> ) e nas 1000 amostras bootstrap ( <i>mLA *</i> e <i>mHA *</i> ), estimativas do viés entre médias ( <i>BLAm</i> e <i>BHAM</i> ), estimativas do desvio-padrão na amostra original ( <i>S<sub>LA</sub></i> e <i>S<sub>HA</sub></i> ) e do desvio-padrão médio nas 1000 amostras bootstrap ( <i>sLA *</i> e <i>sHA *</i> ) e estimativas do viés entre desvio-padrão e desvio-padrão médio ( <i>BLAs</i> e <i>BHAs</i> ) para características mensuradas nas plantas de processamento de farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo <i>low ash</i> (LA) e <i>high ash</i> (HA).....	97
Tabela 4. Intervalos de confiança (IC) da média populacional estimados por diferentes métodos e probabilidade de significância do IC da diferença entre médias (PIC_DIF) de características mensuradas nas plantas de processamento de farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo <i>low ash</i> (LA) e <i>high ash</i> (HA).....	98

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
2.1 Farinha de Origem Animal - FOA .....	19
2.2 Fatores relacionados à qualidade.....	20
2.2.1 Matéria-prima (MP) .....	20
2.2.2 Processo Produtivo .....	22
2.2.3 Controle de qualidade .....	24
2.2.4 Aditivos Tecnológicos .....	27
2.2.5 Oxidação Lipídica e proteica das Farinhas de origem animal .....	27
2.3 Métodos de Avaliação de controle de Qualidade.....	30
2.3.1 Histamina.....	30
2.7.2 Análise de cor.....	31
2.8 Referências.....	34
3. FATORES DE PRODUÇÃO QUE AFETAM A DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DA MATERIA ORGÂNICA E A OXIDAÇÃO PROTEICA DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES .....	43
3.1 Introdução .....	45
3.2 Material e Métodos .....	46
3.3 Resultados e Discussão.....	49
3.4 Conclusão .....	59
4 AVALIAÇÃO DE MÉTODOS RÁPIDOS DE CONTROLE DE QUALIDADE PARA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES.....	65
4.1 Introdução .....	67
4.2 Material e Métodos .....	68
4.3 Resultados e Discussão.....	72
4.4 Conclusão .....	81
4.5 Referências .....	83
5 CARACTERIZAÇÃO DAS VARIAÇÕES NO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL E NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE FARINHAS DE VÍSCERAS DE AVES...	88
5.1 Introdução .....	90
5.2 Material e Métodos .....	91
5.3 Resultados e Discussão.....	94

5.5 Conclusão .....	102
5.6 Referências .....	103
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	107

## 1 INTRODUÇÃO

Em 2015, a população nacional de cães era de 52,2 milhões e de gatos 22,1 milhões (IBGE, 2015), e, em 2018 esse levantamento foi atualizado pelo Instituto *Pet* Brasil, e a população de cães ascendeu para 54,2 milhões e gatos para 23,9 milhões, e faz o Brasil ocupar a segunda maior população de cães e gatos do mundo, aumentando a produção de rações para atender o crescimento.

As farinhas de origem animal (FOA) são as fontes proteicas mais utilizadas nas rações para *pet*, e a inclusão além de agregar valor nutricional também contribuiu para redução do impacto ambiental causada por resíduos da indústria frigorífica (CORTELINI et al., 2015).

Dentre as FOA, a Farinha de Vísceras de Aves (FVA) é utilizada nas formulações de rações para cães e gatos em função do seu valor proteico e facilidade de aquisição. O processo de fabricação FVA está diretamente relacionado com a fabricação do óleo de vísceras. O método depende da estrutura da graxaria, que varia de acordo com o número de aves abatidas diariamente, do grau de automatização e da política adotada pelo frigorífico (FERROLI et al., 2001).

Na fabricação dos alimentos comerciais, os nutrientes podem ser integrados a partir do número de diferentes ingredientes, que por sua vez, podem variar quanto à forma e a qualidade (CASE et al., 2000). As proteínas de um alimento para cães e gatos podem ser de origem animal, vegetal ou uma mistura de ambas. Em geral, as proteínas de origem animal podem proporcionar um equilíbrio superior de aminoácidos para os animais domésticos em comparação com as proteínas de origem vegetal, no entanto, a fonte proteica de origem animal pode variar de baixa a excelente, dentro da sua origem.

Um dos principais problemas que as indústrias *pet food* enfrentam é a falta de uniformidade e padronização nos diversos ingredientes, principalmente com os subprodutos de origem animal, visto que, as variações entre e dentro das unidades de processamento são fundamentais para garantir a qualidade do produto (SEIXAS et al., 2003; MEEKER e HAMILTON, 2006; CAMPOS et al., 2019). Dependendo do fornecedor essas matérias-primas apresentam valores nutricionais diferentes, sem especificar, por exemplo, a classificação da FVA em teores de cinzas, e, além de alguns fornecerem farinhas com moagem mais grossa que podem prejudicar a homogeneidade da mistura com os demais ingredientes no misturador (SAENSUKJAROENPHON, et al., 2019).

Grandes variações de qualidade podem ser verificadas entre diferentes produtores e mesmo entre partidas de uma mesma empresa (KAWAUCHI et al., 2014). Apesar da

qualidade das FOA é notável a facilidade da ocorrência de contaminação bacteriana quando há falhas nas boas práticas de contaminação, presenças de amins biogênicas, possibilidade da presença de *prions* causadores de encefalopatias espongiformes, composição química, digestibilidade dos aminoácidos e da energia e características sensoriais (LEIVA et al., 2018), visto então, a necessidade de realizar periodicamente análises para controle de qualidade das FOA.

A padronização do processo produtivo nas indústrias de subprodutos de origem animal seria o ideal e necessário. Porém, é um trabalho que contém variáveis que dependem do número de aves abatidas no frigorífico *versus* tempo de produção da fábrica, podendo acumular material *in natura* ou faltar matéria-prima para carregar o digestor. Os resíduos gerados no abate de frango impróprios para o consumo humano são de responsabilidade do frigorífico e tais resíduos precisam ser armazenados e processados de forma correta, evitando a eliminação na natureza para garantir a segurança tanto na saúde pública quanto ambiental (BASKIN-GRAVES et al., 2019;). Em 2019, a produção de FVA foi de 3,60 milhões toneladas (ABRA, 2020), desses, boa parte são destinados às indústrias de *pet food*.

Os valores obtidos em relação à composição química dos alimentos disponíveis no Brasil apresentam grande variação quando se trata de subprodutos. Esta variação pode ser atribuída a diferentes fatores no processamento dos subprodutos disponíveis para a utilização na indústria de rações, em função da diversidade de alimentos que precisam ser estudados (FERNANDES, 2016). Segundo o mesmo autor, durante o processamento e armazenamento dos produtos de origem animal, é possível que ocorram alterações químicas na estrutura dos lipídeos e a rancidez é uma das mais importantes, pois afeta diretamente a aceitabilidade do alimento pelos animais.

Diante do exposto, o objetivo com a realização do trabalho foi determinar os fatores relacionados à matéria-prima *in natura*, processamento industrial e características do produto acabado que afetam a qualidade nutricional da farinha de vísceras de aves, bem como a oxidação proteica e avaliar novos métodos de controle de qualidade deste ingrediente.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

O Brasil a cada ano tem demonstrado seu potencial produtivo na produção e abate de animais, e o configura como grande produtor de proteína animal, entre os principais líderes

mundiais na produção de carne bovina, suína e aves desconsiderando, a produção de pescados (IBGE, 2020; MAPA, 2019).

As farinhas de subprodutos de origem animal (FOA), em especial a FVA é uma matéria-prima utilizada com frequência nas formulações dos alimentos para os animais não ruminantes por possuírem vantagens nutricionais e econômicas desde que sua qualidade esteja assegurada (ISLAM e HAQUE, 2016; LEIVA et al., 2019). As fábricas de FOA também conhecidas como graxarias, processam todo o material não aproveitado para o consumo humano que no início do século XX eram enterrados ou jogados nos rios (FERROLI, 1999).

## 2.1 Farinha de Origem Animal - FOA

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, define através da Instrução Normativa 34/2008 o Regulamento Técnico da Inspeção Higiênico Sanitária e Tecnológica do Processamento de Resíduos de Animais. Resíduo são carcaças ou partes de carcaças de animais, não destinados ao consumo humano, ossos, penas, sangue e vísceras permitidos para uso em farinhas e produtos gordurosos. Butolo (2010) relata que, de forma geral, a cadeia produtiva de aves gera grande quantidade de subprodutos que podem originar diversas fontes de FOA com uso na alimentação animal desde que processados corretamente, os quais são:

- a) Farinha de penas e vísceras;
- b) Farinha de penas hidrolisadas;
- c) Farinha de vísceras;
- d) Farinha de resíduos de incubatório;
- e) Farinha de vísceras com osso;
- f) Farinha de vísceras com osso e resíduos de incubatório;
- g) Farinha de carne de frango.

A Abinpet (2019) através do Manual Pet Food Brasil, descreve o processamento de cada FOA e especifica a Farinha de Vísceras de Aves (FVA) com três definições, sendo elas:

- 1) Farinha de Vísceras Standard (High Ash): produto resultante do processamento de vísceras de aves, sendo permitida a inclusão de cabeças e pés. Não sendo permitida a inclusão de penas, resíduos de incubatório e outras matérias-primas estranhas a sua composição. Não deve apresentar contaminação com casca de ovo.

- 2) Farinha de Vísceras *low Ash*: produto composto por papo, traqueia, esôfago, intestinos, cloaca, órgãos reprodutores, bile, pulmão e pele. Não contendo partes ósseas.
- 3) Farinha de Vísceras com ossos: é o produto semelhante à farinha de vísceras com a inclusão de ossos e cartilagens obtidos como resíduos da carne mecanicamente separada (CMS).

Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2017), a farinha de vísceras de aves é o produto resultante da cocção, prensagem e moagem de vísceras de aves, sendo permitida a inclusão de cabeças e pés. Não deve conter penas, exceto aquelas que podem ocorrer não intencionalmente, nem resíduos de incubatório e outras matérias estranhas a sua composição, bem como microrganismos patogênicos.

O Brasil abateu em 2020 mais de 5 bilhões de frangos, que resultou em mais de 2 (dois) milhões de toneladas de subprodutos, com rendimento de 580 mil toneladas de FVA IBGE (2020). De acordo com a Associação Brasileira de Reciclagem Animal (ABRA, 2016) nos abates de aves são destinados para reciclagem 16% de subprodutos não comestíveis. Assim, é possível calcular a estimativa de oferta desses subprodutos produzidos no país, com o abate de aves nos frigoríficos, então, nos anos de 2018 e 2019, reciclou-se a cerca de 4,5 milhões de toneladas de subprodutos.

Os óleos são produzidos concomitantemente com as farinhas, utilizando as mesmas matérias-primas e maquinários, porém com rendimento de 20% quando oriundo das vísceras de aves e 5% do resíduo de CMS (ABRA, 2016).

## 2.2 Fatores relacionados à qualidade

### 2.2.1 Matéria-prima (MP)

Matéria-prima sem controle de qualidade compromete o resultado do produto acabado, ou seja, a obtenção de uma farinha em não conformidade com os padrões esperados do mercado ou mesmo da própria produção visto que grandes quantidades de farinhas são produzidas pelas indústrias com variações na qualidade (BRYAN e CLASSEN, 2020).

De acordo com o Art. 43 na IN 34 de 29 de maio de 2008 do Ministério da Agricultura, os resíduos animais devem ser processados em, no máximo 24 (vinte e quatro) horas a partir da colheita ou abate” e no parágrafo único do mesmo artigo: “O tempo entre a colheita e o início

do processamento pode ser aumentado durante o transporte ou armazenamento quando for realizado em temperatura de resfriamento”. A instrução normativa em si não especifica as condições higiênicas e a qualidade desses resíduos. Porém, se estas forem seguidas contribuem para diminuir os riscos de contaminações e aumentar as chances de obtenção de um controle de qualidade efetivo da matéria-prima até o produto acabado.

Medidas preventivas, como Boas Práticas de Fabricação ou APPCC, devem ser tomadas a fim de evitar quaisquer contaminações, sejam de origem química, física ou microbiológica nas diversas fases do processamento, pois quanto maior o tempo de espera na utilização do material *in natura*, menor será a qualidade da FVA. Para que a FVA se enquadre em uma qualidade higiênico-sanitária adequada é preciso que todas as operações de processamento, inclusive do acondicionamento ocorra sem demoras indesejáveis e em condições que minimize contaminação, deterioração e proliferação de microrganismos. Mesmo com os avanços tecnológicos, as FVA são frequentemente propícias à proliferação de microrganismos, especialmente as dos gêneros *Salmonella* e *Clostridium* (MAZUTTI et al., 2010; CARDOZO et al., 2012; LEIVA et al., 2018).

As altas temperaturas utilizadas no processo de fabricação eliminam praticamente toda possível contaminação microbiana existente antes do processamento térmico, senão todas. No entanto, a qualidade da farinha pode ser prejudicada pela contaminação cruzada através do manuseio transporte, más condições de equipamentos e higienização inadequados, os quais devem ser rigorosamente controlados pela aplicação correta das Boas Práticas de Fabricação (GONG e JIANG, 2017). O estabelecimento deve garantir a ausência de *Salmonella sp* em amostras de 25 g da FVA (BRASIL, 2008).

Quando se trata do tipo e qualidade do subproduto, o artigo 46 da mesma IN 34 do Ministério da Agricultura, supracitado, descreve que “Fica proibida a utilização de pelos, cerdas, cascos, chifres, sangue, fezes, conteúdo estomacal, resíduos animais abatidos em estabelecimentos não autorizados e materiais especificados de risco, como resíduos animais para o processamento de farinhas de carne e/ou ossos ou produtos gordurosos”. Seguido de seu parágrafo 1º que diz “O estabelecimento processador deve adotar medidas preventivas e corretivas para evitar a presença de materiais impróprios nas matérias-primas destinadas à elaboração das farinhas e produtos gordurosos”.

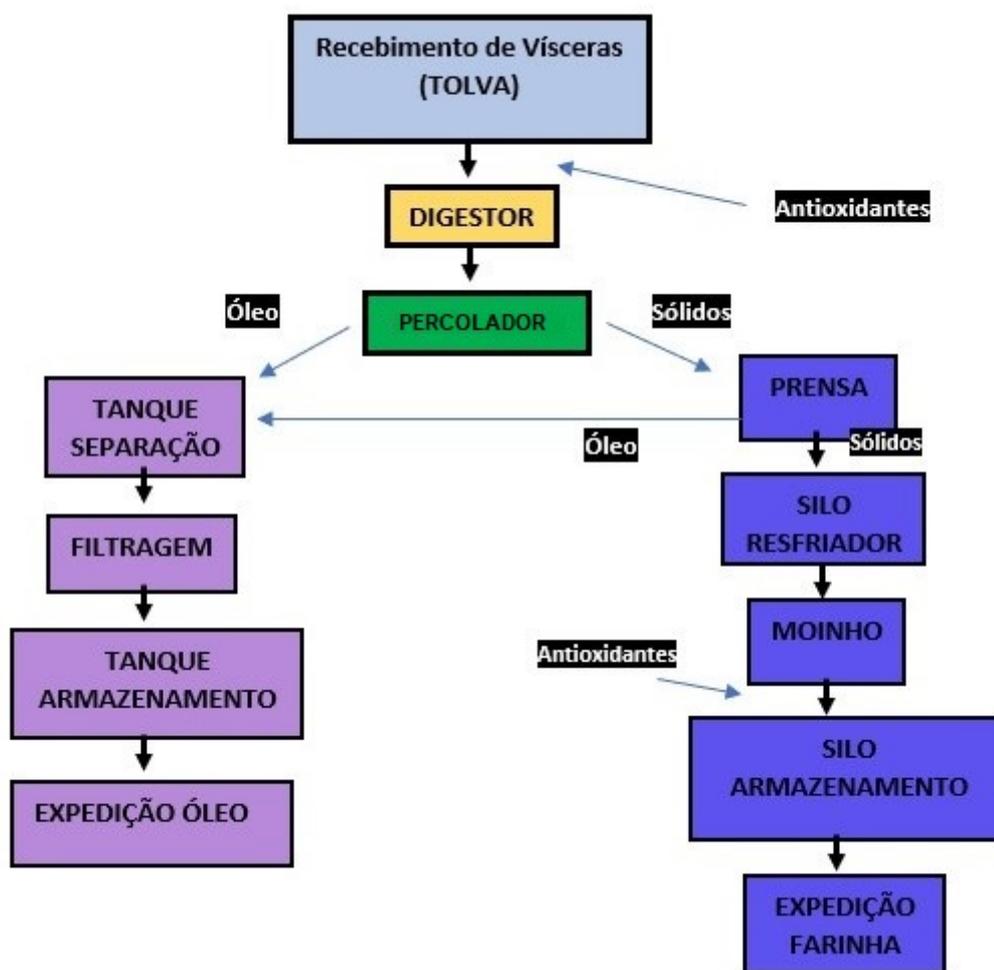
Essas medidas devem ser tomadas para evitar variações nos níveis de garantia do produto, visto que, podem ocorrer em função das condições em que os subprodutos utilizados no processo de fabricação da farinha se encontram, assim como as condições dos equipamentos, tempo e temperatura do processo a que são submetidos (SHIRLEY e PARSONS, 2000). A

padronização da composição química das FVA é uma característica de difícil manutenção, com quantidades variáveis nos três nutrientes principais: proteínas, lipídios e cinzas, possivelmente pela precibibilidade e variabilidade inerente das matérias-primas, representando um grande desafio para o processamento das FVA (MEKONNEN, et al., 2014).

### 2.2.2 Processo Produtivo

O processamento de FVA é um conjunto de etapas em que o controle do processo e qualidade de sua matéria-prima devem ser monitorados, como temperatura ambiente e de processo. As vísceras oriundas do abate das aves devem ser processadas no mesmo dia, ou no máximo em 24 horas conforme regulamenta a Instrução Normativa 34 de 2008. Entretanto, um dos grandes entraves verificados nas graxarias é o tempo de espera desse material que pode ultrapassar o tempo regulamentado pelo MAPA pelos diversos fatores, tais como, atraso no processamento das FVA, quebra de equipamento, ou até mesmo aumento no abate.

Todo conteúdo visceral, não destinado ao consumo humano, é transportado do frigorífico e/ou abatedouro para a área de produção de FVA e ficam armazenados em um silo denominado tolva até o carregamento do digestor que visa o cozimento dessa massa visceral por um tempo médio de 60 a 90 minutos. A tolva é um silo com a função de receber diretamente do frigorífico interligado ou de frigoríficos distantes o material descartado (resíduos) e armazenado até o momento que será utilizado para carregar o digestor. O digestor é o principal equipamento de uma graxaria, cujas funções são a cocção e a desidratação dos subprodutos animais produzindo óleo e a torta, que será moída para obtenção da farinha (GOODING E MEEKER, 2016). Após esse tempo, o digestor é aberto e o material é depositado no percolador que separa por gravidade parte do óleo da massa. Do percolador a massa segue para a prensa e posteriormente para o silo resfriador e para a moagem, a partir da qual se obtém o produto acabado que será armazenado no silo de estocagem do produto acabado (Figura 1) (OCKEMAN E HANSEN, 1994; FERROLI et al., 2001; ABINPET, 2017).



**Figura 1.** Fluxograma da Linha de Produção de FVA.  
 Fonte: Adaptado de Abinpet (2017).

No percolador o produto processado nos digestores de vísceras, é separado em óleo com a utilização de uma peneira e possui tamanhos diferentes conforme a quantidade de digestores instalados na fábrica para que o processo seja um ciclo contínuo. A massa retida no percolador é encaminhada para a prensa cuja função é retirar o máximo de óleo através da prensagem. A alimentação é forçada por uma helicóide vertical, que segue para o resfriador, que são caixas de passagem para resfriar a torta, nome dado a massa depois que prensada, antes da moagem. O moinho, que possui um eixo com martelos que gira em alta rotação para a redução de partículas, transforma a torta em farinha de vísceras com granulometria adequada para obtenção final do produto que serão armazenados em silos.

A capacidade da fábrica de FVA é diretamente relacionada com a capacidade e produtividade do digestor, se algum problema acontecer que impeça o abastecimento ou que aumente o tempo de processamento, o tempo de espera do material *in natura* será maior, com comprometimento da qualidade podendo afetar a sequência produtiva da fábrica. O

processamento deve ter a temperatura e pressão monitorada para evitar ou minimizar o comprometimento da qualidade dos nutrientes da farinha no final do processo (BUTOLO, 2010). Os fatores, tempo, temperatura e pressão podem variar, dependendo das condições do material *in natura*, da quantidade da carga e pressão no digestor, que dependerá da alimentação da caldeira.

São considerados normais os tempos de processamento para digestores com capacidade de 5000 litros de 140 minutos, 90 minutos para digestores com capacidade de 3500 litros (FERROLI et al., 2001) e 106°C a uma pressão de 5,5 kgf/cm<sup>2</sup> por um tempo de 70 minutos segundo Sabino e Finzer (2006). A medida do óleo em relação à quantidade da carga no digestor deve ser correta para evitar que as vísceras atinjam o ponto antes ou depois do tempo esperado. O excesso de óleo pode deixar a farinha muito pastosa e sobrecarregar a prensa, dependendo do nível de oleosidade, pode causar entupimento no alimentador da prensa e sobrecarregar o eixo, podendo até danificar o equipamento (FERROLI, 2001).

### 2.2.3 Controle de qualidade

A nutrição dos animais no Brasil está em adequação conforme às exigências de mercado e em função das suas necessidades e objetivos, principalmente quando se trata de nutrição para *pet*.

As tecnologias no processamento dos alimentos e fabricação de rações avançou com o aumento da produtividade, minimizou as perdas de nutrientes e gerou valor agregado com a formulação de produtos diferenciados, com forte tendência de garantir o Brasil como o maior produtor de ração no mundo (COFFEY et al., 2016). Segundo o mesmo autor, as vantagens da formulação com farinhas animais envolvem a redução dos custos de produção de rações e conseqüentemente da produção animal, visto a razão custo-benefício que essas farinhas oferecem, assim como a geração de empregos e a conservação ambiental com a reciclagem dos resíduos do abate animal.

As FVA são muito utilizadas como ingredientes alternativos nas indústrias de rações para *pet*, aves, suínos e outras espécies não ruminantes por sua disponibilidade de nutrientes (Tabela 2). De acordo com o Sindicato das Indústrias de Rações (SINDIRAÇÕES, 2020) no primeiro trimestre de 2020 para a nutrição de frangos de corte e poedeiras a produção de ração somou 10,4 milhões de toneladas. A suinocultura demandou 4,1 milhões de toneladas de ração. Aquicultura e *pets* somaram 965 mil toneladas de rações. Para essa produção, o uso estimado

de farinhas de origem animal nas formulações das rações para frangos de corte foi de 45%, poedeiras 7%, suinocultura 21%, *pet* 17%, Aquacultura 9% e até 1% para as demais espécies não ruminantes.

O custo com a nutrição corresponde a cerca de 67% para frangos de corte e 76% para produção de suínos, segundo a CIAS (2019). Para a indústria de ração *pet*, o que mais encarece o quilo da ração produzida é a energia consumida com os maquinários, porém, é na formulação que se busca reduzir esse custo, e essa redução se faz com os alimentos que podem ser substituídos. Dentre esses alimentos, está a FVA que tem variação no preço de acordo com o fornecedor e a qualidade da farinha.

A composição bromatológica da FVA apresenta variação de acordo com alguns autores (Tabela 1). Essas variações podem estar associadas ao controle de qualidade da matéria-prima (subprodutos) e aos métodos utilizados no processamento para a produção da FVA (ALBINO e SILVA, 1996).

Tabela 1. Composição químico-bromatológica da Farinha de Visceras.

	Matéria Seca (%)	Proteína Bruta (%)	Matéria Mineral (%)	Extrato Etéreo (%)	Energia Bruta (kcal/kg)
Pesti et al. (1986)	93,53	62,94	14,14	13,04	4.863,26
Hamilton (2002)	NI	60,00	NI	13,00	3120,00
Yamka et al. (2003)	NI	69,30	9,00	11,60	NI
CBA A (2004)	92,80	58,69	NI	NI	4744,00
Furuva et al. (2010)	93,00	57,70	15,20	14,20	4750,00
Ockerman e Basu (2014)	94,00	65,00	11,00	12,00	NI
Rostagno et al. (2017)	NI	55,00	15,00	10,00	NI
Park et al. (2020)	93,30	50,00	29,00	15,9	4080,00
Donadelli et al. (2019)	94,64	67,66	10,54	13,56	NI
Donadelli et al. (2019)	95,91	66,89	15,33	12,68	NI

NI= não informado.

Os fatores de maior relevância que influenciam a qualidade das FVAs, desde o processamento ao produto acabado, podem ser divididos em duas categorias: as que estão relacionadas à matéria-prima, incluindo a origem da matéria-prima, o tempo entre o sacrifício das aves e o processamento da farinha, as contaminações (química, física ou microbiológica),

tipo e qualidade do subproduto, composição química, etc.; e os fatores que estão relacionados ao processo, como: equipamentos, temperatura, tempo no digestor, pressão, aditivos tecnológicos, relação entre a quantidade de óleo na fritura x quantidade de material *in natura*, grau de oxidação, degradação dos materiais, umidade, moagem (textura), armazenagem, índice de peróxido, dentre outros (ZAREI et al., 2014).

O valor proteico das FVA faz desse ingrediente um dos principais utilizados na alimentação de cães e gatos. A qualidade nutricional pode estar condicionada aos fatores do processamento, principalmente o tempo e temperatura de processo, as condições de frescor da matéria-prima utilizada para a fabricação da FVA e o teor de cinzas podem ser os principais fatores que afetam negativamente a digestibilidade dos aminoácidos desse ingrediente (RIBEIRO, 2019).

O processo pode ser altamente variável de lote a lote entre os fornecedores, e pode resultar em geração de produtos de reação de *Maillard* (hidrometilfurfural, melanoidinas) com menor digestibilidade dos aminoácidos, oxidação das proteínas, peroxidação das gorduras, dentre outros. No entanto, a análise da composição nutricional da FVA não determina seu valor biológico nem os fatores que resultam negativamente na digestibilidade da FVA (LEWIS et al., 2019).

A qualidade dos ingredientes pode ser avaliada através da digestibilidade e a técnica *in vivo* é a melhor maneira para analisar. Porém, é um método demorado, caro e em muitas vezes requer habilidades do pesquisador em coletar as fezes (TIBETTS et al., 2011). A digestibilidade *in vitro* é uma alternativa que visa uma análise mais rápida e com resultados bem próximos que permitem avaliar a qualidade e digestibilidade tanto como na técnica *in vivo* (HERVERA et al., 2007; BIAGI et al., 2016; GODOY et al., 2016).

Em alguns estudos, a digestibilidade da proteína das FVA variou de 74 a 89% (ZUO et al., 1996; MURRAY et al., 1997; JOHNSON et al., 1998; RIBEIRO et al., 2019). Em dietas para cães e gatos que contêm proteína de origem animal, acredita-se no melhor aproveitamento nutricional quando comparado a proteínas de origem vegetal (CASE et al., 2000). Entretanto, a qualidade das proteínas de origem animal é bastante variável pela própria matéria-prima conter diferenças nas proporções de osso, tecidos, pelo processamento ou na combinação de ambos: matéria-prima e processamento (HENDRIKS, et al., 2002; ASPEVIK et al., 2017).

#### 2.2.4 Aditivos Tecnológicos

De acordo com a Instrução Normativa n. 13 (IN 13), diz que os aditivos utilizados em produtos destinados à alimentação animal “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais saudios ou atenda às necessidades nutricionais” (BRASIL, 2004).

Os aditivos tecnológicos são classificados pela mesma IN 13 em grupos funcionais de acordo com o emprego que cada um desempenha no alimento, como por exemplo, os antioxidantes cuja função é “prolongar o período de conservação dos alimentos e das matérias-primas para alimentos, protegendo-os contra a deterioração causada pela oxidação”. Ou seja, contribuem para o prolongamento da vida útil ou do tempo de conservação dos diversos tipos de alimentos (TUCKER, 2002).

Para que os antioxidantes sejam adicionados aos alimentos devem ser eficientes em baixas concentrações e resistentes ao processo que os alimentos forem submetidos, assim como ao tempo de armazenamento, devem ser lipossolúveis para proteger as membranas das células e não mudar as características organolépticas dos alimentos (cor, odor e sabor) e por fim, não causar nenhum transtorno fisiológico ao animal (THORAT et al., 2013; OZKAN et al., 2019).

Um dos principais recurso utilizados pela indústria para inibir a oxidação de lipídios é a adição de aditivos tecnológico como os antioxidantes sintéticos (DOMÍNGUEZ et al., 2019). O BHT (Butilhidroxitolueno) é um exemplo de antioxidante sintético que adicionado em farinhas de origem animal ajuda prevenir a oxidação (FRAME et al., 2020).

#### 2.2.5 Oxidação Lipídica e proteica das Farinhas de origem animal

Os tipos de processamento são determinantes para promover as reações de auto-oxidação, em especial, os processamentos térmicos como extrusão e autoclaves (digestores) por aumentar a exposição dos alimentos a altas temperaturas (TUKER, 2004). A oxidação acontece por diversos processos moleculares como a geração de espécies reativas ao oxigênio e radicais livres, que afetam muitas interações dos constituintes alimentares. Os lipídios são suscetíveis à oxidação, uma fonte de deterioração não microbiana que ocorre durante a fabricação, armazenamento e preparação final dos alimentos em que compromete a qualidade dos alimentos

e limita o prazo de validade, essas reações alteram o sabor dos alimentos, causa o ranço, mudam a cor e produzem compostos tóxicos prejudiciais à saúde (JACOBSEN, 1999; AHMED et al., 2016; DOMÍNGUEZ et al., 2019).

O ferro, mioglobina, peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico são ativadores da oxidação lipídica, agindo como catalisadores ou promovendo a formação de espécies reativas de oxigênio, assim como a radiação e a luz que contribuem para iniciação da oxidação (AMARAL et al., 2018). Os compostos formados pelo processo de oxidação lipídica, tem ligação direta com o perfil lipídico do animal abatido (Min et al., 2008), que está relacionado com a dieta consumida e tipo de criação (ZOTTE et al., 2020) como também vai depender do método de processamento, tempo e condições de armazenamento e presença ou não de antioxidantes associado a sua concentração.

A oxidação das proteínas (POX) é reconhecida como uma alteração covalente da proteína induzida seja diretamente por espécies reativas ou indiretamente por reação com subprodutos secundários do estresse oxidativo (BHATTACHARYA et al., 2016). Os efeitos da oxidação das proteínas nos alimentos, principalmente cárneos, podem levar à perda de aminoácidos essenciais e diminuição da digestibilidade, que influencia na qualidade nutricional (MORZEL et al., 2006; SANTE-LHOUELLIER et al., 2007a; LUND et al., 2011). Acredita-se ainda que a formação das carbonilas e a liberação dos grupos de bases de Schiff, podem ocorrer alteração no sabor desses alimentos (SANTE-LHOUELLIER et al., 2007b; PAPUC et al., 2017).

A formação de carbonilas responde às proteínas oxidadas e para que esse processo ocorra, são necessárias algumas reações para que seja gerado a proteína carbonilada e dentre estas estão incluídas o mecanismo geral das vias de bases de radicais livres, perda de grupos sulfídricos, formação das reticulações, formação do grupo carbonil e interação lipídico-proteína (REFSGAARD et al., 2000; ZHANG et al., 2013; BHATTACHARYA et al., 2016).

Quando as proteínas são oxidadas, ocorrem várias mudanças químicas, incluindo fragmentação, agregação e modificação das cadeias laterais de aminoácidos (STADTMAN, 2006). Essas mudanças nas proteínas em ocasião da oxidação podem levar à perda de aminoácidos essenciais pela degradação irreversível e consequentemente a diminuição da digestibilidade, visto que alimentos com POX podem não ser totalmente degradado por enzimas digestivas, como tripsina e pepsina (ESTEVÉZ, 2011; BHATTACHARYA et al., 2016; OBA et al., 2020). Degradação das POX são influenciadas pela presença e atividade de proteases específicas e pela extensão de sua modificação química (CELI e GABAI, 2015), proteínas levemente oxidadas pode aumentar a funcionalidade, enquanto a oxidação forte leva à insolubilização e perdas de funcionalidade (XIONG e GUO, 2021).

Em estudos com animais de produção, o teor de POX em carnes armazenadas em freezer diferenciou pelo tipo de alimentação, cordeiros (SANTE'-LHOUELLIER et al., 2007b), frangos (XIAO et al., 2011), acredita-se que a ingestão de proteínas oxidadas pode desencadear para o estresse oxidativo *in vivo* e contribuir para algumas condições de doença a longo prazo ou até mesmo a curto prazo (ESTÉVEZ, 2015; ESTÉVEZ e XIONG, 2019). Pesquisas com frangos e roedores que consumiram dietas com POX mostrou diminuição de órgãos e da função imunológica (DAVIES, 2016; YANG et al., 2017).

Na nutrição humana é crescente os estudos sobre a oxidação proteica nos alimentos e seus possíveis efeitos no valor nutricional, bem como suas implicações na saúde. Como a nutrição de cães e gatos segue a tendência da nutrição humana, faz-se necessário entender a formação de POX, o grau de modificações químicas que a oxidação causa nas proteínas, qual o impacto que o consumo de alimentos com POX pode causar na saúde desses animais e aplicar estratégias de processamento com intuito de minimizar danos oxidativos aos produtos acabados, visto que, tanto o alimento extrusado como a maioria dos ingredientes de origem animal passam por processamentos térmicos que possivelmente tendem a formar POX, pois o aquecimento é conhecido por aumentar a carbonilação de proteínas (ROLDAN et al., 2014).

O dano oxidativo nas proteínas dos alimentos é reconhecido pela carbonilação das proteínas e pela formação de reticulações, ou seja, ditrosinas e ligações dissulfeto (ESTÉVEZ et al., 2019). Estudos com carnes, a carbonilação das proteínas é considerada como biomarcadores do estresse oxidativo que podem variar em relação a espécie, tipo e envelhecimento do músculo (AHMAD et al., 2020). Alguns fatores são relatados como as principais causas da oxidação das proteínas, como um declínio no sistema de defesa antioxidante, um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, diminuição da capacidade de remoção de POX ou um aumento de proteínas sensíveis ao ataque oxidativo (NYSTROM, 2005).

Apesar de diferentes métodos estejam disponíveis para a quantificação da oxidação proteica, o grande desafio é encontrar um marcador confiável (HELLWIG, 2019). Além do método utilizado neste estudo (DNPH) é possível analisar a oxidação das proteínas através da determinação de Hidroperóxidos de Proteína, Espectroscopias de UV e Fluorescência, Proteômica Redox, Análise de cisteína e cistina, Produtos de S-oxidação da metionina, Aminoácidos Hidroxilados e Carbonilados dentre outros (HELLWIG, 2020), e seria interessante uma comparação entre os métodos, porque todas as técnicas podem apresentar suas peculiaridades, porém todas são validadas.

Estudos que mostram os efeitos prejudiciais das POX à saúde de animais de estimação ainda são poucos, porém, os achados nas pesquisas com a nutrição humana e em ratos nos últimos anos (MADIAN et al., 2011; LUNA e ESTÉVEZ, 2017; ESTÉVEZ e XIONG, 2019; GE et al., 2020; HELLWIG, 2020) sugerem o quanto a oxidação tem consequências relevantes na funcionalidade das proteínas e na qualidade alimentar, com grande tendência em pesquisas frente aos alimentos oxidados, visto que, os ingredientes oxidados nas dietas de animais de companhia podem afetar a saúde e a longevidade (FRAME et al., 2021).

Contudo, estudos sobre os efeitos das alterações na qualidade das FVA relacionados ao processamento, precisam ser bem estudados, com respaldo às indústrias para que as informações das pesquisas sejam colocadas em prática e possam contribuir com a qualidade desses produtos.

## 2.3 Métodos de Avaliação de controle de Qualidade

### 2.3.1 Histamina

Alimentos ricos em proteínas e aminoácidos, quando expostos em condições favoráveis de crescimento microbiano, favorecem a formação de aminas, que são produtos químicos resultantes do processo metabólico das bactérias na degradação do aminoácido, em que o tipo e os teores de aminas formadas dependerão das condições higiênico-sanitário das matérias-primas, que reflete na microbiota presente e, sendo assim, é possível ser um indicativo para o controle de qualidade dos ingredientes utilizados nos alimentos provenientes das indústrias de processamento cárneos (MONTEGIOVE et al., 2020).

Apesar da histamina ser relacionada com as reações imunológicas, quando ingerida de fontes exógenas, em cães e gatos é difícil fazer distinção entre intolerância e alergia alimentar, pois os sinais clínicos são muito semelhantes. A intolerância é um problema digestivo e não tem relação com o sistema imunológico, enquanto a alergia alimentar é um distúrbio imunológico, após a exposição prévia ao alimento, desta forma, o histórico completo, análise dos alimentos e a realização de exames clínicos ou até mesmo dietas de eliminação são importantes para distinguir estes problemas (GASCHEN e MERCHANT, 2011).

Para avaliar a qualidade dos ingredientes quanto ao teor de aminas biogênicas alguns métodos foram desenvolvidos para detectar e quantificar os níveis de aminas biogênicas em alimentos. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é o método de referência, por

detectar outras aminas biogênicas além da histamina (LÁZARO DE LA TORRE E CONTE-JÚNIOR, 2013; KÖSE et al., 2011), porém é uma técnica que exige habilidades laboratoriais altamente técnicas, custo elevado para usar em fábricas de produtos para alimentos *pet* e com elevado custo de manutenção. Visando essa necessidade de determinar o teor de aminas por testes rápidos, mas também confiáveis, kits comerciais que utilizam métodos colorimétricos e fluorométricos têm sido desenvolvidos e podem ser úteis para o uso em outros ingredientes, como as FVA. No entanto, as pesquisas com estes kits ainda são restritas a produtos cárneos e farinha de peixes, devendo ser validados para outros ingredientes.

O kit é um ensaio Enzima-Ligado da imunoabsorção por enzimas competitivas diretas (ELISA), que por meio de padrões conhecidos permite quantificar a histamina em amostras analisadas em mg/kg. Estes kits estão sendo cada vez mais utilizados pela simplicidade do método e rapidez em comparação com as técnicas analíticas tradicionais, além de oferecer uma alternativa para detecção de histamina sem a necessidade de investir em equipamentos ou análises caras (KÖSE et al., 2011).

A monitoração das aminas biogênicas para muitas empresas que processam alimentos para cães e gatos seria interessante não apenas para conhecimento do índice de qualidade dos alimentos, como também para efeitos toxicológicos, em que isso seria possível com kits rápidos e análises com custo reduzido.

### 2.7.2 Análise de cor

Os avanços da nutrição animal vêm cada vez mais seguindo as tendências da nutrição humana, principalmente a nutrição *pet* e o desenvolvimento de novos produtos devem sempre levar em consideração os aspectos nutricionais, aceitabilidade e palatabilidade. As indústrias de *pet food* buscam com o desenvolvimento a variedade em seus produtos atender as exigências dos proprietários de cães e gatos (MICHEL et al., 2009).

Os alimentos dos *pets* são primeiramente formulados para atender as necessidades nutricionais dos animais, as especificações finais dos produtos são definidas pelo fabricante de acordo com a exigência do mercado, como tamanho, forma e cor que trazem atributos relacionado ao padrão e qualidade do produto esperada pelo comprador (ROKEY et al., 2010).

Cães e gatos usam o olfato e paladar para seleção de seus alimentos, e embora a cor não tenha influência para a aceitabilidade pelo animal, os dados sensoriais humanos parecem útil para fornecer aos fabricantes e pesquisadores os meios para estudar a seleção de ingredientes e

auxiliar na formulação de alimentos para animais de estimação (BAQUERO et al., 2018; DI DONFRANCESCO et al., 2012).

Embora a quantidade e os ingredientes utilizados na fabricação de alimentos para animais de estimação sejam mudados com frequência, as indústrias devem manter a qualidade sensorial que costuma agradar os donos na tomada de decisão na hora da compra, como a aparência do produto e o cheiro. Poucas são as informações sobre o efeito específico de determinado ingrediente nas propriedades sensoriais nos alimentos para cães e gatos (KOPELL et al., 2014), principalmente relacionado as alterações da cor do alimento.

Durante o processamento dos alimentos pode acontecer a Reação de *Maillard*, uma reação não enzimática que causa alterações na cor dos alimentos (TRAN et al., 2008). A mensuração da cor dos alimentos tem sido usada como medida indireta para atributos no controle de qualidade, pela simplicidade e rapidez do método, além de ter correlação com as mudanças físico-químicas que ocorrem durante o processamento. As técnicas e procedimentos para a mensuração da análise de cor em alimentos se concentram nas medições instrumentais (objetivas) e visuais (subjetivas) para quantificar os atributos de cor que são frequentemente relatadas com base em índices de cores (DU; SUN, 2004).

As notações mais comumente usadas são o espaço de cores CIE XYZ criado em 1931 pelo Comissão Internacional de Iluminação, o CIE  $L^* a^* b^*$  espaço de cores, de 1976, em que fornece mais uniformidade nas diferenças de cores em relação à percepção humana. O HunterLab  $L^*, a^*, b^*$  e o sistema CIE modificadas escalas de cores CIELAB eram sistemas comumente usado na indústria de alimentos.

O parâmetro  $a^*$  se refere a valores positivos para cores vermelhas e valores negativos para verdes, enquanto  $b^*$  assume valores positivos para cores amarelas e valores negativos para o azul.  $L^*$  é um valor aproximado da medição da luminosidade, é a propriedade que de acordo com cada cor pode ser considerada equivalente a um membro da escala entre cinza, preto e branco (GRANATO; MASSON, 2010).

A análise visual da cor dos alimentos é uma avaliação caracterizada por meios dos sentidos que envolvem em observar uma determinada amostra sem auxílio de um instrumento, porém em condições de iluminação controlada para observação, juntamente com uma escala de cores padrão para comparar com a amostra observada, sob condições idênticas de iluminação (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2012). Como resultado da análise visual, obtém-se a classificação para a cor daquele alimento (PATHARE et al., 2013).

Sendo assim, apesar do desafio de trabalhar com a análise sensorial, porém, por ser um método que permite uma descrição do produto em relação a esses atributos, identificar a cor

das FVA pode auxiliar a comparar as diferenças entre elas em relação às características sensoriais.

## 2.8 Referências

- ABINPET. Associação Brasileira da Indústria de Produtos de para Animais de Estimação. **Manual Pet Food Brasil**. São Paulo, 2017.
- ABINPET. Associação Brasileira da Indústria de Produtos de para Animais de Estimação. **Manual Pet Food Brasil**. São Paulo, 2019.
- ABRA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RECICLAGEM ANIMAL. **II Diagnóstico da Indústria Brasileira de Reciclagem Animal**. 2016. p.88.
- ABRA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RECICLAGEM ANIMAL. **Anuário Abra: setor de reciclagem animal 2019**. 2020. p. 112.
- AHMED, M.; PICKOVA, J.; AHMAD, T.; LIAQUAT, M.; FARID, A.; JAHANGIR, M. 2016. Oxidation of Lipids in Foods. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 32, p. 230, 2016.
- AHMAD, M.I.; IJAZ, M.U.; HAQ, I.U. LI, C. The Role of Meat Protein in Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Metabolic Syndromes. **Food Science of Animal Resources**, v.40, n.1, p.1-10, 2020.
- ALBINO, L.F.T., SILVA, M.A. Valores nutritivos de alimentos para aves e suínos determinados no Brasil. **In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS**. Viçosa, 1996. *Anais...* Viçosa: UFV, 1996. p.303-318.
- AMARAL, A.B.; SILVA, M.V.; LANNES, S.C.S. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. **Food Science and Technology**, v. 38, 2018.
- ANTONIASSI, R., 2001. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **B. CEPPA**, Curitiba, 9, 2.
- ASPEVIK, T.; OTERHAL, A.; RONNING, S.B. et al. Valorization of Proteins from Co- and By-Products from the Fish and Meat Industry. **Topics in Current Chemistry**, v.375, n. 53, p. 1-28, 2017.
- BASKIN-GRAVES, L.; MULLEN, H.; ABER, A.; SINISTERRA, J. et al. Rapid Health Impact Assessment of a Proposed Poultry Processing Plant in Millsboro, Delaware. **International Journal Environmental Research an Public Health**, v.16, p. 1-18, 2019.
- BIAGI, G.; CIPOLLINI, I.; GRANDI, M.; PINNA, C.; VECCHIATO, C.G.; ZAGHINI, G. 2016. A new in vitro method to evaluate digestibility of commercial diets for dogs. **Italian Journal of Animal Science**, v. 15, n. 4, 617–625, 2016.

- BRASIL. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2020. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp\\_2020\\_1tri.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2020_1tri.pdf). Acesso em: 13.06.20.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. 2004. Instrução Normativa N. 13. Regulamento Técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. Brasília-DF.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. 2008. Instrução Normativa N. 34. Regulamento Técnico da Inspeção Higiênico-sanitária e Tecnológica do Processamento de Resíduos de Animais. Brasília-DF.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. 2019. Disponível em: [http://sigsif.agricultura.gov.br/sigsif\\_cons!/ap\\_abate\\_estaduais\\_cons?p\\_select=SIM&p\\_ano=2019&p\\_id\\_especie=9](http://sigsif.agricultura.gov.br/sigsif_cons!/ap_abate_estaduais_cons?p_select=SIM&p_ano=2019&p_id_especie=9). Acesso em: 14.07.19.
- BRASIL. Portaria GM nº 3.214, de 08/06/1978: NR-13 **Caldeiras e Vasos de Pressão**. Consolidação das Leis Trabalhistas (CLT). Brasília, DF.: 1978. 1p.
- BRYAN, D.D.S.L.; CLASSEN, H.L. In Vitro Methods of Assessing Protein Quality for Poultry. **Journal Animals**, v.10, p.1-19, 2020.
- BAQUERO, D. G.; KOPPEL, K.; CHAMBERS, D.; HOŁDA, K.; GŁOGOWSKI, R.; CHAMBERS, E. Acceptability of Dry Dog Food Visual Characteristics by Consumer Segments Based on Overall Liking: a Case Study in Poland. **Journal Animal**, v.8, p.79, 2018.
- BHATTACHARYA, D.; KANDEEPAN, G.; VISHNURAJ, M.R. Protein Oxidation in Meat and Meat Products- A Review. **Journal of Meat Science and Technology**, v.4, n. 2, p. 44-52, 2016.
- BUREAU, D.P.; HARRIS, A.M.; CHO, C.Y. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal Aquaculture**, v.180, p.345–358, 1999.
- BUTOLO, J.E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. 2ª ed. Campinas: CBNA, 2010. 430p.
- CAMPOS, I.; VALENTE, L.M.P.; MATOS, E.; MARQUES, P.; FREIRE, F. Life-cycle assessment of animal feed ingredients: Poultry fat, poultry by-product meal and hydrolyzed feather meal. **Journal of Cleaner Production**. V. 252. 2020.
- CARDOZO, M.V.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; BERALDO-MASSOLI, M.C. et al. Pathogens in animal meal and the use of Salmex® in the elimination of *Clostridium perfringens*. **African Journal of Microbiology Research**, v.6, n.16, p. 3727-3731, 2012.

- CASE, L. P.; CAREY, D. P.; HIRAKAWA, D. A. AND DARISTOTLE, L. 2000. Canine and feline nutrition: A resource for companion animal professionals. 2nd ed. St. Louis, Missouri.
- CIAS. Central de Inteligência de Aves e Suínos. **EMBRAPA**. 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/custos>. Acesso em: 05.08.19.
- COFFEY, D.; DAWSON, K.; FERKET, P.; CONNOLLY, A. Review of the feed industry from a historical perspective and implications for its future. **Journal of Applied Animal Nutrition**, v. 4, p. 1-11, 2016.
- COMPENDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. 2004. São Paulo. Sindrirações/Anfal. Campinas CBNA/SDR/MA. 298p.
- DAVIES, M.J. Protein oxidation and peroxidation. **Biochemical Journal**, v. 473, p. 805-825, 2016.
- DI DONFRANCESCO, B.; KOPPEL, K.; CHAMBERS IV, E. An initial lexicon for sensory properties of dry dog food. **Journal of Sensory Studies**, v.27, p. 498-510, 2012.
- DOMÍNGUEZ, R.; PATEIRO, M.; GAGAOUA, M.; et al. A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. **Antioxidants**. Review. n.8. p. 429. 2019.
- DONADELLI, R.A.; ALDRICH, C.G.; JONES, C.K.; BEYER, R.S. The amino acid composition and protein quality of various egg, poultry meal by-products, and vegetable proteins used in the production of dog and cat diets. **Poultry Science**, v. 98, p. 1371–1378, 2019.
- DU, C. J., & SUN, D. W. Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation. **Trends in Food Science & Technology**, v.15, n.5, p.230–249, 2004.
- ESTÉVEZ, M. Oxidative damage to poultry: From farm to fork. **Poultry Science**, v. 94, p.1368-1378, 2015.
- ESTÉVEZ, M.; PADILHA, P.; CARVALHO, L.; MARTÍN, L. et al. Malondialdehyde interferes with the formation and detection of primary carbonyls in oxidized proteins. **Redox Biology**, v. 26, p.1-9, 2019.
- ESTÉVEZ, M.; XIONG, Y. Intake of Oxidized Proteins and Amino Acids and Causative Oxidative Stress and Disease: Recent Scientific Evidences and Hypotheses. **Journal of Food Science**, v. 00, n. 0, 2019.
- FERROLI, P. C. M; FIOD NETO, M.; CASAROTTO FILHO, N. et al. Fábricas de Subprodutos de Origem Animal: a importância do balanceamento de cargas dos digestores de vísceras. **Produção**, v.10, n.2, p.5–20, 2001.

- FERROLI, P.C.M. Balanceamento do Sistema Produtivo de Farinhas e Óleos: Fábrica de Subprodutos de Origem Animal. 1999. 105f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.
- FERROLI, P.C.M.; LIBRELOTTO, L.I.; FIOD NETO, M. 1998. Fábricas de subprodutos de origem animal: o problema da falta de padronização das cargas dos digestores de vísceras. XVIII Encontro Nacional de Engenharia de produção. Anais...ABEPRO, Niteroi-RJ. 1998.
- FRAME, C.A.; HUFF-LONERGAN, E.J.; ROSSONI SERAO, M.C. Impact of storage conditions on protein oxidation of rendered by-product meals. **Translational Animal Science**, v.4, p. 1-9, 2020.
- FRAME, C.A.; HUFF-LONERGAN, E.; KERR, J.B.; SERAO, R.M. Feeding oxidized chicken byproduct meal impacts digestibility more than performance and oxidative status in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v.99, n.2, 2021.
- GE, Y.; LIN, S.; LI, B.; YANG, Y.; TANG, X.; SHI, Y.; SUN, J.; LE, G. Oxidized Pork Induces Oxidative Stress and Inflammation by Altering Gut Microbiota in Mice. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 64, p. 1-12. 2020.
- GODOY, M.R.C.; HERVERA, M.; SWANSON, K.S.; FAHEY JR, G. C. Innovations in canine and feline nutrition: Technologies for food and nutrition assessment. **Annual Reviews Animal Bioscience**, v. 4, p. 311–313, 2016.
- GONG, C.; JIANG, X. Characterizing Salmonella Contamination in Two Rendering Processing Plants. **Journal of Food Protection**, v. 80, n. 2, p 265–270, 2017.
- GOODING, C. H.; MEEKER, D. L. Review: Comparison of 3 alternatives for large-scale processing of animal carcasses and meat by-products. **The Professional Animal Scientist**, v. 32, p. 259–270, 2016.
- HAMILTON, C.R.; **Real and perceived issues involving animal proteins**. In: Protein sources for the animal feed industry. FAO report. 2002. Disponível em: <http://www.fao.org/3/y5019e/y50>. Acesso em: março 2020.
- HAN, Y.; C. M. PARSONS. Determination of available amino acids and energy in alfalfa meal, feather meal, and poultry byproduct meal by various methods. **Poultry Sciences**, v. 69, p.1544–1552, 1990.
- HELLWIG, M. A. The Chemistry of Protein Oxidation in Food. **Journal of the German Chemical Society**. International Edition. 2019. doi: <https://doi.org/10.1002/anie.201814144>. Acesso em: fevereiro 2021.
- HELLWIG, M. Analysis of Protein Oxidation in Food and Feed Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 10, p. 45-58, 2020.

- HENDRIKS, W. H.; BUTTS, C. A.; THOMAS, D. V.; JAMES, K. A. C.; MOREL, P. C. A.; VERSTEGEN, M. W. A. Nutritional Quality and Variation of Meat and Bone Meal. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v.15, n.10, p. 1507-1516, 2002.
- HERVERA, M.; BAUCCELLS, M. D; BLANCH, F.; CASTRILLO, C. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, p. 205–209, 2007.
- INSTITUTO PET BRASIL. (2018). **Censo Pet**. Disponível em: <<http://institutopetbrasil.com/>>. Acesso em: maio 2020.
- ISLAM, S.; HAQUE, M. Quality Control of Raw Materials for Poultry Feed. **Journal of Poultry Science and Technology**, v.4, n.2, p. 19-27, 2016.
- JOHNSON, M. L., C. M. PARSONS, G. C. FAHEY, N. R. MERCHEN, AND C. G. ALDRICH. Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ileally cannulated dogs. **Journal. Animal. Science**, v.76, p.1112–1122, 1998.
- JACOBSEN, C. Sensory impact of lipid oxidation in complex food systems. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.101, p. 484–492. 1999.
- KAWAUCHI, I.M., SAKOMURA, N.K., PONTIERI, C.F., REBELATO, A. et al. Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. **Journal of Nutritional Science**, v.3, p.36, 2014.
- KOPPEL, K.; GIBSON, M.; ALAVI, S.; ALDRICH, G. The Effects of Cooking Process and Meat Inclusion on Pet Food Flavor and Texture Characteristics. **Animals**, v.4, p. 254-271, 2014.
- KÖSE, S.; KAKLIKKAYA, N.; KORAL, S.; TUFAN, B.; BURUK, C. K.; AYDIN, F. Commercial test kits and the determination of histamine in traditional (ethnic) fish products-evaluation against an EU accepted HPLC method. **Food Chemistry**, v. 125, p. 1490–1497, 2011.
- LAZARO DE LA TORRE, C.A.; CONTE-JÚNIOR, C.A. Chromatographic methods for biogenic amines determination in foods of animal origin. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, p.430-446, 2013.
- LEIVA, A.; GRANADOS-CHINCHILLA, F.; REDONDO-SOLANO, M.; ARRIETA-GONZ'ALEZ, M.; PINEDA-SALAZAR, E.; MOLINA, A. Characterization of the animal by-product meal industry in Costa Rica: Manufacturing practices through the production chain and food safety. **Poultry Science**, v.0, n.1, p. 1-11, 2018.

- LEIVA, A.; MOLINA, A.; REDONDO-SOLANO, M.; ARTAVIA, G. et al. Pet Food Quality Assurance and Safety and Quality Assurance Survey within the Costa Rican Pet Food Industry. **Journal Animals**, v.9, p.1-25, 2019.
- LEWIS, M. J.; FRANCIS, D. S.; BLYTH, D.; MOYANO, F. J.; SMULLEN, R. P.; TURCHINI, G. M.; BOOTH, M. A. A comparison of in-vivo and in-vitro methods for assessing the digestibility of poultry by-product meals using barramundi (*Lates calcarifer*); impacts of cooking temperature and raw material freshness. **Journal Aquaculture**, v. 498, p. 187-200, 2019.
- LUNA, C.; ESTÉVEZ, M. Dietary protein oxidation: A silent threat to human health? **Food Science and Nutrition**, v.57, n.17, p. 3781-3793, 2017.
- LUND, M.N.; HEINONEN, M.; BARON, C.P.; ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in muscle foods: A review. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, p. 83–95, 2011.
- MADIAN, A.G.; MYRACLE, A.D.; DIAZ-MALDONADO, N. ROCHELLE, N.S.; JANLE, E.M. REGNIER, F.E. Determining the Effects of Antioxidants on Oxidative Stress Induced Carbonylation of Proteins. **Journal Analytical Chemistry**, v. 83, p. 9328–9336, 2011.
- MAZUTTI, M.A.; TREICHEL, H. DI LUCCIO, M. Industrial sterilization of animal meal. **Food Science Technology**, v.30, 2010.
- MEKONNEN, T.; MUSSONE, P.; BRESSLER, D. Valorization of rendering industry wastes and co-products for industrial chemicals, materials and energy: review. **Critical Reviews Biotechnology**, 2014. DOI: 10.3109/07388551.2014.928812.
- MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.; GÓMEZ-ROBLEDO, L.; MELGOSA, M.; VICARIO, I.; HEREDIA, F. Color of orange juices in relation to their carotenoid contents as assessed from different spectroscopic data. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 26. n.6, p. 837–844, 2012.
- MICHAEL, K.E.; WILLOUGHBY, N.K.; ABOOD, S.K.; et al. Attitudes of pet owners toward pet foods and feeding management of cats and dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 233. n.11, p. 1699-1703, 2009.
- MIN, B.; NAM, K. C.; CORDRAY, J.; AHN, D. U. 2008. Endogenous factors affecting oxidative stability of beef loin, pork loin, and chicken breast and thigh meats. **Journal of Food Science**, v.73. n.6. p. 439-446. 2008.
- MONTEGIOVE, N.; CALZONI, E.; CESARETTI, A.; ALABED, H.; PELLEGRINO, R. M.; EMILIANI, C.; PELLEGRINO, A.; LEONARDI, L. Biogenic amine analysis in fresh meats and meat meals used as raw materials for dry pet food production. **Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies**, v.24, n.2, p. 33-42, 2020.

- MORZEL, M.; GATELLIER, P.; SAYD, T.; RENERRE, M.; LAVILLE, E. Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. **Meat Science**, v. 73, p. 536–543, 2006.
- MURRAY, S. M., PATIL, A. R.; FAHEY G. C. JR.; MERCHEN, N. R.; HUGHES, D. M. 1997. Raw and rendered animal by-products as ingredients in dog diets. **Journal Animal Science**. V.75. p.2497–2505.
- NYSTROM, T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. **The Embo Journal**, v.24, p. 1311–1317, 2005.
- OBA, M.P.; UTTERBACK, P.L.; PARSONS, C.M.; SWANSON, K.S. True nutrient and amino acid digestibility of dog foods made with human-grade ingredients using the precision-fed cecectomized rooster assay. **Translational Animal Science**, v.4, n.1, p. 442–451, 2020.
- OCKERMAN, H.W.; BASU, L. By-Products - Inedible. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v.1, p. 112-125, 2014.
- OZKAN, G.; FRANCO, P.; DE MARCO, I.; XIÃO, J.; CAPANOGLU, E. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494-506, 2019.
- PAPUC, C.; GORAN, G. V.; PREDESCU, C. N.; NICORESCU, V. Mechanisms of Oxidative Processes in Meat and Toxicity Induced by Postprandial Degradation Products: A Review. **Food Science and Food Safety**, v.16, p. 96-123, 2017.
- PARK, C.S.; NARANJO, V.D.; HTOO, J.K.; ADEOLA, O. Comparative amino acid digestibility between broiler chickens and pigs fed different poultry by-products and meat and bone meal. **Journal Animal Science**, v. 98, p.1-8, 2020.
- PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. AL-J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food Bioprocess Technology**, v.6, p. 36-60, 2013.
- RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. 2 ed. Viçosa: Ed UFV, 2017.
- REFSGAARD, H. H. F.; TSAI, L.; STADTMAN, E. R. Modifications of proteins by polyunsaturated fatty acid peroxidation products. **PNAS**, v. 97, n 2, p. 611-616, 2000.
- RIBEIRO, L.B.; BANKUTI, F.I.; SILVA, M. U.; RIBEIRO, P. M.; SILVA, J. M.; SATO, J.; BORTOLO M.; VASCONCELLOS, R.S. Oxidative stability and nutritional quality of poultry by-product meal: An approach from the raw material to the finished product. **Animal Feed Science and Technology**, v.255. 2019.

- ROLDAN, M. ANTEQUERA, T.; ARMENTEROS, M.; RUIZ, J. Effect of different temperature–time combinations on lipid and protein oxidation of sous-vide cooked lamb loins. **Food Chemistry**, v.149, p. 129–136, 2014.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos**. 4ª edição, Viçosa, MG: UFV, 2017, p.252.
- SABINO, H.F.N; FINZER, J.R.D. 2006. Subprodutos no processamento de aves. V Jornada Científica das Faculdades Associadas de Uberaba. **Anais...Uberaba – MG**.
- SAENSUKJAROENPHON, M.; EVANS, C.E.; FAHRENHOLZ, C.H.; et al. The Effect of Liquid Application Time and Wet Mix Time with Different Mixer Types on Uniformity of Mix. **Journal of Animal Science and Research**, v.3, n.2, p. 1-4, 2019.
- SANTE-LHOUELIER, V.; AUBRY, L.; GATELLIER, P. Effect of Oxidation on In Vitro Digestibility of Skeletal Muscle Myofibrillar Proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 5343–5348, 2007a.
- SANTE-LHOUELIER, V.; ENGEL, E.; AUBRY, L.; GATELLIER, P. Effect of animal (lamb) diet and meat storage on myofibrillar protein oxidation and in vitro digestibility. **Meat Science**, v. 79, p. 777–783, 2007b.
- SHIRLEY, R.B.; PARSONS, C.M. Effect of pressure processing on amino acid digestibility of meal and bone meal for poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1775-1781, 2000.
- STADTMAN, E.R. Protein oxidation and aging. **Free Radical Research**, v. 40, n. 12, p. 1250–1258, 2006.
- TRAN, Q. D.; HENDRIKS, W. H.; VAN DER POE, A. F.B. Mini-review Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p. 1487-1493, 2008.
- TIBBETTS, S.M.; MILLEY, J.E.; ROSS, N.W.; VERRETH, J.A.J.; LALL, S.P. In vitro pH-Stat protein hydrolysis of feed ingredients for Atlantic cod, *Gadus morhua*. 1. Development of the method. **Journal Aquaculture**, v. 319, p. 398-406, 2011.
- THORAT, I.D.; JAGTAP, D.D.; MOHAPATRA, D.; JOSH, D.C. et al. Antioxidants, their properties, uses in food products and their legal implications. **International Journal of Food Studies**, v.2, p. 81-104, 2013.
- TUCKER, L.A. Botanical Ingredients for Petfood - The Technical Edge. Feed Compounder, Petfood Supplement. n.3. 2002.
- TUKER, L.A. 2004. The importance of antioxidant protection: demonstrating and branding benefits in pet food. **In: Nutritional Biotechnology in the feed and food Industries**. Ed. LYONS, T.P. and JACQUES, K.A. Nottingham University Press. p. 482-488, 2004.

- XIAO, S.; ZHANG, W.G.; LEE, E.J.; MA, C.W.; AHN, D.U. Effects of diet, packaging, and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation, and color of raw broiler thigh meat during refrigerated storage. **Poultry Science**, v. 90, p. 1348–1357, 2011.
- YAMKA, R.M.; JAMIKORN, U.; TRUE, A.D.; HARMON, D.L. Evaluation of low-ash poultry meal as a protein source in canine foods. **Journal Animal Science**, v. 81, p. 2279–2284, 2003.
- YANG, Y.; ZHANG, H.; YAN, B.; ZHANG, T.; GAO, Y.; SHI, Y.; LE, G. Health effects of dietary oxidized tyrosine and dityrosine administration in mice with nutrimental strategies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 6957–6971, 2017.
- ZHANG, W.; XIAO, S.; AHN, D. U. Protein Oxidation: Basic Principles and Implications for Meat Quality. **Food Science and Nutrition**, v.53, n.11, p. 1191-1201, 2013.
- ZAREI, A. MOHAMMADI, M.; HEMMATI, B. Metabolizable Energy and Chemical Composition of Poultry by-Product Meal. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.4. n.4. p. 849-853. 2014.
- ZUO, Y.; FAHEY, G. C.; MERCHEN N. R.; BAJJALIEH, N. L. Digestion responses to low oligosaccharide soybean meal by ileallycannulated dogs. **Journal Animal Science**, v.74, p.2441–2449, 1996.

### 3. FATORES DE PRODUÇÃO QUE AFETAM A DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DA MATÉRIA ORGÂNICA E A OXIDAÇÃO PROTEICA DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES

**RESUMO:** A qualidade das farinhas de vísceras de aves (FVA) não é padronizada e muitos fatores interferem em sua variabilidade que podem comprometer o valor nutricional e o prazo de validade. O objetivo deste estudo foi determinar os fatores de produção que afetam a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e proteínas oxidadas (POX) da FVA. Os dados do processamento de cem (n=100) amostras de FVA foram registrados em uma graxaria. As amostras de FVA foram classificadas em baixa cinza (*low Ash* - LA) (n = 66) e alta cinza (*high Ash* - HA) (n=34). As características relacionadas ao processamento e composição química da FVA acabada foram consideradas variáveis independentes. De cada amostra, foram determinados a DIVMO e a POX, consideradas como variáveis dependentes para análise estatística. Os dados das variáveis independentes foram submetidos à Análise Fatorial Comum e obtidos os componentes principais (CP). Para a DIVMO as amostras foram agrupadas em 3 Clusters, considerados de baixa (778,92 g), média (822,85 g) e alta (890,06 g) DIVMO (P=0,001). O melhor arranjo foi composto por 6 variáveis independentes, distribuídas em 2 CPs, que explicaram 82,10% da variação total. A proporção de cinzas, razão entre óleo e matéria-prima, colágeno e proteína bruta compuseram o CP1 com maior relevância, que explicou 58,46% da variância total e o tempo de processamento e temperatura de processamento que explicaram 23,64% da variância total formaram o CP2. Para a POX as amostras foram agrupadas em 3 Clusters considerados de baixa (265,19 nmol/mg PB), média (393,07 nmol/mg PB) e alta (524,40 nmol/mg PB) POX (P<0,001). Conclui-se que a composição da matéria-prima proveniente do abatedouro é o fator que retém a maior parte da informação e é recomendada para estudos de qualidade da FVA.

**Palavras-chave:** digestibilidade, oxidação de proteínas, processamento.

## PRODUCTION FACTORS AFFECTING THE IN VITRO DIGESTIBILITY OF ORGANIC MATTER AND THE PROTEIN OXIDATION OF POULTRY BY-PRODUCT MEAL

**ABSTRACT:** Poultry by-product meal (PBM) is the main protein source used in Pet food. The PBM quality is not yet standardized and many factors interfere in this control, such as: the characteristics of the raw material, the processing conditions, contamination of the finished product and its variability in the chemical and additive composition, which compromise the nutritional value and shelf life of this ingredient. The aim of this study was to determine the industrial factors that affect the *In Vitro* digestibility of organic matter (IVDOM) and protein oxidation (POX) of PBM. For this, data from the processing of a hundred (n=100) samples of PBM were recorded in a renderer manufacturing plant. PBM samples were classified into low ash (n=66) or high ash (n=34). The parameters measured in the raw material, processing and the chemical composition of the finished product were considered independent variables. From each sample collected, IVDOM and POX were determined, which were considered dependent variables on statistical analysis. The data of the independent variables were submitted to the Common Factor Analysis (AFC). Multivariate analysis was performed and the principal components (CP) were obtained. For IVDOM the samples were grouped into three clusters, considered low (778.92 g), medium (822.85 g) and high (890.06 g) IVDOM ( $P = 0.001$ ). The best arrangement was composed of six independent variables, distributed in two PCs, which together explained 82.10% of the total variation. The proportion of ash, the ratio of oil to raw material, collagen and crude protein made up the main component (CP) with greater relevance (CP1), which explained 58.46% of the total variance and the processing time and processing temperature that explained 23.64% of the total variance formed the second CP. For POX the samples were grouped in three clusters considered low (265.19 nmol / mg PB), medium (393.07 nmol / mg PB) and high (524.40 nmol / mg PB) PC ( $P = 0, 0001$ ). It is concluded that the composition of the raw material from the slaughterhouse is the factor that retains most of the information and is recommended for studies of PBM quality.

**Key words:** digestibility, protein oxidation, rendering, nutritional quality.

### 3.1 Introdução

Um alimento balanceado deve conter ingredientes que ofereçam alta digestibilidade a fim de atender as necessidades nutricionais do animal, assim, as análises de digestibilidade *in vivo* e *in vitro* se tornaram um critério importante de avaliação, tanto para rações, como para os ingredientes (MALAFAIA et al., 2002). Mesmo que o valor nutricional dos alimentos comerciais seja um fator importante e esteja disponível informando a quantidade de cada composto orgânico, por quilo do alimento, as informações sobre digestibilidade dos compostos, geralmente são limitadas (BIAGI et al., 2016).

Análises da composição química e do coeficiente de digestibilidade é a forma pela qual se pode prever o valor nutricional e a qualidade dos alimentos. Neste contexto, para que o alimento seja considerado adequado, ele deve ser associado ao elevado teor de nutrientes que atendam às necessidades nutricionais dos animais e que estes sejam de alta digestibilidade para melhor aproveitamento dos nutrientes (BERCHIELLI et al., 2005).

Uma metodologia que tem contribuído na determinação da digestibilidade, é o método *in vitro*, além de auxiliar a falta de recursos, é muito bem aceita pela comunidade científica, mesmo não sendo totalmente fidedigna a *in vivo*, reproduz a capacidade das enzimas digestivas em hidrolisar as proteínas (HERVERA et al., 2019). Estimativas da digestibilidade da proteína entre técnicas *in vitro* foram altamente correlacionadas com a digestibilidade da proteína estimada com base nos ensaios de pepsina determinadas usando a técnica *in vivo*, também em peixes (LEWIS, et al., 2019)

As variações na qualidade dos ingredientes, bem como no processamento dos alimentos, influenciam de maneira positiva ou negativa na disponibilidade dos nutrientes (ZENTEK et al., 2004), uma dessas variações é a oxidação, tanto lipídica como proteica. A oxidação lipídica é conhecida há muitos anos e uma das principais causas na perda da qualidade dos alimentos pela rancificação da gordura e aos efeitos sensoriais indesejáveis que causam nos alimentos durante o período de armazenamento. Além de sérios problemas relacionados à saúde, as causas e os efeitos da oxidação proteica ainda é objeto de extensa pesquisa, pois não são conhecidas com exatidão (LAUDADIO e TUFARELLI, 2011; AHMED et al., 2016).

Diante do exposto, o objetivo com a realização do trabalho foi de identificar os principais fatores relacionados com a produção das FVA que afetam a digestibilidade *in vitro* e a oxidação proteica desta matéria-prima.

### 3.2 Material e Métodos

As FVA produzidas a partir das vísceras e intestinos das aves, com baixa matéria mineral, (abaixo de 11%) foram classificadas como *low ash* (LA) e as FVA que eram produzidas a partir de resíduos de carne mecanicamente separadas (CMS) foram classificadas como *high ash* (HA) (acima de 11%) por possuir porcentagem maior de matéria mineral conforme classificação da Abinpet (2019). A verificação dos fatores que afetam a qualidade da FVA da matéria-prima ao produto acabado foi realizada com o acompanhamento do processo de fabricação em um estabelecimento inspecionado pelo Serviço de Inspeção Federal Brasileiro (SIF) localizado na cidade de Rolândia – PR, Brasil. A fábrica de FVA produzia sua própria matéria-prima (material *in natura*) oriundo do abate de aves. Esse material *in natura* recebia uma lavagem prévia em uma peneira giratória (2,5 cm de diâmetro) e seguia para ser estocado na tolva até o momento do processamento.

Para dar início ao processamento, o material *in natura* era transportado para o digestor (Julian D 500, Jaú-SP, Brasil) por um sistema de rosca sem fim, com quantidade de matéria-prima calculada em função da fórmula da empresa. Após o recebimento da carga do material *in natura*, uma carga de óleo oriunda do tanque de armazenamento completava o volume do digestor de capacidade máxima de 5 mil litros, então, o cozimento desse material *in natura* acontecia com temperatura próxima de 110°C, com variação de acordo com o fluxo de produção e pressão, sem critérios para essa variação. Dados de temperatura e pressão foram coletados a cada 15 minutos para comparação dos resultados, na sequência o material era lançado ao percolador, que escoou por gravidade o óleo, deste local, o material ainda quente com temperatura entre 70 a 90°C foi transportado para a prensa, sendo prensado e retirado o excesso do óleo.

Posteriormente, o material seguia para o resfriador, moagem e armazenagem em silo. Foram coletadas 100 amostras da FVA, ainda como “torta”, sem antioxidantes. Estas amostras foram moídas em moinho tipo faca (Modelo R-TE-650/1, Piracicaba, Brasil), peneiras com crivo de 1.0 mm no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e armazenadas em freezer a -20°C para posteriores análises. Cada amostra de FVA foi derivada de uma batelada de produção (5 mil kg), e quando aconteciam duas bateladas, ou seja, a produção do digestor 1 e a produção do digestor 2 lançadas no percolador ao mesmo tempo, essas compunham uma única amostra.

Foram registradas informações relacionadas aos materiais antes do processamento térmico (material *in natura*), durante o processamento industrial (etapa de cozimento nos digestores) e do produto acabado (FVA).

Foram determinadas a temperatura do material *in natura* quando este era transportado para o digestor, assim como a temperatura da água do material visceral com termômetro digital por infravermelho (ST-700 Termômetro digital infravermelho, Incoterm, Porto Alegre, Brasil)

Na etapa de processamento foi anotada a receita (quantidade de material *in natura* e quantidade de óleo) encaminhada para o digestor; para qual digestor e a razão óleo: vísceras adicionadas para fritura, a temperatura de processo (máxima e mínima) e tempo de processamento.

O tempo de processamento foi o intervalo entre o início do processamento térmico e a saída do material do digestor para o percolador. A temperatura de processo foi medida pelos próprios sensores instalados nos digestores, em intervalos de 15 minutos, assim como a pressão em kgf.

A composição química das amostras de FVA (n=100), foi realizada seguindo as metodologias descritas pela *Association of the Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005) em que foram quantificadas umidade (UM – Método 930.15)); matéria seca (MS); matéria mineral (MM – Método 942.05); matéria orgânica (MO); proteína bruta (PB – Método 954.01); extrato etéreo por hidrólise ácida (EEHA– Método 954.02) e digestibilidade *in vitro*. Para quantificação das concentrações residuais de antioxidante sintético (BHA, BHT e Etoxiquin) que foram adicionados na matéria-prima, utilizou-se cromatógrafo gasoso com detector por ionização de chama (GC-FID), segundo Yang e Choong (2002), para análise de colágeno, utilizou-se o método proposto por Ramos e Gomide (2017) e para a determinação da atividade de água ( $A_w$ ), utilizou-se de equipamento específico (Pawkit - Decagon, Washington, Estados Unidos).

Os coeficientes de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) foram determinados pela adaptação do método proposto por Hervera et al. (2007), com redução na quantidade de amostra de 0,75 g sugerido para rações para 0,50 g para FVA pela quantidade de substrato proteico a ser digerido.

A oxidação proteica foi analisada adaptando as metodologias de Reznick e Packer (1994) e Özer e Seçen (2018), conforme descrito:

Um grama da amostra (FVA) foi pesado e colocado em tubo cônico de plástico do tipo Falcon de 15 mL, adicionou-se 9 mL da solução tampão Fosfato de Sódio (Marca Synth) pH ajustado para 6,5 e, posteriormente, agitou-se por 1 minuto em agitador tipo vórtex. Em seguida, este foi centrifugado por 15 minutos a 4500 rpm (Excelsa, Baby II 206 R, Brasil).

Aproximadamente 2 mL foram retirados do sobrenadante de cada amostra para quantificar a proteína e 200 µL desse sobrenadante foi transferido para um microtubo de polipropileno com 400 µL da solução 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH, Sigma-Aldrich) preparado na hora, conforme descrito por Reznick e Packer (1994). Para cada amostra foi preparado um branco. As amostras foram armazenadas no escuro por 1 hora, agitando suavemente a cada 15 min. Após 1 hora, adicionou-se 1 mL de ácido tricloroacético 20% (TCA, Dinâmica) para paralisar a reação. Após essa etapa foram acondicionadas em freezer por 1 hora.

Em seguida, centrifugou-se por 10 minutos a 9000 rpm (MPW, 351R, Polônia). Procedeu-se a lavagem por três vezes com a solução Etanol:Acetato de etila (1:1), centrifugando (9.000 rpm) por 4 minutos e cuidadosamente descartando o material, nesta etapa que foi realizada em um intervalo de 10 minutos.

Após a última lavagem foi adicionado 900 µL da solução de Guanidina 6M (Sigma) e levado ao banho-maria a 37°C por 5 min. Agitou-se em Vórtex por 10 segundos para suspender o pellet e este novamente foi centrifugado por 10 minutos a 9000 rpm. Por fim, fez-se a leitura no espectrofotômetro (Bioplus, Bio 2000, Brasil) em que a absorbância foi medida em 370 nm e o conteúdo de carbonil foi expresso como nmol / mg proteína com coeficiente de extinção molar de 22.000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

Os dados obtidos foram submetidos à Análise Multivariada para estabelecer a relação entre cada variável independente com as variáveis dependentes. As variáveis foram submetidas à Análise Fatorial Comum (AFC), com método de extração de Componentes Principais (CP) e Teste de Kaiser Meyer Olkin – KMO, (LEBART, 2000) e Teste de esfericidade de Bartlett (LEBART, 2000). Componentes com baixa carga fatorial, menor que |0.60|, foram descartados pelo critério mínimo de variância acumulada ser de 60% (FAVERO et al., 2009; HAIR et al., 2009). Para definição do número de componentes retidos na análise, foi utilizado o critério mínimo de variância acumulada de 60% e de autovalores superiores a 1,0 (FAVERO et al., 2009; HAIR et al., 2009). A partir deste procedimento, foi gerado um indicador fatorial para cada CP.

Em seguida, foi realizada uma análise de agrupamento (Cluster Hierárquico) para as variáveis dependentes. Para estes procedimentos utilizou-se o Programa “Statistical Package for Social Science (SPSS)” da IBM Corporation. A estes grupos obtidos pelos Clusters Hierárquicos, realizou-se Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo Teste de Duncan na comparação das médias, considerando 5% de probabilidade. Este procedimento, primeiro foi realizado utilizando os indicadores fatoriais obtidos pela análise de CP. Logo depois, realizou-

se o desdobramento dos componentes e utilizou os valores das variáveis isoladas (variáveis independentes).

A análise dos resultados relacionados a variação de processo, média e os tipos de farinhas foi realizada por estatística descritiva.

### 3.3 Resultados e Discussão

Os valores médios das farinhas *low ash* (LA) e *high ash* (HA) apresentaram respectivamente 942,20 g/kg e 926,20 g/kg de MS (Tabela 1). Para a porcentagem média da proteína bruta (PB) as  $FVA_{HA}$  ficaram menor que a média das  $FVA_{LA}$  ocasionada pela menor quantidade inicial de ossos (JOHNSON e PEARSON, 1997) o que faz com que a PB seja inversamente proporcional à porcentagem da MM (NUNES et al., 2005; ZAREI et al., 2014).

Nota-se que a média de MM das  $FVA_{LA}$  e  $FVA_{HA}$  foram de 82,90 g e 227,20 g/kg, respectivamente. Eyng et al. (2011) observaram a proporção PB:MM de 683:137 g/kg para farinha de peixe e 561:239 g/kg para farinha de carne e ossos. Na mesma linha de pesquisa, Najafabadi et al. (2007) verificaram que a composição química em FVA de três graxarias, o valor máximo de PB foi de 634 g/kg com MM de 79 g/kg e mínimo de 565 g/kg de PB com 117 g/kg de MM.

Tabela 1. Estatística descritiva da Composição bromatológica das Farinhas de Vísceras de Aves (FVA).

Tipo/ Item <sup>1</sup>	Máximo (g/kg)		Mínimo (g/kg)		Média (g/kg)		CV (%)	
	LA <sup>2</sup>	HA <sup>3</sup>	LA	HA	LA	HA	LA	HA
Matéria seca	964,40	944,00	920,00	907,30	942,20	926,20	1,17	1,11
Matéria Mineral	109,30	299,00	57,10	160,30	82,90	227,20	11,45	15,82
Proteína Bruta	815,10	736,60	675,10	549,80	751,10	639,70	3,74	6,41
Extrato Etéreo	176,80	142,40	75,80	97,40	119,60	117,40	15,94	8,61
Atividade de Água	0,53	0,62	0,26	0,28	0,39	0,45	17,94	16,57

LA: *low ash*, HA: *high ash*. <sup>2</sup>: número de amostras = 66; <sup>3</sup>: número de amostras = 34; CV: coeficiente de variação.

Para o Extrato Etéreo (EE) as médias foram de 110 g/kg, porém o CV da  $FVA_{LA}$  foi de 15,94% enquanto da  $FVA_{HA}$  se obteve 8,61%. Essa variação mais alta da  $FVA_{LA}$  pode estar

relacionada ao tipo da matéria-prima, fórmula e até manutenção da prensa. Nascimento et al. (2002) obtiveram valores de EE das FVA que variaram de 101,40 g a 142,00 g/kg. Silva (2010), também afirma que essa variação na percentagem de EE pode estar relacionada ao tipo de matéria-prima, se oriunda de resíduos de CMS ou apenas material visceral, no conteúdo de água e ossos da matéria-prima, como também ao tipo e condições de processamento que foi submetido, visto que durante o processo acontece variações na pressão e temperatura, e a quantidade de óleo utilizado (ZHANG et al., 2021), com isso os constituintes da composição química podem ser afetados pelo processamento (ABRAHA et al., 2018) e pela capacidade (kgf) da prensa.

A média da atividade de água ( $A_w$ ) foi de 0,39 para FVA<sub>LA</sub> e 0,45 para FVA<sub>HA</sub>, estes valores estão dentro do limite considerado seguro para evitar o crescimento microbiano, uma vez que o valor de  $A_w$  até 0,65 é um nível tolerante para assegurar o armazenamento dos alimentos, e abaixo desse valor é improvável que ocorra crescimento microbiológico, pois o ingrediente não contém água suficiente para que isso aconteça (HEMMINGSEN et al., 2008; THOMAS et al., 1998). Entretanto, em algumas amostras de FVA<sub>HA</sub> obteve-se próximo ao valor tolerável (0,62).

De acordo com os resultados obtidos para os componentes principais (CP) na análise multivariada, as porcentagens da variância explicada e extração dos CP (Tabela 2) mostraram que o melhor arranjo com a combinação foi de 6 (seis) variáveis independentes, distribuídas em 02 (dois) componentes principais. Os resultados obtidos corroboram com Ribeiro et al. (2019), quando analisaram a estabilidade oxidativa e os valores nutricionais de FVA.

Tabela 2. Componentes principais (CP) e porcentagem da variância explicada pelos componentes (% var. CP) das variáveis de processo.

Componentes <sup>1</sup>	Autovalor	% Variação CP	% Variação CP (Acumulada)
1	4,51	58,46	58,46
2	1,42	23,64	82,10
3	0,49	8,10	90,19
4	0,38	6,28	96,47
5	0,17	2,82	99,29
6	0,04	0,71	100,00

<sup>1</sup> Método de Extração – Análise de Componentes Principais.

As variáveis cinzas, razão óleo: material *in natura*, proteína bruta e colágeno formaram o primeiro CP denominado Composição. O segundo CP, denominado Processamento foi formado pelas variáveis tempo de processamento e temperatura média de processo (Tabela 3).

Tabela 3. Autovetores associados à Análise Fatorial das características das matérias-primas, parâmetros de processo e qualidade da Farinha de Vísceras de Aves (FVA).

Variáveis	Componentes Principais <sup>1</sup>	
	PC1	PC2
	Composição	Processamento
Matéria mineral	0,964	0,078
Razão óleo: material <i>in natura</i>	0,941	0,169
Proteína bruta	-0,920	-0,087
Colágeno	0,824	0,055
Tempo de processamento	-0,018	-0,883
Temperatura média de processo	0,168	0,856

<sup>1</sup> – Componentes principais formados pela Análise Fatorial Comum (AFC).

Esses dois CP explicam que 82,10% da variância acumulada. A composição do material que constitui o CP1, explicou 58,46 % da variância total, sendo a variável de maior correlação em que mostra que essa característica interfere de fato na qualidade da FVA por serem matérias-primas totalmente diferentes. Em outros estudos Johnson et al. (1998), consideraram que temperatura de processo e matéria mineral como os dois principais fatores que afetam a qualidade de um ingrediente. Nesse estudo, a composição foi o fator que mais interferiu na qualidade da FVA e a maior influência foi obtido na matéria mineral conforme explicado pelo CP 1. A temperatura de processo ficou dentro do segundo CP sendo um fator de contribuição para a explicação da variância total, porém com autovalor baixo, sugere que dentro da planta estudada é uma variação controlada de pouca interferência da qualidade da FVA.

Os dois primeiros itens do primeiro CP respondem a qualidade da FVA, a matéria-mineral e a razão óleo: matéria *in natura* apresentaram estimacões maiores de autovalor (4,51 e 1,42), respectivamente, seguido por proteína bruta e colágeno, mostrando o quanto o conteúdo mineral interfere na classificação do tipo de farinha. Depois, sugere o quanto a quantidade de óleo utilizado no processo depende do tipo da matéria-prima, a proteína que diminui conforme aumenta a matéria mineral e por fim, o colágeno, pois nos resíduos de CMS contém mais partes cartilaginosas do que nas vísceras e intestino.

As variáveis dependentes DIVMO e Oxidação Proteica (POX) foram ordenadas em *Clusters* Hierárquicos. Para a DIVMO, obteve-se 3 *Clusters*, os quais foram denominados baixo (778,92 g/kg), médio (822,85 g/kg) e alto (890,06 g/kg) de digestibilidade. Posteriormente à formação dos *Clusters*, procedeu-se a comparação das médias entre as variáveis de cada componente dentro dos *Clusters*, com o objetivo de identificar os fatores com maior influência na DIVMO (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), após agrupamento para os Indicadores Fatoriais dos Componentes Principais e das Variáveis independentes.

Parâmetro	Grupos <sup>1</sup>				SEM <sup>2</sup>	P valor
	Baixa (n = 10)	Média (n = 54)	Alta (n = 36)	Total (n= 100)		
DIVMO (g/kg)	778,920 <sup>C</sup>	822,852 <sup>B</sup>	890,067 <sup>A</sup>	842,656	4,171	<0,001
Componentes <sup>3</sup>	Grupos <sup>1</sup>				SEM <sup>2</sup>	P valor
	Baixa (n = 10)	Média (n = 54)	Alta (n = 36)	Total (n= 100)		
Carga fatorial da Composição sobre a digestibilidade	-0,762 <sup>B</sup>	-0,448 <sup>B</sup>	0,883 <sup>A</sup>	<0,001	0,100	0,001
Matéria Mineral	81,278 <sup>B</sup>	99,527 <sup>B</sup>	197,576 <sup>A</sup>	133,000	7,184	0,001
Oléo:Materia-prima	0,140 <sup>B</sup>	0,155 <sup>B</sup>	0,242 <sup>A</sup>	0,185	0,006	0,001
Proteína bruta	760,802 <sup>A</sup>	734,318 <sup>A</sup>	665,593 <sup>B</sup>	712,225	6,258	0,001
Colágeno	180,856 <sup>B</sup>	200,434 <sup>B</sup>	293,526 <sup>A</sup>	231,990	9,083	0,001
Carga fatorial do Processamento sobre a digestibilidade	0,011	0,079	-0,122	<0,001	0,100	0,6506
Tempo	85,100	84,130	82,319	83,575	1,996	0,8879
Temperatura	97,843	98,070	98,926	98,356	0,263	0,2603

1. Classificação de grupos conforme Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO);

2. Erro Padrão Médio;

3. Componentes principais;

4. Médias seguidas de letras maiúscula diferentes na linha, diferem entre si (P<0,05) pelo teste Tukey.

A variabilidade da composição das FVA, é dependente das características dos materiais constituintes e da quantidade dos mesmos (RIBEIRO et al., 2019). O componente principal Composição apresentou influência direta sobre a variável dependente DIVMO ( $P < 0,001$ ) (Tabela 4), verificou-se que apesar de todas as variáveis desse CP mostrarem efeito para a DIVMO ( $P < 0,001$ ), as FVA com maiores teores de matéria mineral e colágeno obtiveram alta DIVMO. Assim, sugere que as FVA que foram classificadas para o grupo de alta digestibilidade sejam as FVA<sub>HA</sub>.

Nota-se que as FVA do grupo baixa e média DIVMO apresentaram efeito negativo sobre a digestibilidade, porém a proteína bruta das FVA desses grupos foi maior, isso confere a ideia de que as FVA<sub>HA</sub> foram todas classificadas para o grupo de alta DIVMO pelo número de amostras. Entretanto, não se pode afirmar que essa classificação se deu devido a FVA conter maiores teores de matéria mineral, acredita-se que a maior digestibilidade das FVA com alta cinzas tenha influência do tipo da matéria-prima utilizada para a produção da FVA com maiores quantidades de músculos e colágenos oriundos da carne mecanicamente separada (CMS).

Chang et al. (2011) conferiram maior solubilidade do colágeno quando aquecidos a 90°C acreditando estar associada a conversão do colágeno em gelatina, que acontece nessa faixa de temperatura, porém, a digestibilidade e biodisponibilidade do colágeno procedentes do osso ainda é desconhecido e os componentes estruturais, como as estruturas secundárias e terciárias são especialmente suscetíveis a métodos de processamento tais como pressão e temperatura que, maior que 100°C a matriz do colágeno seria totalmente desenrolada, além dos métodos de moagem, esses são fatores importantes que devem ser considerados (NAWAZ et al., 2020).

A falta de padronização dos lotes das matérias-primas (material *in natura*) resulta em cargas de processos diferentes e conseqüentemente variações nas condições de processamento de cada lote e pode afetar de forma considerável a qualidade e a digestibilidade das FVA (CRAMER et al., 2007; KAWAUCHI et al., 2014; ZAREI et al., 2014; RIBEIRO et al., 2019). Assim, neste estudo ficou evidente as diferenças atribuídas as características da matéria-prima, em que a razão óleo: matéria-prima foi crescente em relação a quantidade de matéria mineral e teor de colágeno. Resultados semelhantes foram obtidos por Ribeiro et al. (2019) no qual foi proposto que a quantidade de óleo de frango no processo de fritura, na proporção de  $131,3 \pm 80,6$  a  $161,4 \pm 99,3$  g/kg, pode melhorar os resultados de DIVMO, pois não usar óleo, ou usar em baixa quantidade pode acarretar no início do processamento um superaquecimento e fritura imediata do material (FERROLI et al., 2001).

Na planta em que a pesquisa foi realizada, a classificação relacionada ao tipo de FVA, *Low* ou *High Ash*, é oriunda do tipo de matéria-prima utilizada na produção, resíduos de CMS

para fabricação das FVA<sub>HA</sub> e para as FVA<sub>LA</sub>, vísceras (intestino e órgãos). Mediante isso, seria interessante pesquisas voltadas exclusivamente aos fatores que afetam a qualidade dessas matérias-primas e quais medidas de controles realizar.

Bhaskar et al. (2014) analisaram a composição química do material visceral (60,67% PB, 8,93% MM e 12,05% EE) e do intestino (53,77% PB, 6,25% MM e 10,41% EE) de aves, que formam o material *in natura* utilizado para produção da FVA, obtiveram coerência com a composição nutricional da FVA.

As variáveis tempo de processamento ( $P=0,8879$ ) e temperatura média do processo ( $P=0,2603$ ) do CP processamento não influenciaram a digestibilidade entre os *Clusters*. A média da temperatura do processo nos dois tipos de FVA o coeficiente de variação não chegou aos 2% (Figura 1), considera-se que a temperatura foi bem controlada e por isso não foi fator de interferência na qualidade do processo. Entretanto, estudos recentes de Ribeiro et al. (2019), verificaram influência direta no tempo de processo, em que o maior tempo para o processamento proporcionou FVA com maior DIVMO ( $P=0,001$ ).

Por ser um processo contínuo, possivelmente a maior variação para temperatura inicial advém da temperatura final anterior, o intervalo entre a descarga e a nova carga do material no digestor não é suficiente para reduzir a temperatura do digestor.

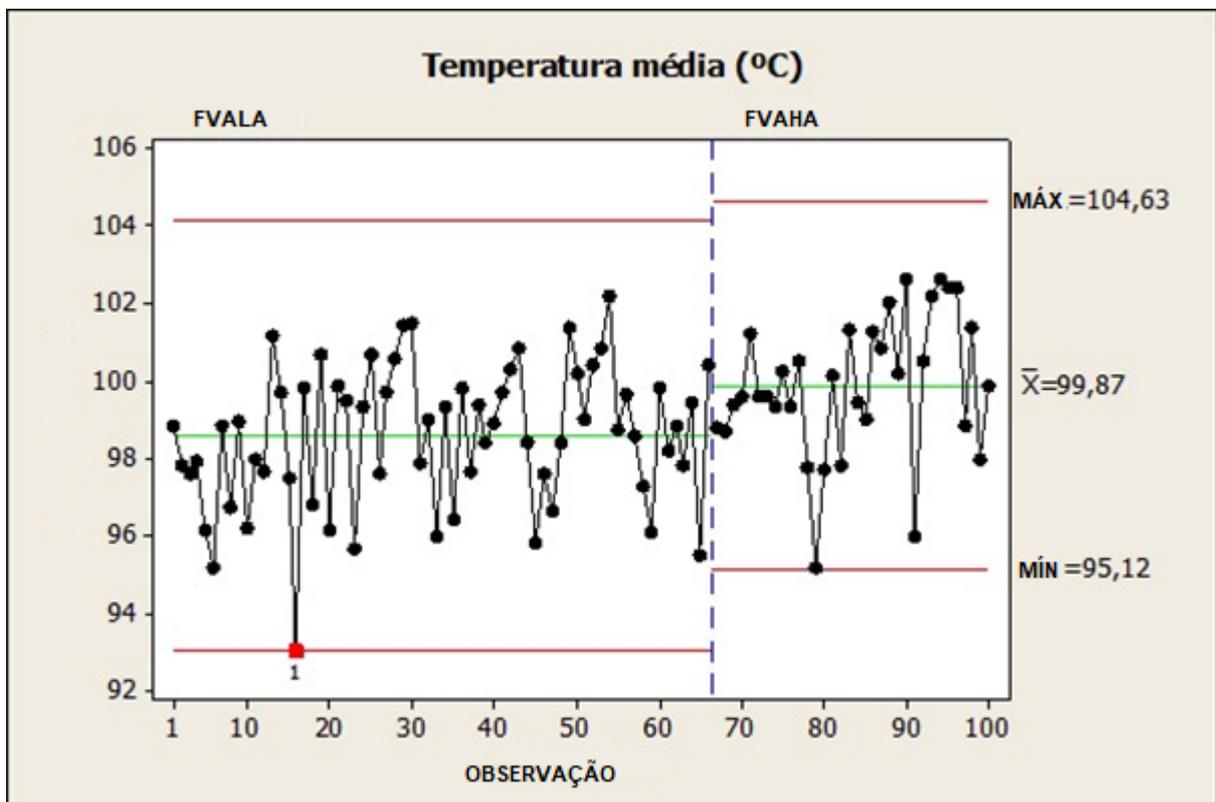


Figura 1. Temperatura média final do processo na obtenção das FVA dos digestores.

Nesta pesquisa, a temperatura não foi uma variável de interferência para explicar a variação total dos dados de qualidade do produto acabado, visto que a composição nutricional não foi afetada pela temperatura do processo, e essa variação ocorreu aleatoriamente conforme a mudança do tipo e da qualidade da matéria-prima, assim como também não afetou a DIVMO das FVA<sub>LA</sub> que obteve um coeficiente de digestibilidade de 82,15% e o seu menor valor foi de 75,7%. Para as FVA<sub>HA</sub>, a DIVMO foi maior, sendo que os valores médios ficaram iguais ao valor máximo da FVA<sub>LA</sub>, 88,36% (Figura 2).

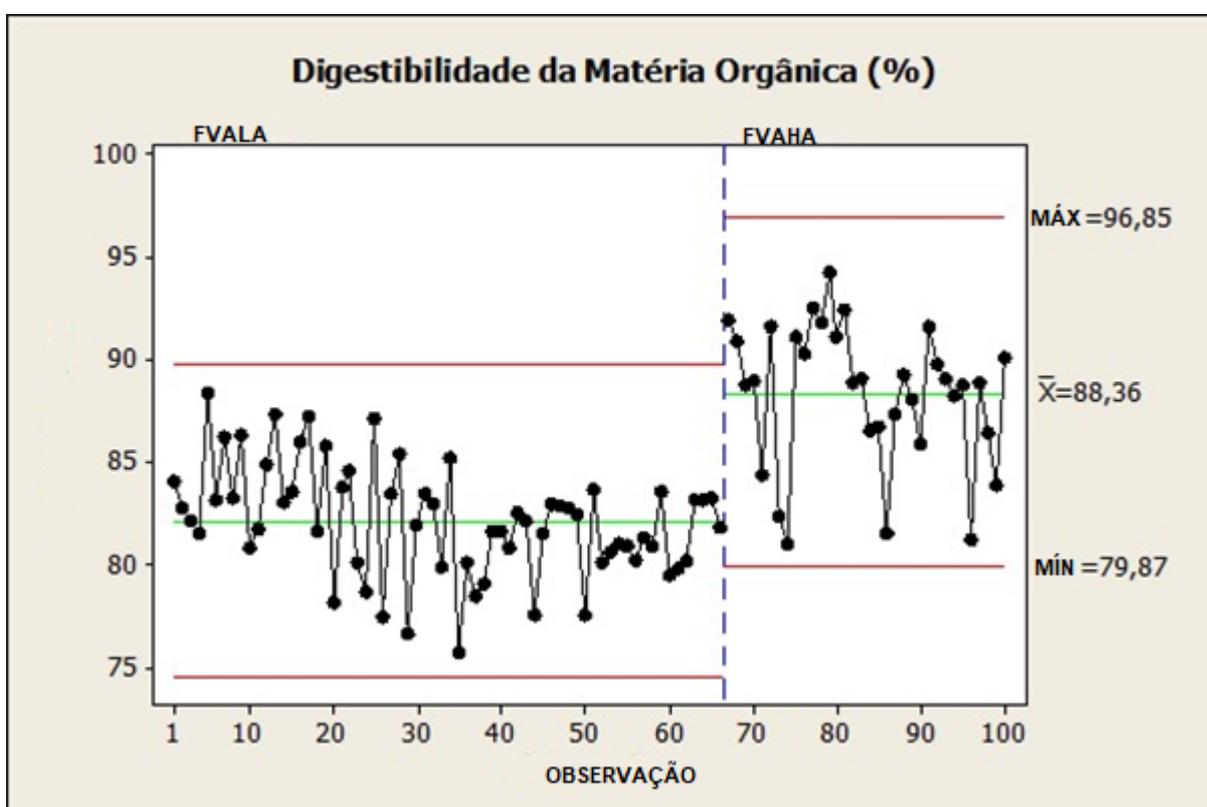


Figura 2. Valores da digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) dos dois tipos de FVA.

Pesquisas semelhantes foram desenvolvidas por Wang e Parson (1998), que também não encontraram relação que pudesse afirmar que a temperatura de processamento interferisse de maneira consistente na composição dos nutrientes, assim o fator temperatura de processamento não explicou os valores mais baixos de digestibilidade, em farinhas similares ao presente estudo. Para esses autores, o tempo de processamento na produção das farinhas foi mais longo entre elas, sendo então, a variável tempo parcialmente responsável pela digestibilidade.

Awonorin et al. (1995) consideraram que a temperatura entre 130°C a 150°C e tempo de processo entre 90 a 120 minutos ideal para produção de FVA acima de 56% de PB e reduzir a

perda de aminoácidos (<50%). Ribeiro et al. (2019) verificaram maior digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica das FVA quando menores as temperaturas médias e máximas do processamento e maiores tempos também e consideraram que a temperatura de processamento deve estar entre  $100,6\pm 2,05^{\circ}\text{C}$  e  $106,0\pm 1,02^{\circ}\text{C}$ .

O tempo de processamento variou entre 61 e 125 minutos com média de 84 minutos e 45 a 150 minutos com média de 76 minutos para FVALA e FVAHA, respectivamente. Difícil prever o que influenciou na variação desse tempo, se o processamento, tipo de material, quantidade de vapor ou até mesmo a influência do operador podem ter contribuído para essa variação. Essa variável também não interferiu na qualidade nutricional das FVA (Figura 3), mostrando que a qualidade e o tipo da matéria-prima utilizada é uma característica de grande influência na resposta final do produto acabado (NASCIMENTO et al., 2002; NUNES et al., 2005; CARCIOFI, 2008).

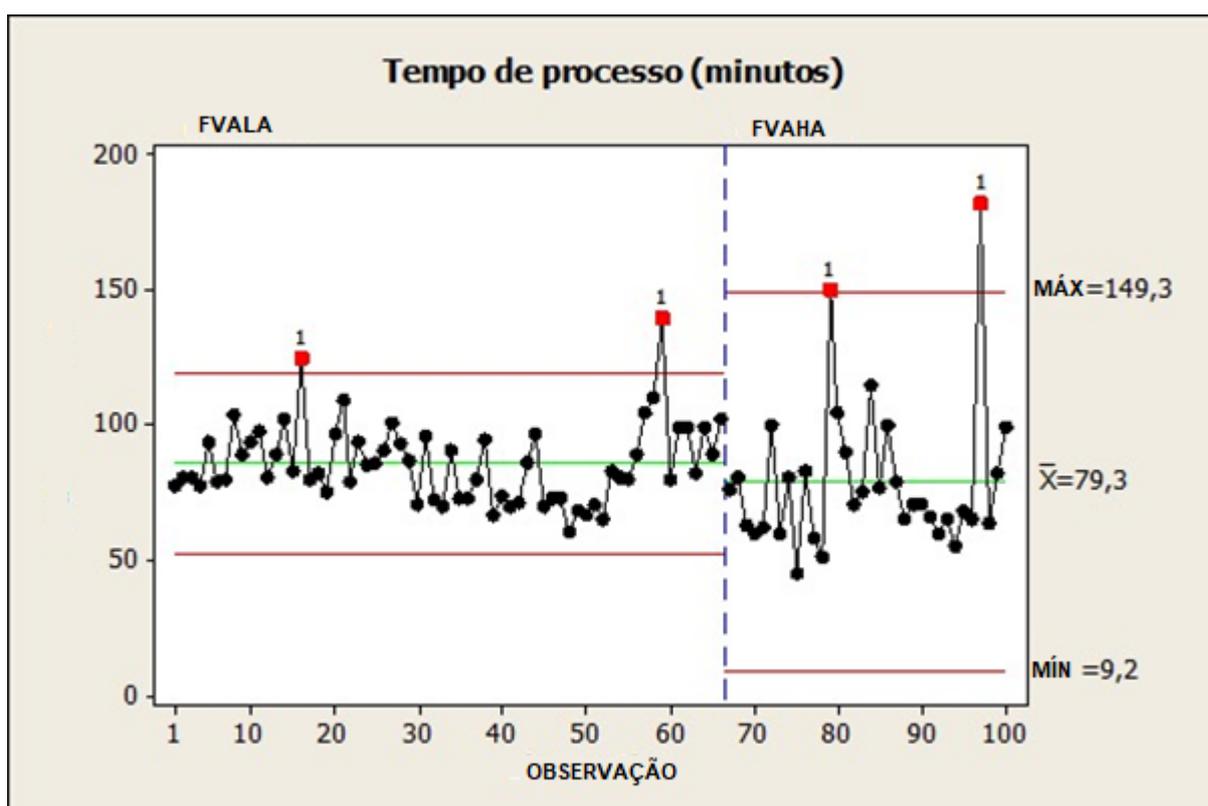


Figura 3. Relação entre tempo de processamento e valores de proteína bruta, matéria mineral e digestibilidade *in vitro* das FVA.

A média do tempo de processamento da FVAHA (76 min) foi a metade do tempo descrito por Ferroli et al. (2001) para digestores com a mesma capacidade de 5 mil litros (140 min), da planta deste estudo. Assim, não é possível afirmar que para a produção de FVA exista um tempo

adequado de processamento, mas que é necessário respeitar as condições de cada equipamento e percentual de lotação do digestor de uma planta de produção.

Johnson et al. (1998), quando pesquisaram sobre FVA do tipo *low ash* como fonte proteica de alimentos para cães, verificaram que quando o tempo de processamento aumenta, diminui a digestibilidade e disponibilidade dos aminoácidos desse ingrediente e faz com que atenua a dificuldade em padronizar a qualidade dessa fonte proteica usada para formular os alimentos para *pet*, para os fabricantes de FVA é difícil controlar a variabilidade da matéria-prima e classificar um método de escolha do subproduto para a inclusão no processo de fabricação e essa variabilidade afeta a digestibilidade e perfis de aminoácidos (MURRAY et al., 1997; YAMKA et al., 2003).

Tabela 5. Valores de Proteína Carbonilada (Oxidação Proteica), após agrupamento para os Indicadores Fatoriais dos Componentes Principais e das Variáveis independentes.

Parâmetro	Grupos <sup>1</sup>			Total (= 100)	SEM <sup>2</sup>	P valor
	Baixa (n = 35)	Média (n = 51)	Alta (n = 14)			
PC <sup>3</sup> (nmol/g PB MS)	265,19 <sup>C</sup>	393,07 <sup>B</sup>	524,40 <sup>A</sup>	366,70	9,46	0,0001
Componentes <sup>4</sup>	Grupos <sup>1</sup>			Total (= 100)	SEM <sup>2</sup>	P valor
	Baixa (n = 35)	Média (n = 51)	Alta (n = 14)			
Carga fatorial da Composição	0,031	-0,089	0,109	<0,001	0,100	0,787
Matéria Mineral	134,199	129,862	136,476	133,000	7,184	0,947
Oléo:Matéria-prima	0,186	0,181	0,187	0,185	0,006	0,9265
Proteína bruta	709,159	722,980	696,510	712,225	6,258	0,361
Colágeno	228,642	236,185	233,698	231,990	9,083	0,929
Carga fatorial do Processamento	-0,132	0,233	-0,102	<0,001	0,100	0,231
Tempoproc	85,931	79,500	85,179	83,575	1,996	0,319
TempMédproc	98,068	98,853	98,160	98,356	0,263	0,364

1. Classificação de grupos conforme Oxidação da proteína na matéria seca (PC);

2. Erro Padrão Médio; 3. Proteína Carbonilada; 4. Componentes principais;

5. Médias seguidas de letras maiúscula diferentes na linha, diferem entre si (P<0,05) pelo teste Tukey.

O mesmo procedimento em ordenar em *Clusters* Hierárquicos para a DIVMO foi realizado para oxidação proteica (Tabela 5), nos quais também foram formados 3 *Clusters* com a mesma classificação: baixa (265,19 nmol/g PB MS), média (393,07 nmol/g PB MS) e alta (524,40 nmol/g PB MS). Posteriormente à formação dos *Clusters*, igualmente, procedeu-se a comparação das médias entre as variáveis de cada componente dentro dos *Clusters*, com o objetivo de identificar os fatores com maior influência na Oxidação Proteica.

As variações da proteína carbonilada não foram explicadas pelos dois componentes principais, pois não apresentaram efeito direto sobre esta variável dependente. Trazia-se a hipótese de que os fatores relacionados ao processamento, principalmente temperatura e tempo de processamento teriam correlação com formação de proteínas oxidadas (POX).

Os resultados indicam que o processamento não influenciou ( $P=0,2314$ ) na formação da oxidação proteica, sendo possível que a variabilidade da matéria-prima tenha contribuído para que as FVA apresentassem diferenças quantitativas nas proteínas sensíveis ao ataque oxidativo em que o teor de aminoácidos e seus produtos de oxidação poderia ajudar a explicar a formação das POX, porém, esses parâmetros não foram analisados.

Por meio de uma correlação simples de Pearson ( $r$ ) o tempo de processamento foi significativo, ( $r=0,196$ ,  $P=0,05$ ) para a formação de POX. O cozimento estimula a formação de espécies reativas de oxigênio, que por sua vez pode aumentar a tendência de desenvolvimento de POX (TRAORE et al., 2012), os efeitos da temperatura aliados com o tempo de aquecimento podem ter relação com o mecanismo de defesa antioxidante conforme aumenta a desnaturação das proteínas, o que proporciona maior liberação de ferro e produção de radicais livres e resulta em maiores teores de POX em temperaturas de cozimento mais elevadas e tempos prolongados (SOLADOYE et al, 2015). Neste estudo foi verificado que o residual de antioxidante oriundo do material *in natura* teve associação direta e inversa, ( $r=-0,249$ ,  $P=0,013$ ) com a formação de POX, ou seja, quanto maior a concentração do residual de antioxidante nas FVA, menor o teor de POX, em que se pode destacar a importância do uso de antioxidantes durante o processamento para proteção contra danos oxidativos.

Nos últimos anos, o método DNPH vem sendo aplicado para análise nos alimentos mesmo com algumas restrições, os compostos de carbonilas não são formados apenas durante a oxidação das proteínas, esses compostos de carbonila são formados também durante a peroxidação lipídica e a reação de *Maillard*, superestimando a oxidação proteica, além de que as proteínas precisam ser solúveis para o ensaio espectrofotométrico (SOGLIA et al., 2016; HELLWIG, 2019).

É reconhecido na literatura a dificuldade de padronização da matéria-prima para a fabricação de FVA, visto que, nesse material acaba sendo misturado porções maiores de carcaças inteiras, pés e cabeças de aves por não haver um local separado para esses tipos de resíduos dentro da própria planta, e misturar com o material visceral se torna a opção mais rápida de descarte, além do processo de fabricação da farinha ser lento e muitas vezes não consegue suprir à quantidade de resíduos gerados pelo frigorífico, contribuindo para que esse tipo de mistura aconteça ou proporcionando maior tempo de espera das vísceras na tolva, e, conseqüentemente afetando a qualidade do produto acabado.

### 3.4 Conclusão

O processamento tem baixa influência na digestibilidade *in vitro*, pois o tempo e temperatura de processamento formaram o componente principal 2 e responderam por 23,64% na qualidade da FVA, porém, o componente principal composição foi o de maior influência e mostrou que o tipo e qualidade da matéria-prima *in natura* utilizados na produção de farinha são os principais responsáveis na qualidade final e composição nutricional do produto finalizado. A quantidade da matéria mineral tem maior impacto na qualidade nutricional da FVA, atuando no componente principal 1. Pelo método DNPH não foi possível verificar influência do processamento na formação de carbonilas.

### 3.5 Referências

- ABRAHA, B.; ADMASSU, H.; MAHMUD, A.; TSIGHE, N. et al. Effect of processing methods on nutritional and physico-chemical composition of fish: a review. **MOJ Food Processing & Technology**, v.6, n. 4, p. 376-382, 2018.
- AOAC, Official Methods of Analysis. 16th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.2000.
- AOAC, Official Methods of Analysis. 16th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.2005.
- AHMED, M.; PICKOVA, J.; AHMAD, T.; LIAQUAT, M.; FARID, A.; JAHANGIR, M. Oxidation of Lipids in Foods. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 32, n.3. p. 230, 2016.
- AWONORIN, S.O.; AYOADE, J.A.; BAMIRO, F.O.; OYEWOLE, L.O. Relationship of Rendering Process Temperature and Time to Selected Quality Parameters of Poultry By-product Meal. **Lebensm.-Wiss. u.-Technology**, v.28, n.1, p. 129-134, 1995.
- BIAGI, G.; CIPOLLINI, I.; GRANDI, M.; PINNA, C.; VECCHIATO, C.G.; ZAGHINI, G. 2016. A new in vitro method to evaluate digestibility of commercial diets for dogs. **Italian Journal of Animal Science**, v. 15, n. 4, 617–625, 2016.
- BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G.; GARCIA, A.V. Application of techniques for intake, diet composition and digestibility studies. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 29-40, 2005.
- BHASKAR, P.; PYNE, S.K.; RAY, A.K. EVALUATION OF POULTRY VISCERA AS POTENTIAL FISH FEED INGREDIENT, COMPARED TO FISHMEAL. **International Journal of Current Research**, v. 6, n.2, p. 5241-5243, 2014.
- CARCIOFI, A.C. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.28-41, 2008.
- CHANG, H.; WANG, Q.; XU, X.; LI, C.; HUANG, M.; ZHOU, G.; DAI, Y. Effect of Heat-Induced Changes of Connective Tissue and Collagen on Meat Texture Properties of Beef Semitendinosus Muscle. **International Journal of Food Properties**, v.14, p. 381–396, 2011.
- CRAMER, K.R., GREENWOOD, M.W., MORITZ, J.S., BEYER, R.S., PARSONS, C.M. Protein quality of various raw and rendered by-product meals commonly incorporated into companion animal diets. **Journal of Animal Science**, v.85, p. 3285-3293, 2007.

- CHEVALLIER, S., DELLA VALLE, G., COLONA, P., BROYART, B., TRYSTRAM, G. Structural and chemical modifications of short batter during baking. **Journal of Cereal Science**, v. 35, p. 1-10, 2002.
- ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**, v. 89, p. 259–279, 2011.
- EYNG, C.; NUNES, C.G.V.; NUNES, R.V. et al. Composição química, valores energéticos e digestibilidade dos aminoácidos de farinhas de carne e ossos e de peixe para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.3, p.575-580, 2011.
- FAVERO, L.P.; BELFIORE, P.; SILVA, F.L.; et al. 2009. Análise de dados: Modelagem multivariada para tomada de decisões. ELSEVIER EDITORA.
- FERROLI, P.C.M.; FIOD NETO, M., CASAROTTO FILHO, N., et al. Fábricas de subprodutos de origem animal: a importância do balanceamento das cargas dos digestores de vísceras. **Production** 10, n.2. p. 05-20, 2001.
- HAIR, J.F.; BLACK, W.C.; BABIN, B.J.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L.; 2009. **Análise multivariada de dados**. 6 Edição. Bookman.
- HELLWIG, M. A. The Chemistry of Protein Oxidation in Food. **Journal of the German Chemical Society**. International Edition. 2019. doi: <https://doi.org/10.1002/anie.201814144>. Acesso em: fevereiro 2021.
- HEMMINGSEN, A.K.T.; STEVIK, A.M.; CLAUSSEN, I.C.; LUNDBLAD, K.K.; PRESTLØKKEN, E.; SØRENSEN, M.; EIKEVIK, T.M. Water Adsorption in Feed Ingredients for Animal Pellets at Different Temperatures, Particle Size, and Ingredient Combinations. **Drying Technology**, v. 26, p. 738–748, 2008.
- HERVERA, M.; BAUCCELLS, M. D.; GONZÁLEZ, G.; PÉREZ, E.; CASTRILLO, C. Prediction of digestible protein content of dry extruded dog foods: comparison of methods. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 93. p. 366–372, 2009.
- HERVERA, M., BAUCCELLS, M.D., BLANCH, F., CASTRILLO, C. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, 205-209. 2007.
- JOHNSON, M.L.; PARSONS, C.M. Effects of Raw Material Source, Ash Content, and Assay Length on Protein Efficiency Ratio and Net Protein Ratio Values for Animal Protein Meals. **Poultry Science**, v. 76, p. 1722–1727, 1997.
- JOHNSON, M. L., C. M. PARSONS, G. C. FAHEY, N. R. MERCHEN, AND C. G. ALDRICH. Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature

- on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ileally cannulated dogs. **Journal Animal Science**, v.76, p. 1112–1122, 1998.
- KAWAUCHI, I.M., SAKOMURA, N.K., PONTIERI, C.F., REBELATO, A., PUTAROV, T.C., MALHEIROS, E.B., GOMES MDE, O., CASTRILLO, C., CARCIOFI, A.C. Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. **Journal of Nutritional Science**, v.3, p.36, 2014.
- LAUDADIO, V.; TUFARELLI, V. 2011. Pea (*Pisum sativum* L.) Seeds as an Alternative Dietary Protein Source for Broilers: Influence on Fatty Acid Composition, Lipid and Protein Oxidation of Dark and White Meats. **Journal of the American Oil Chem Society**, v. 88, p. 967–973, 2011.
- LEBART, L. Contiguity analysis and classification. In: Data Analysis. Berlin: **Springer**. 233-244, 2000.
- LEVINE, R.L.; GARLAND, D.; OLIVER, C.N.; AMICI, A.; CLIMENT, I. Determination of Carbonyl Content in Oxidatively Modified Proteins. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 464–478, 1990.
- MALAFAIA, M. I. F. R.; PEDROZO, E. A.; DOS SANTOS, J. A. P.; et al. Consumo de nutrientes, digestibilidade in vivo e in vitro de dietas para cães contendo polpa de citrus e folha de alfafa. **Ciência Rural**, v.32, n.1, p.121-126, 2002.
- McNAUGHTON, J.L.; MAY, J.D.; STRICKLAND, A.C.; Compositions of poultry offal meals from various processing plants. **Poultry Science**, v. 56, p. 1659-1661, 1977.
- MURRAY S.M.; PATIL A.R.; FAHEY G.C. JR.; MERCHEN, N.R.; HUGHES, D.M. Raw and rendered animal by-products as ingredients in dog diets. **Journal Animal Science**, v. 75, p. 2497–2505, 1997.
- NAJAFABADI, H.J.; MOGHADDAM, H.N.; POURREZA, J.; et al. Determination of Chemical Composition, Mineral Contents, and Protein Quality of Poultry By-Product Meal. **International Journal of Poultry Science**, v.6, n.12, p. 875-882, 2007.
- NASCIMENTO, A.H.; GOMES, P.C.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. & TORRES, R.A. Composição química e valores de energia metabolizável das farinhas de penas e vísceras determinados por diferentes metodologias para aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n.3, p.1409-1417, 2002.
- NAWAZ, A.; LI, E.; IRSHAD, S.; HHM, H.; LIU, J.; SHAHBAZ, H.M.; AHMED, W.; Regenstein, J.M. Improved effect of autoclave processing on size reduction, chemical structure, nutritional, mechanical and in vitro digestibility properties of fish bone powder. **Advanced Powder Technology**, v.31, n.6, p. 2513-2520, 2020.

- NUNES, R.V.; POZZA, P.C.; NUNES, C.G.V.; CAMPESTRINI, E.; KÜHL, R.; ROCHA, L.D.; COSTA, F.G.P. Valores energéticos de subprodutos de origem animal para Aves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1217-1224, 2005.
- ÖZER1, C.O.; SEÇEN, S.M. Effects of quinoa flour on lipid and protein oxidation in raw and cooked beef burger during long term frozen storage. 2018. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 221-227, 2018.
- ÖZTÜRK-KERIMOĞLU, B.; NACAĞ, B.; ÖZYURT, V.H.; SERDAROĞLU. M. Protein oxidation and in vitro digestibility of heat-treated fermented sausages: How do they change with the effect of lipid formulation during processing? **Journal of Food Biochemistry**. 2019. Doi: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13007>.
- RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. 2ed. Viçosa: Ed UFV, 2017.
- REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative Damage to Proteins: Spectrophotometric Method for Carbonyl Assay. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 357-363, 1994.
- RIBEIRO, L.B. BANKUTI, F.I.; da SILVA, M.U. RIBEIRO, P.M.; SILVA, J.M.; SATO, J.; BORTOLO, M.; VASCONCELLOS, R.S. Oxidative stability and nutritional quality of poultry by-product meal: An approach from the raw material to the finished product. **Animal Feed Science and Technology**, v. 255, 2019.
- ROSS JR, W.M.; FALLS, N.C. **Classification of Food Meals Made from Animal By-Products**. United States Patent. Appl. n. 769, 166 p. 1985.
- SHIRLEY, R.B.; PARSONS, C.M. Effect of Pressure Processing on Amino Acid Digestibility of Meat and Bone Meal for Poultry. **Poultry Science**, v.79, p. 1775–1781, 2000.
- SILVA, E.P.; RABELLO, C. B-V.; ALBINO, L.F.T.; LUDKE, J.V.; LIMA, M.B.; DUTRA JUNIOR, W.M. Prediction of metabolizable energy values in poultry offal meal for broiler chickens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.10, p.2237-2245, 2010.
- SOGLIA, F.; PETRACCI, M.; ERTBJERG, P. Novel DNPH-based method for determination of protein carbonylation in muscle and meat. **Food Chemistry**, v. 197, p. 670-675, 2016.
- SOLADOYE, O.P.; JUAREZ, M.L.; AALHUS, J.L.; SHAND, P.; ESTÉVEZ, M. Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. **Food Science and Food Safety**, v.14, 2015.
- THOMAS, M.; van VLIET, T.; van der POEL, A.F.B. Physical quality of pelleted animal feed 3. Contribution of feedstuff components. **Animal Feed Science Technology**, v.70, p. 59–78, 1998.

- TRAORE S.; AUBRY L.; GATELLIER P.; PRZYBYLSKI W.; JAWORSKA D.; KAJAK-SIEMASZKO K.; SANTE-LHOUELIER V. Effect of heat treatment on protein oxidation in pig meat. **Meat Science**, v. 91, p.14–21, 2012.
- WANG, K. BAO, Y.; YANG, H.; WANG, Y.; CHEN, D.; REGENSTEIN, J.M.; ZHOU, P. Effect of Core Temperature on the Oxidation of Lipids and Proteins During Steam Cooking of Large-Mouth Bass (*Micropterus salmoides*). **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 70, n. 3, p. 301–312, 2020.
- WANG, X.; PARSON, C.M. Effect of Raw Material Source, Processing Systems, and Processing Temperatures on Amino Acid Digestibility of Meat and Bone Meals. **Poultry Science**, v. 77, p. 834–841, 1998.
- WAZIR, H.; CHAY, S.Y.; ZAREI, M.; HUSSIN, F.S. et al. Effects of Storage Time and Temperature on Lipid Oxidation and Protein Co-Oxidation of Low-Moisture Shredded Meat Products. **Antioxidants**, v. 8, p. 1-17, 2019.
- YANG, M., LIN, H., & CHOONG, Y. A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. **Food Research International**, v. 35, p. 627-633, 2002.
- YAMKA, R.M.; JAMIKORN, U.; TRUE, A.D.; HARMON, D.L. Evaluation of low-ash poultry meal as a protein source in canine foods. **Journal Animal Science**, v. 81, p. 2279–2284, 2003.
- ZAREI, A.; MOHAMMADI, M.; HEMMATI, B. Metabolizable Energy and Chemical Composition of Poultry by-Product Meal. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v. 4, n. 4, p. 849-853, 2014.
- ZENTEK, J.; FRICKE, S.; HEWICKER-TRAUTWEIN, M.; EHINGER, B.; AMTSBERG, G.; BAUMS, C. Dietary Protein Source and Manufacturing Processes Affect Macronutrient Digestibility, Fecal Consistency, and Presence of Fecal *Clostridium perfringens* in Adult Dogs. 2004. American Society for Nutritional Sciences. **Journal Nutrition**, v.134, p. 2158S–2161S, 2004.
- ZHANG, Y.; DONG, L.; ZHANG, J.; SHI, J. et al. Adverse Effects of Thermal Food Processing on the Structural, Nutritional, and Biological Properties of Proteins. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 12, p. 259 – 286, 2021.

#### 4 AVALIAÇÃO DE MÉTODOS RÁPIDOS DE CONTROLE DE QUALIDADE PARA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi avaliar métodos rápidos para o controle de qualidade de farinha de vísceras de aves (FVA). Foram utilizados dois ensaios, I) Teste rápido de histamina por um kit comercial em comparação ao método de quantificação de histamina por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC); II) avaliação instrumental da cor ( $a'$ ,  $b^*$  e  $L^*$ ) e análise subjetiva (visual). Para o ensaio I foram utilizadas 21 amostras de FVA e para o ensaio II, 100 amostras, ambas provenientes da mesma graxaria. Os valores médios de histamina, obtidos pelo HPLC e kit ELISA foram de 12,11 mg/kg e 18,95 mg/kg, respectivamente. A análise de acurácia (55,30%) e concordância mostrou que os métodos apresentam resultados distintos entre si. Os resultados obtidos por colorimetria foram comparados àqueles obtidos por 10 observadores treinados para análise visual e mostrou que não houve validação da concordância entre valores de cor por delta E, em função de análise visual, porém os resultados colorimétricos mostraram que a cor da FVA tende para amarela, com valores positivos para  $b^*$  14. Através da correlação de Pearson, verificou-se correlação da análise visual com os teores de PB ( $r=0,797$ ,  $P<0,001$ ), MM ( $r=-0,913$ ,  $P<0,001$ ), colágeno ( $r=-0,692$ ,  $P<0,001$ ), Digestibilidade *in vitro* da matéria seca ( $r=-0,594$ ,  $P<0,001$ ) e matéria orgânica ( $r=-0,646$ ,  $P<0,001$ ) e temperatura da prensa ( $r=0,579$ ,  $P<0,001$ ). Os métodos avaliados mostraram que funcionam quanto a detecção para Histamina – utilização para prever a qualidade do material *in natura* utilizado na produção de FVA, porém, quanto a quantificação de histamina em FVA é recomendável a análise por HPLC. O teste rápido apesar de possuir ampla e positiva correlação com a análise de HPLC superestimou os valores de histamina quando comparado ao HPLC.

**Palavras-chave:** cor, histamina, ingrediente *pet*, qualidade

## EVALUATION OF QUICK QUALITY CONTROL METHODS FOR POULTRY OFFAL MEAL

**ABSTRACT:** The aim of this study was to evaluate new procedures for the quality control of poultry by-product meal (PBM). For which two assays were used, I) Rapid test of histamine by a commercial kit compared to the method of histamine quantification by high performance liquid chromatography (HPLC).; II) instrumental evaluation of color ( $a'$ ,  $b^*$  and  $L^*$ ) and subjective (visual) analysis. For the test, 21 samples of PBM from the same rendering plant were used. The mean values of histamine in the samples, obtained by HPLC and ELISA kit were 12.11 mg/kg and 18.95 mg/kg, respectively. The accuracy (55.30%) and agreement analysis showed that the methods present different results from each other. Digital and visual colorimeter analyzes were performed on 100 samples collected from the same establishment. The results obtained by colorimetry were compared to those obtained by ten observers trained for visual analysis and showed that there was no validation of the agreement between color values by delta E as a function of visual analysis, but the colorimetric results showed that the color of the flour tends to the yellow color, with positive values for  $b^*$  14. Through Pearson's correlation, there was a correlation of visual analysis (subjective) with the levels of CP ( $r=0.797$ ,  $P<0.001$ ), MM ( $r=-0.913$ ,  $P <0.001$ ), collagen ( $r=-0.692$ ,  $P<0.001$ ), In vitro digestibility of dry matter ( $r=-0.594$ ,  $P<0.001$ ) and organic matter ( $r=-0.646$ ,  $P<0.001$ ) and press temperature ( $r=0.579$ ,  $P<0.001$ ). The methods evaluated in this study showed that they work for Histamine detection – use to predict the quality of raw material used in the PBM production, however, regarding the quantification of histamine in PBM, analysis by HPLC is recommended. The rapid test, despite having a wide and positive correlation with the HPLC analysis, overestimated the histamine values when compared to the HPLC.

**Key words:** color, histamine, pet ingredient, quality

## 4.1 Introdução

Na indústria de alimentos e rações para animais, os ingredientes de origem animal são as fontes principais de proteína utilizadas para a produção dos alimentos extrusados (KAWAUCHI et al., 2014; DONADELLI et al., 2019). O controle de qualidade desses ingredientes para que seja liberado para uso, em geral, é realizado por análises de composição química (proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral, umidade, cálcio e fósforo e perfil de aminoácidos), indicadores da estabilidade oxidativa (índice de peróxido, acidez, rancidez e concentração de antioxidantes) e parâmetros microbiológicos (NAJAFABADI, et al., 2007).

Parâmetros subjetivos como as características organolépticas (cor, odor e aparência) também são empregadas na avaliação qualitativa das farinhas de origem animal. Essas análises, mesmo que subjetivas, são úteis na triagem do material para a sua utilização e encaminhamento para as análises laboratoriais, assim como para o acompanhamento das suas características durante a vida de prateleira. A Farinha de Visceras de Aves (FVA) deve apresentar odor característico e cor castanho claro a marrom (HICKS e VERBEEK, 2016).

Apesar dos desafios, a padronização das características organolépticas deste ingrediente é importante, e, demonstra melhorias nos padrões de produção (temperatura e características do material processado), que por sua vez podem impactar no processamento das rações durante a extrusão e na qualidade nutricional dos alimentos processados com estes ingredientes (palatabilidade e digestibilidade). A análise de cor das farinhas de origem animal é feita visualmente, e pode apresentar variações entre observadores. Em humanos, estas análises são feitas, para muitos alimentos, com o auxílio de um colorímetro (LAKSHMI, 2014).

A cor dos alimentos apresenta associação com sua composição nutricional e aspectos relacionados ao processamento (temperatura) (FRANCIS, 1995; LOZANO e IBARZ, 1997; PATHARE et al., 2012). É possível que a utilização da análise colorimétrica de FVA tenha validade no estabelecimento de padrões qualitativos objetivando sua padronização nutricional e no processamento de rações, mas, para isto é necessário desenvolver métodos mais objetivos e a colorimetria pode ser uma boa ferramenta para isto.

Outra lacuna existente na análise qualitativa das farinhas de origem animal é com relação ao estabelecimento do tempo de espera do material *in natura* antes de ser processado, o qual, se elevado pode ocasionar a putrefação do material, comprometendo a segurança dos ingredientes. Para obter esta informação, a determinação das concentrações de aminas biogênicas pode ser importante, são compostos formados durante o processo de putrefação e

são estáveis ao tratamento térmico, permanecendo no produto acabado (RUIZ-CAPILLAS e HERRERO, 2019).

No entanto, estas análises não são realizadas rotineiramente, possivelmente em função da ausência de limites legais estabelecidos para estes contaminantes em FVA e, também em função dos custos destas análises e pouco conhecimento sobre seus efeitos biológicos nos animais. Dentre as aminas biogênicas, a histamina merece destaque, porque os efeitos biológicos da ingestão de quantidades elevadas desta amina estão associados com a resposta de hipersensibilidade e em casos mais graves, reações anafiláticas (LADERO et al., 2010; VISCIANO et al., 2014; GRAIG, 2019).

Apesar da histamina ser relacionada com as reações imunológicas, quando ingerida de fontes exógenas, em cães e gatos é difícil fazer distinção entre intolerância e alergia alimentar, os sinais clínicos são muito semelhantes. A intolerância é um problema digestivo e não tem relação com o sistema imunológico, enquanto a alergia alimentar é um distúrbio imunológico após a exposição prévia ao alimento, desta forma, o histórico completo, análise dos alimentos e a realização de exames clínicos ou até mesmo dietas de eliminação são importantes para distinguir estes problemas (GASCHEN e MERCHANT, 2011).

Apesar do método padrão de análise da histamina ser a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), kits comerciais que utilizam a técnica de imuno ensaio enzimático (ELISA) são disponíveis para esta análise em ingredientes de origem animal, como farinha de peixes e peixe fresco, porém, não são validadas para a farinha de vísceras de aves.

Desta forma, o objetivo com este estudo foi avaliar duas metodologias para o controle de qualidade da FVA, a colorimetria através de ferramentas práticas, como colorímetro digital, comumente utilizada na análise de cor que foi comparado com a análise subjetiva visual, e a análise de histamina com o uso do kit comercial (ELISA) o qual foi comparado com a análise deste metabólito por HPLC.

## **4.2 Material e Métodos**

### *Ensaio I correlação de cor instrumental com subjetiva:*

Para este ensaio, amostras de farinha de vísceras de aves (FVA) foram coletadas em uma fábrica de subprodutos inspecionada pelo Serviço de Inspeção Federal Brasileiro (SIF) localizada no município de Rolândia, PR, Brasil, estabelecimento era interligado a um

frigorífico de aves de corte e, portanto, o tempo de espera entre o abate e a produção da FVA era inferior a seis horas.

O total de cem (n=100) amostras de FVA foram coletadas e classificadas de acordo com o Manual Pet Food Brasil (ABINPET, 2019), em que sessenta e quatro (n=64) foram farinhas do tipo “*low ash*”, que eram compostas por conteúdo visceral (órgãos digestivos, pulmão, fígado, rins e coração), carcaças inteiras e trinta e seis (n=36) farinhas “*high ash*”, que continham resíduo de carne mecanicamente separada (CMS), proveniente do frigorífico. Após a obtenção das amostras, foram moídas em moinhos de faca (Modelo R-TE-650/1, Piracicaba, Brasil), equipadas com peneiras 1,0 mm e armazenadas em freezer até análise. Cada amostra de FVA foi obtida de uma batelada de produção.

A análise instrumental de cor foi realizada em 100 amostras com Colorímetro Chroma Meter CR400/410 (Konica Minolta, Japão), em que o canhão do equipamento foi disposto sobre a amostra das FVA para leitura de cor. Foram avaliados os três parâmetros de cor referente as coordenadas cromáticas (KONICA MINOLTA, 2013):  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

O valor de croma (  $C$  ) foi calculado utilizando a equação  $C = \text{Raiz Quadrada de } (a^{2}+b^{2})$  e o ângulo de tonalidade ( $h^*$ ) pela fórmula  $h^0: \tan^{-1}(b^*/a^*)$ , expressos em graus.

Para a análise visual da coloração da FVA foi utilizada como referência a tabela de escala de cor EBC (European brewing convention) para cerveja que é o método de referência padrão, (CARVALHO et al., 2017). Para esta análise, visando minimizar o viés do observador, 10 avaliadores foram treinados para a avaliação. A análise foi realizada em uma cabine de luz, sem influência de luz externa. A avaliação foi realizada individualmente, com intervalos de 30 segundos entre as amostras.

Para correlacionar a análise visual da cor dos avaliadores com a análise de medição instrumental, as notas extremas dos avaliadores de cada amostra que não apresentavam relação com os demais avaliadores foram excluídas e depois se fez a média. A média de cada amostra foi correlacionada com os valores de luminosidade do Sistema CIE/Lab ( $L^*a^*b^*$ ) após cálculo de diferença de cor CIE 2000 utilizada para corrigir as diferenças entre o resultado da medição instrumental e a avaliação visual (equação abaixo).

$$\Delta E_{(00)} = \sqrt{\left(\frac{\Delta L'}{k_L \cdot S_L}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{k_C \cdot S_C}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{k_H \cdot S_H}\right)^2 + \left(R_T \left(\frac{\Delta C'}{k_C \cdot S_C}\right) \left(\frac{\Delta H'}{k_H \cdot S_H}\right)\right)}$$

Em que:

$$L' = L^* \qquad b' = b^* \qquad a = a^*(1 + G)$$

$$C^* = \sqrt{(a')^2 + (b')^2} \qquad h = \tan^{(-1)}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

$$G = 0.5 \sqrt{1 - \left(\frac{C^*_{(ab)}{}^7}{C^*_{(ab)}{}^7 + 25^7}\right)} \qquad S_L = 1 + \frac{0.015(\bar{L}' - 50)^2}{\sqrt{20 + (\bar{L}' - 50)^2}}$$

$$S_C = 1 + 0.045\bar{C}' \qquad S_H = 1 + 0.015\bar{C}'T$$

$$T = 1 - 0.17\cos(\bar{h}' - 30) + 0.24\cos(2\bar{h}') + 0.32\cos(3\bar{h}' + 6) - 0.20\cos(4\bar{h}' - 63)$$

$$R_T = -\sin(2\Delta\theta)R_C \qquad \Delta\theta = 30\exp\left(-\left(\frac{\bar{h}' - 275}{25}\right)^2\right)$$

$$R_C = 2 \sqrt{\frac{\bar{C}'^7}{\bar{C}'^7 + 25^7}}$$

A composição química das amostras de FVA (n=100), foi realizada seguindo as metodologias descritas pela *Association of the Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005) em que foram quantificadas umidade (UM – Método 930.15)); matéria seca (MS); matéria mineral (MM – Método 942.05); matéria orgânica (MO); proteína bruta (PB – Método 954.01); extrato etéreo por hidrólise ácida (EEHA – Método 954.02) e digestibilidade *in vitro*. Para quantificação das concentrações residuais de antioxidante sintético (BHA, BHT e Etoxiquin) que foram adicionados na matéria-prima, utilizou-se cromatógrafo gasoso com detector por ionização de chama (GC-FID), segundo Yang e Choong (2002) e para a determinação da atividade de água ( $A_w$ ) utilizou-se de equipamento específico (Pawkit - Decagon, Washington, Estados Unidos).

Os coeficientes de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e da matéria seca (DIVMS) foram determinados pela adaptação do método proposto por Hervera et al. (2007), com redução na quantidade de amostra de 0,75 g sugerido para rações para 0,50 g para FVA pela quantidade de substrato proteico a ser digerido.

*Ensaio II correlação de aminas por teste rápido e HPLC:*

Para as análises de aminas biogênicas, foram empregadas 21 amostras (provenientes das cem amostras descrita no ensaio I) e duas metodologias comparadas: 1) cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC); 2) Teste rápido com kit comercial (técnica de Imunoensaio enzimático direto - ELISA).

A histamina pelo método de HPLC foi determinada no Laboratório de Bioquímica de Alimentos, pertencente à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Para essas quantificações, seguiu-se o método de extração com ácido tricloroacético 5% proposto por Cirilo et al. (2003). A separação foi realizada por pareamento iônico em um cromatógrafo líquido de alta eficiência, e a quantificação pós-coluna com o-ftalaldeído e detecção por fluorescência em 340 e 450 nm de excitação e emissão, respectivamente (VALE e GLORIA, 1997). Para a quantificação da histamina pela técnica de ELISA, utilizou-se um kit comercial para Histamina (Veratox cat. 9505, Neogen Corporation, Estados Unidos), seguindo a metodologia descrita pelo fabricante.

A predição dos valores de histamina mensurados por (HPLC) em função dos valores de histamina mensurados por utilização de Kits Elisa (ELISA) foi realizada por meio de ajuste de modelos de regressão linear de 1º grau, utilizando o método dos mínimos quadrados ordinários (MQO). A detecção da significância das estimativas dos parâmetros  $\beta_0$  e  $\beta_1$  foi verificada pelo teste “t” parcial, aplicado individualmente a cada parâmetro.

A avaliação da validação da predição do modelo de 1º grau para a não ocorrência de viés foi realizada a partir do ajuste de um modelo linear de 1º grau dos valores de HPLC a partir dos valores de ELISA, com teste da hipótese de nulidade conjunta para os parâmetros da regressão linear dado por  $H_0: \beta_0 = 0$  e  $\beta_1 = 1$  versus  $H_a$ : Não  $H_0$ . A não significância dos parâmetros da regressão foi verificada aplicando o teste F, ao nível de  $\alpha\%$  de significância (MONTGOMERY et al., 2006).

A presença de viés ou tendenciosidade ao se aplicar o teste F ( $P \leq \alpha$ ) sugere a incidência de erros sistemáticos em algum ponto das marchas de mensuração de histamina, para ambos os métodos, indicando a necessidade de calibração do(s) método(s). Uma semelhança entre os valores de HPLC e ELISA no teste F ( $P > \alpha$ ) indica que os métodos apresentam concordância nos pares de valores e se encontram calibrados.

Para avaliação da precisão dos valores de histamina, foi estimado o coeficiente de correlação amostral de Pearson entre HPLC e ELISA ( $r_{\text{HPLC} \times \text{ELISA}}$ ), que permite a avaliação da nuvem de pontos em relação ao modelo de 1º grau ajustado e do comportamento dos erros

aleatórios. Como complemento à avaliação da precisão foi estimado o erro relativo (ER) de cada par (%):  $ER = |(HPLC - KIT)/HPLC| \times 100$  e o erro relativo médio, que representa a variação não explicada pelo modelo (%), dado por  $ERM = \sum ER_i/n$  com  $i$  variando de 1 a 21, que permitiu o cálculo do índice de acerto do modelo ( $1 - ERM$ ) e a aplicação de um teste lógico para a precisão do modelo, expresso por: Se  $r_{XY} \geq (1 - ERM)$ , o modelo é preciso; caso contrário, o modelo é impreciso, com nuvem de pontos dispersa em relação à reta de MQO e elevada aleatoriedade (MÁFIA et al., 2011).

Em passo subsequente foi calculado o grau de concordância ou índice de exatidão ( $C_b$ ) entre a proximidade da reta de mínimos quadrados (melhor reta) em relação à reta de equidade (reta bissetriz do 1º quadrante), que representa a condição ideal em que as projeções dos valores de histamina por HPLC são equivalentes às projeções dos valores de histamina mensurados por

ELISA. A não tendenciosidade ou exatidão foi obtido por:  $C_b = \frac{2}{v + (1/v) + u^2}$ , em que

$$v = \frac{\sigma_x}{\sigma_y} \text{ e } u = \frac{\mu_x - \mu_y}{\sqrt{\sigma_x \cdot \sigma_y}} \text{ (LIN, 1989).}$$

Posteriormente, foi estimado o coeficiente de correlação de concordância ( $\rho_C$ ), que expressa a acurácia (A) do modelo ajustado, e que foi estimado por  $\rho_C = r_{XY} \times C_b$  (LIN, 1989). A acurácia representa a resultante do viés com a precisão, e expressa o grau de fidedignidade que um modelo ajustado apresentou para a amostra de dados coletada.

Os valores médios de histamina mensurados por HPLC e ELISA foram comparados por meio do teste F da análise de variância da regressão, ao regredirem os valores de histamina medidos por HPLC em função dos valores de histamina mensurados por ELISA.

O nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05 foi adotado em todos os testes de hipóteses. As análises foram efetuadas utilizando os *softwares R Core Team* (2021) e *SAS® University Edition* (SAS, 2021).

O procedimento estatístico para análise de cor foi o mesmo utilizado para análise de histamina.

### 4.3 Resultados e Discussão

Ensaio I - As FVA *low* e *high ash* apresentaram, respectivamente, as seguintes composições químicas para PB (751,10 g/kg  $\pm$  2,81; 639,70 g/kg  $\pm$  4,10), MM (82,90 g/kg  $\pm$  0,95;

227,20 g/kg  $\pm$ 3,59) e EE (119,60 g/kg  $\pm$ 1,91; 117,40 g/kg  $\pm$ 1,01). Os valores máximo, mínimo e média de L\*, a\* e b\* e croma calculado (C) para cada tipo de FVA (*low ash* e *high ash*) (Tabela 1).

Tabela 1. Valores das Variáveis de cor obtidas pelo Colorímetro e Análise Visual das Farinha de vísceras de aves.

Variáveis	<i>Low Ash</i>				<i>High Ash</i>			
	Máx	Mín	Média	DP	Máx	Mín	Média	DP
L*	59,91	50,18	54,33	2,41	58,03	51,09	53,91	2,19
a*	4,90	2,88	4,01	0,40	4,85	3,10	4,09	0,39
b*	15,76	12,95	14,42	0,70	15,35	13,13	14,24	0,50
Croma	16,42	13,53	14,97	0,69	15,76	13,77	14,82	0,49
Análise Visual	26,00	15,00	20,00	2,26	11,00	5,00	7,00	1,54

DP = Desvio Padrão.

O valor a\* foi positivo, ou seja, representou coloração mais intensa de vermelho, característico da matéria-prima utilizada para a produção da FVA e foi a que apresentou os menores valores dentre os três parâmetros de cor. Os valores dos dois tipos de farinhas também foram positivos para b\*, e significa que tenderam para cor amarela, cor essa característica das FVA. Os valores de croma (C) variaram de 13,53 a 16,42 para as FVA *low ash* e intervalos de 13,77 a 15,76 FVA *high ash*.

A análise visual subjetiva, mostrou coerência entre a escala de cores da Tabela EBC (CARVALHO et al., 2017) utilizada para classificar os tipos de FVA que apresentaram os maiores valores para *low ash*, com escala máxima de 26 e mínimo de 15 e menores valores para as farinhas *high ash* que foram avaliadas nas escalas de máxima 11 e mínimo 5, com o resultado obtido pela análise visual foi criada uma escala de classificação para as FVA quanto a tonalidade da cor, com o código numérico RGB e hexadecimal (Hex) que especifica a intensidade de cada cor (Anexo).

Não houve concordância entre valores de cor por delta E em função da análise subjetiva para as FVA *low ash* e *high ash* (Figura 1). Estabeleceu-se então, uma correlação simples de Pearson (R) da análise subjetiva com os parâmetros de processo das FVA e foi verificado que FVA<sub>LA</sub> que receberam classificações mais escuras mostraram correlação negativa com a concentração de matéria mineral ( $r = -0,913$ ,  $P < 0,001$ ), e positiva com a concentração de

proteína bruta ( $r = 0,797$ ,  $P < 0,001$ ). A hipótese é que como o osso tende a ser branco o teor de inclusão de ossos contribuiu para minimizar a intensificação da cor, outra hipótese é que os íons de cálcio tendem a evitar a formação de alguns produtos da Reação de *Maillard* como a acrilamida que faz parte da via de escurecimento do alimento em condições de aquecimento (AÇAR et al., 2012; CHEN et al., 2015).

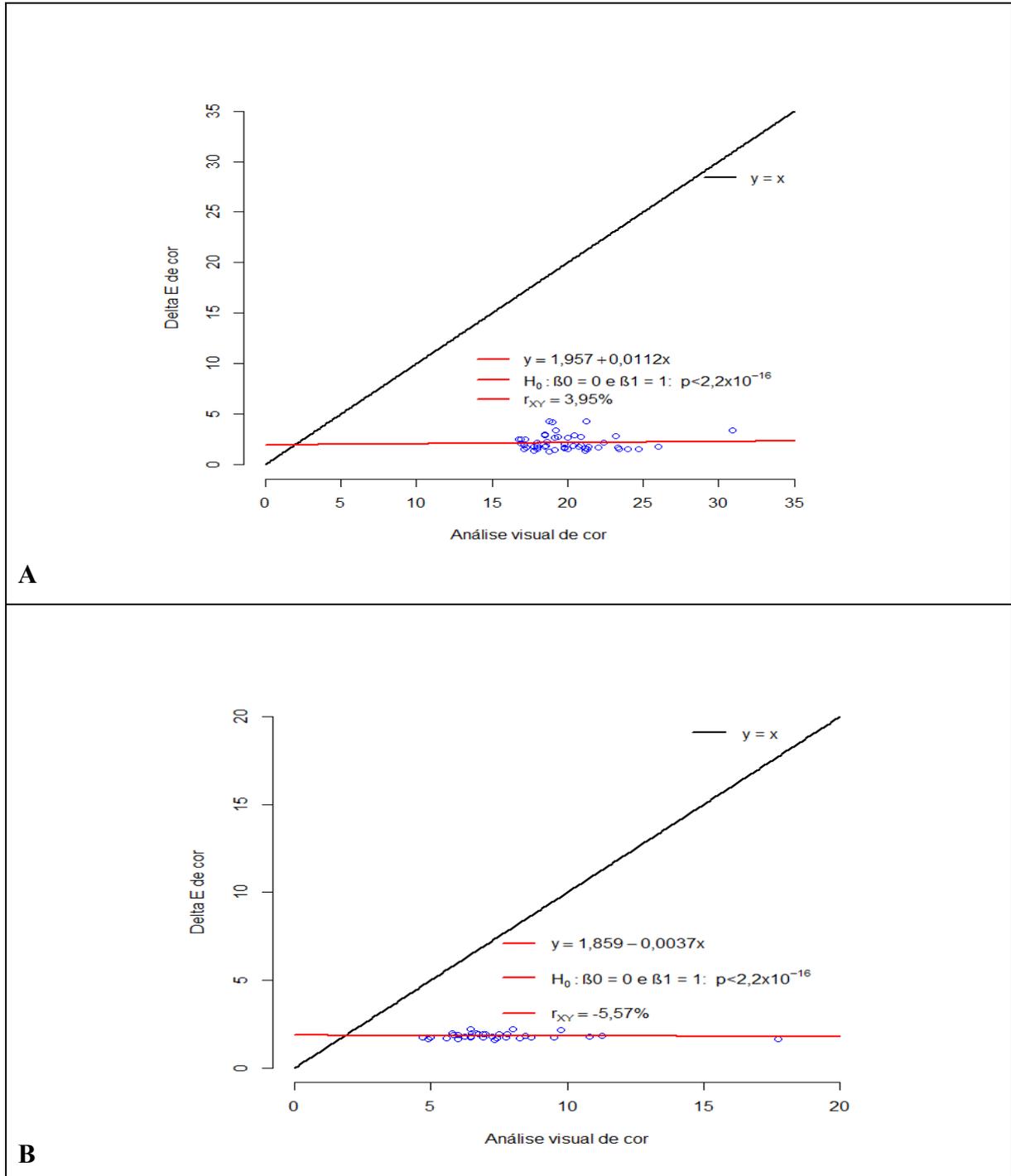


Figura 1. Análise gráfica da avaliação do teste de concordância entre os valores de cor de farinhas de vísceras *low ash* (A) e *high ash* (B) por cálculo de delta E ( $\Delta E$ ) e por análise visual

(AV): Reta da condição ideal (em preto) e modelo de 1º grau dos valores calculados de ( $\Delta E$ ) sobre os mensurados por AV (em vermelho).

Na indústria de alimentos para humanos, a colorimetria é mais utilizada visto a influência que a cor do alimento representa para a aceitação do produto, sendo um parâmetro indicativo no controle de qualidade (DIAS et al., 2012). Alguns produtos possuem classificação colorimétrica para correlacionar com a qualidade, carnes PSE (cor pálida) e DFD (cor escura) (QUIÃO et al., 2002; BRIDI et al., 2012; ZELECHOWSKA et al., 2012), cerveja (CARVALHO et al., 2017; KOREN et al., 2020), farinha de mandioca tostada, (SOUZA et al., 2015) e biscoitos (MORAES et al., 2010). Entretanto, para ingredientes e rações animais não existem padrões estabelecidos para estas avaliações, sendo comum amplas variações colorimétricas em ingredientes, especialmente as farinhas de origem animal, em função da sua condição de processamento.

Em farinhas de origem animal, acredita-se que a concentração de açúcares redutores para que ocorra a reação de *Maillard* seja baixa (SHIRLEY e PARSONS, 2000) porém, como a carne apresenta resíduos de glicogênio (MOYO et al., 2020), pressupõe que a quantidade desses resíduos de glicogênio na carne seja suficiente para que a mudança de cor em produtos proteicos de origem animal aconteça através da reação de *Maillard*, em que o aquecimento favorece a formação de compostos não voláteis responsáveis pelo escurecimento não enzimático (SHAHIDI, et al., 2014), que por sua vez tende a reduzir a digestibilidade.

A correlação da cor das FVA com a digestibilidade da matéria orgânica (DIVMO) e matéria seca (DIVMS) foi negativa ( $r = -0,646, <1$ ) e ( $r = -0,594, P < 0,001$ ), respectivamente, o que indica que as FVA<sub>LA</sub> classificadas como escuras tiveram menor DIVMO, provavelmente associadas com a temperatura que pode ter prejudicado a digestibilidade em função da indisponibilização de alguns aminoácidos. Complexação entre diferentes proteínas tornando indisponíveis, também é descrita quando submetidas ao processamento térmico excessivo (SANTÉ-LHOUELLIER et al, 2008; YU et al., 2016).

As FVA<sub>LA</sub>, mais escuras, apresentaram correlação negativa com o teor de colágeno ( $r = -0,692, P < 0,001$ ), ou seja, as FVA<sub>HA</sub> que foram classificadas como claras resultaram em maiores teores de colágeno (dados não apresentados), que podem ter influenciado na digestibilidade, que em temperaturas maiores de 75°C favorecem a gelatinização do colágeno, pois desintegra as estruturas helicoidais em espirais aleatórias e são solúveis em água quente (CHEN et al., 2014), com biodisponibilidade limitada (BRYAN e CLASSEN, 2020).

Shirley e Parsons (2000) verificaram que a cor das farinhas de carne e ossos escureceram quando aumentaram a pressão e o tempo de processamento, de marrom-claro para marrom-escuro, no presente estudo, a cor das FVA apresentou correlação positiva ( $r=0,579$ ,  $P<0,001$ ) com a temperatura da prensa, as FVA<sub>LA</sub> classificadas como escuras pela análise subjetiva, apresentaram valores médios de temperatura da prensa mais elevadas do que as FVA<sub>HA</sub>, 99,86°C e 80,39°C, respectivamente, e pode ter contribuído para que as FVA<sub>LA</sub> obtivessem característica de cor castanho escuro, marrom, além da influência da característica da composição da matéria-prima.

Trazer as práticas da utilização de parâmetros padronizados nas indústrias de alimentos para humanos no controle da cor e utilizá-los como referência de controle de processo, seria interessante, visto que a análise colorimétrica fornece índices para mensuração da qualidade e poderia contribuir para o padrão de processamento e uniformidade do produto, no caso FVA.

#### *Ensaio IO*

A concentração de histamina pela técnica ELISA (Neogen Corporation, Veratox, Estados Unidos) foi de 18,95 mg/kg, valor superior ( $P < 0,0001$ ) ao valor obtido utilizando o método referência HPLC (12,11 mg/kg) (Tabela 2).

Houve a rejeição ( $P < 0,0001$ ) da hipótese de nulidade conjunta  $H_0: \beta_0 = 0$  e  $\beta_1 = 1$  ao se regredirem os valores de histamina obtidos por HPLC em função dos valores de histamina mensurados por kit Elisa (Figura 2). O valor da estatística F calculada para a hipótese conjunta linear geral foi elevada, de 411,61, evidenciando o distanciamento entre interceptos e coeficientes angulares entre as retas. O modelo estimado foi  $Y = 1,8920$  ( $P=0,0107$ ) +  $0,5392X$  ( $P < 0,0001$ ), com elevada aderência aos dados observados,  $R^2 = 0,9366$ , mas com ângulo de 28,33° em relação ao eixo das abscissas, bem distante dos 45° apresentados pela reta de equidade. Após o ajuste do modelo, o valor mínimo dos resíduos *Studentizados* foi de -2,65.

Tabela 2. Valores observados de histamina (mg/kg) em amostras de farinha de vísceras de aves *low e high ash* mensuradas por HPLC e ELISA.

Amostra	HPLC	ELISA	Predito <sup>1</sup>
1	3,59	4,20	3,62
2	4,11	3,92	3,46
3	4,72	4,03	3,52
4	5,89	9,26	6,53
5	9,78	10,95	7,50
6	9,97	21,02	13,30
7	11,20	13,88	9,19
8	12,17	18,01	11,57
9	12,34	17,30	11,16
10	12,58	22,42	14,11
11	12,71	21,45	13,55
12	12,85	20,95	13,26
13	12,97	20,26	12,86
14	13,54	22,73	14,29
15	14,33	22,12	13,93
16	14,51	24,16	15,11
17	14,84	23,28	14,60
18	14,94	24,66	15,40
19	15,04	25,26	15,74
20	16,87	28,68	17,71
21	25,31	39,34	23,85
Média	12,11 <sup>b</sup>	18,95 <sup>a</sup>	12,11
Coeficiente de variação	40,30	46,27	41,64

<sup>a,b</sup> Médias seguidas por letras distintas na linha diferem entre si, pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade. <sup>1</sup> Pela equação ( $y=1,7371x-2,0858$ ).

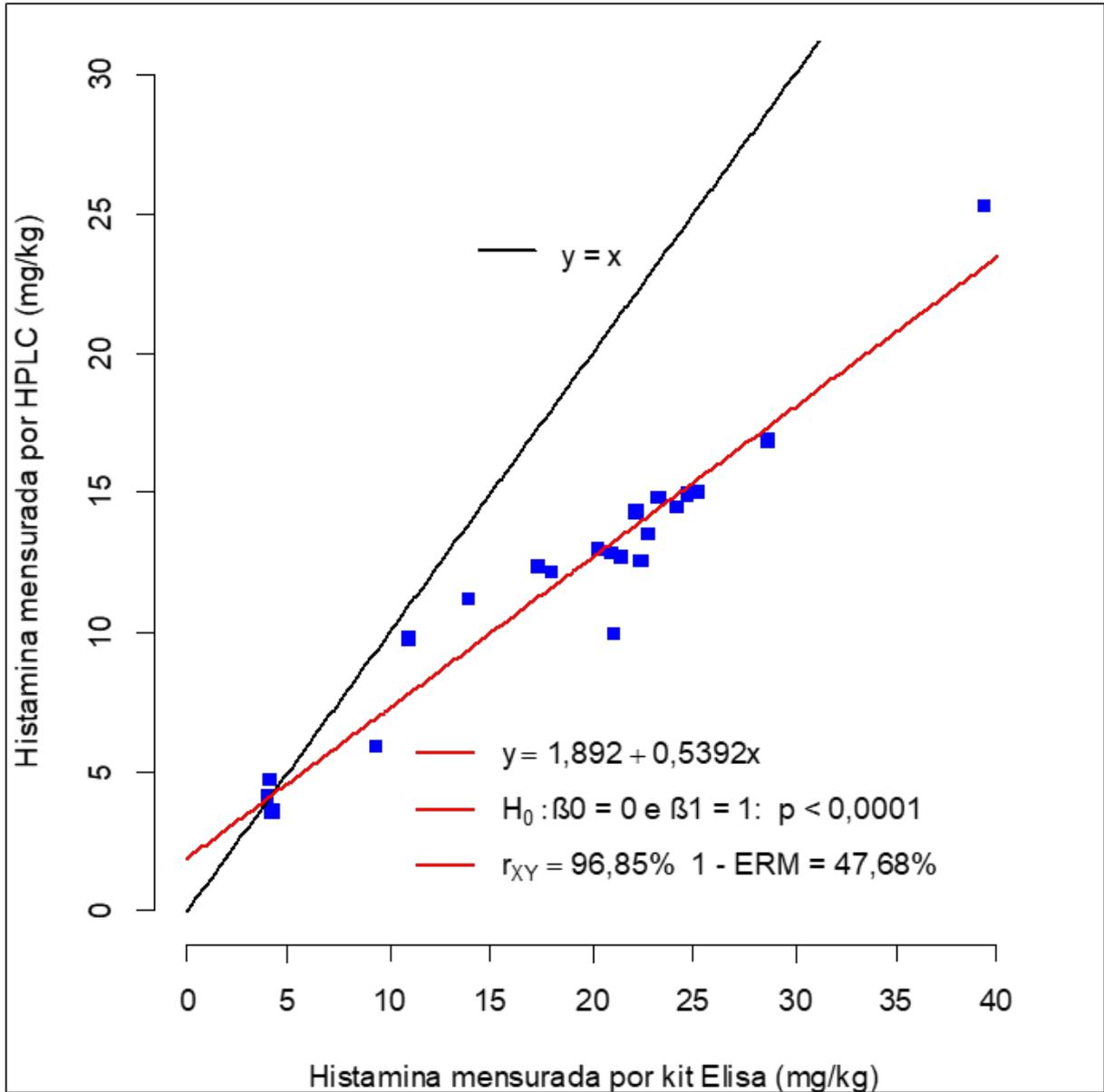


Figura 2. Análise gráfica da avaliação do teste de concordância entre os valores de histamina mensurados por HPLC e por Kit Elisa: Reta da condição ideal (em preto) e modelo de 1º grau dos valores de histamina mensurados por HPLC sobre os mensurados por kit Elisa (em vermelho).

Esses resultados sugerem que o modelo de regressão de 1º grau estimado apresenta um viés conjunto de intercepto e coeficiente angular em relação à reta de equidade, que corta o quadrante em sua bissetriz, ou seja, não há concordância entre valores de histamina mensurados por HPLC e kits Elisa.

A tendenciosidade detectada evidencia a presença de erros sistemáticos importantes, indicando que há ajuste a ser realizado em algum dos métodos estudados, possivelmente nas amostras mensuradas pelo kit ELISA ( $DP \pm 8,76$ ), visto a maior sensibilidade na metodologia de

determinação por HPLC ( $DP_{\pm 4,88}$ ), e pode ser visualizado também a partir dos valores de amplitude total ( $AT_{HPLC} = 21,72$  e  $AT_{ELISA} = 35,42$  mg/kg) (Tabela 3).

Além disso, houve maior contribuição do viés de média (73,42%), expresso pelo componente “quadrado da diferença entre médias (QDM)” em relação ao total ou ao quadrado médio do erro de predição (QMEP). Desse modo, a elevada diferença de médias de histamina estimadas a partir da utilização dos métodos HPLC (12,11 mg/kg) e por kit ELISA (18,95 mg/kg) mostra que os valores mensurados de histamina por kit ELISA foram superestimados em relação aos medidos por HPLC (Tabela 2 e Figura 2).

Tabela 3. Valores médios de concentração de histamina medida por HPLC (Y) e por Kit ELISA (X), desvios-padrão amostral (s) e populacional ( $\sigma$ ), erros-padrão da média (EPM), valores mínimos e máximos, coeficiente de variação (CV (%)) e índices de precisão, exatidão e acurácia do modelo<sup>1</sup>

n	Modelo	Média	S	$\sigma$	EPM	Mín.	Máx.	CV	$\rho_{XY}$	$C_b$	$\rho_c$
21	HPLC(Y)	12,11	4,88	4,76	1,06	3,59	25,31	40,31	-	-	
21	KIT(X)	18,95	8,76	8,55	1,91	3,92	39,34	46,23	0,9685	0,5710	0,5530

<sup>1</sup>n = número de observações amostrais;  $\rho_{XY}$ : coeficiente de correlação populacional entre pares de valores de X e Y;  $C_b$ : grau de concordância entre Y e X;  $\rho_c$ : coeficiente de correlação de concordância de Lin ou índice de acurácia do modelo.

O modelo (y em função de x) apresentou baixo índice de acurácia (55,30%), indicando que não houve concordância entre os métodos, causado por falta de proximidade da reta de 1º grau à reta da condição ideal (baixo índice de exatidão;  $C_b = 57,10\%$ ), haja vista que a correlação entre os valores de histamina mensurados pelos dois métodos apresentou relação forte e direta ( $r_{XY} = 96,85\%$ ) (Tabela 3). Desse modo, constatou-se a necessidade de calibração da mensuração de histamina pelo método do kit Elisa, que possivelmente promoveu o distanciamento da reta MQO em relação à reta de equidade (Figura 3).

Pode-se constatar também que o coeficiente de correlação ( $r_{XY}$ ) entre valores de histamina mensurados por kit ELISA (X) e valores de histamina mensurados por HPLC (Y) foi de 0,9685, indica grau de associação forte e direto. Isto indica que o coeficiente de determinação do modelo de 1º grau foi também expressivo ( $R^2 = 0,9366$ ), ou seja, o modelo explicou 93,66% da variação dos dados de histamina por HPLC. Este elevado grau de explicação do modelo indicou elevada precisão, visto que os pontos estão próximos à reta ajustada (Tabela 3 e Figura 3).

Manz e Booltink (2014) compararam as concentrações de histamina determinadas por kit ELISA e por HPLC, em diversos alimentos, incluindo farinha de peixes e os valores médios de histamina mensurados nos alimentos pelo Kit ELISA (244 ppm) obtiveram concordância com os valores médios de histamina mensurados por HPLC (213 ppm).

A adaptação do Kit Elisa para determinação das análises de AB, como por exemplo, aumentar o limite de detecção para histamina é fundamental, pois além de apresentar tendenciosidade (viés) significativa, a acurácia do modelo é baixa (55,30%), pois seria uma análise possível de se realizar na própria empresa, visto que as análises de AB apresentam elevada relação com o frescor das matérias-primas utilizadas neste estudo e, com isto, o controle de qualidade destes ingredientes é mais efetivo. Para reforçar esta relação qualitativa com o frescor das vísceras a serem processadas, em pesquisas recentes, Ribeiro (2019) determinou as concentrações de ABs em amostras de farinhas de vísceras processadas com vísceras frescas, e 12, 24, 36 e 48 horas de espera e observou que o aumento nos níveis destes contaminantes foi exponencial, com valores para histamina de 10 mg/kg nas vísceras frescas para 40, 118, 339 e 1.103 mg/kg nas respectivas horas observadas, sendo fundamental o processamento o quanto antes. Assim, os baixos valores obtidos (independentemente do método) estão relacionados ao baixo tempo de espera, visto que a matéria-prima foi produzida em um frigorífico integrado a graxaria.

São poucos os dados disponíveis sobre a contaminação por histamina em ingredientes usados em *pet food*, entretanto em pesquisas conduzidas por Brinker et al. (2003), os autores analisaram os principais ingredientes de origem animal utilizados na fabricação de alimentos para cães e gatos e detectaram em amostras de farinha de peixes, a média de 570 mg/kg desta AB, com amostras que chegaram até 1620 mg/kg, em 78 amostras analisadas. Por outro lado, ao analisarem a histamina em farinhas de vísceras de aves, a média foi menor de 19 mg/kg, com um nível máximo detectado de 167 mg/kg, em 387 amostras. A farinha de vísceras de aves, dentre os coprodutos de origem animal é a mais amplamente empregada e o estabelecimento de níveis seguros de AB para este ingrediente é fundamental.

Uma vez que estes ingredientes são incluídos nas formulações dos alimentos *pet*, é importante conhecer os teores das AB encontrados nos alimentos processados, em especial a histamina. Neste sentido, Guilford et al. (2011) observaram que a maior concentração de histamina em *pet food* é realmente proveniente das farinhas de origem animal, cujos valores médios, na matéria natural, das rações processadas com subprodutos de peixe foram de 13,30 mg/kg, 11,48 mg/kg com subprodutos à base de carnes de aves e 4,33mg/kg nas rações à base de carne e cereais. Bendeno et al. (2018), ao analisarem 39 amostras de farinha de vísceras,

obtiveram a média de 12,45 mg/kg de histamina, média semelhante encontrada neste estudo com 21 amostras (12,11 mg/kg). Embora não tenha encontrado estudos que indicam toxicidade por histamina em FVA para animais de estimação, é possível que esses teores de histamina encontrados nas FVA possam diminuir com o processo de extrusão utilizado na produção dos alimentos *pet*.

Em pescados, uma vez que se sabe que o somatório das concentrações de ABs pode potencializar os riscos de intoxicação, criou-se o índice de AB para o controle de qualidade baseados no aumento de algumas aminas biogênicas individuais como a histamina, tiramina e cadaverina ou em conjunto. Essas pontuações variam de 0 a 10. Pontuações de 0 a 1 indicam peixe de boa qualidade, de 1 a 10 toleráveis e acima de 10, produtos em decomposição (RUIZ-CAPILLAS e HERRERO, 2019).

Para carnes e derivados de carnes, Hernández et al. (1996) sugerem faixas de aminas biogênicas entre < 5mg/kg como indicativo de carne fresca, entre 5 a 20mg/kg como sinais de início de deterioração, de 20 a 50mg/kg para carne de baixa qualidade e > 50 mg/kg para carne estragada. Se essas pontuações fossem adequadas para os ingredientes de origem animal, apenas 3 das 21 amostras analisadas estariam dentro do indicativo fresco por apresentarem valores < 5mg/kg, independentemente do método. Pelo método HPLC apenas uma amostra (25,31mg/kg) se enquadraria no indicativo baixa qualidade, enquanto pelo kit ELISA, 13 amostras apresentaram valores de indicativo de baixa qualidade, entre 20 a 50mg/kg.

Diante do exposto, a obtenção de indicativos ou faixas de referências para valores seguros de histamina em ingredientes e alimentos para animais de companhia seria interessante, visto que cada animal pode responder de maneira diferente aos efeitos de toxicidade por histamina (KOVACOVA-HANUSKOVA, 2015). A utilização do kit ELISA neste estudo, embora não tenha sido validada, mostrou resultados passíveis de validação futura se realizados ajustes na metodologia inicialmente testada, visto a ampla e alta correlação entre as metodologias.

#### **4.4 Conclusão**

A avaliação subjetiva e instrumental das cores não apresentaram correlação significativa, a avaliação instrumental por diminuir o viés do observador.

Também foi possível definir parâmetros de cor deste ingrediente analisado por colorímetro digital, que torna a avaliação de cor mais objetiva. Ambas as metodologias não apresentam boa associação e, neste caso, uma avaliação objetiva é mais indicada, evitando

interferência do observador. Uma vez que a cor pode ser um bom indicador de padronização de processos industriais, da composição química e até mesmo de aspectos relativos ao aproveitamento nutricional da FVA, a utilização da cor como medida da qualidade pode auxiliar na sua padronização.

As análises da concentração de histamina por teste rápido apresentam ampla correlação ( $R=0,9685$ ) com a determinação por HPLC, porém, com baixa exatidão, não sendo validados.

#### 4.5 Referências

- AÇAR, O. Ç.; POLLIO, M.; DI MONACO, R.; FOGLIANO, V.; GÖKMEN, V. Effect of Calcium on Acrylamide Level and Sensory Properties of Cookies. **Food and Bioprocess Technology**. V. 5. p.519–526. 2012.
- AAFCO. 2017. Official Publication. Association of American Feed Control Officials.
- AOAC, Official Methods of Analysis. 16th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 2000.
- AOAC, Official Methods of Analysis. 16th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 2005.
- BENDENO, G.C.; FONSECA, F.N.; SUREK, D.; COREZZOLLA, L.R.; CONTREIRA, C.L. **Levantamento do teor de aminos biogênicas em farinhas de origem animal provenientes de diferentes estabelecimentos**. Embrapa. Concórdia-SC, 2018.
- BRIDI, A.M.; FONSECA, N.A.N.; SILVA, C.A. BALARIN, M.R.S. et al. Indicadores de estresse e qualidade da carne em frangos abatidos pelo método “Halal”. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2451-2460, 2012.
- BRINKER, C.A.; RAVNER, C.J.; KERR, M.G.; BRYDEN, W.L. Biogenic amines in Australian animal by-product meals. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.43, p. 113-119, 2003.
- BRYAN, D.S.L.; CLASSEN, H.L. In Vitro Methods of Assessing Protein Quality for Poultry. **Animals Journal**, v.10, 2020.
- CARVALHO, F.R.; MOORS, P.; WAGEMANS, J.; SPENCE, C. The Influence of Color on the Consumer’s Experience of Beer. **Frontiers in Psychology**. V.8, article 2205, 2017.
- CHEN, L.; MA, L.; ZHOU, M.; LIU, Y.; ZHANG, Y. Effects of pressure on gelatinization of collagen and properties of extracted gelatins. **Food Hydrocolloids**, v.36, p. 316–22, 2014.
- CHEN, T.; LUO, H.; HSU, P.; SUNG, W. Effects of calcium supplements on the quality and acrylamide content of puffed shrimp chips. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 247, p. 1-9, 2015.
- CHEVALLIER, S., DELLA VALLE, G., COLONA, P., BROYART, B., TRYSTRAM, G. Structural and chemical modifications of short batter during baking. **Journal of Cereal Science**, v. 35, p. 1-10, 2002.
- CIRILO, M.P.; COELHO, A.F.S.; ARAÚJO, C.M.; GONÇALVES, F.R.; NOGUEIRA, F.D.; GLÓRIA, M.B.A. Profile and levels of bioactive amines in green and roasted coffee. **Food Chemistry**, v. 82, p. 397-402, 2003.

- DELLA TORRE, JCM; BERAQUET, NJ. Composição centesimal e teor de colágeno em carne bovina moída. **Revista Instuto Adolfo Lutz**, v.64, p. 223-231, 2005.
- DIAS, N.A.A.; LARA, S.B.; MIRANDA, L.S. et al. Influence of color on acceptance and identification of flavor of foods by adults. **Food Science and Technology**, v. 32, n.2, p.296-301, 2012.
- DONADELLI, R.A.; ALDRICH, C.G.; JONES, C.K.; BEYER, R.S. The amino acid composition and protein quality of various egg, poultry meal by-products, and vegetable proteins used in the production of dog and cat diets. **Poultry Science**, v. 98, p. 1371–1378, 2019.
- FARIA, P.B.; BRESSAN, M.C.; SOUZA, X.R.; RODRIGUES, E.C. et al. Composição proximal e qualidade da carne de frangos das linhagens Paraíso Pedrês e Pescoço Pelado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.12, p.2455-2464, 2009.
- FRANCIS, F. J. Quality as influenced by color. **Food Quality and Preference**, v. 6. n.3. p. 149–155, 1995.
- FREITAS, M.Q.; SILVA, T.J.P.; MANO, S.B. Medidas instrumentais de textura e cor, em mortadela produzida com carne mecanicamente separada de frango. **Revista Higiene Alimentar**. v.18, p. 66-70, 2004.
- GASCHEN, F.P.; MERCHANT, S.R. Adverse Food Reactions in Dog and Cats. **Veterinary Clinical Small Animal**, v.41, p. 361-379, 2011.
- GRAIG, J.M. Food intolerance in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v.60, p. 77-85, 2019.
- GRANATO, D.; MASSON, M.L. Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p. 1090-1096, 2010.
- GUILFORD, W.G.; ROUDEBUSH, P.; ROGERS, Q.R. The histamine content of commercial pet foods. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 42, n.6, p. 201-204, 2011.
- HARDER, M.N.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Avaliação quantitativa por colorímetro digital da cor do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com urucum (*Bixa orellana*). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.102, n.563-564, p.339-342, 2007.
- HERNÁNDEZ, T.J.; PULIDO, M.I.; NOGUÉS, T.V.; CAROU, M.C.V. Biogenic Amine Sources in Cooked Cured Shoulder Pork. **Journal Agriculture Food Chem**, v.44, p. 3097-3101, 1996.

- HERVERA, M., BAUCCELLS, M.D., BLANCH, F., CASTRILLO, C. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, p. 205-209, 2007.
- HICKS, T.M.; VERBEEK, C.J.R. Meat Industry Protein By-Products: Sources and Characteristics. Elsevier Inc. 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802391-4.00003-3>. Acesso em: Fevereiro 2021.
- KAWAUCHI, I.M.; SAKOMURA, N.K.; PONTIERI, C.F.F.; REBELATO, A. et al. Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. **Journal of Nutrition Science**, v.3, p. 1-5, 2014.
- KONICA MINOLTA. Chroma meter –CR- 400/410. Instruction Manual. Japão, 2013, 156 p.
- KOREN, D.; VECSEK, B. H; KUN-FARKAS, G.; URBIN, A. et al. How to objectively determine the color of beer?. **Journal Food Science Technology**, v. 57, n.3, p.1183–1189, 2020.
- KOVACOVA-HANUSKOVA, E.; BUDAY, T.; GAVLIAKOVA, S.; PLEVKOVA, J. Histamine, histamine intoxication and intolerance. **Allergologia et immunopathologia**. v.43, n.5, p. 498-506, 2015.
- LADERO, V.; CALLES-ENRÍQUEZ, M.; FERNANDEZ, M.; ALVAREZ, M.A. Toxicological effects of dietary biogenic amines. **Current Nutrition and Food Science**. v. 6, p. 145–156, 2010.
- LAKSHMI, C.G. Food Coloring: The Natural Way. **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 4, p. 87-96, 2014.
- LIN, L.I-K. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, v.45, p.255-268, 1989.
- LOZANO, J.; IBARZ, A. Colour changes in concentrated fruit pulp during heating at high temperatures. **Journal of Food Engineering**, v. 31, n3, p. 365–373, 1997.
- MÁFIA, R.G.; FERREIRA, M.A.; BINOTI, D.H.B. et al. Procedimento estatístico de escalas diafragmáticas na quantificação de doenças. **Revista Árvore**, v.35, n.2, p.199-204, 2011.
- MANZ, G. BOOLTINK, E. Validation Study of a HistaSure™ ELISA (Fast Track) for the Determination of Histamine in Fish Samples. **Journal of AOAC International**, v. 97, n. 6, 2014.
- MONTGOMERY, D.C.; PECK, E.A.; VINING, G.G. Introduction to linear regression analysis. 4<sup>th</sup> ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2006. 612 p.

- MOYO, S.; MASIKA, P.J.; MUCHENJE, V. JAJA, I.F. Effect of Imbrasia belina meal on growth performance, quality characteristics and sensory attributes of broiler chicken meat. **Italian Journal of Animal Science**, v.19, n.1, p. 1450-1561, 2020.
- PATHARI, P.B.; OPARA, U.L.; AL-SAID, F.A. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food Bioprocess Technology**. 2012. Doi: 10.1007/s11947-012-0867-9. Acesso em: Março/2021.
- PEREIRA, A.G.T.; RAMOS, E.M.; TEIXEIRA, J.T.; CARDOSO, G.P. et al. Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. **Meat Science**, v. 89, p. 519–525, 2011.
- QIAO, M.; FLETCHER, D.L.; NORTH CUTT, J.K.; SMITH, D.P. The Relationship Between Raw Broiler Breast Meat Color and Composition. **Poultry Science**, v.81, p. 422–427, 2002.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>> Acesso em: 27/01/2021.
- RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. Viçosa: Editora UFV, 2007.
- REIS, R.A.A.; SANTOS, W.L.M.; OLIVEIRA, A.L.; et al. Quantificação da hidroxiprolina como índice de qualidade de salsicha comercializada em Belo Horizonte-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, n. 6. Belo Horizonte, 1999.
- RIBEIRO, L.B.; BANKUTI, F.I.; SILVA, M.U.; RIBEIRO, P.M. et al. Oxidative stability and nutritional quality of poultry by-product meal: An approach from the raw material to the finished product. **Animal Feed Science and Technology**, v.255, 2019.
- RUIZ-CAPILLAS, C.; HERRERO, A.M. Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. **Journal Foods**, v. 8, n. 62, 2019.
- SANTE-LHOUTELLIER, V.; ASTRUC, T.; MARINOVA, P.; GREVE, E.; GATELLIER, P. Effect of meat cooking on physicochemical state and in vitro digestibility of myofibrillar proteins. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 56. p. 1488–94. 2008.
- SHAHIDI, F.; SAMARANAYAKA, A.G.P.; PEGG, R.B. Cooking of Meat: Maillard Reaction and Browning. **Encyclopedia of Meat Sciences**, p. 391- 403, 2014.
- SHIRLEY, R.B.; PARSONS, C.M. Effect of Pressure Processing on Amino Acid Digestibility of Meat and Bone Meal for Poultry. **Poultry Science**, v.79, p. 1775–1781, 2000.
- SILVA, T.F.; PENNA A.L.B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Ver. Inst. Adolfo Lutz**. São Paulo, v.71, p. 530-9, 2012.

- SPEAROT, J.W. 2016. Influence of Beer Color on Perception of Bitterness. Joseph William Spearot. **Thesis** (Master of Science). Drexel University. Food Science. Philadelphia.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM® - SAS. University Edition [online]. ©SAS Institute Inc.; 2021. Disponível em: <[https://www.sas.com/en\\_us/software/university-edition.html](https://www.sas.com/en_us/software/university-edition.html)> Acesso em: 27/01/2021.
- VALE, S.R.; GLORIA, M. Determination of biogenic amines in cheese. **Journal of AOAC International**, v. 80, p. 1006-1012, 1997.
- VISCIANO, P.; SCHIRONE, M.; TOFALO, R.; SUZZI, G. Histamine poisoning and control measures in fish and fishery products. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 1-14, 2014.
- WANG, X.; PARSON, C.M. Effect of Raw Material Source, Processing Systems, and Processing Temperatures on Amino Acid Digestibility of Meat and Bone Meals. **Poultry Science**, v. 77, p. 834–841, 1998.
- YANG, M., LIN, H., & CHOONG, Y. A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. **Food Research International**, v.35, p. 627-633, 2002.
- YU, T.; MORTON, J.D.; CLERENS, S. DYER, J.M. Cooking-Induced Protein Modifications in Meat. **Food Science and Food Safety**, v.00, 2016.
- ZELECHOWSKA E.; PRZYBYLSKI W.; JAWORSKA D.; SANTE-LHOUELIER V. Technological and sensory pork quality in relation to muscle and drip loss protein profiles. **European Food Research and Technology**, v. 234, p. 883-894, 2012.

## 5 CARACTERIZAÇÃO DAS VARIAÇÕES NO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL E NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE FARINHAS DE VÍSCERAS DE AVES

**RESUMO:** Objetivou-se com este estudo quantificar as variações nas condições de processo industrial e na composição química da FVA em fábricas de subprodutos. Duzentas amostras (n=200) de FVA de baixa cinza abaixo de 11% matéria mineral - MM (LA, n=104) ou alta cinza (HA, n=96), acima de 11% MM foram coletadas em 5 estabelecimentos no Estado do Paraná, Brasil. As médias e desvios-padrão, populacionais obtidas por *Bootstrap* (n=1000), de parâmetros relacionados a composição química, digestibilidade e processamento industrial foram determinadas e os Intervalos de Confiança (IC) entre as FVA foram comparados. Os maiores coeficientes de variação (CV) das variáveis de composição química foram: matéria mineral (LA – 19,70%; HA – 19,59%), extrato etéreo (LA – 20,72%; HA – 14,86%), atividade de água (LA – 24,54%; HA – 25,89%) e colágeno (LA – 21,16%; HA – 30,00%). Para proteína bruta (LA – 5,07%; HA – 7,39%), Matéria seca (LA – 1,75%; HA – 2,90%) e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (LA – 4,81%; HA – 6,78%) foram mais baixos. Para as variáveis de processo da FVA LA e HA o CV foi: Temperatura máxima de processo (LA – 3,91%; HA – 3,56%); Temperatura média de processo (LA – 3,73%; HA – 4,71%); Tempo de processo (LA – 27,37%; HA – 37,59%) em que o tempo de processo foi a variável com maior oscilação na produção das FVA nos estabelecimentos com maior amplitude de IC (P=0,024). Independentemente do tipo da FVA, uma ampla variação é encontrada na matéria mineral, atividade de água e extrato etéreo e possivelmente interfere no processo. Tempo excessivo de processo da FVA pode afetar negativamente sua digestibilidade. Com este estudo fica evidenciado que medidas visando controlar a inclusão de ossos no processo e otimizar as condições de prensagem da FVA podem reduzir estas variações.

**Palavras-chave:** monitoramento, padronização de processo, qualidade nutricional.

## CHARACTERIZATION OF THE VARIATIONS IN INDUSTRIAL PROCESSING AND THE CHEMICAL COMPOSITION OF POULTRY BY-PRODUCT MEAL.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to quantify the variations in the industrial processing conditions and in the chemical composition of PBM in different by-product industries. Two hundred samples of PBM, classified as ( $n = 200$ ) low ash (LA,  $n = 104$ ) or high ash (HA,  $n = 96$ ) were collected from five establishments in Paraná State, Brazil. The average and their respective standard deviations, populational ( $n = 200$ ) obtained from the Bootstrap procedure ( $n = 1000$ ), parameters related to chemical composition, digestibility and industrial processing, were determined and the Confidence Intervals (CI) between the two types of PBM were compared. The highest coefficients of variation for the chemical composition variables were for Mineral Matter (LA - 19.70%; HA - 19.59%), ether extract (LA - 20.72%; HA - 14.86%), water activity (LA - 24.54%; HA - 25.89%) and Collagen (LA - 21.16%; HA - 30.00%), while for Crude Protein (LA - 5.07%; HA - 7.39%), Dry matter (LA - 1.75%; HA - 2.90%) and in vitro digestibility of organic matter (LA - 4.81%; HA - 6.78%) these values were lower. For the processing variables for low and high gray FVA the variation coefficient was: Maximum processing temperature (LA - 3.91%; HA - 3.56%); Average processing temperature (LA - 3.73%; HA - 4.71%); Processing time (LA - 27.37%; HA - 37.59%); Pressure (LA - 13.41%; HA - 24.23%) in which the process time was the variable with the greatest oscillation in the production of PBM in establishments with a greater range of CI ( $P = 0.0241$ ). It can be concluded that regardless of the PBM classification, a wide variation is found in mineral matter, water activity and ether extract and this possibly interferes with the processing conditions, especially in the processing time. Excessive PBM process time can negatively affect its digestibility and oxidative stability, and, with this study, it is evident that measures aimed at controlling the inclusion of bones in the process and optimizing the conditions for pressing FVA can reduce these variations.

**Keywords:** monitoring, process standardization, nutritional quality.

## 5.1 Introdução

A produção de aves para consumo humano é responsável pela geração de grandes quantidades de subprodutos. No Brasil em 2020 foram abatidas mais de 5 bilhões de aves para produção de carne (IBGE, 2020) e a cerca de 25% do total abatido não é utilizado para consumo humano (ABRA, 2019). Ao processar esses subprodutos de aves, importantes nutrientes são aproveitados por meio da oferta da farinha de subprodutos de aves, como aminoácidos, ácidos graxos e minerais. Desta forma, estes ingredientes apresentam importante contribuição com a chamada ecologia industrial, pela qual os resíduos de uma etapa da cadeia produtiva (frigoríficos) se tornam matérias-primas para uma etapa seguinte (graxarias) e contribuem para a redução dos impactos ambientais do setor (JAYATHILAKAN et al., 2012; ZAGKLIS et al., 2020).

As principais limitações de uso das farinhas de subprodutos de aves estão relacionadas a sua qualidade, por serem ingredientes muito susceptíveis a oxidação e a contaminação microbiológica, além da sua ampla variabilidade na composição nutricional. Com relação a este último aspecto, por se tratar de ingredientes produzidos a partir de um fluxo constante de rejeitos do frigorífico, torna-se difícil segregar os materiais *in natura* provenientes do frigorífico para manter a estabilidade na composição química e, como resultado, sua composição apresenta em geral, ampla variabilidade. As características das matérias-primas utilizadas para a produção das FVA e as condições de processamento podem ser os principais aspectos que afetam a digestibilidade deste ingrediente que é também muito variável (ODEYEMI, et al., 2020).

Parte da garantia da qualidade dos produtos alimentícios estão associados as condições de processamento e muitas indústrias buscam aperfeiçoar essas condições com ênfase nas pesquisas e desenvolvimento associados ao uso dos melhores equipamentos para padronizar o processo, em que a modelagem estatística, a análise do valor médio e da variabilidade dos dados experimentais são considerados (ENGEL, 1992). Além disso, busca-se projetar equipamentos de maneira a otimizar as condições de processamento com ênfase na qualidade final do produto acabado (FARMANESH et al., 2019).

Tendo em vista a importância de se conhecer a variação existente em processos industriais de ingredientes, com foco em propor melhorias futuras no sentido de reduzir tais variações, neste trabalho foram compilados dados de produção industrial de cinco fábricas de subprodutos de aves. Foram estudadas as variações na composição química das amostras e digestibilidade, assim como nos processos industriais para a sua fabricação.

## 5.2 Material e Métodos

Foram coletados dados de processamento e amostras de FVA de cinco estabelecimentos (relacionados às fábricas de subprodutos de aves - FSPs), localizados no Estado do Paraná-Brasil. Todos os estabelecimentos selecionados eram inspecionados pelo Serviço de Inspeção Federal Brasileiro (SIF) e atendiam aos padrões de produção e qualidade (MAPA, 2010). O fluxograma de produção dos estabelecimentos consistia em: recepção do material *in natura*; estocagem na tolva até o momento do processamento; processamento no digestor; retirada do material do digestor após o cozimento; separação do excesso de óleo por gravidade no percolador; transporte da torta quente do percolador até a prensa; prensagem; moagem da FVA (em alguns locais precedida por resfriamento); estocagem da FVA em silos.

Foram coletadas 200 amostras de FVA, provenientes de cinco diferentes FSPs, sendo três estabelecimentos definidos como interligados (n=150 amostras) e dois estabelecimentos coletadores (n=50 amostras). Estabelecimentos interligados são aqueles que possuem comunicação direta com a unidade frigorífica de aves e que o material visceral é transportado por tubulação até o local de processamento. Os materiais constituintes das FVA são conduzidos de forma contínua até a FSP, e leva poucos minutos entre o abate e sua chegada até os silos de espera para o processo. Estabelecimentos coletadores são aqueles com distâncias mais longas das plantas frigoríficas, sem comunicação direta. O transporte do material cru a ser processado para estes estabelecimentos é feito na maior parte das vezes por rodovias. Em geral, o tempo de espera para este material ser processado é de no mínimo 4 horas após o abate, podendo ser legalmente até 24 horas (MAPA, 2010; MEEKER e MEISINGER, 2015).

Cada amostra de FVA (n=200) foi proveniente de uma batelada de produção nas FSPs e os dados relativos ao material *in natura*, ao processamento e a FVA foram devidamente registrados para posterior análise estatística. As amostras de FVA foram compostas por resíduos de abatedouro de aves, tais como: cabeça, pés, trato digestório, trato respiratório, aparelho reprodutivos, gordura visceral, aparas, pele, cutículas, penas não adicionadas intencionalmente e carcaças inteiras ou parte dessas, que foram rejeitadas para o consumo humano e resíduo de carne mecanicamente separada (RCMS), conforme recomendação da Association of American Feed Control Officials -AAFCO (2017). Amostras abaixo de 11% de matéria mineral foram classificadas como FVA de baixa cinza (*low ash* – FVA<sub>LA</sub>) e acima de 11 % como FVA de alta cinza (*high ash* – FVA<sub>HA</sub>).

Foram registradas informações relacionadas ao processamento industrial (etapa de cozimento nos digestores) e ao produto acabado (FVA).

Na etapa de processamento no digestor, foram aferidas a lotação do digestor; razão óleo: vísceras adicionadas para fritura; temperatura média de processo; temperatura máxima de processo e tempo de processamento. O tempo de processamento foi o intervalo entre o início do processamento térmico e a saída do material do digestor para o percolador. A temperatura média e máxima de processo foi medida pelos próprios sensores instalados nos digestores, em intervalos de 15 minutos.

No produto acabado (FVA), foram coletados dados sobre atividade de água ( $A_w$ ); umidade (UM); matéria seca (MS); matéria mineral (MM); matéria orgânica (MO); proteína bruta (PB); extrato etéreo por hidrólise ácida (EEHA), colágeno e digestibilidade “*in vitro*”. A composição química das amostras de FVA (n=200), foi realizada seguindo as metodologias descritas pela Association of the Official Analytical Chemists (AOAC, 2005) em que foram quantificadas umidade (UM – Método 930.15)); matéria seca (MS); matéria mineral (MM – Método 942.05); matéria orgânica (MO); proteína bruta (PB – Método 954.01); extrato etéreo por hidrólise ácida (EEHA– Método 954.02), digestibilidade *in vitro*, para análise de colágeno utilizou o método proposto por Ramos e Gomide (2017) e para a determinação da atividade de água ( $A_w$ ) utilizou equipamento específico (Pawkit - Decagon, Washington, Estados Unidos). As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA-UEM).

A lotação do digestor foi estimada dividindo o peso do material *in natura* que entrou no digestor pela capacidade dele. A razão óleo: víscera adicionado para fritura foi estimada pela divisão da quantidade de óleo incluída no processo e a quantidade pesada de vísceras no digestor.

Para a determinação da qualidade nutricional das FVA, foi realizada análise de digestibilidade “*in vitro*”. Os coeficientes de digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) foram determinados pela adaptação do método proposto por Hervera et al. (2007), pelo modelo de dois compartimentos (simulações de estômago e intestino delgado), com redução na quantidade de amostra de 0,75g para 0,50g. Esta adaptação foi feita em função da quantidade de substrato proteico a ser digerido, visando assegurar que a quantidade de enzima presente no meio fosse suficiente para digerir a proteína do material.

Inicialmente os dados de composição química, qualidade nutricional e variáveis de processamento das farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo *low ash* (LA) e *high ash* (HA), foram submetidos à análise exploratória por meio de plotagem de funções de densidade acumulada empírica sobre os respectivos histogramas de porcentagem. Para cada variável, a abordagem gráfica foi realizada na amostra-mãe e na amostra-filha constituída por estimativas

do parâmetro “média populacional”, proveniente de 1000 amostras bootstrap, realizadas com reposição.

As estimativas de assimetria ( $sk$ ), média ( $m$ ) e desvio-padrão ( $s$ ) na amostra original ( $\widehat{sk}_{LA}, \widehat{sk}_{HA}, \widehat{m}_{LA}, \widehat{m}_{HA}, s_{LA}$  e  $s_{HA}$ ) e a estimativa média geral dos valores médios estimados nas 1000 amostras bootstrap ( $\widehat{sk}_{LA}^*, \widehat{sk}_{HA}^*, \widehat{m}_{LA}^*, \widehat{m}_{HA}^*, s_{LA}^*$  e  $s_{HA}^*$ ) foram calculadas para cômputo do viés da média ( $B_{LA}^{\widehat{m}}$  e  $B_{HA}^{\widehat{m}}$ ) e do desvio-padrão ( $B_{LA}^s$  e  $B_{HA}^s$ ), obtidos por diferença entre as estimativas na amostra-mãe e o respectivo valor médio geral obtido a partir da amostra bootstrap de valores médios.

Sequencialmente, em ambas as amostras foram procedidos os testes de normalidade de Shapiro-Wilk e o teste de assimetria para normalidade, cujo valor de probabilidade de significância foi computado por aproximação Monte Carlo da distribuição bootstrap. A significância do viés de médias foi verificada por meio do teste t unilateral à direita para uma amostra, para teste da hipótese de nulidade ( $H_0$ )  $\mu_{LA} = k$  ou  $\mu_{HA} = k$ , sendo a constante  $k$  equivalente à estimativa bootstrap ( $\mu_{LA}^*$  ou  $\mu_{HA}^*$ ). A verificação da significância do viés de desvios-padrão foi realizada pelo teste de qui-quadrado unilateral à direita para a variância de uma amostra ( $H_0: \sigma_{LA}^2 = k$  ou  $H_0: \sigma_{HA}^2 = k$ ), sendo  $k$  equivalente à estimativa bootstrap ( $s_{LA}^*$ )<sup>2</sup> ou ( $s_{HA}^*$ )<sup>2</sup>.

O diagnóstico da variabilidade das características foi avaliado por meio de estimativas de intervalos de confiança (IC) da média populacional ( $\mu$ ), com 95% de índice de confiança.

A estimativa do IC BCa se inicia pela ordenação crescente das 1.000 estimativas bootstrap da  $i$ -ésima média ( $\overline{X}_i^*$ ), com  $1 \leq i \leq 1000$ , e cálculo da probabilidade  $p_0$  de uma estimativa bootstrap ser inferior à estimativa da média na amostra original ( $\overline{X}_i$ ), ou seja,  $p_0 = P[\overline{X}_i^* \leq \overline{X}_i]$ . A partir do valor  $p_0$  é obtido o parâmetro correção do vício ( $z_0$ ), que representa a inversa da Normal no ponto  $p_0$ , dada por  $z_0 = \Phi^{-1}(p_0)$ .

Quando o viés de média ou de desvio-padrão incide ( $P \leq \alpha$ ) nos dados, o IC da média deve ser estimado pelo método percentil bootstrap corrigido para o viés (PBCV). Se o nível de significância é de 0,05, o índice de confiança ( $1 - \alpha$ ) de 0,95 é utilizado para estimar os percentis inferior ( $P_i = \Phi(2z_0 - z_{0,025})$ ) e superior ( $P_s = \Phi(2z_0 + z_{0,025})$ ), e o IC da  $i$ -ésima média:  $IC_{PBCV} = [P_{P_i}(\overline{X}_i^*); P_{P_s}(\overline{X}_i^*)]$ .

No entanto, quando a assimetria está presente ( $P \leq \alpha$ ) nos dados, os percentis inferior ( $P_i$ ) e superior ( $P_s$ ) do IC do parâmetro média devem ser estimados por meio do método BCa, em

que  $P_i = \Phi\left(z_0 - \frac{(z_0 + z_{0,025})}{1 - a(z_0 + z_{0,025})}\right)$  e  $P_s = \Phi\left(z_0 - \frac{(z_0 + z_{0,025})}{1 - a(z_0 + z_{0,025})}\right)$ . A constante de aceleração “a”, que ajusta o IC em relação à assimetria (DiCICCIO; EFRON, 1996), foi obtida a partir da utilização do package “bootstrap” (R Core Team, 2021). Desse modo, o IC da i-ésima média pelo método BCa será dado por  $IC_{BCa} = [P_{Pi}(\bar{X}_i^*); P_{Ps}(\bar{X}_i^*)]$ .

Para dados amostrais que apresentaram distribuição normal de probabilidades, as médias das características entre os dois tipos de FVA foram comparadas por meio da estimação de IC da diferença entre médias ( $IC_{DIF}$ ), utilizando a estatística t. Quando a normalidade não foi constatada em pelo menos uma das amostras de FVA, a comparação entre médias foi realizada por meio do  $IC_{DIF}$  estimados pelo método percentil bootstrap. Caso o viés ou a assimetria tenham sido significativos ( $P < \alpha$ ) em pelo menos uma das amostras, o contraste entre médias foi realizado utilizando  $IC_{DIF}$  estimados por percentil bootstrap com correção de vício acelerado (EFRON e TIBSHIRANI, 1993).

O nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05 foi adotado em todos os testes de hipóteses. As análises foram efetuadas utilizando os softwares R Core Team (2021) e SAS® University Edition (SAS, 2021).

### 5.3 Resultados e Discussão

As médias populacionais ( $n=200$ ) obtidas por meio do procedimento *Bootstrap* ( $n=1000$ ), assim como seus respectivos desvios-padrão e viés, para a composição química e digestibilidade (Tabela 1). Calculados os coeficientes de variação a partir dos dados apresentados, foram obtidos os seguintes resultados, respectivamente, para FVA de baixa e alta cinza: MS (LA – 1,75%; HA – 2,90%); MM (LA – 19,70%; HA – 19,59%); PB (LA – 5,07%; HA – 7,39%); EE (LA – 20,72%; HA – 14,86%);  $A_w$  (LA – 24,54%; HA – 25,89%); DIVMO (LA – 4,81%; HA – 6,78%); Colágeno (LA – 21,16%; HA – 30,00%).

Tabela 1. Estimativas das médias populacionais na amostra original ( $\hat{m}_{LA}$  e  $\hat{m}_{HA}$ ) e nas 1000 amostras bootstrap ( $\hat{m}_{LA}^*$  e  $\hat{m}_{HA}^*$ ), estimativas para o viés da média ( $B_{LA}^{\hat{m}}$  e  $B_{HA}^{\hat{m}}$ ) e do desvio-padrão ( $B_{LA}^s$  e  $B_{HA}^s$ ) para características de composição química, qualidade nutricional, em farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo *low ash* (LA) e *high ash* (HA).

Item (Y) <sup>1</sup>	$\hat{m}_{LA}^2$	$\hat{m}_{LA}^*$	$B_{LA}^{\hat{m}}$	$\hat{m}_{HA}^3$	$\hat{m}_{HA}^*$	$B_{HA}^{\hat{m}}$	SLA	$S_{LA}^*$	$B_{LA}^s$ <sup>6</sup>	SHA	$S_{HA}^*$	$B_{HA}^s$ <sup>7</sup>
MS (g kg <sup>-1</sup> ) <sup>4</sup>	950,91	950,88	0,0356	956,88	956,81	0,0647	16,63	16,49	0,1358 <sup>ns</sup>	27,73	27,57	0,1536 <sup>ns</sup>
MM (g kg <sup>-1</sup> ) <sup>4</sup>	87,72	87,68	0,0351	211,92	211,87	0,0463	17,28	17,06	0,2211 <sup>ns</sup>	41,51	41,16	0,3543 <sup>ns</sup>
PB (g kg <sup>-1</sup> ) <sup>4</sup>	735,44	735,37	0,0667	634,03	633,74	0,2928	37,31	37,06	0,2496 <sup>ns</sup>	46,88	46,27	0,6135 <sup>ns</sup>
EE (g kg <sup>-1</sup> ) <sup>4</sup>	117,36	117,30	0,0573	119,62	119,55	0,0648	24,32	24,14	0,1757 <sup>ns</sup>	17,77	17,64	0,1326 <sup>ns</sup>
A <sub>w</sub> <sup>4</sup>	0,3513	0,3516	-0,0002	0,3225	0,3227	-0,0002	0,0862	0,0854	0,0008 <sup>ns</sup>	0,1544	0,1534	0,0009 <sup>ns</sup>
DIVMO <sup>4</sup>	80,27	80,27	0,0020	83,16	83,19	-0,0382	3,86	3,84	0,0240 <sup>ns</sup>	5,64	5,60	0,0357 <sup>ns</sup>
COL <sup>5</sup>	186,04	186,04	0,0033	321,18	321,81	-0,6340	39,36	38,91	0,4513 <sup>ns</sup>	96,35	94,72	1,6267 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup>MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; A<sub>w</sub>: atividade de água; DIVMO: digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica; COL: colágeno;

<sup>2,3</sup>Médias das amostras-mãe das FVA *low ash* e *high ash*, respectivamente; Tamanho amostral: <sup>4</sup>n<sub>LA</sub> = 104 e n<sub>HA</sub> = 96, <sup>5</sup>n<sub>LA</sub> = 66 e n<sub>HA</sub> = 34; <sup>6,7</sup>ns: não significativo (P>0,05)

pelo teste de qui-quadrado unilateral à direita para a variância de uma amostra ( $H_0: \sigma_{LA}^2 = (s_{LA}^*)^2$  ou  $H_0: \sigma_{HA}^2 = (s_{HA}^*)^2$ )

Tabela 2. Intervalos de confiança (IC) da média populacional estimados por diferentes métodos e probabilidade de significância do IC da diferença entre médias ( $P_{IC\_DIF}$ ) para características de composição química, qualidade nutricional, em farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo *low ash* (LA) e *high ash* (HA).

Item <sup>1</sup>	<i>Low ash</i>	<i>High ash</i>	$P_{IC\_DIF}$ <sup>4</sup>
	IC <sub>(LA; 1-<math>\alpha</math> = 0,95)</sub>	IC <sub>(HA; 1-<math>\alpha</math> = 0,95)</sub>	
Matéria seca (g kg <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	[947,68; 954,15] <sup>b</sup>	[951,26; 962,50]	0,0005
Matéria Mineral (g kg <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	[84,56; 91,05] <sup>b</sup>	[203,59; 219,79] <sup>a</sup>	<0,0001
Proteína Bruta (g kg <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	[728,00; 741,92] <sup>a</sup>	[624,59; 642,55] <sup>b</sup>	<0,0001
Extrato Etéreo (g kg <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	[112,63; 122,09]	[116,01; 123,22]	0,4516
Atividade água <sup>2</sup>	[0,3359; 0,3687] <sup>a</sup>	[0,2929; 0,3537] <sup>b</sup>	<0,0001
DIVMO <sup>2</sup>	[79,52; 81,02] <sup>b</sup>	[82,01; 84,30] <sup>a</sup>	<0,0001
Colágeno <sup>3</sup>	[176,37; 195,72] <sup>b</sup>	[287,56; 354,80]	<0,0001

<sup>1</sup>DIVMO: digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica; <sup>2,3</sup>Tamanho amostral: <sup>2</sup> $n_{LA} = 104$  e  $n_{HA} = 96$ ; <sup>3</sup> $n_{LA} = 66$  e  $n_{HA} = 34$ ; <sup>4</sup>Probabilidade de significância do teste t para o IC da diferença entre médias, com 95% de índice de confiança, ou do teste da soma dos ranks de Mann-Whitney-Wilcoxon(\*) com correção para a continuidade, a 5% de probabilidade.

Nas comparações entre os ICs das farinhas LA e HA houve semelhante em ambas ( $P=0,4516$ ), para os parâmetros de composição química e digestibilidade exceto para o EE (Tabela 2), os dois tipos de FVA foram diferentes. A FVA com alta cinza apresentou maior valor para MS ( $P<0,001$ ), MM ( $P<0,001$ ); DIVMO ( $P<0,001$ ) e colágeno ( $P<0,001$ ).

Calculados os coeficientes de variação a partir dos dados apresentados, foram obtidos os seguintes resultados, respectivamente, para FVA de baixa e alta cinza: Temperatura máxima de processamento (LA – 3,91°C; HA – 3,56°C); Temperatura média de processamento (LA – 3,73°C; HA – 4,71°C); Tempo de processamento (LA – 27,37 minutos; HA – 37,59 minutos); Pressão (LA – 13,41 kgf; HA – 24,23 kgf). Pode-se verificar por estes resultados que o tempo de processo foi a variável que mais oscilou na produção das FVA nos estabelecimentos, refletindo diretamente no IC para este parâmetro, que também apresentou a maior amplitude entre todas as variáveis de processo envolvidas (Tabela 3 e 4).

Tabela 3. Estimativas das médias populacionais na amostra original ( $\hat{m}_{LA}$  e  $\hat{m}_{HA}$ ) e nas 1000 amostras bootstrap ( $\hat{m}_{LA}^*$  e  $\hat{m}_{HA}^*$ ), estimativas do viés entre médias ( $B_{LA}^{\hat{m}}$  e  $B_{HA}^{\hat{m}}$ ), estimativas do desvio-padrão na amostra original ( $S_{LA}$  e  $S_{HA}$ ) e do desvio-padrão médio nas 1000 amostras bootstrap ( $s_{LA}^*$  e  $s_{HA}^*$ ) e estimativas do viés entre desvio-padrão e desvio-padrão médio ( $B_{LA}^S$  e  $B_{HA}^S$ ) para características mensuradas nas plantas de processamento de farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo *low ash* (LA) e *high ash* (HA).

Item (°C) <sup>1</sup>	$\hat{m}_{LA}^2$	$\hat{m}_{LA}^*$	$B_{LA}^{\hat{m}}$	$\hat{m}_{HA}^3$	$\hat{m}_{HA}^*$	$B_{HA}^{\hat{m}}$	$S_{LA}$	$s_{LA}^*$	$B_{LA}^S$ <sup>6</sup>	$S_{HA}$	$s_{HA}^*$	$B_{HA}^S$ <sup>7</sup>
TMÁX <sup>5</sup>	113,36	113,35	0,0013	111,64	111,65	-0,0103	4,43	4,33	0,0998 <sup>ns</sup>	3,97	3,82	0,1553 <sup>ns</sup>
TMED <sup>4</sup>	99,48	99,46	0,0166	101,44	101,42	0,0284	3,71	3,67	0,0426 <sup>ns</sup>	4,78	4,76	0,0273 <sup>ns</sup>
PMED (kgf) <sup>4</sup>	3,95	3,95	0,0005	3,92	3,92	0,0007	0,53	0,52	0,0062 <sup>ns</sup>	0,95	0,94	0,0103 <sup>ns</sup>
TPP (min) <sup>4</sup>	97,74	97,76	-0,0253	98,05	98,05	0,0029	26,95	26,80	0,1502 <sup>ns</sup>	36,76	36,54	0,2247 <sup>ns</sup>

TMÁX: temperatura máxima do processo; TMED: temperatura média do processo; PMED: pressão média do processo; TPP: tempo de processamento; <sup>2,3</sup>Médias das amostras-mãe das FVA *low ash* e *high ash*, respectivamente; <sup>4,5</sup>Tamanho amostral: <sup>4</sup> $n_{LA} = 104$  e  $n_{HA} = 96$ , <sup>5</sup> $n_{LA} = 66$  e  $n_{HA} = 34$ ; <sup>6,7</sup>ns: não significativo ( $P > 0,05$ ) pelo teste de qui-quadrado unilateral à direita para a variância de uma amostra ( $H_0: \sigma_{LA}^2 = (s_{LA}^*)^2$  ou  $H_0: \sigma_{HA}^2 = (s_{HA}^*)^2$ )

Tabela 4. Intervalos de confiança (IC) da média populacional estimados por diferentes métodos e probabilidade de significância do IC da diferença entre médias (PIC\_DIF) de características mensuradas nas plantas de processamento de farinhas de vísceras de aves (FVA) do tipo *low ash* (LA) e *high ash* (HA).

Item (°C)	IC <sub>(LA; 1-<math>\alpha</math> = 0,95)</sub> <sup>1</sup>	IC <sub>(HA; 1-<math>\alpha</math> = 0,95)</sub> <sup>2</sup>	P <sub>IC_DIF</sub> <sup>3</sup>
Temperatura Máxima	[112,44; 114,69] <sup>a</sup>	[110,19; 112,85] <sup>b</sup>	<0,0001
Temperatura Média	[98,77; 100,17] <sup>b</sup>	[100,43; 102,38] <sup>a</sup>	<0,0001
Pressão Média (kgf)	[3,85; 4,05] <sup>a</sup>	[3,75; 4,10] <sup>b</sup>	<0,0001
Tempo de processamento (min)	[92,99; 102,85] <sup>b</sup>	[90,61; 105,09]	0,0241*

<sup>1,2</sup>Tamanho amostral: <sup>1</sup>n<sub>LA</sub> = 104 e <sup>2</sup>n<sub>HA</sub> = 96; <sup>3</sup>Probabilidade de significância do teste t para o IC para as características processos de FVALA e FVAHA em cinco estabelecimentos do estado do Paraná. Probabilidade de rejeição da hipótese nulo dos intervalos de confiança entre as FVA.

Os dados deste estudo mostram variação na composição química e no valor nutricional das farinhas de subprodutos de aves comercializadas como FVA<sub>LA</sub> e FVA<sub>HA</sub>. Esta variação na composição é resultado nas diferenças nas matérias-primas utilizadas e ao sistema de processamento (McNAUGHTON et al., 1977; JOHNSON e PARSONS, 1997; HASSANABADI et al., 2008; JAFARI et al. 2011). Os valores de matéria seca (MS) de todas as FVA mostram conformidade com os resultados apresentados por Bureau et al. (1999), Dozier et al. (2003), Najafabadi et al. (2007) e Cramer et al. (2007). Esses valores de MS favorecem a menor umidade e atividade de água (LEIVA et al., 2018), pois o tratamento térmico e a pressão utilizados durante o processamento das FVA acima de 40 minutos, elimina os microrganismos oriundos da matéria-prima. Apesar destes valores máximos serem considerados seguros, em farinhas de origem animal, de acordo com os dados obtidos neste estudo, enquanto o processamento produz ingrediente com baixo teor de umidade, visto pela MS média, ao redor de 95% e relativamente estável, com baixa variação, o coeficiente de variação da atividade de água foi o que mais variou, sendo importante seu acompanhamento com frequência visando a produção de ingrediente mais seguro.

Para o teor de cinzas, os dados mostram um valor maior nas amostras das FVA<sub>HA</sub>. Quando comparado o limite máximo encontrado para FVA<sub>LA</sub> (91,05 g/kg) com o mínimo da FVA<sub>HA</sub> (203,59 g/kg) a diferença é de 55,27 %. Porém, com a comparação do valor mínimo de cinzas da FVA<sub>LA</sub> (84,56 g/kg) com o máximo da FVA<sub>HA</sub> (219,79 g/kg) a diferença aumenta para 61,52 %. Em outros estudos, Dozier et al. (2003) observaram diferença semelhante (48,05 %) entre o mínimo (107 g/kg) e o máximo (206 g/kg) no teor de cinzas em FVA, sendo que o teor de cinzas de 32 amostras de farinha de carne e ossos variou de 198 g a 473 g/kg na MS (WANG e PARSONS, 1998) e, essa variabilidade no teor de cinzas foi de 130 g a 565 g/kg na MS (média = 283 g) estudados em 94 lotes de farinhas de carne e ossos produzidas na Nova Zelândia (HENDRIKS et al., 2002). Estes autores destacam que a alta variação no teor de cinzas observada entre e dentro das plantas está relacionada com a diferença no conteúdo ósseo da matéria-prima original.

A média do valor estimado para extrato etéreo (119 g/kg) de ambas as FVA foram próximas aos valores apresentados por Senkoylu et al. (2005) e Samli et al. (2006) (118 g/kg), próximos dos valores relatados por Dozier et al. (2003) (144 g/kg), Cramer et al. (2007) (129 e 149 g/Kg) e abaixo da média dos valores apresentados por Najafabadi et al. (2007), Geshlog et al. (2010), Jafari et al. (2011) e Zarei et al. (2014) que foi acima de 200 g/kg as diferenças podem estar relacionadas tanto com o material inicial, gordura adicionada ou com a eficiência do equipamento que extrai a gordura do material cozido.

Os limites de PB para as FVA<sub>LA</sub> 728,00 g (mínimo) e 741,92 g (máximo) ficaram próximos dos valores que Cramer et al. (2007) os quais obtiveram (719 g e 726 g) avaliando a qualidade da proteína de várias farinhas de origem animal. Por outro lado, os valores deste estudo ficaram acima dos níveis de PB verificados por Najafabadi et al., (2007) avaliando três plantas de processamento de FVA (565,00 a 634,00 g/Kg) em que os mesmos autores obtiveram valores próximos do presente estudo para as FVA<sub>HA</sub>, em que o limite mínimo foi de 624,59 g e o máximo de 642,55 g.

Embora o processo permite a recuperação da proteína e gordura da matéria-prima, não impede que a qualidade da proteína seja afetada (KAWAUCHI et al., 2014; ZAREI et al., 2014; GOODING e MEEKER, 2016; EAGLESON, et al., 2018) pois com o aumento da temperatura as proteínas tendem a formar porções insolúveis (HICKS e VERBEEK, 2016) visto que a duração do processo pode ser influenciada pelos tipos de sistema e tecnologias que variam entre unidades de processamento, e pode contribuir na variação da qualidade da proteína (MEEKER E HAMILTON, 2006; JAFARI et al., 2011).

Altas concentrações de osso e/ou tecido conjuntivo podem afetar negativamente o perfil de aminoácidos e a digestibilidade (OBA et al., 2020). Portanto, a FVA<sub>HA</sub> derivada de matéria-prima com altas quantidades de tecido muscular (carne mecanicamente separada) e resíduos ósseos, que são ricos em colágeno (PÉREZ-CALVO et al., 2010) obteve maior digestibilidade (IC 82,01 % a 84,30 %) do que as FVA<sub>LA</sub> (IC 79,52 % a 81,02 %). Fato que pode ser explicado devido a matéria-prima ser constituída de subprodutos derivados dos órgãos e intestinos. Assim, o material apresentou menor teor de colágeno do que as FVA<sub>HA</sub> (186 g vs 321 g). Entretanto, para a digestibilidade *in vitro* do hidrolisado de colágeno bovino foi próxima de 99% (BINDARI , et al. 2018).

A média estimada para o tempo e temperatura de processamento das FVA (98 min e 113°C) ficou abaixo dos intervalos de tempo (200 a 220 min; 170 a 190 min; 180 a 200 min) e das temperaturas (115°C, 135°C e 165°C) de três diferentes plantas de processamento de FVA verificadas por Jafari et al. (2011), abaixo da temperatura média de processo estimada por Pérez-Calvo et al. (2010) (141,8° C e 150° C) entre duas plantas de processo para farinha de carne, entretanto, o tempo de processamento (44 min e 166 min) foi menor para uma planta e maior para outra. Isso sugere que essa variação no processamento de farinhas de origem animal entre e dentro das plantas está diretamente relacionada, e é explicada pelo tipo e composição da matéria-prima (JOHNSON e PARSONS, 1997; ZAREI et al., 2014). Esta variabilidade pode afetar a digestibilidade e perfis dos aminoácidos, tornando difícil determinar a qualidade da proteína (YAMKA et al., 2003).

A temperatura do processamento e o teor de cinzas são dois fatores indicativos que podem afetar a digestibilidade da FVA (HENDRIKS et al., 2002). Em um processamento mais intenso com alta temperatura e pressão (135°C e 3 bar) aplicado em farinha de carne e ossos com 35% de PB e 50% de MM por aumentou a digestibilidade da PB para gatos (de-OLIVEIRA et al., 2011). Kondos e McClymont (1972) não observaram nenhuma redução na disponibilidade de aminoácidos quando farinhas de carne e ossos foram processadas em temperaturas a 121°C e 138°C.

Em outras pesquisas Shirley e Parsons (2000) e Pérez-Calvo et al. (2010) também constataram que em temperaturas a 133°C não houve diferenças entre as plantas de processamento de FVA em termos de contribuição de aminoácidos essenciais e não essenciais para o conteúdo de proteína bruta. No entanto, foi demonstrado que o aumento do tempo de processamento diminuiu a digestibilidade e a disponibilidade dos aminoácidos (JOHNSON et al., 1998) e que temperaturas de 121°C a 126°C são suficientes para superaquecer as proteínas e danificar os aminoácidos (PESTI et al., 1986) tornando-os indisponíveis ao metabolismo dos animais (WANG e PARSONS, 1998).

O efeito negativo do processo na digestibilidade da proteína bruta seja explicado pela desnaturação da estrutura da cadeia proteica pela queima em processamentos prolongados, 180 minutos (PIVA et al., 2001), pois pode ser que aconteça a racemização ou ligação cruzada dos aminoácidos (SHIRLEY e PARSONS, 2000). Entretanto, apesar da digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) apresentar um intervalo de confiança entre as FVA ( $P < 0,0001$ ), as médias das características mensuradas nas plantas de processamento de FVA (Tabela 3) não foram explicadas pelas variações na digestibilidade.

As matérias-primas variam em quantidade visceral, material ósseo, teor de proteína e até no estado de decomposição, com isso é difícil mensurar e identificar o grau de interferências destas variações no processo em cada lote de matéria-prima lançado no digestor. Assim, é importante verificar o tempo, temperatura e pressão ideal de processo para esses lotes de matéria-prima. A segregação desses materiais seria uma grande limitação para as indústrias que trabalham com subprodutos de aves, e dificulta constatar os limites que esses fatores começam a ter efeitos prejudiciais na qualidade da FVA.

## **5.5 Conclusão**

A matéria mineral, a atividade de água e a concentração de gordura são os parâmetros que mais oscilam em amostras de FVA, independente da sua classificação. No processamento, o tempo de digestão é o parâmetro mais variável na produção de FVA.

## 5.6 Referências

- ABRA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE RECICLAGEM ANIMAL. **Anuário Abra 2019: Setor de reciclagem animal**. 2019. 112 p.
- AAFCO. 2017. Official Publication. Association of American Feed Control Officials.
- AOAC, Official Methods of Analysis. 16th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 2005.
- BINDARI, Y. R., LÆRKE, H. N., & NØRGAARD, J. V. Standardized ileal digestibility and digestible indispensable amino acid score of porcine and bovine hydrolyzates in pigs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98. p. 2131–2137, 2018.
- BUREAU, D.P.; HARRIS, A.M.; CHO, C.Y. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal Aquaculture**, v.180, p.345–358. 1999.
- CRAMER, K.R., GREENWOOD, M.W., MORITZ, J.S., BEYER, R.S., PARSONS, C.M. Protein quality of various raw and rendered by-product meals commonly incorporated into companion animal diets. **Journal of Animal Science**, v.85, p. 3285-3293, 2007.
- DE-OLIVEIRA, L.D.; PICINATO, M.A.C; KAWAUCHI, I.M.; SAKOMURA, N.K. CARCIOFI, A.C. Digestibility for dogs and cats of meat and bone meal processed at two different temperature and pressure levels. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 2011. doi.org/10.1111/j.1439-0396.2011.01232.x
- DOZIER III, W., DALE, N., DOVE, C. Nutrient composition of feed-grade and petfood-grade poultry by-product meal. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, p. 526-530, 2003.
- EAGLESON, C.; CLARK, T.; HILL, B.; DANIELS, B.; EAGLESON, A. et al. Impact of meat and bone meal nutritional variability on broiler performance. **Journal of Applied Poultry Research**. v. 27. p. 172–179. 2018.
- EFRON, B. AND TIBSHIRANI, R. (1993) An Introduction to the Bootstrap. Chapman and Hall, New York, London.
- ENGEL, J. Modelling Variation in Industrial Experiments. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 41, n.3, p. 579-593, 1992.
- FARMANESH, A.; MOHTASEBI, S.S.; OMID, M. Optimization of rendering process of poultry by-products with batch cooker model monitored by electronic nose. **Journal of Environmental Management**, v. 235, p, 194-201, 2019.

- GOODING, C. H.; MEEKER, D. L. Review: Comparison of 3 alternatives for large-scale processing of animal carcasses and meat by-products. **The Professional Animal Scientist**, v. 32, p. 259–270, 2016.
- HASSANABADI, A.; AMANLOO, H.; ZAMANIAN, M. Effects of substitution of soybean meal with poultry by-product meal on broiler chickens performance. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7, n.3, p. 303-307, 2008.
- HENDRIKS, W. H.; BUTTS, C. A.; THOMAS, D. V.; JAMES, K. A. C.; MOREL, P. C. A.; VERSTEGEN, M. W. A. Nutritional Quality and Variation of Meat and Bone Meal. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v.15, n.10, p. 1507-1516, 2002.
- HERVERA, M., BAUCCELLS, M.D., BLANCH, F., CASTRILLO, C. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, p. 205-209, 2007.
- HICKS, T.M.; VERBEEK, C.J.R. Meat Industry Protein By-Products: Sources and Characteristics. **Elsevier Inc.** 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802391-4.00003-3>. Acesso em: Fevereiro 2021.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** 2020. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp\\_2020\\_1tri.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2020_1tri.pdf). Acesso em: 13.06.20.
- JAFARI, M.; Ebrahimezhad, Y.; Janmohammadi, H.; Nazeradl, K.; Nemati, M. Evaluation of protein and energy quality of poultry byproduct meal using poultry assays. **African Journal of Agricultural Research**, v.6, n. 6, p. 1407-1412, 2011.
- JAYATHILAKAN, K.; SULTANA, K.; RADHAKRISNA, K.; BAWA, A. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. **Journal Food Science Technology**, v. 49, p. 278–293, 2012.
- JOHNSON, M. L., C. M. PARSONS, G. C. FAHEY, N. R. MERCHEN, AND C. G. ALDRICH. Effects of species raw material source, ash content, and processing temperature on amino acid digestibility of animal by-product meals by cecectomized roosters and ileally cannulated dogs. **Journal Animal Science**, v.76, p.1112–1122, 1998.
- JOHNSON, M.L.; PARSONS, C.M. Effects of Raw Material Source, Ash Content, and Assay Length on Protein Efficiency Ratio and Net Protein Ratio Values for Animal Protein Meals. **Poultry Science**. v. 76, p. 1722–1727. 1997.
- KAWAUCHI, I.M., SAKOMURA, N.K., PONTIERI, C.F., REBELATO, A., PUTAROV, T.C., MALHEIROS, E.B., GOMES MDE, O., CASTRILLO, C., CARCIOFI, A.C.

- Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. **Journal of Nutritional Science**, v.3, 2014.
- KONDOS, A.C.; McCLYMONT, G.L. Nutritional evaluation of meat meals for poultry. Effect of processing temperature on total and biologically available amino acids. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 23, n.5, p. 913 – 922, 1972.
- LEIVA, A.; GRANADOS-CHINCHILLA, F.; REDONDO-SOLANO, M.; ARRIETA-GONZ'ALEZ, M.; PINEDA-SALAZAR, E.; MOLINA, A. Characterization of the animal by-product meal industry in Costa Rica: Manufacturing practices through the production chain and food safety. **Poultry Science**. p. 1-11, 2018.
- McNAUGHTON, J.L.; PASHA, H.A.; DAY, E.J.; DILWORTH, B.C. Effect of Pressure and Temperature on Poultry Offal Meal Quality. **Poultry Science**, v. 56, p. 1161-1667, 1977.
- MEEKER, D.L., MEISINGER, J.L. Companion Animals Symposium: Rendered ingredients significantly influence sustainability, quality, and safety of pet food1. **Journal of Animal Science**, v.93, p. 835-847, 2015.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. 2010. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Brasília: RIISPOA, 212p.
- NAJAFABADI, H.J.; MOGHADDAM, H.N.; POURREZA, J.; et al. Determination of Chemical Composition, Mineral Contents, and Protein Quality of Poultry By-Product Meal. **International Journal of Poultry Science**, v.6, n.12, p. 875-882, 2007.
- OBA, M.P.; UTTERBACK, P.L.; PARSONS, C.M.; SWANSON, K.S. True nutrient and amino acid digestibility of dog foods made with human-grade ingredients using the precision-fed cecectomized rooster assay. **Translational Animal Science**, v.4, n.1. p. 442–451, 2020.
- ODEYEMI, O.A.; ALEGBELEYE, O.O.; STRATEVA, M.; STRATEV, D. Understanding spoilage microbial community and spoilagemechanisms in foods of animal origin. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, p. 319-331, 2020.
- PÉREZ-CALVO, E.; CASTRILLO, C.; BAUCCELLS, M. D.; GUADA, J. A. Effect of rendering on protein and fat quality of animal by-products. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 94, p. 154–163, 2010.
- PIVA, G.; MOSCHINI, M.; FIORENTINI, L.; MASOERO, F. Effect of temperature, pressure and alkaline treatments on meat meal quality. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p. 59–68, 2001.

- R CORE TEAM (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>> Acesso em: 27/01/2021.
- RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. 2ed. Viçosa: Ed UFV, 2017.
- ZAGKLIS, D.; KONSTANTINIDOU, E.; ZAFIRI, C.; KORNAROS, M. Assessing the Economic Viability of an Animal Byproduct Rendering Plant: Case Study of a Slaughterhouse in Greece. **Sustainability Journal**, v.12, p. 1-16, 2020.
- SAMLI E.H., SENKOYLU N.; OZDUVEN L.; AKYUREK H.; AMGMA A. Effect of poultry by-product meal on laying performance, egg quality and storage stability. **Pakistan Journal Nutrition**, v. 5, n.1, p. 06-09, 2006.
- SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à Experimentação Animal**. 3ª ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007. 264p.
- SENKOYLU N.; SAMLI H.E.; AKYUREK H.; AGAMA A.; YASAR S. Performance and egg characteristics of laying hens fed diets incorporated with poultry by-product and feather meals. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 14, p.542-547, 2005.
- SHIRLEY, R.B.; PARSONS, C.M. Effect of Pressure Processing on Amino Acid Digestibility of Meat and Bone Meal for Poultry. **Poultry Science**, v.79, p. 1775–1781, 2000.
- SILVA, J.; NUNES, M. SCUSSEL, M.V. Ozone Gas Antifungal Effect on Extruded Dog Food Contaminated with *Aspergillus flavus*. **Ozone: Science & Engineering**. 2018. DOI: 10.1080/01919512.2018.1481361.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM® - SAS. University Edition [online]. ©SAS Institute Inc.; 2021. Disponível em: <[https://www.sas.com/en\\_us/software/university-edition.html](https://www.sas.com/en_us/software/university-edition.html)> Acesso em: 27/01/2021.
- WANG, X.; PARSON, C.M. Effect of Raw Material Source, Processing Systems, and Processing Temperatures on Amino Acid Digestibility of Meat and Bone Meals. **Poultry Science**, v. 77, p. 834–841. 1998.
- YAMKA, R.M.; JAMIKORN, U.; TRUE, A.D.; HARMON, D.L. Evaluation of low-ash poultry meal as a protein source in canine foods. **Journal Animal Science**, v. 81, p. 2279–2284, 2003.
- ZAREI, A. MOHAMMADI, M.; HEMMATI, B. Metabolizable Energy and Chemical Composition of Poultry by-Product Meal. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.4, n.4, p. 849-853, 2014.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos precisam ser realizados quanto a tolerância à histamina para estipular um valor mínimo aceitável nos ingredientes para a alimentação animal.

O teste rápido de histamina em FVA foi altamente correlacionado com o HPLC, entretanto necessita de padronização para melhor estimativa.

A utilização da cor como análise e desenvolvimento de uma escala padrão pode servir como ferramenta importante na padronização do processo e escolha da matéria-prima pela tonalidade da cor para o seu uso, que por sua vez pode impactar nas características organolépticas das rações extrusadas.

Os intervalos de confiança para produção das farinhas de vísceras de aves podem ser implantados nas indústrias como fator de controle de processamento e comparação entre os lotes dentro da garantia de qualidade.

## ANEXO

Escala de cor FVA	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32
Código RGB	(220,194,89)	(210,180,80)	(200,175,76)	(193,170,55)	(188,167,50)	(191,152,43)	(180,141,38)	(173,133,18)	(170,125,14)	(157,116,41)	(148,108,46)	(139,100,45)	(133,99,40)	(131,95,33)	(128,89,32)	(120,77,30)
Código Hexadecimal	"#DCC259"	"#D2B450"	"#8AF4C"	"#C1AA37"	"#BCA732"	"#BF982B"	"#B48D26"	"#AD8512"	"#AA7D0E"	"#9D7429"	"#946C2E"	"#8B642D"	#856328"	"#835F21"	"#805920"	"#784D1E"