

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ESTRATÉGIAS DE MELHORIA DA ESTABILIDADE  
OXIDATIVA E QUALIDADE NUTRICIONAL DE FARINHA  
DE VÍSCERAS DE AVES

Autor: Leonir Bueno Ribeiro  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

M A R I N G Á  
Estado do Paraná  
Agosto - 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ESTRATÉGIAS DE MELHORIA DA ESTABILIDADE  
OXIDATIVA E QUALIDADE NUTRICIONAL DE FARINHA  
DE VÍSCERAS DE AVES

Autor: Leonir Bueno Ribeiro  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração: Produção Animal.

M A R I N G Á  
Estado do Paraná  
Agosto - 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

R484e Ribeiro, Leonir Bueno, 1979-  
Estratégias de melhoria da estabilidade oxidativa e qualidade nutricional de farinha de vísceras de aves / Leonir Bueno Ribeiro. -- Maringá, 2018.  
92 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2018.

1. Farinhas de origem animal. 2. Conservação. 3. Digestibilidade. 4. Período de indução. 5. Processamento. I. Vasconcellos, Ricardo Souza, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 21.ed. 636.5

Mariza Nogami - CRB 9/1569



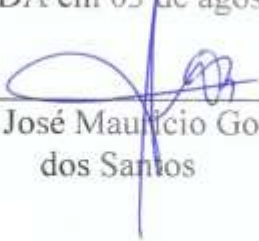
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS


ESTRATÉGIAS DE MELHORIA DA ESTABILIDADE  
OXIDATIVA E QUALIDADE NUTRICIONAL DE FARINHA  
DE VÍSCERAS DE AVES

Autor: Leonir Bueno Ribeiro  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 03 de agosto de 2018.

  
Prof. Dr. José Maurício Gonçalves  
dos Santos

  
Prof. Dr. Leandro Dalcin Castilha

  
Profª Drª Daiane de Oliveira  
Grieser

  
Dr. Marcelino Bortolo

  
Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos  
Orientador

*“Têm coisas que tem seu valor; Avaliado em quilates,  
em cifras e fins; E outras não têm o apreço;  
Nem pagam o preço que valem pra mim; ...  
Sempre que eu quero, revejo meus dias; E as  
coisas que eu posso, eu mudo ou arrumo; Mas  
deixo bem quietas as boas lembranças;  
Vidinha que é minha, só pra o meu consumo...”*

*Trecho de música “pra o meu consumo” de Luiz Marengo e Gujo Teixeira*

À

minha mãe, Cleusa Araldi Ribeiro

Ao

meu pai, Nicanor Bueno Ribeiro (*In Memoriam*)

Pelos ensinamentos, amor, confiança para  
realizações de metas e força para vencer  
obstáculos da vida

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que nas noites mais difíceis trouxe conforto e calma ao meu espírito, para que a cada dia conseguisse superar minhas etapas e provações.

À Empresa Kemin Industries (Nutrisurance), pela oportunidade oferecida e apoio para a realização deste estudo.

À Universidade Estadual de Maringá, por ter me possibilitado desenvolver este trabalho.

Ao Departamento de Zootecnia e ao Programa de Pós-Graduação da UEM, pela imensa ajuda recebida durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos, pela dedicada orientação, pela confiança, apostando e trazendo apoio.

Aos meus pais, Nicanor Bueno Ribeiro (*In Memoriam*) e Cleusa Araldi Ribeiro, os quais, tenho imenso amor e respeito. Através de seus ensinamentos, contribuíram para a realização de mais esta meta em minha vida, depositando amor e confiança nas decisões difíceis.

À minha companheira, Daniele Milani Lovato, que me apoiou desde o início.

Ao Dr. Marcelino Bortolo, que com sua experiência e paciência tanto me ensinou.

A todos os amigos que me ajudaram na minha formação e realização deste trabalho.

Aos demais professores e colaboradores do departamento de Zootecnia e Pós-Graduação, que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

A todos os colaboradores das empresas que visitamos, pela atenção.

## BIOGRAFIA

LEONIR BUENO RIBEIRO, filho de Nicanor Bueno Ribeiro (*In Memoriam*) e Cleusa Araldi Ribeiro, nasceu no dia 30 de novembro de 1979, na cidade de Céu Azul, Estado do Paraná, onde residiu até o ano de 2001.

Deste muito cedo começou a demonstrar gosto pelas coisas de campo, primeiramente acompanhando a rotina e os acontecimentos de uma casa agropecuária, da qual seu pai era proprietário.

A partir dos 13 anos de idade, começou a participar de decisões em propriedade rural pertencente à sua família, onde passou a ajudar no manejo de bovinos de corte, ovinos e equinos; aprendeu a montar e trabalhar com cavalos.

Iniciou as atividades no curso de Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), em fevereiro de 2001, passou a despertar ainda mais o interesse e busca por novos conhecimentos relacionados aos animais; concluindo a graduação em dezembro de 2005. Em março de 2006, iniciou o Mestrado, pela Universidade Estadual Maringá (UEM), concluindo em 2008.

Ingressou no mercado de trabalho, assumindo funções e responsabilidade em uma empresa voltada ao mercado de alimentos para animais de companhia, despertando o interesse em iniciar o Doutorado em Zootecnia, em março de 2016, pela UEM. E no dia 03 de agosto de 2018, submeteu-se a defesa de Doutorado.



## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	VIII
LISTA DE FIGURAS .....	X
RESUMO .....	XI
ABSTRACT .....	XIII
I - INTRODUÇÃO .....	15
1.1 Farinhas de vísceras de aves e seus componentes .....	16
1.2 Processamento de farinhas de vísceras .....	17
1.3 Fatores relevantes ao processo e produção de farinhas de vísceras .....	19
1.4 Fatores que afetam a qualidade nutricional de farinhas de vísceras.....	20
1.5 Oxidação lipídica de farinhas de vísceras.....	21
1.6 Contaminantes e riscos de contaminações.....	22
1.7 Aditivos conservantes para farinhas de origem animal.....	23
LITERATURA CITADA .....	25
II - OBJETIVO GERAL .....	29
III - ESTABILIDADE OXIDATIVA E QUALIDADE NUTRICIONAL DA FARINHA DE VISCERAS DE AVES: UMA ABORDAGEM DA MATÉRIA-PRIMA AO PRODUTO ACABADO.....	30
RESUMO .....	31
ABSTRACT .....	33
INTRODUÇÃO .....	35
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS .....	41
DISCUSSÃO .....	43
CONCLUSÃO .....	51

	vii
LITERATURA CITADA .....	58
IV - PRÉ-TRATAMENTO DO MATERIAL CRU COM ADITIVOS ANTIMICROBIANOS PARA A FABRICAÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES .....	61
RESUMO .....	62
ABSTRACT .....	63
INTRODUÇÃO .....	65
MATERIAL E MÉTODOS .....	67
RESULTADOS .....	73
DISCUSSÃO .....	75
CONCLUSÃO .....	78
LITERATURA CITADA .....	89

## LISTA DE TABELAS

### ESTABILIDADE OXIDATIVA E QUALIDADE NUTRICIONAL DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES: UMA ABORDAGEM DA MATÉRIA-PRIMA AO PRODUTO ACABADO

	Página
Tabela 1. Total de Variância Explicada e Definição de Componentes Principais	52
Tabela 2. Teste de Kaiser Meyer Olkin (KMO) e Bartlett .....	52
Tabela 3. Quadro com os componentes principais rotacionados, em ordem crescente.....	52
Tabela 4. Valores de Período de Indução (PI) após agrupamento para os Indicadores Fatoriais dos Componentes Principais e das Variáveis independentes que compõem cada Componente Principal (P<0.05).....	53
Tabela 5. Valores de Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DIVMO) após agrupamento para os Indicadores Fatoriais dos Componentes Principais e das Variáveis independentes que compõem cada Componente Principal (P<0.05).....	54
Tabela 6. Composição química das FVA expressos em base de Matéria Seca e variáveis pertencentes aos Componentes Principais avaliados por estabelecimento.....	55
Tabela 7. Tabela com teste Qui-Quadrado, para Distribuição de frequência das amostras de farinhas de vísceras de aves alocadas segundo agrupamento por Período de Indução.....	56
Tabela 8. Tabela com teste Qui-Quadrado, para Distribuição de frequência das amostras de farinhas de vísceras de aves alocadas segundo agrupamento por Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica.....	57

### PRÉ-TRATAMENTO DO MATERIAL CRU COM ADITIVOS ANTIMICROBIANOS PARA A FABRICAÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES

	Página
Tabela 1. Dados relativos a produtividade das FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.....	79

Tabela 2.	Composição quantitativa e qualitativa das dietas experimentais formuladas, com inclusão de FVA referente ao tratamento Controle ao longo dos diferentes tempos para o processamento.....	80
Tabela 3.	Valores de Atividade de água e teores de nutrientes expressos em g/kg na base de matéria seca (MS), de amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.....	81
Tabela 4.	Coeficientes de Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DIVMO) expressa em g/kg, de amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.....	82
Tabela 5.	Índice de Dispersibilidade Proteica (PDI) expressa em g/kg, de amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.....	83
Tabela 6.	Concentração de Antioxidantes, expressa em mg/kg, de amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.....	85
Tabela 7.	Valores de Período de indução (minutos) obtido em bomba de oxigênio (Oxitest), nas amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.....	86
Tabela 8.	Valores de concentração (mg/kg) de Hexanal obtido pela técnica de análise de Headspace em cromatografia gasosa, nas amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a tempos para o processamento de 0 e 12 horas.....	86
Tabela 9.	Resultados de análise de concentração (mg/kg) de aminas biogênicas nas amostras de FVA, referente ao tratamento Controle ao longo dos diferentes tempos para o processamento.....	87
Tabela 10.	Resultados de análise de concentração de aminas biogênicas (mg/kg), nas amostras de FVA, referente ao tratamento experimentais nos tempos para processamento de 0 e 12 horas.....	88
Tabela 11	Teste de preferência alimentar de gatos adultos, alimentados com dietas experimentais contendo FVA processadas em diferentes tempos para o processamento.....	88

## LISTA DE FIGURAS

### ESTABILIDADE OXIDATIVA E QUALIDADE NUTRICIONAL DA FARINHA DE VISCERAS DE AVES: UMA ABORDAGEM DA MATÉRIA-PRIMA AO PRODUTO ACABADO

	Página
Figura 1. Gráfico de distribuição percentual de amostras (n=94) por estabelecimento relacionado ao agrupamento para Período de indução.....	56
Figura 2. Gráfico de distribuição percentual de amostras (n=98) por estabelecimento relacionado ao agrupamento para Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica.....	57

### PRÉ-TRATAMENTO DO MATERIAL CRU COM ADITIVOS ANTIMICROBIANOS PARA A FABRICAÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES

	Página
Figura 1. Distribuição gráfica dos resultados da análise de Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DIVMO), das amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos (legenda) e diferentes tempos para processamento (0, 12, 24, 36 e 48 horas).....	83
Figura 2. Distribuição gráfica dos resultados da análise de Índice de Dispersibilidade Proteica (PDI), das amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos (legenda) e diferentes tempos para processamento (0, 12, 24, 36 e 48 horas).....	84
Figura 3. Resultados da evolução das concentrações de amins biogênicas (mg/kg), no tratamento controle ao longo dos diferentes tempos para o processamento.....	87

## RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos com o objetivo de determinar os fatores relacionados à Farinha de vísceras de aves (FVA) que influenciam na estabilidade oxidativa e a qualidade nutricional e propor estratégias para a melhoria da qualidade deste ingrediente. No experimento I, objetivou-se determinar quais os principais fatores relacionados à produção das FVA que afetam a estabilidade oxidativa e a digestibilidade *in vitro* da FVA. Avaliou-se o processamento de 100 bateladas de FVA provenientes de quatro estabelecimentos comerciais. Em cada batelada foram avaliados fatores relacionados ao material cru (tempo para o processo, temperatura ambiente, temperatura do material cru) ao processamento (temperatura de processamento, tempo de processo, quantidade de óleo usada para fritura do material e enchimento do digestor) e ao produto acabado (composição nutricional, residuais de antioxidante sintético, dispersibilidade proteica). Estas foram consideradas variáveis independentes. Como variáveis dependentes na FVA considerou-se a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e a estabilidade oxidativa (período de indução; PI). Procedeu-se Análise multivariada, com a formação de quatro componentes principais. A estabilidade oxidativa foi influenciada pela temperatura de processo, residual de antioxidante e composição química da FVA. A digestibilidade *in vitro* foi influenciada pelo tempo e temperatura de processo, assim como a composição química. Conclui-se que a falta de controle e padronização no processo de FVA, afeta a qualidade nutricional e estabilidade oxidativa. A estabilidade oxidativa é principalmente influenciada pela secagem excessiva do material e/ou superaquecimento e ainda pelas concentrações de antioxidantes residuais nas amostras. Por outro lado, a digestibilidade sofre influência do tempo de espera do material cru para o processamento e das temperaturas de processo industrial. No experimento II, objetivou-se avaliar os efeitos do tempo de espera do material cru para o processo e comparar os efeitos de diferentes antimicrobianos na preservação do material cru e qualidade da FVA. Foram produzidas farinhas, a partir de vísceras cruas com cinco

diferentes tempos para o processo (0; 12; 24; 36 e 48 horas) e adição de diferentes antimicrobianos. Os coeficientes de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e Índice de dispersibilidade proteica (PDI), aumentaram de forma linear ( $P < 0,0001$ ), à medida que aumentou o tempo para o processo, indicando instalação de autólise do material a ser processado. Esta autólise foi acompanhada exponencialmente ( $R^2 = 0,9699$ ) pela concentração de aminas biogênicas, indicando severo comprometimento do material a ser processado a partir de 12 horas de espera para o processo. O uso dos aditivos antimicrobianos retardou a formação de aminas biogênicas, até as 12 horas de espera. Conclui-se que a formação de aminas biogênicas durante a espera das vísceras a ser processada atinge níveis críticos a partir de 12 horas e que, mesmo controlada parcialmente com antimicrobianos esta deve ser evitada, pois compromete a segurança no uso deste ingrediente. Os resultados obtidos nestes dois experimentos fornecem subsídios aos fabricantes de FVA e para a indústria *Pet food* na melhoria de condições de processo e monitoramento da qualidade da FVA, respectivamente.

**Palavras chaves:** conservação, digestibilidade, farinhas de origem animal, período de indução, processamento.

## ABSTRACT

Two experiments were carried out to determine factors related to Poultry by-product meal (PBM) that influence oxidative stability and nutritional quality and propose strategies to improve this ingredient quality. In the experiment I, the objective was to determine the main factors related to the PBM production that affect the oxidative stability and the *in vitro* digestibility of PBM. It was evaluated the processing of 100 batch of PBM from four commercial establishments. In each batch, factors related to the raw material (process time, ambient temperature, raw visceral material temperature) were evaluated for processing (process temperature, rendering time, oil ratio viscera) and finished product (nutritional composition, residual of synthetic antioxidant, protein dispersibility index). These were considered independent variables. As dependent variables in the PBM, the *in vitro* digestibility of organic matter (IVDOM) and oxidative stability (induction period; PI) were considered. Multivariate analysis was performed, with the formation of four main components. The oxidative stability was influenced by the process temperature, residual antioxidant and chemical composition of the PBM. *In vitro* digestibility was influenced by the time and temperature of the process, as well as the chemical composition. It is concluded that the lack of control and standardization in the PBM process affects nutritional quality and oxidative stability. Oxidative stability is mainly influenced by excessive drying of the material and overheating and also by residual antioxidant concentrations in the samples. On the other hand, digestibility is influenced by the waiting time of raw material for processing and industrial process temperatures. In the experiment II, the objective was to evaluate the effects of the waiting time of raw material for the process and to compare the effects of different antimicrobials on raw material preservation and PBM quality. Flours were produced from raw viscera with five different times of process (0, 12, 24, 36 and 48 hours) and addition of different antimicrobials. The *in vitro* digestibility coefficients of organic matter (IVDOM) and protein dispersibility index (PDI) increased linearly ( $P < 0.0001$ ), as the process time



increased, indicating autolysis of the processed material. This autolysis was accompanied exponentially ( $R^2 = 0.9699$ ) by the concentration of biogenic amines, indicating a severe compromise of the material to be processed after 12 hours of waiting for the process. The use of the antimicrobial additives delayed biogenic amines formation, until the 12 hours of waiting. It is concluded that biogenic amines formation during the waiting of the viscera to be processed reaches critical levels after 12 hours and that even partially controlled with antimicrobials this should be avoided, as it compromises the safety in the use of this ingredient. The results obtained in these two experiments provide subsidies to PBM manufacturers and the Pet food industry in improving process conditions and PBM quality monitoring, respectively.

**Key words:** animal product meal, conservation, digestibility, induction period, processing.

## I - INTRODUÇÃO

A indústria nacional de alimentos para animais de companhia tem o desafio de produzir e comercializar alimentos com melhor qualidade e competitividade no mercado globalizado. Os problemas mais comuns de qualidade em *Pet food* são a presença de contaminantes microbiológicos e seus produtos, compostos químicos com ação farmacológica e ainda produtos fora da especificação nutricional ou com problemas na vida de prateleira (FDA, 2018). Estes problemas acarretam reclamações de clientes com relação a problemas de rejeição, impactando comercialmente as empresas (Volpato, 2014; Lima, 2015). Desta forma, o controle de qualidade das matérias-primas que entram no processo de fabricação de alimentos para animais de companhia é o primeiro passo para minimizar os problemas de qualidade encontrados no produto acabado (Dozier III et al., 2003; Laflamme et al., 2014).

Os alimentos secos e extrusados para cães e gatos possuem em sua composição, ingredientes de origem animal como óleo de frango, sebo bovino, farinha de carne e ossos bovina, farinha de penas e a farinha de vísceras de aves (FVA). Esta última é um ingrediente com alto teor de ácidos graxos essenciais, aminoácidos e minerais. Além de nutritiva, a FVA possui um custo acessível que favorece seu emprego nas formulações. No entanto, por ser proveniente de material altamente susceptível à deterioração microbiana e autooxidação, o processamento para a obtenção da farinha e óleo deve ser iniciado o quanto antes, entre a evisceração e a entrada no digestor, para que sejam preservadas suas características desejáveis (Ferroli, 1999; MAPA, 2010; MAPA, 2013; Kawauchi et al., 2014; Laflamme et al., 2014).

Fatores envolvidos desde a criação e transporte dos frangos para os frigoríficos até a produção da farinha propriamente dita irão afetar as características do produto acabado. Por este motivo as farinhas de origem animal dificilmente possuem um padrão constante de produção e qualidade (Carciofi, 2008). Padronizar estes ingredientes do ponto de vista de composição química nutricional e estabelecer parâmetros de processo favoráveis à

obtenção de ingredientes com vida de prateleira longa e com baixos níveis de indicadores de deterioração microbiana representa importante passo para agregar valor às farinhas de origem animal (Dozier III et al., 2003; Cardozo, 2011). No entanto, para se chegar a este nível de conhecimento é necessário que pesquisas sejam feitas neste sentido, contribuindo com a elaboração de estratégias para melhorias constantes da qualidade.

Os principais fatores que afetam a qualidade da FVA seriam: conteúdo de digesta e excretas dos animais abatidos, contaminantes microbiológicos, oxidação, o tempo entre o processo de abate e o início do processamento da FVA, variação do material componente das farinhas de vísceras, tempo e temperatura de processamento, e lotação do digestor (Ferroli, 1999; Bellaver, 2010; Kawauchi, 2012).

Nesta tese de doutorado, formulou-se a hipótese de que os fatores relativos à matéria-prima crua, ao processamento e ao produto acabado afetam a estabilidade oxidativa e a digestibilidade da Farinha de Vísceras de aves (FVA). Para minimizar os efeitos do tempo para o processamento da matéria-prima crua sobre a qualidade do produto acabado, formulou-se uma segunda hipótese, de que a estabilização das vísceras cruas com aditivos antimicrobianos pode melhorar a qualidade do produto acabado, mesmo com períodos elevados para o processamento.

### **1.1 Farinhas de vísceras de aves e seus componentes**

As farinhas de origem animal são materiais orgânicos com alto teor de gordura e proteína, provenientes de resíduos de abate das aves para consumo humano. As graxarias ou recicladoras são os locais em que se realiza o processamento de materiais residuais de abate, processando todo o material rejeitado pelos frigoríficos e impróprios para o consumo humano, dentre os quais: sangue, penas e material ósseo e cárneo que compõem as farinhas utilizadas na alimentação animal (Bassoi, 1994; Ferroli, 1999). Estes locais têm como objetivos dar um destino adequado e ecologicamente correto a esses materiais, diminuindo os riscos e impactos à saúde pública, animal e ambiental; e buscar a produção de um ingrediente de qualidade para utilização na alimentação de animais de produção e companhia, por ter um potencial valor nutricional quando bem manipulado (Bellaver, 2002a; Oliveira e Zanoelo, 2012; Alvarez et al., 2015).

Os principais constituintes das farinhas de vísceras são: cabeças, pés, trato digestório (com conteúdo digestivo restante), trato respiratório, aparelhos reprodutivos,

gorduras viscerais, aparas, peles, cutículas e carcaças ou parte dessas, que foram rejeitadas para o consumo humano (AAFCO, 2017). É aceito a inclusão de resíduo de processamento de carne mecanicamente separada, porém não deve conter penas, resíduos de incubatório e outros materiais estranhos à sua composição (Bellaver, 2002b; Bellaver, 2005; Silva, 2012; Alvarez et al., 2015; Brandelli et al., 2015). A farinha de vísceras, portanto, é produto resultante da cocção ou fritura, prensagem para extração de óleo, e moagem destes materiais constituintes. Pela variabilidade de materiais componentes, na farinha de vísceras aves, existe variação conhecida como “low ash”, ou seja, baixo teor de matéria mineral, que é obtida pela não inclusão de resíduo de processamento de carne mecanicamente separada e demais materiais ósseos como pés e cabeça (Sindirações, 2009; AAFCO, 2017).

As principais causas de condenações ou rejeição de carcaças (impróprias para o consumo humano) são: queda da carcaça no piso durante o processamento; contaminações por fezes e bile e presença de sujidades aderida às patas e pele; carcaças com abscessos, fraturas, contusões (hematomas), arranhões, artrites, dermatoses, calos e pododermatites, sendo essas carcaças direcionadas ao processo de reciclagem através do processamento de farinhas de vísceras (Mendes e Komiyama, 2011; Silva, 2012, Lima et al., 2014).

## **1.2 Processamento de farinhas de vísceras**

Após a evisceração das aves para o consumo humano, todo material descartado, considerado resíduo dos frigoríficos, é direcionado para a produção de FVA. Este material segue duas vias, dependendo do estabelecimento processador de farinha. Estes são classificados em processadores Interligados e Coletadores. Em unidades consideradas Interligadas, após a evisceração das aves, todo o conteúdo destinado a farinhas é rapidamente conduzido para a unidade processadora de subprodutos, a qual está interligada ao frigorífico. Para unidades classificadas como Coletadoras, o material é direcionado ao carregamento de caçambas de transporte, normalmente feito por caminhões. Este carregamento em caminhões é feito de forma contínua à medida que as vísceras são produzidas. Uma vez carregado o caminhão, o material segue para a indústria processadora de subprodutos.

Em ambos os tipos de unidades processadoras (Interligado e Coletador), todo o conteúdo destinado à produção de farinhas de vísceras é descarregado em um silo de armazenagem denominado de Tolva. Este conteúdo fica então à espera de carregamento para os digestores. Antes de entrar nos digestores, esse material é transportado por roscas sem fim, até uma balança, na qual é realizada a medição da quantidade de material a adentrar em processamento nos digestores. Nesse momento, em que é realizada a pesagem do material, em muitas unidades, este recebe aspersão de antioxidantes sendo realizado o tratamento no material cru (Ferroli, 1999; Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000).

O material uma vez pesado e tratado é então descarregado no digestor. Após o descarregamento é adicionado óleo de vísceras para o processo inicial de cozimento e posterior fritura. A prática de uso de óleo para início de fritura nem sempre é adotada em todas as unidades processadoras, e as que se utilizam desse recurso, muitas das vezes, não seguem uma medida padrão. O processo geralmente se inicia com o cozimento em óleo, com posterior retirada do máximo de água até a fritura do material. Esse tempo de processo é dependente de vários fatores abordados nessa revisão, a citar, temperatura, teor de umidade, lotação de digestor, dentre outros (Ferroli, 1999; Ockerman and Hansen, 1999).

O tempo e o ponto de fritura, em muitos casos, é feito de forma empírica e visual pelos operadores de digestores (Ferroli, 1999). Obtido o ponto de fritura, em que o intestino esteja torrado e quebradiço, é feita a descarga do digestor. Toda a massa envolta em óleo obtida no processo de cozimento é liberada para o percolador. Este é uma grande canaleta, disposta de uma rosca condutora, que faz a separação grosseira da massa, que será a farinha de vísceras, e do óleo de vísceras. Feita essa primeira separação, essa massa é conduzida até a prensa, para a retirada final do óleo de vísceras restante. Durante a prensagem, transfere-se calor a massa para extrair melhor o óleo. Todo óleo restante é separado e conduzido até os tanques de armazenagem. A massa seca então é moída e a farinha de vísceras está pronta. Esta então é conduzida por roscas até os tanques de armazenamento. Durante esse processo, a farinha acabada recebe nova dose de aditivos antioxidantes e/ou antimicrobianos (Ferroli, 1999; Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Bellaver, 2002a).

### **1.3 Fatores relevantes ao processo e produção de farinhas de vísceras**

O digestor é o equipamento responsável pelo processamento para a fabricação da FVA e representa um gargalo e/ou estrangulamento do processo (Ferrolí, 1999). Os principais pontos críticos correlacionados aos digestores são: a falta de manutenção, manutenção errônea, dimensionamento do número e tamanhos dos digestores (Ferrolí, 1999).

Com relação ao dimensionamento do número, tamanho e uso dos digestores, existe a problemática de alta necessidade de cargas contínuas. Ferrolí (1999) denomina como “tempo zero” quando as recicladoras estão sobrecarregadas de material a ser processado. O digestor não possui intervalo de tempo entre as cargas e esse, por estar ainda superaquecido pela carga anterior, faz com que os primeiros materiais ao entrarem para a nova carga frite quase que instantaneamente, promovendo dessa forma um processamento desuniforme do material. Esse problema de tempo zero acontece ao que o autor citado denomina de cargas “apuradas”, ou seja, devido ao grande acúmulo de material a ser processado, acaba por negligenciar o tempo do equipamento e ainda acelerar o processamento. Geralmente, aumenta-se a carga de vapor levando ao não cozimento por completo de todo o material, sendo um ponto crítico de contaminação. Outro ponto crítico a ser considerado, aos fatores de produção e processamento de farinhas de vísceras, está relacionado ao carregamento em demasia. A alta lotação dos digestores pode levar ao não revolvimento adequado do material a ser processado dentro do digestor, fazendo com que ocorra um mal e/ou desuniforme processamento.

O tamanho do material, o teor de gordura e a presença de material ósseo afetam a produção de farinhas de vísceras. Em geral, as recicladoras possuem moinhos para a moagem desse material, somente após a saída das prensas. Desta forma, cabeças, ossos, carcaças, parte de carcaças e até frangos inteiros são processados sem qualquer tipo de moagem ou quebra. Assim, esses materiais, além de aumentarem a necessidade de tempo para processamento, podem ainda não serem processados, acarretando em material cru ou super processado (Ferrolí, 1999; Bellaver, 2010; Oliveira e Zanoelo, 2012).

Ainda relacionado ao material, quando os constituintes apresentarem baixo teor de umidade inicial, esse trará a impressão errônea de que o material esteja queimando dentro do digestor, quando na verdade ainda não processou o suficiente. Essa má identificação pode levar à retirada do material do digestor antes do processo por completo (Ferrolí, 1999; Bellaver, 2010). Por outro lado, quando o teor de umidade inicial é alto, pode

ocorrer o cozimento do material, tornado o produto pastoso e de difícil manipulação, e demandará maior tempo de processamento, levando ao desgaste do digestor e superprocessamento. Além disso o conteúdo final pode apresentar atividade de água que possibilite o desenvolvimento de microrganismos nas farinhas (Bellaver, 2002a; Bellaver, 2002b; Bellaver, 2010; Kawauchi, 2012).

#### **1.4 Fatores que afetam a qualidade nutricional de farinhas de vísceras**

A qualidade e a conservação das FVAs são dependentes dos aspectos produtivos da unidade produtora, como os equipamentos e o processo produtivo propriamente dito (Ferroli, 1999; Oliveira e Zanoelo, 2012; Kawauchi, 2012), a variação da composição química e dos materiais constituintes das farinhas (Dozier III, et al., 2003; Henn, 2004; Cramer et al., 2007; Silva et al., 2012; Kawauchi, 2012; Silva et al., 2014), presença de contaminantes físicos e microbiológicos (Bellaver, 2002a; Bellaver, 2002b; Cardozo, 2011; Silva 2012; Barreiro, 2012; Morgan, 2015; Barreiro, 2015) e grau de oxidação e degradação dos materiais (Silva et al., 1999; Antonianssi, 2001; Bellaver, 2002b; Tran et al., 2011; Kawauchi, 2012).

Os principais aspectos que afetam a digestibilidade das farinhas de vísceras são: a composição química, o processamento e a presença de contaminantes (Dozier III, et al., 2003; Henn, 2004; Carciofi, 2008; Oliveira, 2009; Zarei et al., 2014).

A composição química pode afetar a digestibilidade dependendo dos constituintes da farinha de vísceras, que podem ser: carne e ossos, conteúdo visceral (órgãos digestivos, reprodutivos e respiratórios), gorduras e pele e resíduo de carne mecanicamente separada (RCMS). Cada um desses constituintes apresenta características e composição química distintas em gordura, proteína e matéria mineral afetando diretamente a composição química final das farinhas de vísceras e, conseqüentemente, os teores de energia metabolizável e digestibilidade aparente dos nutrientes (Dozier III, et al., 2003; Henn, 2004; Carciofi, 2008; Oliveira, 2009; Bellaver, 2010; Anfalpet, 2011; Silva et al., 2012; Kawauchi, 2012; Silva et al., 2014; Zarei et al., 2014).

Os aspectos da produção e do processamento que afetam de forma direta a digestibilidade das farinhas de vísceras são conseqüências de pontos já discutidos anteriormente e relacionados à produção como: o efeito do tempo zero entre cargas, as

consequências de cargas apuradas e a lotação em demasia dos digestores (Ferroli, 1999; Bellaver, 2010).

### 1.5 Oxidação lipídica de farinhas de vísceras

A oxidação lipídica é um processo autocatalítico, espontâneo e inevitável, levando à formação de radicais livres, que em contato com oxigênio molecular formam peróxido de hidrogênio. Os hidroperóxidos dão origem a outros dois radicais livres, que atacam outras moléculas e formam mais radicais livres. Existe uma série de fatores que devem ser observados como causadores da formação de peróxidos de hidrogênio na farinha de vísceras como: a ineficiência de antioxidante (ausência ou dose deficiente) em óleos e gorduras, contato do produto acabado ou óleos com catalizadores minerais como ferro e magnésio, exposição a raios solares, contato com oxigênio e altas temperaturas (Turek, et al., 2003; Volpato, 2014).

A estabilidade oxidativa é um parâmetro para avaliação de qualidade nutricional de um produto e reflete as condições em que foi submetido o produto durante o processamento e estocagem (Antoniassi, 2001; Tran, et al., 2011; Lima, 2015). O controle da atividade de água (AW) também é importante, pois possibilita um controle de atividade oxidativa e proliferação microbiana, reações enzimáticas e hidrolíticas do ingrediente e/ou alimento (Lima, 2015).

O processo de crescimento exponencial da curva de oxidação *versus* tempo é conhecido como período de indução e define o tempo de vida útil ou tempo de prateleira (*Shelf Life*) dos produtos, neste momento o produto perde sua estabilidade e a formação de peróxidos de hidrogênio passa a ser exponencial. A determinação desse período de indução pode ser realizada pela análise do índice de peróxido, que detecta a rancidez da fração lipídica das farinhas de origem animal, expresso em mili-equivalentes/kg (mEq/kg). O valor aceito para farinhas de origem animal é de até 10,0 mEq/kg (Silva et al., 1999; Antonianssi, 2001; Turek et al., 2003; Bellaver e Zanotto, 2004; Sindirações, 2009; Kawauchi, 2012). Outra forma, de determinar o período de indução é pelas técnicas de aceleração, por estufa ou bombas de oxigênio (Rancimat, Oxitest ou Oxipress). Estes equipamentos são constituídos de reator, cujas amostras são inseridas em câmara selada, aquecidas com presença de oxigênio, acelerando o processo de oxidação. Qualquer composto oxidável reage com o oxigênio, reduzindo a pressão deste gás na câmara. No



momento em que inicia a redução exponencial da pressão no sistema, considera-se que a amostra perdeu sua estabilidade. Este tempo necessário para ocorrer este processo é denominado de PI, e é registrado pelo software do equipamento.

Existem outras análises para avaliar o estado oxidativo de alimentos e/ou ingredientes, como por exemplo: análise TBARS (ácido 2-tiobarbitúrico), análise de ácidos graxos livres, anisidina, valor Totox (valor total de oxidação) e compostos voláteis (Osawa et al., 2005).

A análise de TBARS (ácido tiobarbitúrico) consiste na quantificação de compostos originários da decomposição dos hidroperóxidos e radicais livres que reagem com ácido tiobarbitúrico (Silva et al., 1999; Antonianssi, 2001; Turek et al., 2003). O composto mais comum a se ligar ao TBA é o Malonaldeído (MDA) sendo este um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formado durante o processo oxidativo (Osawa et al., 2005). Este composto reagente pode ser quantificado através de análise de espectrofotometria a 532 nm de comprimento de onda (Kawauchi, 2012).

## **1.6 Contaminantes e riscos de contaminações**

Considera-se como material contaminante no abatedouro: alimento (ração), fezes, material de cama e as sujidades aderidas às patas, penas e pele, assim como os agentes microbiológicos (Ferroli, 1999; Cardozo, 2011; Laban et al., 2014). Para buscar reduzir os riscos de contaminação das carcaças, os frigoríficos adotam manejo de jejum pré-abate, que, deveria propiciar o máximo de eliminação do conteúdo digestivo. O tempo mínimo de passagem do alimento pelo intestino é de duas horas a duas horas e meia (Dansky & Hill, 1952). Imabayashi et al. (1956) observaram que metade do alimento é excretado dentro de quatro a cinco horas. Por outro lado, a retirada do alimento durante o jejum pré-abate provoca uma alteração no pH do intestino das aves e isso pode eventualmente favorecer a instalação e/ou proliferação de determinados microrganismos patogênicos em alguns segmentos do aparelho digestivo (Hinton et al., 1998; Barreiro, 2012; Morgan, 2015; Barreiro, 2015).

A sobrevivência de microrganismos, durante o processo de fritura e o armazenamento inadequado de materiais crus ou de produtos mal processados que apresentam contaminação bacteriana, são fontes possíveis de formação de amins

biogênicas. Aminoácidos biogênicos são produtos da descarboxilação de aminoácidos originados da decomposição bacteriana ou por processos putrefativos de proteínas de origem animal (Barnes et al., 2001; Cardozo, 2011; Kawauchi, 2012; Laban et al., 2014). As aminos biogênicas e poliaminas em alimentos podem causar desnaturação ou efeitos tóxicos quando consumidas em grande quantidade (Kawauchi, 2012; Barreiro, 2012).

Os microrganismos que quando presentes nas farinhas podem ser potencialmente patogênicos são: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* e *Clostridium perfringens* (Delazari, 2001; Leitão, 2001, Barreiro, 2012; Barreiro, 2015). Todos esses microrganismos citados anteriormente, tem seu controle de proliferação à atividade de água (AW) em torno de 0,60 (Lima, 2015).

Apesar do processamento de farinhas de vísceras ocorrer sob altas temperaturas, a incidência de recontaminação ou contaminação cruzada tem grande possibilidade de ocorrer durante o processo de armazenagem (Ferroli, 1999; Bellaver, 2001; Cardozo, 2011; Casagrande, 2012; Laban et al., 2014). Uma das formas de minimizar a contaminação microbiana em farinhas de vísceras seria pela redução do tempo entre o processo de evisceração e processamento das farinhas de vísceras (Kawauchi et al., 2014), além de controle rigoroso das ações de Boas Práticas de Fabricação.

### **1.7 Aditivos conservantes para farinhas de origem animal**

A finalidade de uso de aditivos conservantes, como os antioxidantes, é retardar ou inibir a níveis baixos o grau de oxidação lipídica de gorduras e vitaminas lipossolúveis dos ingredientes e alimentos (Ramalho e Jorge, 2006). Estes têm por finalidade a estabilização das gorduras presentes nos ingredientes, aumentando a vida útil ou tempo de conservação, além de não afetar a palatabilidade (Tucker, 2002; Laflamme et al., 2014).

Na seleção de compostos antioxidantes para humanos, algumas características devem ser respeitadas, tais como: eficácia em baixas concentrações, ausência de efeitos indesejáveis na cor, odor e sabor dos alimentos, compatibilidade com o alimento, fácil aplicação, estabilidade em condições de processamento e armazenamento, além de ser um produto atóxico (Ramalho e Jorge, 2006; NRC, 2006). As mesmas características são recomendadas para animais de companhia.

Os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (Ramalho e Jorge, 2006). Os agentes primários promovem a remoção e/ou inativação dos radicais livres, formados durante o processo de oxidação, sendo os principais os polifenóis, como: propil galato, etoxiquin, TBHQ (Terc-Butil- hidroquinona), BHT (Butil hidroxi-tolueno) e BHA (Butil- hidroxi-anisol) (Ramalho e Jorge, 2006; NRC, 2006). Existem ainda os Tocoferóis, que também são agentes primários, porém apresentam a vantagem, de serem compostos naturais e, da mesma forma que os químicos, apresentam boa capacidade antioxidante (Ramalho e Jorge, 2006; NRC, 2006).

Os agentes sinergistas são substâncias com baixa atividade antioxidante, quando utilizados em separado, porém podem melhorar a atividade dos antioxidantes primários, se utilizados em conjunto (Ramalho e Jorge, 2006).

Os removedores de oxigênio, conforme o nome sugere, são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis tornando-os, indisponíveis para atuarem como propagadores da auto-oxidação. Dentre esses, pode-se citar glucose oxidase, superóxido dismutase e catalases. Os agentes quelantes e/ou sequestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre, ferro e magnésio, sendo, estes os catalizadores do processo de oxidação lipídica, e nesse grupo os mais comuns são ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de ácido etileno diamino tetra acético (EDTA), que geralmente são utilizados como parte de veículo, para aplicação de antioxidantes primários (Ramalho e Jorge, 2006; NRC, 2006). Os antioxidantes mistos são caracterizados por compostos de plantas e animais, por isso a denominação. Entre estes, estão várias proteínas hidrolisadas, flavonoides e derivados de ácido cinâmico (ácido cafeico).

Controlar a proliferação microbiana nas farinhas de origem animal, como a farinhas de vísceras, seria uma forma de se obter ingredientes mais seguros e com qualidade melhorada (Casagrande, 2012).

## LITERATURA CITADA

- AAFCO. 2017. Official Publication. Association of American Feed Control Officials.
- Alvarez, M.O.; Chamorro, S.; Brenes, A., 2015. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. *Food Research International*, 73, 204–212.
- ANFALPET (Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação). PIQ PET., 2011. Manual de Sustentabilidade PIQ PET. São Paulo, 644p.
- Antoniassi, R., 2001. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. B.CEPPA, Curitiba, 9, 2.
- Barnes, D.M.; Kirby, Y.K.; Oliver, K.G., 2001. Effects of biogenic amines on growth and the incidence of proventricular lesions in broiler chickens. *Poultry Science*, 80, 906-911.
- Barreiro, F.R. 2015. Adição de desinfetantes na água de bebida durante o jejum pré-abate de frangos de corte: microbiologia e morfologia do trato gastrointestinal. / Fabiana Ribeiro Barreiro. Jaboticabal, 2015. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- Barreiro, F.R., 2012 Influência do jejum e do cloro sobre a microbiologia e morfometria intestinal de frangos de corte durante o período pré-abate. / Fabiana Ribeiro Barreiro. Jaboticabal, 2012. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- Bassoi, L.J., 1994. Tratamento de águas residuárias. In: Abate e Processamento de Frangos. Coleção FACTA.
- Bellaver, C. 2001. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In.: Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal, Campinas-SP. Palestra.
- Bellaver, C., 2002a. Resíduos industriais (farinhas, óleos e sebos), onde colocá-los frente as restrições de mercado? In.: IV Seminário Internacional da Industrialização da Carne, Mercoagro 2002, Anais... Chapecó-SC. Palestra.
- Bellaver, C., 2002b Uso de resíduos de origem animal a alimentação de frangos de corte. In.: IV III Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2002, Anais... Chapecó-SC. Palestra.
- Bellaver, C.; Zanotto, D. 2004. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos proteicos de origem animal. In.: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, Santos-SP. Palestra.
- Bellaver, C., 2005. Limitações e vantagens do uso de farinhas de origem animal na alimentação de suínos e de aves. In.: 2º Simpósio Brasileiro Alltech da Indústria de Alimentação Animal, Anais... Curitiba-PR. Palestra.
- Bellaver, C., 2010. Processamento de farinhas de origem animal e sua relação com digestibilidade e palatabilidade do produto final. In.: II Congresso Internacional sobre Nutrição de Animais de Estimação e IX Simpósio sobre Nutrição de Animais de Estimação, Anais...Campinas-SP.
- Brandelli, A.; Sala, L.; Kalil, S.J., 2015. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. *Food Research International*, 73, 3–12.
- Carciofi, A.C., 2008. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, suplemento especial, 28-41.
- Cardozo, M. V., 2011. Salmonella spp. e Clostridium perfringens em farinhas de origem animal utilizadas na fabricação de rações e avaliação de aditivo na inibição de patógeno. / Marita Vedovelli Cardozo. Jaboticabal, 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- Casagrande, M. F., 2012. *Clostridium perfringens* em ingredientes para ração de aves e controle da presença do agente utilizando tratamento químico. / Mariana Fröner

- Casagrande. Jaboticabal, 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- Cramer, K.R., Greenwood, M.W., Moritz, J.S., Beyer, R.S., Parsons, C.M., 2007. Protein quality of various raw and rendered by-product meals commonly incorporated into companion animal diets. *Journal of animal science* 85, 3285-3293.
- Dansky, L.M.; Hill, F.W., 1952. Application of the chromic oxide indicator method to balance studies of growing chickens. *Journal of Nutrition*, 47, 449-453.
- Delazari, I., 2001. Abate e processamento de carne de aves para garantia de qualidade. *Anais da Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas*. Campinas SP. Brasil. 2001; 1, 191-204.
- Dozier III, W., Dale, N., Dove, C., 2003. Nutrient composition of feed-grade and pet-food-grade poultry by-product meal. *Journal of applied poultry research* 12, 526-530.
- FDA - U.S. Food and Drug Administration. 2018. Recalls. <https://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/RecallsWithdrawals/default.htm> (accessed 02.14.18).
- Ferrolí, P.C.M. 1999. Balanceamento do sistema produtivo de farinhas e óleos: Fábrica de subprodutos de origem animal. / Paulo Cesar Machado Ferrolí. Florianópolis, 1999. Dissertação (mestrado) – Departamento de Pós-graduação em Engenharia de Produção. Universidade Federal de Santa Catarina.
- Ferrolí, P.C.M., Fiod Neto, M., Casarotto Filho, N., Castro, J.E.E., 2000. Fábricas de subprodutos de origem animal: a importância do balanceamento das cargas dos digestores de vísceras. *Production* 10, 05-20.
- Henn, J. D., 2004. Determinação do valor nutritivo de farinhas de sangue e de farinhas de vísceras para suínos utilizando o método da proteína e da gordura digestíveis. / João Dionísio Henn. Porto Alegre, 2004. Dissertação (mestrado) – Departamento de Pós-graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Rio Grande do Sul.
- Hinton, Jr. A.; Buhr, R.J.; Ingran, K.D., 1998. Effect of feed withdrawal on bacterial flora, pH, and weights of the ceca of chickens. *Pensylvania. Proceedings of Poultry Science Association Annual Meeting Abstracts*, 90.
- Imabayashi, K.; Kametaka, M.; Hateno, T., 1956. Studies on digestion in the domestic fowl. *Tokyo Journal Agriculture Research.*, 2,99-103.
- Kawauchi, I. M., 2012. Valor nutricional e parâmetros de qualidade de subprodutos de origem animal para cães. / Iris Mayumi Kawauchi. Jaboticabal, 2012. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- 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., 2014. Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. *Journal of nutritional science* 3, e36.
- Laban, S.E.; Moustafa, G.Z.; Anwer, W.; Badawy, E.M., 2014. Microbial Load of Poultry By-Products Following Rendering Process. *Global Veterinaria*, 12, 756-759.
- Laflamme, D., Izquierdo, O., Eirmann, L., Binder, S., 2014. Myths and misperceptions about ingredients used in commercial pet foods. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 44, 689-698.
- Leitão, M.F.F., 2001. Qualidade e segurança alimentar em produtos avícolas. *Anais da Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas*. Campinas, SP. Brasil, 1, 181-190.
- Lima, D.C., 2015. Consevação de alimentos extrusados para cães. / Daniele Cristina de Lima. Curitiba, 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Centro de Ciências Agrarias, Programa de pós-graduação em ciências veterinárias.

- Lima, K.C.; Mascarenhas, M.T.V.L.; Cerqueira, R.B. 2014. Técnicas operacionais, bem-estar animal e perdas econômicas no abate de aves. *Archives of Veterinary Science*, 19, 38-45.
- Mendes, A.A.; Komiyama, C.M., 2011. Estratégias de manejo de frangos de corte visando qualidade de carcaça e carne. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40, 352-357.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. 2013. Portaria nº 47. Regulamento Técnico de Manejo Pré-Abate e Abate Humanitário (DIPOA). Brasília: DIPOA, 12p.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. 2010. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Brasília: RIISPOA, 212p.
- Morgan, R.B. 2015. Análise de bem-estar para frango de corte durante o transporte e período de espera pré-abate em ambiente climatizado. / Rafaele Bom Morgan. Porto Alegre, 2015. Monografia (Especialização) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Produção, Tecnologia e Higiene de Produtos de Origem Animal.
- NRC - National Research Council. Nutrient requirements of dogs and cats. 2006. Washington, DC: The National Academy. 398p.
- Ockerman, H.W., Hansen, C.L., 1999. Animal by-product processing & utilization. CRC Press.
- Oliveira, G.A., Zanoelo, E.F., 2012. Thermophysical properties of hydrolyzed by-products from the meat industry. *Journal of Food Process Engineering* 35, 930-939.
- Oliveira, L.D. 2009. Avaliação de fontes protéicas e de tratamentos industriais da farinha de carne e ossos para cães e gatos. / Luciana Domingues de Oliveira. Jaboticabal, 2009. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- Osawa, C.C.; Felício, P.E.; Gonçalves, L.A.G. 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova*, 28, 655-663.
- Ramalho, V.C.; Jorge, N., 2006. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, 29, 755-760.
- Silva, E.P.; Rabello, C.B.; Lima, M.B.; Arruda, E.M.F.; Ludke, J.V., 2012. Determination of the chemical composition, amino acid levels and energy values of different poultry offal meals for broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 14, 71-158.
- Silva, E.P.d., Rabello, C.B.-V., Lima, M.B.d., Ludke, J.V., Arruda, E.M.F.d., Albino, L.F.T., 2014. Poultry offal meal in broiler chicken feed. *Scientia Agricola* 71, 188-194.
- Silva, F. A. M.; Borges, M. F. M.; Ferreira, M. A., 1999. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Revisão. Química nova*, 22(1).
- Silva, L.M. 2012. Avaliação de substâncias com propriedades colagógicas durante o jejum pré-abate em frangos de corte. / Leonardo Merlo da Silva. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Pelotas.
- SINDIRAÇÕES - Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. 2009. *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal*. São Paulo: Sindirações, p.204.
- Tran, Q., Hendriks, W., Van der Poel, A., 2011. Effects of drying temperature and time of a canine diet extruded with a 4 or 8mm die on physical and nutritional quality indicators. *Animal feed science and technology* 165, 258-264.
- Tucker, L.A., 2002. Botanical ingredients for petfood - the technical edge. *Feed Compounder, Petfood Supplement*, Iss. 3.

- Turek, J.J., Watkins, B.A., Schoenlein, I.A., Allen, K.G., Hayek, M.G., Aldrich, C.G., 2003. Oxidized lipid depresses canine growth, immune function, and bone formation. *The Journal of nutritional biochemistry* 14, 24-31.
- Volpato, P.M. 2014. Qualidade de rações para cães adultos, armazenadas em recipientes abertos e fechados. / Patrícia Motz Volpato. Monografia (Graduação). Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Agrárias. Florianópolis.
- Zarei, A. Mohammadi, M.; Hemmati, B., 2014. Metabolizable Energy and Chemical Composition of Poultry by - Product Meal. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4, 849-853.

## II - OBJETIVO GERAL

Objetivou-se determinar os fatores relacionados à matéria-prima *in natura*, processamento industrial e características do produto acabado que afetam a estabilidade oxidativa e a qualidade nutricional de farinha de vísceras de aves e propor estratégias para a melhoria da qualidade deste ingrediente.



### III - ESTABILIDADE OXIDATIVA E QUALIDADE NUTRICIONAL DA FARINHA DE VISCERAS DE AVES: UMA ABORDAGEM DA MATÉRIA-PRIMA AO PRODUTO ACABADO

(Animal Feed Science And Technology)

ABREVIACÕES: FVA, farinha de vísceras de aves; FSPs, fábricas de subprodutos; CP, Componentes Principais; MS, Matéria seca; MM, Matéria mineral; MO, Matéria orgânica; PB, Proteína bruta; PDI, Índice de dispersibilidade proteica; EEHA, Extrato etéreo por hidrólise ácida, PI, Período de indução; DIVMO, Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica;

## RESUMO

Estudou-se a relação entre as características da matéria-prima, do processamento industrial e do produto acabado, sob a estabilidade oxidativa e digestibilidade *in vitro* de Farinha de vísceras de aves (FVA). Para isto registrou-se dados do processamento de 100 bateladas de FVA em 04 fábricas de subprodutos (FSPs), sendo dois estabelecimentos Interligados aos frigoríficos (n=50) e dois Coletadores (n=50). Os parâmetros relacionados ao material visceral cru, ao processamento e ao produto acabado (FVA) foram considerados variáveis independentes. Nas amostras de FVA provenientes de cada batelada, determinou-se a Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e a estabilidade oxidativa que foi medida na bomba de oxigênio (Mikrolab Oxipres) para determinação do Período de indução (PI). Estas, foram consideradas variáveis dependentes para as análises estatísticas. Os dados das variáveis independentes foram submetidos à Análise Fatorial Comum (AFC) e, posteriormente, realizou-se o agrupamento por *Cluster* Hierárquico para as variáveis dependentes. Para a estabilidade oxidativa as amostras foram agrupadas em três *Clusters*, considerados de baixa ( $89,20 \pm 12,2$  min), média ( $127,02 \pm 9,7$  min) e alta ( $180 \pm 13,3$  min) estabilidade oxidativa (P=0,001). Dentro dos Componentes Principais (CP) que foram formados, o Teor de umidade (P=0,009) e atividade de água (P=0,039) da FVA foram os fatores relacionados ao produto acabado que mais impactaram na estabilidade oxidativa. Amostras com Umidade de  $24,6 \pm 12,40$  g/kg e Atividade de água de  $0,235 \pm 0,11$  apresentaram menor estabilidade oxidativa, indicando que a secagem excessiva da FVA influencia negativamente sua vida de prateleira. Além destas duas variáveis independentes, as concentrações de Antioxidantes sintéticos nas amostras de produto acabado tiveram influência direta sobre a estabilidade oxidativa (P=0,036). A Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) das amostras de FVA foram agrupada em quatro *Clusters*, estes sendo muito baixa ( $723,10 \pm 14,6$  g/kg), baixa ( $759,40 \pm 9,7$  g/kg), moderada ( $803,20 \pm 13,3$  g/kg) e alta digestibilidade ( $848,30 \pm 15,8$  g/kg). Temperaturas médias ( $100,6 \pm 2,05^\circ\text{C}$ ; P=0,022) e máximas ( $106,0 \pm 1,02^\circ\text{C}$ ; P=0,004) mais baixas de processo proporcionam maior digestibilidade da FVA. Conclui-se que a falta de controle no processamento de FVA, dificulta a padronização do produto acabado. Melhorias na qualidade da matéria-prima e no processamento industrial, em FSPs de origem animal, podem favorecer a produção de um ingrediente nutricionalmente mais adequado e com maior vida de prateleira.

**Palavras chaves:** Estabilidade oxidativa, Qualidade nutricional, Farinha de vísceras de frango, Processamento.

## OXIDATIVE STABILITY AND NUTRITIONAL QUALITY OF POULTRY BY-PRODUCT MEAL: AN APPROACH FROM THE RAW MATERIAL TO THE FINISHED PRODUCT

### ABSTRACT

The relationship between the characteristics of the raw material, the industrial processing and the finished product, the oxidative stability and the *in vitro* digestibility of poultry by-product meal (PBM) were studied. For this, data were collected on the processing of 100 batch of PBM in 04 establishments, two being interconnected to the slaughterhouses (n = 50) and two collectors (n = 50). The parameters related to raw visceral material, processing and finished product (PBM) were considered independent variables. The *in vitro* digestibility of organic matter (IVDOM) and the oxidative stability measured at the oxygen pump (Mikrolab Oxipres) were carried out to determine the induction period (IP). These were considered dependent variables for the statistical analyzes. The data of the independent variables were submitted to the Common Factor Analysis (CFA) and, later, the grouping by Hierarchical Cluster was performed for the dependent variables. For oxidative stability, the samples were grouped into three clusters, considered low ( $89.20 \pm 12.2$  min), medium ( $127.02 \pm 9.7$  min) and high ( $180 \pm 13.3$  min) oxidative stability (P = 0.001). Among the Principal Components (PC) that were formed, the Moisture Content (P = 0.009) and Water Activity (P = 0.039) of the PBM were the factors related to the finished product that most impacted the oxidative stability. Samples with moisture of  $24.6 \pm 12.40$  g.kg<sup>-1</sup> and water activity of  $0.235 \pm 0.11$  presented lower oxidative stability, indicating that the excessive drying of PBM negatively influences their shelf life. In addition to these two independent variables, the concentrations of synthetic antioxidants in the samples of finished product had a direct influence on oxidative stability (P = 0.036). The *in vitro* digestibility of organic matter (IVDOM) of the PBM samples were grouped into four clusters, being very low ( $723.10 \pm 14.6$  g.kg<sup>-1</sup>), low ( $759.40 \pm 9.7$  g.kg<sup>-1</sup>), Moderate ( $803.20 \pm 13.3$  g.kg<sup>-1</sup>) and High digestibility ( $848.30 \pm 15.8$  g.kg<sup>-1</sup>). Mean lower ( $100.6 \pm 2.05$ oC, P = 0.022) and lower ( $106.0 \pm 1.02$ oC; P = 0.004) mean higher

digestibility of PBM. In this study we verified the lack of control in the PBM processing, which makes it difficult to standardize the finished product. Improvements in raw material quality and in industrial processing in FSPs of animal origin may favor the production of a nutritionally more suitable ingredient with longer shelf life.

**Key words:** Nutritional quality; Oxidative stability; Poultry by-product meal; Processing; Rendering by-product.

## INTRODUÇÃO

Os alimentos secos extrusados para animais de companhia possuem em sua composição farinhas de origem animal (Dozier III et al., 2003; Aldrich et al., 2007; Carciofi, 2008; Kawauchi et al., 2014; Laflamme et al., 2014), como a farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de carne e ossos (FCO) e farinha de peixes (FP). Estes são ingredientes com alto valor nutricional, ricos em aminoácidos, ácidos graxos e macro e microminerais. Apesar disto, estes ingredientes, pela sua origem, são altamente susceptíveis à deterioração oxidativa e microbiana (Murray et al., 1997; Ockerman and Hansen, 1999; Jayathilakan et al., 2012; Laflamme et al., 2014).

Para evitar os processos putrefativos e oxidativos nestes ingredientes, recomenda-se que o processamento seja realizado no mínimo espaço de tempo possível após o abate e que o material seja devidamente estabilizado com aditivos para melhorar sua vida útil (Murray et al., 1997; Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Kawauchi et al., 2014). Além da qualidade do material cru (Ockerman and Hansen, 1999; Jamdar and Harikumar, 2005; Lasekan et al., 2013; Martínez-Alvarez et al., 2015), o processamento industrial deste ingrediente afeta diretamente suas características qualitativas (Awonorin et al., 1995; Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Dozier III et al., 2003; Kawauchi et al., 2014). As altas variações encontradas nas determinações da digestibilidade (Murray et al., 1997; Johnson et al., 1998; Cramer et al., 2007; de-Oliveira, et al., 2012; Rojas and Stein, 2013; Kawauchi et al., 2014), e vida de prateleira (Silva et al., 1999; Antonianssi, 2001; Turek et al., 2003; Tran et al., 2011; Lima, 2015) destes ingredientes, são reflexo do processamento de forma empírica, pela falta de conhecimento nos fatores que influenciam as características do produto acabado. Isto faz com que as farinhas de origem animal tenham baixo valor agregado, apesar de serem ricos nutricionalmente.

Estudar pontos que possam melhorar a conservação e a qualidade nutricional da FVA, e garantir um alimento mais seguro para o consumo animal, pode ser uma alternativa viável para obter melhores ganhos com os coprodutos, tanto de ordem econômica, quanto qualitativa. Desta forma, objetivou-se determinar quais os principais fatores relacionados à produção das FVA que afetam a estabilidade oxidativa e a digestibilidade *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para verificar os fatores produtivos relacionados às fábricas de subprodutos de aves (FSPs), que afetam na estabilidade oxidativa e digestibilidade da FVA, foram coletados dados de processamento e amostras de FVA de estabelecimentos 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 foi o seguinte: recepção do material cru; 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; estocagem da FVA em silos.

### *Amostragem*

Foram coletadas 100 amostras de FVA, provenientes de 04 (quatro) diferentes FSPs, sendo dois estabelecimentos definidos como Interligados (n=50 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 com as mesmas. 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 and Meisinger, 2015).



Cada amostra de FVA (n=100) foi proveniente de uma batelada de produção nas FSPs e os dados relativos ao material cru, ao processamento e a FVA foram devidamente registrados para posterior análises estatísticas. As amostras de FVA foram compostas por resíduos de abatedouro de aves, tais como: cabeças, pés, trato digestório, trato respiratório, aparelhos reprodutivos, gorduras viscerais, aparas, peles, 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 de Association of American Feed Control Officials -AAFCO (2017).

#### *Coleta e obtenção de dados*

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

Na matéria-prima crua, foram determinadas a Temperatura ambiental; Umidade relativa do ar; Temperatura do material cru; Relação entre a temperatura ambiental e do material cru; Tempo para o processamento.

Na etapa de processamento no digestor, foram aferidas a Lotação do digestor; Relação óleo: vísceras adicionadas para fritura; Temperatura média de processo; Temperatura máxima de processo e Tempo de processamento.

No produto acabado (FVA), foram determinadas as concentrações de antioxidantes sintéticos (BHA, BHT e Etoxiquin); total de antioxidante sintéticos; atividade de água (WA); umidade (UM); matéria seca (MS); matéria mineral (MM); matéria orgânica (MO); proteína bruta (PB); índice de dispersibilidade proteica (PDI); extrato etéreo por hidrólise ácida (EEHA) e digestibilidade *in vitro*. Para determinação das concentrações de antioxidante sintético, utilizou-se cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (GC-FID), segundo Yang & Choong (2002). A composição química das amostras de FVA, foi determinada seguindo as metodologias descritas por Association of the Official Analytical Chemists (AOAC, 2005). Para tal a umidade (método 930.15), matéria mineral (método 942.05), proteína bruta (método: 954.01), extrato etéreo por hidrólise ácida (método: 954.02). A análise de PDI foi realizada segundo a AOAC (método Ba 10a-05). Para a determinação da atividade de água (WA) utilizou-se de equipamento específico (Labswift-aw, Novasina, Estados Unidos). As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA-UEM).

Temperatura ambiente e umidade relativa do ar foram determinadas com termo-higrômetro digital (Termo-higrômetro 7666, Incoterm, Porto Alegre, Brasil), no recebimento das amostras e na entrada no digestor. A temperatura média do material foi determinada com termômetro digital por infravermelho (ST-700 Termômetro digital infravermelho, Incoterm, Porto Alegre, Brasil), sendo realizada em cinco diferentes pontos do material cru dentro da tolva.

O Tempo para o processamento foi considerado o intervalo (em minutos) entre o início do carregamento do material na Tolva, para os estabelecimentos Interligados e sua entrada no digestor na FSPs. Para os estabelecimentos Coletadores, este tempo foi considerado o intervalo entre o carregamento do caminhão para o transporte do material cru e a sua entrada no digestor na FSPs.

Para a determinação do 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 foram medidas pelos próprios sensores instalados nos digestores, em intervalos de 15 minutos. A Lotação do digestor foi estimada dividindo o peso do material cru que entrou no digestor pela capacidade do mesmo. A relação óleo: vísceras adicionado para fritura foi estimada pela divisão da quantidade de óleo incluída no processo e a quantidade pesada de vísceras cruas no digestor.

A estabilidade oxidativa foi determinada pela bomba de Oxigênio (Mikrolab Oxipres<sup>TM</sup>, Mikrolab Aarhus A/S, Hojbjerg, Denmark), segundo método descrito por Trojakova et al. (1999). No qual, o Período de Indução (PI) foi determinado por meio de reator, cujas amostras são inseridas em câmara selada, aquecidas a 100°C com 5 atm de oxigênio. Qualquer composto oxidável reage com o oxigênio, reduzindo a pressão deste gás na câmara. No momento em que inicia a redução exponencial da pressão no sistema, considera-se que a amostra perdeu sua estabilidade. Este tempo necessário para ocorrer este processo é denominado de PI, e é registrado pelo software do equipamento.

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.

#### *Análises estatísticas*

Os parâmetros relacionados ao material visceral cru, ao processamento e ao produto acabado (FVA) foram considerados variáveis independentes. Para estabelecer a relação entre cada variável independente com as variáveis dependentes (PI e DIVMO), os dados obtidos foram submetidos à Análise Multivariada. Primeiramente, as variáveis foram submetidas à Análise Fatorial Comum (AFC), com método de extração de Componentes Principais (CP) e rotação Varimax, Teste de Kaiser Meyer Olkin (KMO) e Teste de esfericidade de Bartlett (Lebart, 2000). Componentes com baixa carga fatorial, menor que  $|0.60|$ , foram descartados (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. Posteriormente, foi realizada uma análise de agrupamento (*Cluster* Hierárquico), para as variáveis dependentes, PI e DIVMO. Para estes procedimentos, utilizou-se o Programa *Statistical Package for Social Science* (SPSS) da IBM Corporation.

A estes grupos obtidos para PI e DIVMO pelos *Clusters* Hierárquicos, realizou-se Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo Teste de Tukey na comparação das médias, considerando 5% de probabilidade. Este procedimento foi primeiramente realizado utilizando os indicadores fatoriais obtidos pela análise de CP. Posteriormente, realizou-se o desdobramento do componentes, e utilizou-se os valores das variáveis isoladas (variáveis independentes). Para comparar a distribuição de frequência das amostras FVA dos estabelecimentos dentro de cada *Cluster* Hierárquico formado para PI e DIVMO, procedeu-se o teste do Qui-quadrado, considerando 5% de probabilidade. Para estas análises estatísticas, utilizou-se o Programa *Statistical Analysis System* (SAS).

## RESULTADOS

Na Análise multivariada, obedecendo os critérios pressupostos de carga fatorial (Lebart, 2000; Favero et al., 2009; Hair et al., 2009), obteve-se melhor arranjo com a combinação de 14 (quatorze) variáveis independentes distribuídas em 04 (quatro) Componentes Principais (CP). Umidade, Atividade de Água, Temperatura máxima de processo e Temperatura média de processo, formaram o CP, denominado Temperatura. Índice de dispersibilidade proteica (PDI), Tempo de processamento, Temperatura do material cru e Tempo para o processamento formaram o CP denominado Tempo. Total de antioxidante, BHT e Etoxiquin formaram o CP denominado Antioxidante. Por fim, a Matéria mineral (MM), Proteína bruta (PB) e Relação óleo: víscera (REOV) formaram o Componente denominado Composição. Estes quatro CP em conjunto explicam uma variância acumulada de 79,85%. Os Testes de Kaiser Meyer Olkin ( $KMO = 0,617$ ) e Teste de esfericidade de Bartlett ( $P < 0,00001$ ) apresentaram-se satisfatórios para os dados avaliados, indicando que as variáveis selecionadas na formação dos CP estão ajustadas e a Análise de Componentes Principais é aplicável ao conjunto de dados obtidos (Hair et al., 2009; Fávero et al., 2009). Os dados referentes a extração dos componentes principais estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3.

As variáveis dependentes PI e DIVMO foram ordenadas em *Clusters* Hierárquicos. Para o PI obteve-se 3 *clusters*, os quais foram denominados Baixo ( $89,20 \pm 12,2$  min), Médio ( $127,02 \pm 9,7$  min) e Alto ( $180 \pm 13,3$  min) Período de indução. Já para a DIVMO foram formados 4 *clusters*: Muito baixa ( $723,1$  g/kg), Baixa ( $759,4$  g/kg), Moderado ( $803,2$  g/kg) e Alta ( $848,3$  g/kg). 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 nas variáveis dependentes PI (Tabela 4) e DIVMO (Tabela 5).

Para PI, os componentes principais Temperatura, Antioxidantes e Composição apresentaram efeito direto e significativo sobre esta variável dependente (Tabela 4). No CP Temperatura, a Umidade ( $P=0,009$ ) e Atividades de água ( $P=0,039$ ) mais baixas apresentaram efeito negativo sobre o PI. No CP Antioxidante, as baixas concentrações de Total de Antioxidantes ( $P=0,045$ ) e de Etoxiquin ( $P=0,032$ ) influenciaram negativamente o PI.

Para a DIVMO, os componentes principais Temperatura, Tempo e Composição apresentaram influência direta sobre esta variável dependente (Tabela 5). Dentro do CP Temperatura, verificou-se que menores temperaturas médias ( $P=0,004$ ) e máximas ( $P=0,022$ ) de processo favoreceram para maior DIVMO. Quanto ao CP Tempo, o maior Tempo para o processamento proporcionou FVA com maior DIVMO ( $P=0,001$ ).

Durante a realização da Análise de *Cluster* Hierárquico, verificou-se grande variabilidade de amostras dentro e entre cada estabelecimento (Tabela 6). Essa variabilidade pode ser observada na Distribuição da Frequência entre os estabelecimentos de acordo com os *Clusters* Hierárquicos formados para as variáveis dependentes PI (Figura 1) e DIVMO (Figura 2).

Realizando teste de Qui-Quadrado, para a Distribuição de Frequência para Período de Indução (Tabela 7), não houve diferença significativa ( $P=0,0957$ ). No entanto, é observado grande número de amostras pertencentes aos grupos de baixa e médio PI. Para a Distribuição de Frequência para DIVMO (Tabela 8), houve diferença significativa ( $P=0,0024$ ). Houve porção pequena de amostras alocadas no grupo de alta digestibilidade, reforçando a importância deste estudo, sendo que outro fato importante a ser ressaltado é quanto ao grau de variação das amostras.

## DISCUSSÃO

O agrupamento das variáveis foi coerente pela Análise de Componentes Principais (ACP), de forma que foi possível agrupá-los dentro dos CPs Temperatura, Tempo, Antioxidantes e Composição, os quais são citados na literatura como importantes fatores que influenciam a qualidade das farinhas de origem animal (Awonorin et al., 1995; Murray et al., 1997; Johnson et al., 1998; Turek et al., 2003; Tucker 2004; Aldrich et al., 2007; Cramer et al., 2007; Bax, et al., 2012; Cascarosa et al., 2012; de-Oliveira et al., 2012; Silva et al., 2012; Zarei et al., 2014). É preciso verificar a concordância de cada variável dentro dos Componentes Principais ao se proceder este tipo de análise estatística (Favero et al., 2009; Hair et al., 2009).

Apesar do CP Temperatura ser formado por duas variáveis de temperatura e outras relativas à água do material (Umidade e Atividade de água), a mesma se justifica pois o processamento da matéria crua tem por finalidade a redução no teor de água, por meio de fritura, e posterior prensagem a quente. Desta forma, quanto maior a temperatura do processo, maior será a retirada de água (Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Meeker and Meisinger, 2015).

O mesmo ocorre no CP Tempo, no qual apenas duas variáveis são de tempo, Tempo de processamento e Tempo para o processamento. No entanto, está presente neste CP o Índice de dispersibilidade proteica (PDI) e Temperatura do material cru que, apesar de aparentemente fora do contexto, à medida que aumenta o Tempo para o processamento, o material cru entra em processo de natural de autólise *postmortem* e putrefação microbiana, tornando-se liquefeito, e aumenta a disponibilidade proteica do material pela liberação de peptídeos menores e aminoácidos livres (Jamdar and Harikumar, 2005). Assim há relação direta com o Tempo para o processamento e o PDI. Com relação a Temperatura do material cru, a atividade microbiana durante o processo de putrefação aumenta a temperatura do material (Jamdar and Harikumar, 2005; Lasekan et al., 2013;

Martínez-Alvarez et al., 2015). Desta forma, o agrupamento dos Componentes Principais pela análise fatorial neste estudo foi coerente e prosseguiu-se com a análise de *Cluster* Hierárquico para que fossem agrupadas as amostras em grupos por semelhança e os efeitos dos componentes principais fossem analisados (Favero et al., 2009; Hair et al., 2009).

As variáveis que fizeram parte do CP Temperatura (Umidade, Atividade de água, Temperatura média de processo e Temperatura Máxima de Processo) influenciaram tanto a estabilidade oxidativa quanto a Digestibilidade *in vitro*. A principal consequência da secagem excessiva do material foram a baixa Umidade e Atividade de Água, que apresentaram relação inversa com a estabilidade oxidativa (Hamilton, 1983). Altas temperaturas médias de processo também reduziram a DIVMO. As farinhas de vísceras são materiais orgânicos, e se apresentam com elevada susceptibilidade aos processos de auto-oxidação (Awonorin et al., 1995).

Fatores como temperatura, umidade, atividade de água, enzimas, luz e íons metálicos (pró-oxidantes) podem catalisar a formação de radicais livres e iniciar a formação de produtos primários da oxidação, os quais por sua vez, se não neutralizados por antioxidantes, perpetuam as reações auto-oxidativas no alimento, levando ao ranço (Murray et al., 1997; Tucker, 2004; Oliveira e Zanoelo, 2012; Silva et al., 2014).

A relação entre a umidade e da atividade de água com as reações de oxidação em alimentos não são lineares, mas quadráticas. Baixas umidades e atividades de água catalisam o processo de oxidação, por favorecerem a penetração de moléculas de oxigênio no alimento. Por outro lado, valores mais altos de umidade e atividade de água aceleram também o processo de oxidação, pois a maior quantidade de água nestes casos serve como um veículo importante para reações químicas, principalmente relacionado à metais catalisadores (Hamilton, 1983; Tran et al., 2011; Jones-Ibarra et al., 2017).

Apesar destas relações serem bem definidas, para FVA não se conhece ainda uma faixa ideal de Umidade e atividade de água, nas quais a sua estabilidade oxidativa seja maior. Neste estudo, todas as amostras apresentaram umidade e atividade de água muito baixas, com valores médios respectivamente de  $28,8 \pm 15,80$  g/kg e  $0,26 \pm 0,11$ . As amostras contidas no *Cluster* de Baixa estabilidade oxidativa apresentaram valores de Umidade médios de  $24,6 \pm 12,40$  g/kg e  $A_w$  de  $0,23 \pm 0,08$ , havendo indícios de que estes valores sejam críticos do ponto de vista oxidativo. Por outro lado, a estabilidade oxidativa melhorou significativamente nas amostras com valores de Umidade acima de 34,1 g/kg e Atividade de água próxima a 0,290 (Clusters de média e alta estabilidade oxidativa).

Além de retirar mais água do material, a temperatura elevada de processo leva ao superaquecimento do material (Awonorin et al., 1995; Ferroli, et al., 2000) com consequente catálise das reações de oxidação durante o processo e redução nas concentrações de antioxidantes residuais na FVA (Tucker, 2004; Laflamme et al., 2014). A redução ou ausência dos teores de antioxidantes sintéticos nas amostras é resultado, principalmente, do efeito de temperatura de processo e condição de conservação do produto acabado (Tucker, 2004; Laflamme et al., 2014).

Com relação à DIVMO, a temperatura e o tempo de processamento excessivos podem favorecer a carbonilação de proteínas com diminuição dos teores de energia metabolizável e digestibilidade aparente dos nutrientes (Awonorin et al., 1995; Ockerman and Hansen, 1999; Tran et al., 2011; Bax et al., 2012; Cascarosa et al., 2012). Não foram encontradas referências para valores de temperatura de processo, porém sugere-se com base nos dados encontrados no presente estudo 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 CP Tempo influenciou principalmente a DIVMO, apesar de ter interferido também na estabilidade oxidativa, mas de forma menos intensa. Duas variáveis foram mais importantes neste CP, que foram o Tempo para o processamento e o Tempo de processamento. Quanto ao primeiro, o processamento das vísceras cruas para compor a FVA deve ser iniciado o quanto antes. Prolongação no tempo entre a evisceração e a entrada no digestor leva à deterioração do material (Ferroli et al., 2000; Jamdar and Harikumar, 2005; Oliveira and Zanoelo, 2012; Laflamme et al., 2014).

Materiais com elevado Tempo para o processamento têm suas características alteradas pelo início de autólise e putrefação (Jamdar and Harikumar, 2005; Lasekan et al., 2013; Martínez-Alvarez et al., 2015). Essas alterações modificam o tempo de processamento em função da consistência do material e ainda podem levar a produção de produtos nocivos à saúde (Wang and Parsons, 1998; Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Meeker and Meisinger, 2015). O processo de autólise e de putrefação, quando realizado sem controle, pode elevar a susceptibilidade de desenvolvimento de microrganismos e aumento acima de níveis seguros das aminas biogênicas (Santos, 1996; Jamdar and Harikumar, 2005; Buňková et al., 2010; Lasekan et al., 2013; Alvarez and Moreno-Arribas, 2014; Martínez-Alvarez et al., 2015).

Apesar de prejudicial aos aspectos qualitativos e de segurança dos alimentos, as amostras com maior Tempo para o processamento, em função do processo de liquefação,



apresentaram maior DIVMO. Desta forma, a digestibilidade elevada da FVA não deve ser usada como um indicador qualitativo da mesma.

No início de putrefação, o material torna-se liquefeito, aumentando consideravelmente seu teor de umidade livre para o processamento (Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Jamdar and Harikumar, 2005; Lasekan et al., 2013). Como consequência, o alto teor de umidade no material visceral a ser processado demandará maior tempo de processamento, levando ao atraso na produção ou superaquecimento do material, decorrente da maior injeção de vapor para compensar o maior tempo requerido de processo. A exposição prolongada do material às altas temperaturas pode levar a danos oxidativos da amostra e perdas significativas de antioxidantes, comprometendo sua estabilidade oxidativa (Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Tucker, 2004; Jamdar and Harikumar, 2005; Oliveira and Zanoelo, 2012; Lasekan et al., 2013; Martínez-Alvarez et al., 2015). Apesar disto, o Tempo para o processamento neste estudo teve pouca influência sobre a estabilidade oxidativa das amostras, as quais foram principalmente influenciadas pela temperatura e concentrações de antioxidantes.

O Componente principal Antioxidante, teve maior influência na estabilidade oxidativa de FVA. A estabilidade oxidativa é um parâmetro para avaliação de qualidade nutricional de um produto e reflete as condições a que foi submetido o produto durante o processamento e estocagem (Hamilton, 1983; Turek et al., 2003; Tucker, 2004; Santé-Lhoutellier et al., 2008; Laflamme et al., 2014). A utilização dos antioxidantes previne a formação de produtos primários e secundários da oxidação, preservando desta maneira as características nutricionais e organolépticas dos alimentos (Turek et al., 2003; Tucker, 2004; Laflamme et al., 2014). Todas as FSPs neste estudo, utilizavam antioxidantes sintéticos BHA, BHT e Etoxiquin. As concentrações de antioxidantes tiveram relação com a estabilidade oxidativa das amostras. As amostras com  $238 \pm 41,53$  mg/kg de Total de antioxidantes apresentaram-se no *Cluster* de Baixa estabilidade oxidativa. Apesar do Etoxiquin ter apresentado boa influência na estabilidade oxidativa das amostras, é importante lembrar que este antioxidante ainda é permitido no Brasil, mas foi banido pela Comunidade Europeia (Regulamento UE, 2017/962). Segundo o FDA (2017), os níveis máximos de Etoxiquin em alimentos para animais de companhia, não devem ultrapassar os 150 ppm.

Quanto ao CP Composição, a variabilidade da composição das FVA, é dependente dos materiais constituintes e da quantidade dos mesmos. Cada um desses constituintes

apresenta características e composição química distintas em gordura, proteína e matéria mineral, afetando diretamente a composição química final das FVA e, conseqüentemente, os teores de energia metabolizável e digestibilidade aparente dos nutrientes (Johnson and Parsons, 1997; Johnson et al., 1998; Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Rivera, et al., 2000; Dozier III et al., 2003; Aldrich et al., 2007; Rojas and Stein, 2013; Kawauchi et al., 2014; Zarei et al., 2014). A diferente proporção de tecidos e partes animais, aliada a não padronização das cargas ou lotes, assim como a variação individual de percepção do operador ao ponto ideal de fritura, afetam de forma considerável a qualidade e a digestibilidade das farinhas de vísceras de aves (Rivera, et al., 2000; Ferroli et al., 2000; Cramer et al., 2007; Carciofi, 2008; da Silva et al., 2012; Kawauchi et al., 2014; Laflamme et al., 2014; Silva et al., 2014; Zarei et al., 2014).

O emprego desses materiais supracitados e a não padronização dos mesmos faz com que haja variabilidade de material entre ciclos de bateladas (Ferroli et al., 2000). Este efeito de variação da composição química entre batelada pode ser diminuído no processo de armazenamento final do produto acabado ou pela padronização de lotes finais, através de mistura de diversas bateladas. Como no presente estudo foram coletadas amostras referentes a cada ciclo de processamento, a variação da composição das amostras apresentou-se mais evidente.

Dentre os principais aspectos que afetam a digestibilidade das FVA, pode-se citar que principalmente os relacionados diretamente à característica do ingrediente como a composição química, o processamento e a presença de contaminantes são aspectos que alteram os coeficientes de digestibilidade (Carciofi, 2008; Kawauchi et al., 2014; Laflamme et al., 2014; Zarei et al., 2014)

A utilização de óleo de frango para o processo de fritura do material cru é uma medida adotada em muitos estabelecimentos. Seu uso tem como objetivo principal o processo de fritura inicial. Materiais constituintes que apresentam baixo teor de umidade inicial, e o não uso de óleo para o processamento, ocasionará a queima do material dentro do digestor (Johnson and Parsons, 1997; Johnson et al., 1998; Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000). Obviamente, se ocorrer uma carbonização do material, haverá a complexação de aminoácidos, que terão a digestibilidade reduzida. Por outro lado, quando o teor de umidade inicial é grande, pode ocorrer o cozimento do material, tornado o produto pastoso e de difícil manipulação, o que demandará maior tempo de processamento, levando ao desgaste do digestor e superprocessamento. Além disso, o conteúdo final pode apresentar atividade de água que possibilite o desenvolvimento de

microrganismos nas farinhas (Sun-Waterhouse et al., 2014). Em estudo anterior, Ferroli et al. (2000), haviam feito tal consideração, de que o não uso de óleo, ou baixa quantidade desse no momento do início do processamento, resultaria em superaquecimento, e fritura imediata do material. Com base nos dados obtidos, pode-se sugerir que a utilização 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).

Neste estudo houve alta variabilidade dos dados analisados entre os estabelecimentos e também entre as amostras de cada estabelecimento. Esta falta de padronização do material e processos industriais nas FSPs influenciou diretamente a vida de prateleira e valor nutricional das amostras. Embora sejam bem definidas as partes que compõem a FVA (AAFCO, 2017), o fluxo de descarte do material não é constante e homogêneo nos frigoríficos. Ainda que as farinhas de origem animal apresentem bom valor nutricional, a variabilidade em termos de qualidade nutricional, riscos microbiológicos e vida de prateleira, limitam sua utilização nas formulações de rações (Murray, et al., 1997; Aldrich, et al.; 2007). Conhecer os fatores que afetam esta variação qualitativa na FVA e propor estratégias industriais para tornar o processo e o produto acabado mais padronizados é importante para agregar valor a este ingrediente.

Na rotina das FSPs, a variação na composição química das farinhas de origem animal ocorre pela variação dos materiais constituintes, ao fluxo de chegada de material cru nos silos armazenadores; a falta de padronização no processo industrial, equipamentos em más condições de processo e falta de capacitação humana (Johnson and Parsons, 1997; Johnson et al., 1998; Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000).

O primeiro fator que deve ter contribuído com a variação encontrada neste estudo na composição química das amostras de FVA, estabilidade oxidativa e digestibilidade foi o fluxo de chegada de material ao silo de espera pré-processamento. No caso dos estabelecimentos Interligados, quando as FSPs não tem material acumulado nos silos pré-processamento, a quantidade de cada material constituinte a perfazer uma nova batelada é diretamente influenciada pelo fluxo de chegada do material cru. Isto ocorre geralmente nas trocas de turno nos frigoríficos ou quando ocorre redução do número de frangos abatidos. Nos estabelecimentos Coletadores, as principais causas de variação do material cru são a presença de resíduo de carne mecanicamente separada descartada dos frigoríficos eventualmente, pela origem das aves (Peru ou Frango de corte), pelas diferentes origens dos materiais a serem processados (provenientes de mais de um

abatedouro) ou ainda pelo tempo entre o abate e o processamento (Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000).

Outra situação comum de ocorrer em FSPs, que influencia ambos estabelecimentos Interligados ou Coletadores é o atraso na produção, que resulta em acúmulo de material cru. Neste caso, o processamento das cargas passa a ser sequencial sem redução na temperatura dos digestores entre as cargas. Este tempo ocioso “zero” do equipamento não permite o resfriamento do digestor antes de próxima carga e, conseqüentemente, os primeiros materiais que adentram o digestor superaquecido tocam as paredes internas do mesmo e fritam instantaneamente, promovendo um processamento desuniforme do material. Esse problema devido ao acúmulo de material a ser processado, acaba por negligenciar o tempo do equipamento e ainda acelerar o processamento (Ferroli et al., 2000). Geralmente, aumenta-se a carga de vapor levando ao cozimento heterogêneo de todo o material, sendo um ponto crítico de contaminação, além de afetar a qualidade nutricional (Awonorin, et al., 1995; Ferroli et al., 2000).

Além das características do material cru e fluxo nos digestores, diferentes equipamentos e a falta de manutenção dos mesmos, ou variação no emprego de energia térmica (vapor) aos equipamentos, poderia alterar a qualidade da FVA (Ferroli et al., 2000). Este fato foi constatado no presente estudo. As principais variações foram encontradas na linha de vapor dos estabelecimentos e problemas de ajustes e manutenção das prensas, os quais contribuíram diretamente não apenas na composição química, mas na digestibilidade e estabilidade oxidativa do material.

É possível observar que independentemente do local de origem, todos os estabelecimentos possuem amostras em todos os grupos (Figura 1 e 2). Apesar do teste de Qui-quadrado, não ter apresentado valor significativo ( $P=0,0957$ ), para Distribuição da Frequência das amostras de FVA, para Período de indução, observa-se que o problema de estabilidade oxidativa é comum nas unidades produtoras. Problemas com a variabilidade de equipamentos; o fator humano; falta de padronização de operações; problemas de aplicação de antioxidantes; dentre outros, podem explicar o comportamento das amostras FVA. Se observar em conjunto os dados apresentados na Tabela 06, em que foram avaliadas as médias das variáveis independentes obtidas por estabelecimento, é possível inferir que há grande variabilidade entre estabelecimentos. Até dentro do mesmo estabelecimento foi possível observar discrepância de resultados, o que corrobora os dados obtidos de estudos realizados (Ferroli et al., 2000).

Confirmando os resultados obtidos na Análise multivariada, observa-se que as baixas umidades (UM), atividade de água (WA), e baixos valores de antioxidantes, contribuíram para que um bom número de amostras ficasse alocadas no grupo de Baixo PI. Outro aspecto importante observado foi que uma proporção muito baixa de amostras ficou alocada no grupo de Alto PI, justificando os estudos da presente pesquisa e abrindo ainda mais possibilidades de estudo, para aumento da estabilidade oxidativa em FVA.

A distribuição de frequências das amostras por estabelecimento para DIVMO estão apresentadas na Figura 2, no qual houve diferença para teste Qui-Quadrado ( $P=0,0024$ ). Observa-se que maiores concentrações das amostras de FVA ficaram alocadas nos grupos de Baixa e Moderada Digestibilidade. Pode-se observar que o Coletador 01 não teve amostras alocadas no grupo de Muito Baixa DIVMO, entretanto, boa parte de suas amostras ficaram alocadas no grupo de Moderada Digestibilidade. Este obteve um padrão mais consistente de amostras, com pouca disparidade de valores, possivelmente pela característica do material (autólise) a ser processado devido aos maiores tempos para processamento (Tabela 6). Observou-se que uma porção pequena de amostras ficaram alocadas no grupo de alta digestibilidade, reforçando a importância do estudo e melhoras desses coeficientes.

Todos os fatores supracitados, dentro de cada componente principal, ainda estão sujeitos ao fator humano. A falta de padronização entre cargas (bateladas de digestor) leva a condições variadas de lotação de digestor, tempo de processamento e ponto de material final (Ferroli et al., 2000). Alguns dos estabelecimentos observados padronizam o carregamento por tempo. Ou seja, calcula-se a quantidade de material que passa pelas roscas alimentadoras por um período de tempo e adota-se um padrão para cada digestor. No entanto, alguns operadores não respeitam os tempos, e nem as quantidades de material. Dessa forma, há variação grande de lotação de digestor, afetando diretamente o tempo de processamento (Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000).

Outro fato relacionado ao fator humano e relacionado ao carregamento de digestor, está no fato de que o colaborador que realiza o carregamento do digestor não é o mesmo operador que controla as cargas do digestor (processamento), e não havendo uma comunicação clara entres os mesmos, poderão ocorrer alterações na percepção de ponto final de processamento da FVA. Ferroli et al. (2000) haviam comentado que um dos grandes gargalos do fator humano seria a falta de padronização de cargas e treinamento (conscientização de processamento). Este fato foi observado durante a coleta nos estabelecimentos. Ainda no que diz respeito ao fator humano e relacionado à percepção

de ponto final da FVA, observou-se igualmente ao citado anteriormente que a qualidade do material a ser processado, a quantidade de umidade do material e o carregamento sequencial influenciaram na determinação de ponto ideal de fritura. Outro aspecto interligado a estes foi o carregamento parcial de digestores. Com o processamento “*just time*”, sem atrasos ou acúmulo de material no silo pré-processamento, observou-se que alguns colaboradores realizavam carregamentos parciais de digestores. Este material entra em contato com o digestor aquecido do processo anterior e permaneceu mais tempo em processo, levando a um material superprocessado.

Uma farinha de víscera que tenha sido superprocessada (carbonizada) e que apresente aspectos de queimada terá sua energia metabolizável e a digestibilidade aparente dos nutrientes afetadas, principalmente pela desnaturação das proteínas e reações de Maillard (Wang and Parsons, 1998; Sun-Waterhouse et al., 2014; Zarei et al., 2014). Da mesma forma, o não cozimento adequado pode levar ao surgimento e proliferação de microrganismos (*Salmonella* e *Clostridium*) que foram resistentes ao processo de fritura. Essa contaminação poderá promover diminuição da digestibilidade, pelas consequências causadas por estes microrganismos (Jones-Ibarra et al., 2017).

Com relação aos efeitos de percepção humana (indivíduo), que tenham contribuído para variação da composição química das FVA, pode-se referir a percepção de ponto final de processamento. A qualidade do material a ser processado e a não padronização de processamento levam ao efeito indivíduo. Cada colaborador pode ter percepções diferentes de ponto de material e com isso alterar o tempo de processamento do material, conseqüentemente alterando sua qualidade e composição química.

## CONCLUSÃO

A estabilidade oxidativa e a digestibilidade são altamente variáveis em amostras comerciais de FVA, como reflexo da falta de padronização da matéria crua que entra no processamento e também dos fatores relacionados ao processo industrial. A estabilidade oxidativa é principalmente influenciada pela secagem excessiva do material ou superaquecimento e ainda pelas concentrações de antioxidantes residuais nas amostras. Por outro lado, a digestibilidade sofre influência do tempo de espera do material cru para o processamento e das temperaturas implementadas no processo industrial.

Tabela 1. Total de variância explicado e definição do número de componentes principais

Componentes <sup>1</sup>	Total	% de Variância	Cumulativo (%)
1	3,918	27,99	27,987
2	2,954	21,10	49,091
3	2,453	17,52	66,610
4	1,854	13,25	79,854
5	0,655	4,679	84,533
6	0,627	4,476	89,010
7	0,476	3,400	92,410
8	0,320	2,287	94,697
9	0,278	1,984	96,682
10	0,170	1,213	97,895
11	0,149	1,063	98,958
12	0,063	0,452	99,410
13	0,048	0,342	99,752
14	0,035	0,248	100,00

1 – Método de Extração – Análise de Componentes Principais

Tabela 2. Teste de Kaiser Meyer Olkin (KMO) e Bartlett

Medida de Adequação de Amostragem (KMO)		0,617
	Aproximação Chi-Square	1208,534
Teste de Esfericidade de Bartlett	Graus de liberdade	91
	Significância	<0,00001

Tabela 3. Quadro com os componentes principais rotacionados, em ordem crescente.

Variáveis <sup>1</sup>	Componentes Principais <sup>2</sup>			
	Temperatura	Tempo	Antioxidante	Composição
Umidade	0,890	0,125	0,148	0,062
Atividade de água	0,873	0,191	0,011	0,132
Temperatura máxima de processo	-0,772	0,041	-0,219	-0,088
Temperatura média de processo	-0,722	0,379	-0,118	-0,148
Índice de dispersibilidade proteica	-0,219	0,809	0,082	-0,150
Tempo de processamento	-0,152	-0,770	-0,082	-0,223
Temperatura do material cru	0,178	0,717	-0,172	-0,259
Tempo para o processamento	-0,519	0,660	0,100	0,334
Total de Antioxidantes	0,201	-0,041	0,955	-0,070
Etoxiquin	0,246	-0,160	0,872	0,005
BHT	-0,030	0,264	0,862	0,024
Matéria Mineral	0,079	-0,078	-0,067	0,954
Proteína Bruta	-0,103	0,059	-0,001	-0,942
Relação Óleo: víscera	0,347	0,540	0,048	0,663

1. Variáveis independentes

2. Componentes principais formados pela Análise Fatorial Comum (AFC)

1 Tabela 4. Valores de Período de Indução (PI) após agrupamento para os Indicadores  
 2 Fatoriais dos Componentes Principais e das Variáveis independentes que compõem cada  
 3 Componente Principal (P<0.05)

Parâmetro	Grupos <sup>1</sup>			Global (n=94)	EPM <sup>2</sup>	P valor
	Baixo (n=50)	Médio (n=34)	Alto (n=10)			
Período de indução, min	89,20 <sup>C</sup>	127,06 <sup>B</sup>	180,00 <sup>A</sup>	112,55	3,24	0,001
Componentes <sup>3</sup>	Grupos <sup>1</sup>			Global (n=94)	EPM <sup>2</sup>	P valor
	Baixo (n=50)	Médio (n=34)	Alto (n=10)			
Temperatura	-0,210 <sup>B</sup>	0,298 <sup>A</sup>	0,297 <sup>A</sup>	0,028	0,100	0,037
Umidade, g/kg	24,6 <sup>B</sup>	34,1 <sup>A</sup>	34,4 <sup>A</sup>	29,1	1,58	0,009
Atividade de água	0,235 <sup>B</sup>	0,293 <sup>A</sup>	0,290 <sup>A</sup>	0,262	0,01	0,039
Temperatura máxima de processo, °C	114,43	109,66	110,94	112,33	1,02	0,086
Temperatura média de processo, °C	103,33	101,71	100,65	102,46	0,48	0,123
Tempo	0,123	-0,241	0,211	0,001	0,100	0,203
Índice de dispersibilidade proteica, g/kg	211,0	185,2	191,0	199,6	5,17	0,056
Tempo de processamento, min	115,96	111,24	102,70	112,84	3,73	0,546
Temperatura do material cru, °C	27,73	25,75	28,65	27,11	0,44	0,056
Tempo para o processamento, min	457,84	310,00	551,10	414,29	30,28	0,122
Antioxidante	-0,153 <sup>B</sup>	0,147 <sup>A</sup>	0,149 <sup>A</sup>	-0,012	0,100	0,036
Total de Antioxidantes, g/kg	0,238 <sup>B</sup>	0,502 <sup>A</sup>	0,477 <sup>A</sup>	0,359	0,06	0,045
Etoxiquin, g/kg	0,107 <sup>B</sup>	0,309 <sup>A</sup>	0,313 <sup>A</sup>	0,202	0,04	0,032
BHT, g/kg	0,084	0,083	0,111	0,086	0,02	0,923
Composição	-0,328 <sup>B</sup>	0,178 <sup>A</sup>	0,463 <sup>A</sup>	-0,061	0,100	0,013
Matéria Mineral, g/kg	140,3 <sup>B</sup>	173,9 <sup>A</sup>	195,0 <sup>A</sup>	158,3	6,63	0,009
Proteína Bruta, g/kg	683,1 <sup>A</sup>	645,3 <sup>B</sup>	638,4 <sup>B</sup>	664,7	6,06	0,004
Relação Óleo: víscera, g/kg	92,0	101,0	157,5	105,5	9,55	0,116

4 1. Classificação de grupos conforme Período de indução (PI);

5 2. Erro Padrão Médio

6 3. Componentes principais

7 4. Médias seguidas de letras maiúscula diferentes na linha, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.



8 Tabela 5. Valores de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) após agrupamento para os Indicadores Fatoriais dos Componentes  
9 Principais e das Variáveis independentes que compõem cada Componente Principal (P<0.05)

Parâmetro	Grupos <sup>1</sup>				Global (n=98)	EPM <sup>2</sup>	P valor
	Muito Baixa (n=12)	Baixa (n=30)	Moderado (n=38)	Alta (n=18)			
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica, g/kg	723,1 <sup>D</sup>	759,4 <sup>C</sup>	803,2 <sup>B</sup>	848,3 <sup>A</sup>	788,3	4,17	0,001
Componentes <sup>3</sup>	Grupos <sup>1</sup>				Global (n=98)	EPM <sup>2</sup>	P valor
	Muito Baixa (n=12)	Baixa (n=30)	Moderado (n=38)	Alta (n=18)			
Temperatura	-0,331	0,177	-0,291	0,362	-0,033	0,100	0,043
Umidade, g/kg	21,7	30,3	25,9	34,5	28,3	1,56	0,087
Atividade de água	0,230	0,268	0,242	0,285	0,260	0,01	0,419
Temperatura máxima de processo, °C	117,48 <sup>A</sup>	112,28 <sup>A</sup>	114,90 <sup>A</sup>	105,99 <sup>B</sup>	112,78	1,02	0,004
Temperatura média de processo, °C	102,88 <sup>A</sup>	101,66 <sup>A</sup>	104,28 <sup>A</sup>	100,63 <sup>B</sup>	102,63	0,47	0,022
Tempo	-0,548 <sup>B</sup>	-0,294 <sup>B</sup>	0,416 <sup>A</sup>	0,022 <sup>AB</sup>	0,008	0,100	0,004
Índice de dispersibilidade proteica, g/kg	175,7	191,1	216,0	197,4	200,0	5,10	0,054
Tempo de processamento, min	126,58	123,03	101,37	107,78	112,27	3,58	0,033
Temperatura do material cru, °C	25,77	25,87	28,24	27,32	27,04	0,45	0,120
Tempo para o processamento, min	305,17 <sup>B</sup>	255,90 <sup>B</sup>	637,50 <sup>A</sup>	409,83 <sup>AB</sup>	438,17	40,79	0,001
Antioxidante	-0,034	-0,169	0,050	0,196	-0,001	0,100	0,660
Total de Antioxidantes, g/kg	0,342	0,308	0,357	0,457	0,359	0,06	0,871
Etoxiquin, g/kg	0,217	0,156	0,213	0,262	0,205	0,04	0,829
BHT, g/kg	0,052	0,042	0,096	0,160	0,086	0,02	0,212
Composição	-0,464 <sup>B</sup>	-0,642 <sup>C</sup>	0,179 <sup>B</sup>	0,800 <sup>A</sup>	-0,037	0,100	0,001
Matéria Mineral, g/kg	128,7 <sup>C</sup>	122,1 <sup>C</sup>	168,7 <sup>B</sup>	220,3 <sup>A</sup>	159,0	6,30	0,001
Proteína Bruta, g/kg	680,5 <sup>A</sup>	703,8 <sup>A</sup>	653,4 <sup>AB</sup>	607,9 <sup>B</sup>	663,8	5,77	0,001
Relação Óleo: víscera, g/kg	28,3 <sup>B</sup>	67,9 <sup>B</sup>	131,3 <sup>A</sup>	161,4 <sup>A</sup>	104,8	8,95	0,001

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

11 2. Erro Padrão Médio

12 3. Componentes principais

13 4. Médias seguidas de letras maiúscula diferentes na linha, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.

14

15

16 Tabela 6. Composição química das FVA expressos em base de Matéria Seca e variáveis pertencentes aos Componentes Principais avaliados por  
17 estabelecimento.

Variáveis	Estabelecimento				Global (n=100)	EPM <sup>4</sup>	P valor
	Interligado 01 (n=25)	Interligado 02 (n=25)	Coletador 01 (n=25)	Coletador 02 (n=25)			
Umidade, g/kg	41,7 <sup>A</sup>	34,9 <sup>AB</sup>	28,9 <sup>B</sup>	9,6 <sup>C</sup>	28,8	1,56	0,001
Atividade de água	0,293 <sup>A</sup>	0,331 <sup>A</sup>	0,272 <sup>A</sup>	0,145 <sup>B</sup>	0,260	0,01	0,001
Matéria mineral, g/kg	162,7 <sup>AB</sup>	125,2 <sup>B</sup>	169,3 <sup>AB</sup>	189,5 <sup>A</sup>	161,7	6,45	0,004
Matéria orgânica, g/kg	795,6	839,9	801,9	800,9	809,5	6,78	0,077
Proteína bruta, g/kg	663,9	679,8	665,5	636,1	661,3	5,93	0,066
Extrato etéreo por hidrólise ácida, g/kg	122,9 <sup>AB</sup>	103,7 <sup>C</sup>	108,2 <sup>BC</sup>	135,8 <sup>A</sup>	117,6	2,36	0,001
Índice de dispersibilidade proteica, g/kg	166,6 <sup>C</sup>	202,4 <sup>B</sup>	254,1 <sup>A</sup>	174,0 <sup>C</sup>	199,3	5,02	0,001
Temperatura máxima de processo, °C	103,92 <sup>C</sup>	109,55 <sup>BC</sup>	114,00 <sup>B</sup>	122,50 <sup>A</sup>	112,49	1,02	0,001
Temperatura média de processo, °C	100,07 <sup>B</sup>	99,67 <sup>B</sup>	105,73 <sup>A</sup>	104,48 <sup>A</sup>	102,49	0,48	0,001
Tempo de processamento, min	117,04 <sup>B</sup>	125,24 <sup>AB</sup>	68,72 <sup>C</sup>	137,80 <sup>A</sup>	112,20	3,52	0,001
Temperatura do material cru, °C	24,74 <sup>C</sup>	28,77 <sup>B</sup>	31,53 <sup>A</sup>	23,02 <sup>C</sup>	27,01	0,45	0,001
Tempo para o processamento, min	164,80 <sup>C</sup>	126,52 <sup>C</sup>	855,36 <sup>A</sup>	584,96 <sup>B</sup>	432,91	40,14	0,001
Total de Antioxidantes, g/kg	0,762 <sup>A</sup>	0,277 <sup>B</sup>	0,302 <sup>B</sup>	0,107 <sup>B</sup>	0,362	0,06	0,001
Etoxiquin, g/kg	0,473 <sup>A</sup>	0,190 <sup>B</sup>	0,094 <sup>B</sup>	0,079 <sup>B</sup>	0,209	0,04	0,001
BHT, g/kg	0,134 <sup>AB</sup>	0,012 <sup>B</sup>	0,175 <sup>A</sup>	0,022 <sup>B</sup>	0,085	0,02	0,003
Relação Óleo: víscera, %	9,54 <sup>B</sup>	7,04 <sup>B</sup>	19,79 <sup>A</sup>	6,63 <sup>B</sup>	10,75	0,92	0,001
Período de indução, min	135,20 <sup>A</sup>	115,20 <sup>AB</sup>	109,60 <sup>AB</sup>	97,60 <sup>B</sup>	114,40	4,94	0,053
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica, g/kg	800,5	779,5	802,5	779,2	790,4	4,36	0,087

18 1. Erro Padrão Médio

19 2. Médias seguidas de letras diferentes na linha, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.

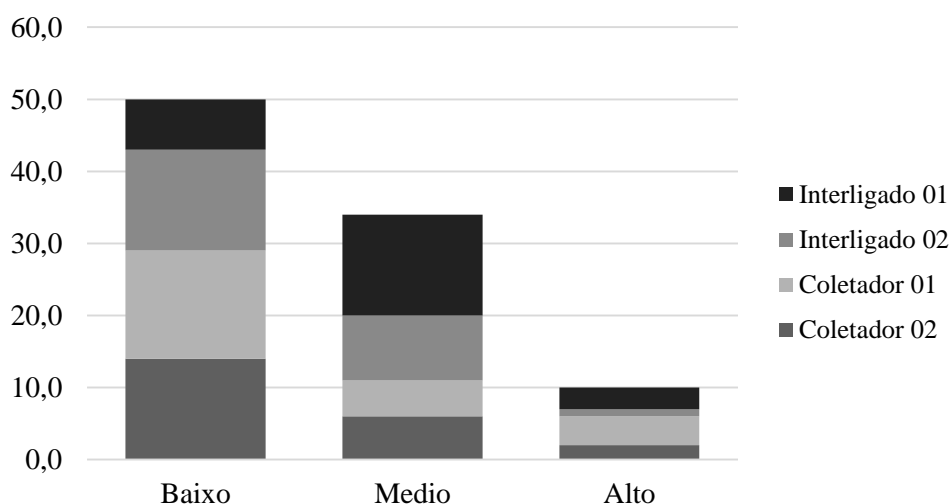


Figura 1. Gráfico de distribuição percentual de amostras (n=94) por estabelecimento relacionado ao agrupamento para Período de indução.

Tabela 7. Tabela com teste Qui-Quadrado, para Distribuição de frequência das amostras de farinhas de vísceras de aves alocadas segundo agrupamento por Período de Indução.

Local	Período de indução			Total
	Baixo	Médio	Alto	
Interligado 01	7 (7,45)	14 (14,89)	3 (3,19)	24 (25,53)
Interligado 02	14 (14,89)	9 (9,57)	1 (1,06)	24 (25,53)
Coletor 01	14 (14,89)	6 (6,38)	2 (2,13)	22 (23,40)
Coletor 02	15 (15,96)	5 (5,32)	4 (4,26)	24 (25,53)
Total	50 (53,19)	34 (36,17)	10 (10,64)	94 (100)
Estatística	DF	Valor	P-valor	
Qui-Quadrado	6	10,7715	0,0957	

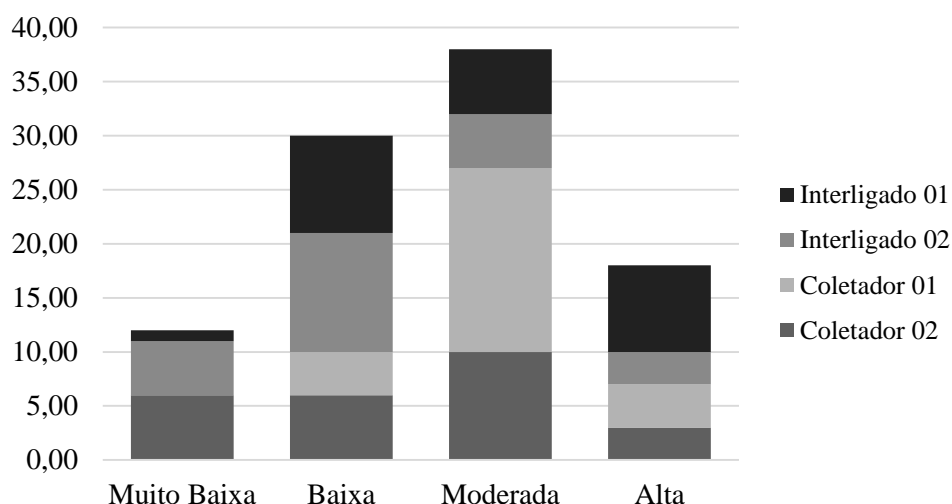


Figura 2. Gráfico de distribuição percentual de amostras (n=98) por estabelecimento relacionado ao agrupamento para Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica.

Tabela 8. Tabela com teste Qui-Quadrado, para Distribuição de frequência das amostras de farinhas de vísceras de aves alocadas segundo agrupamento por Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica.

Local	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica				Total
	Muito Baixa	Baixa	Moderada	Alta	
Interligado 01	1 (1,02)	9 (9,18)	6 (6,12)	8 (8,16)	24 (24,49)
Interligado 02	5 (5,10)	11 (11,22)	5 (5,10)	3 (3,06)	24 (24,49)
Coletor 01	0 (0,00)	4 (4,08)	17 (17,35)	4 (4,08)	25 (25,51)
Coletor 02	6 (6,12)	6 (6,12)	10 (10,20)	3 (3,06)	25 (25,51)
Total	12 (12,24)	30 (30,61)	38 (38,78)	18 (18,37)	98 (100)
Estatística	DF	Valor	P-valor		
Qui-Quadrado	9	25,5842	0,0024		

## LITERATURA CITADA

- AAFCO. 2017. Official Publication. Association of American Feed Control Officials.
- Aldrich, G., Lyons, T., Jacques, K., 2007. USA poultry meal: quality issues and concerns in pet foods. *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries* 467.
- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis AOAC. 18th ed. . AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Awonorin, S., Ayoade, J., Bamiro, F., Oyewole, L., 1995. Relationship of rendering process temperature and time to selected quality parameters of poultry by-product meal. *LWT-Food Science and Technology* 28, 129-134.
- Bax, M.-L., Aubry, L., Ferreira, C., Daudin, J.-D., Gatellier, P., Rémond, D., Santé-Lhoutellier, V.r., 2012. Cooking temperature is a key determinant of in vitro meat protein digestion rate: investigation of underlying mechanisms. *Journal of agricultural and food chemistry* 60, 2569-2576.
- Carciofi, A.C., 2008. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37, 28-41.
- Cascarosa, E., Gea, G., Arauzo, J., 2012. Thermochemical processing of meat and bone meal: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16, 942-957.
- COMISSÃO EUROPEIA. Regulamento de execução (UE) nº 2017/962, de 7 de junho de 2017, que suspende a autorização da etoxiquina como aditivo em alimentos para animais de todas as espécies e categorias. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32017R0962>
- Cramer, K.R., Greenwood, M.W., Moritz, J.S., Beyer, R.S., Parsons, C.M., 2007. Protein quality of various raw and rendered by-product meals commonly incorporated into companion animal diets. *Journal of animal science* 85, 3285-3293.
- da Silva, E., Rabello, C., de Lima, M., de Arruda, E., Ludke, J., Ludke, M., 2012. Determination of the chemical composition, amino acid levels and energy values of different poultry offal meals for broilers. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 14, 97-107.
- de-Oliveira, L., de Carvalho Picinato, M., Kawauchi, I., Sakomura, N., Carciofi, A., 2012. 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* 96, 1136-1146.
- Dozier III, W., Dale, N., Dove, C., 2003. Nutrient composition of feed-grade and pet-food-grade poultry by-product meal. *Journal of applied poultry research* 12, 526-530.
- Favero, L.P., Belfiore, P., Silva, F.L., Chan, B.L., 2009. Análise de dados: Modelagem multivariada para tomada de decisões. ELSEVIER EDITORA.
- FDA - U.S. Food and Drugs Administration, 2017. CFR-code of federal regulations title 21, Food additives permitted in feed and drinking water of animals, 6.
- Ferrolli, P.C.M., Fiod Neto, M., Casarotto Filho, N., Castro, J.E.E., 2000. Fábricas de subprodutos de origem animal: a importância do balanceamento das cargas dos digestores de vísceras. *Production* 10, 05-20.
- Hair, J.F., Black, W.C., Babin, B.J., Anderson, R.E., Tatham, R.L., 2009. Análise multivariada de dados - 6ed. Bookman.
- Hamilton, R.J., 1983. chemistry of rancidity in foods. Rancidity in foods/edited by JC Allen and RJ Hamilton.
- Hervera, M., Baucells, M.D., Blanch, F., Castrillo, C., 2007. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 91, 205-209.

- Jamdar, S., Harikumar, P., 2005. Autolytic degradation of chicken intestinal proteins. *Bioresource technology* 96, 1276-1284.
- Jayathilakan, K., Sultana, K., Radhakrishna, K., Bawa, A.S., 2012. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *Journal of food science and technology* 49, 278-293.
- Johnson, M.L., Parsons, C.M., 1997. 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* 76, 1722-1727.
- Johnson, M.L., Parsons, C.M., Fahey, G.C., Jr., Merchen, N.R., Aldrich, C.G., 1998. 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 of animal science* 76, 1112-1122.
- Jones-Ibarra, A.M., Acuff, G.R., Alvarado, C.Z., Taylor, T.M., 2017. Validation of Thermal Lethality against *Salmonella enterica* in Poultry Offal during Rendering. *Journal of food protection* 80, 1422-1428.
- 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., 2014. Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. *Journal of nutritional science* 3, e36.
- Laflamme, D., Izquierdo, O., Eirmann, L., Binder, S., 2014. Myths and misperceptions about ingredients used in commercial pet foods. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 44, 689-698.
- Lasekan, A., Abu Bakar, F., Hashim, D., 2013. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. *Waste management* 33, 552-565.
- Lebart, L., 2000. Contiguity analysis and classification. In: *Data Analysis*. Berlin: Springer. , 233-244.
- Martínez-Alvarez, O., Chamorro, S., Brenes, A., 2015. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. *Food Research International* 73, 204-212.
- Meeker, D.L., Meisinger, J.L., 2015. COMPANION ANIMALS SYMPOSIUM: Rendered ingredients significantly influence sustainability, quality, and safety of pet food1. *Journal of animal science* 93, 835-847.
- 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 of animal science* 75, 2497-2505.
- Ockerman, H.W., Hansen, C.L., 1999. *Animal by-product processing & utilization*. CRC Press.
- Oliveira, G.A., Zanoelo, E.F., 2012. Thermophysical properties of hydrolyzed by-products from the meat industry. *Journal of Food Process Engineering* 35, 930-939.
- Rivera, J.A., Sebranek, J.G., Rust, R.E., Tabatabai, L.B., 2000. Composition and protein fractions of different meat by-products used for petfood compared with mechanically separated chicken (MSC). *Meat science* 55, 53-59.
- Rojas, O.J., Stein, H.H., 2013. Concentration of digestible and metabolizable energy and digestibility of amino acids in chicken meal, poultry byproduct meal, hydrolyzed porcine intestines, a spent hen-soybean meal mixture, and conventional soybean meal fed to weanling pigs. *Journal of animal science* 91, 3220-3230.
- Santé-Lhoutellier, V., Astruc, T., Marinova, P., Greve, E., Gatellier, P., 2008. Effect of meat cooking on physicochemical state and in vitro digestibility of myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 1488-1494.

- Silva, E.P.d., Rabello, C.B.-V., Lima, M.B.d., Ludke, J.V., Arruda, E.M.F.d., Albino, L.F.T., 2014. Poultry offal meal in broiler chicken feed. *Scientia Agricola* 71, 188-194.
- Sun-Waterhouse, D., Zhao, M., Waterhouse, G.I., 2014. Protein modification during ingredient preparation and food processing: approaches to improve food processability and nutrition. *Food and Bioprocess Technology* 7, 1853-1893.
- Tran, Q., Hendriks, W., Van der Poel, A., 2011. Effects of drying temperature and time of a canine diet extruded with a 4 or 8mm die on physical and nutritional quality indicators. *Animal feed science and technology* 165, 258-264.
- Trojakova, L., Reblova, Z., Pokorny, J., 1999. Determination of the oxidative stability of fats and oils using the Oxipres apparatus. *Czech Journal of Food Sciences-UZPI (Czech Republic)*.
- Tucker, L., 2004. The importance of antioxidant protection: demonstrating and branding benefits in pet food, *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry, Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium (KA Jacques and TP Lyons, eds)*. Nottingham University Press, UK, pp. 509-516.
- Turek, J.J., Watkins, B.A., Schoenlein, I.A., Allen, K.G., Hayek, M.G., Aldrich, C.G., 2003. Oxidized lipid depresses canine growth, immune function, and bone formation. *The Journal of nutritional biochemistry* 14, 24-31.
- Wang, X., Parsons, C.M., 1998. Effect of raw material source, processing systems, and processing temperatures on amino acid digestibility of meat and bone meals. *Poultry science* 77, 834-841.
- Yang, M., Lin, H., & Choong, Y. 2002. A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. *Food Research International*, 35, 627-633.
- Zarei, A., Mohammadi, M., Hemmati, B., 2014. Metabolizable Energy and Chemical Composition of Poultry by-Product Meal. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 4.

#### IV - PRÉ-TRATAMENTO DO MATERIAL CRU COM ADITIVOS ANTIMICROBIANOS PARA A FABRICAÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES

(Animal Feed Science And Technology)

ABREVIACÕES: FVA, farinha de vísceras de aves; MS, Matéria seca; MM, Matéria mineral; MO, Matéria orgânica; PB, Proteína bruta; PDI, Índice de dispersibilidade proteica; EEHA, Extrato etéreo por hidrólise ácida, PI, Período de indução; DIVMO, Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica;



## RESUMO

Objetivou-se empregar aditivos antimicrobianos nas vísceras “*in natura*”, visando retardar sua deterioração e manter a qualidade de farinhas de vísceras de aves (FVA). Foram produzidas FVA, a partir de material “*in natura*” com cinco diferentes Tempos para o processo (0; 12; 24; 36 e 48 horas), a estes foram adicionados aditivos com característica antimicrobiana. Para tal, houve um Tratamento Controle, apenas com antioxidante sintético (BHA+BHT+Etoxiquin), processado nos tempos pré-estabelecidos. Os demais tratamentos, além do antioxidante sintético no material visceral cru, tiveram tratamento com aditivos antimicrobianos (cinco diferentes antimicrobianos): Ácido fórmico 48% com dose de 3000 mg/kg; Ácido Lático 75% com dose de 3000 mg/kg; Ácido láctico 80% associado a ácido cítrico 5,7% com dose de 3000 mg/kg; Metabissulfito de sódio 25% com dose de 5000 mg/kg; mistura de glicerídeos do ácido propiônico 99% ( $\alpha$ -Monopropionina) com dose de 800 mg/kg. As condições de processamento das FVA foram as mesmas entre os tratamentos. Desta forma o estudo seguiu um esquema fatorial 6 x 5 (tratamentos x períodos). Os coeficientes de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e Índice de dispersibilidade proteica (PDI), aumentaram de forma linear ( $P < 0,0001$ ), à medida que aumentou o Tempo para o processamento, indicando autólise do material a ser processado em função do tempo. Apesar de resultados positivos na digestibilidade do material em função do Tempo para o processamento, houve formação de amins biogênicas (histamina, putrescina, tiramina e cadaverina) de forma exponencial ( $R^2 = 0,9699$ ) para concentração total de amins biogênicas, com valores críticos a partir de 12 horas no Tratamento Controle. O uso de aditivos antimicrobianos retardou a formação de amins biogênicas, até o tempo de 12 horas, em todos os tratamentos. Ácido Fórmico, Ácido Lático e Metabissulfito de sódio ( $P = 0,0001$ ) melhoraram a DIVMO, possivelmente em função da desnaturação proteica ocorrida durante o Tempo para o processamento em pH ácido proporcionado por estes antimicrobianos. O Tempo para o processamento ou a utilização de aditivos antimicrobianos não exerceram qualquer efeito sobre a estabilidade oxidativa das amostras. Conclui-se que o processamento de FVA com material sob espera por 12 horas sem pré-tratamento não é indicado em função das elevadas concentrações de produtos de putrefação microbiana. O uso de aditivos antimicrobianos pode retardar o processo de putrefação quando as vísceras cruas não são processadas frescas.

**Palavras-chaves:** Amins biogênicas, Farinha de vísceras de aves, Processamento, Qualidade Nutricional.

## PRE-TREATMENT OF RAW MATERIAL WITH ANTIMICROBIAL ADDITIVES FOR THE MANUFACTURE OF POULTRY BY-PRODUCT MEAL.

### ABSTRACT

The objective was to use antimicrobial additives in the viscera "*in natura*", aiming at delaying its deterioration and maintaining the quality of poultry by-product meal (PBM) meal. PBM was produced from "*in natura*" material with five different times of process (0; 12; 24; 36 and 48 hours); additives with antimicrobial properties were added. For that, there was a Control Treatment, only with synthetic antioxidant (BHA + BHT + Etoxiquin), processed in the pre-established times. The other treatments, besides the synthetic antioxidant in the raw visceral material, were treated with antimicrobial additives (five different antimicrobials): Formic acid 48% with a dose of 3000 mg.kg<sup>-1</sup>; Lactic Acid 75% with a dose of 3000 mg. k<sup>-1</sup>; Lactic acid 80% associated with citric acid 5.7% with a dose of 3000 mg. k<sup>-1</sup>; Sodium metabissulfite 25% at a dose of 5000 mg.kg<sup>-1</sup>; mixture of glycerides of propionic acid 99% ( $\alpha$ -Monopropionin) with a dose of 800 mg. kg<sup>-1</sup>. The processing conditions of the PBM were the same between the treatments. In this way the study followed a factorial scheme 6 x 5 (treatments x periods). *In vitro* digestibility coefficients of organic matter (IVDOM) and protein dispersibility index (PDI) increased linearly (P <0.0001) as processing time increased, indicating autolysis of the material to be processed as a function of time. Although positive results on the digestibility of the material as a function of processing time, biogenic amines (histamine, putrescine, tyramine and cadaverine) were formed exponentially (R<sup>2</sup> = 0.9699) for the total concentration of biogenic amines, with critical values from 12 hours in the Control Treatment. The use of antimicrobial additives delayed the formation of biogenic amines formation up to 12 hours in all treatments. Formic Acid, Lactic Acid and Sodium Metabisulfite (P = 0.0001) improved the IVDOM, possibly as a function of the protein denaturation occurring during processing time at acid pH provided by these antimicrobials. Processing time or use of antimicrobial additives had no effect on the

oxidative stability of the samples. It is concluded that the PBM processing with raw material in standby for 12 hours without pre-treatment is not indicated due to the high concentrations of microbial putrefaction products. The use of antimicrobial additives can delay the putrefaction process when the raw viscera are not processed fresh.

**Key words:** Biogenic amines, Poultry by-product meal, Processing, Nutritional quality.

## INTRODUÇÃO

A farinha de vísceras de aves (FVA) é resultado do processamento de cocção e fritura, prensagem para extração de óleo, de materiais rejeitados para o consumo humano durante o abate e processamento de carcaças de aves. Dentre os principais componentes da FVA, cita-se; cabeças, pés, trato visceral (sistemas digestório, respiratório e reprodutivos), gorduras viscerais, aparas, peles, cutículas e carcaças ou parte dessas (AAFCO, 2017). É aceito a inclusão de resíduo de processamento de carne mecanicamente separada, porém não deve conter penas, resíduos de incubatório e outros materiais estranhos à sua composição (Silva et al., 2012; Brandelli et al., 2015; AAFCO, 2017).

Considerado um ingrediente convencional na formulação de alimentos para animais de companhia, a farinha de vísceras de aves (FVA) apresenta bons teores de aminoácido, ácidos graxos, minerais e energia metabolizável (Dozier III et al., 2003; Carciofi, 2008; Kawauchi et al., 2014). Além de nutritiva, a FVA possui um custo acessível que favorece seu emprego nas formulações. No entanto, por ser proveniente de materiais orgânicos altamente susceptível à deterioração microbiana e autoxidação, o processamento deve ser iniciado o quanto antes, entre a evisceração e a entrada no digestor, para que sejam preservadas suas características desejáveis (Ockerman and Hansen, 1999; Murray et al., 1997; Ferroli et al., 2000; Cramer et al., 2007), pois este material, é altamente susceptível à deterioração, por autólise e putrefação microbiana (Jamdar and Harikumar, 2005).

Autólise é um processo de natural *postmortem* inicial ao processo de putrefação microbiana, tornando o material visceral liquefeito, aumentando a disponibilidade proteica do material pela liberação de peptídeos menores e aminoácidos livres (Jamdar and Harikumar, 2005). O processo de autólise e de putrefação, quando realizado sem controle, pode elevar a susceptibilidade de desenvolvimento de microrganismos e aumento acima de níveis seguros das amins biogênicas (Santos, 1996; Jamdar and

Harikumar, 2005; Buňková et al., 2010; Lasekan et al., 2013; Alvarez and Moreno-Arribas, 2014; Martínez-Alvarez et al., 2015). Desta forma, uma vez deteriorado o material pode requerer modificações no processamento e prejudicar a qualidade do produto acabado (Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000; Jamdar and Harikumar, 2005; Lasekan et al., 2013). O Emprego de aditivos, à base de ácido orgânicos como, acético, cítrico, láctico e propiônico, estão sendo utilizados ao longo do processamento de FVA, principalmente pela ação antimicrobiana (Mani-López et al., 2012), buscando retardar a proliferação de agentes patógenos e compostos deletérios.

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do tempo de espera do material cru para o processo e comparar os efeitos de diferentes antimicrobianos na preservação do material cru e qualidade da FVA.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Planta Piloto de Processamento de Produtos de Origem Animal, na Fazenda Experimental de Iguatemi – FEI/ UEM, no distrito de Iguatemi – Paraná - Brasil.

### *Amostragem e condições de processamento*

Foram produzidas FVA, a partir de resíduos industriais de abatedouro da região, utilizando como componentes: peles, gorduras abdominais, vísceras (trato digestório, respiratório e reprodutivo), parte de carcaças condenadas, cabeças e pés de aves. Os materiais crus, foram coletados conforme as demandas de processamento de cada tratamento, em uma unidade frigorífica, localizada a aproximadamente 10 km. O material constituinte foi coletado e acondicionado em recipientes plásticos com capacidade de 20 litros a temperatura ambiente ( $26,01 \pm 4,63^{\circ}\text{C}$ ) até o momento do processamento. A temperatura média do material foi de  $24,37 \pm 3,28^{\circ}\text{C}$ . Temperaturas ambientes foram determinadas com termo-higrômetro digital (Termo-higrômetro 7666, Incoterm, Porto Alegre, Brasil), no recebimento das amostras e na entrada no digestor. A temperatura média do material foi determinada com termômetro digital por infravermelho (ST-700 Termômetro digital infravermelho, Incoterm, Porto Alegre, Brasil).

Para cada tratamento, foram separados cinco recipientes com vísceras cruas, os quais foram processados respectivamente nos tempos 0, 12, 24, 36 e 48 horas. Cada tratamento teve três repetições.

O processamento foi realizado em digestor de aço inoxidável, com capacidade de 50 litros e equipado com um sistema de pás para homogeneizar o material durante o processamento. O digestor era equipado com um sistema de camisas, as quais eram aquecidas por uma resistência elétrica (1500 Watts) imersa em óleo para transmissão de calor. O controle da temperatura do aquecimento do óleo, foi realizado com sensor de

temperatura PT100 Termoresistência (PRTF -19 30 cm, São Bernardo do Campo, Brasil) acoplado ao um medidor universal (COEL K49P, São Paulo, Brasil). Para as medições da temperatura do material, utilizou-se Termoresistência (PRTF -12 10 cm, São Bernardo do Campo, Brasil) acoplado ao um medidor universal (COEL K49P, São Paulo, Brasil).

As FVA foram processadas a temperatura média de  $101,72 \pm 1,35^{\circ}\text{C}$ , por aproximadamente  $138 \pm 25$  minutos, a partir do momento que atingiram a temperatura inicial de  $90^{\circ}\text{C}$ , para este o tempo médio foi  $23,50 \pm 9,03$  minutos. Durante o processamento, as temperaturas máximas dos materiais, foram de  $109,56 \pm 3,20^{\circ}\text{C}$ .

Utilizou-se adição inicial óleo de vísceras sobre o material cru, na relação de 10%, com intuito de melhorar o processamento e a elevação de temperatura de processo. Após o cozimento o material foi imediatamente prensado em prensa hidráulica de 15 ton (Marcon-MPH15), aplicando-se ao material a pressão de 10 toneladas por 15 min.

Após a retirada do óleo, o material foi deixado em estufa de secagem a  $60^{\circ}\text{C}$  com período fixado em 12 horas. Posteriormente realizou-se a moagem deste material após a secagem, utilizando moinho tipo martelos (Garthen, GT-2000 LDF 2cv, Navegantes, Brasil), equipado com peneira com furos de 3,0 mm. Dados relativos a produtividade das FVA, estão expressos na Tabela 1.

#### *Delineamento e Tratamentos*

Foram constituídos seis tratamentos, com três repetições cada e cinco momentos de avaliação, totalizando 90 amostras de FVA. Em virtude do grande número de amostras, alguns dos testes foram realizados com amostras de apenas alguns períodos de avaliação, conforme discriminados a seguir. Desta forma o estudo teve um delineamento fatorial  $6 \times 5$  (seis tratamentos e cinco tempos para o processamento do material).

O Tratamento Controle teve apenas adição de antioxidante sintético. O antioxidante foi aplicado na dose de 300 mg/kg no material cru antes do processo e 400 mg/kg na FVA após a moagem. O antioxidante utilizado foi uma mistura comercial (Rendox AET, Kemin Nutrisurance Nutrição Animal, Indaiatuba, Brasil) na proporção de 2:3:1 de Etoxiquim, hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA).

A todos os demais tratamentos, utilizou-se o mesmo protocolo de adição de antioxidante do tratamento Controle. Os demais tratamentos tiveram adição de diferentes antimicrobianos, imediatamente após a obtenção do material fresco do frigorífico e constituíram os seguintes tratamentos: Ácido fórmico 48% com dose de 3000 mg/kg; Ácido Lático 75% com dose de 3000 mg/kg; Ácido lático 80% associado a ácido cítrico

5,7% com dose de 3000 mg/kg; Metabissulfito de sódio 25% com dose de 5000 mg/kg; mistura de glicerídeos do ácido propiônico 99% ( $\alpha$ -Monopropionina) com dose de 800 mg/kg.

O material disponível para cada tratamento foi acondicionado em temperatura ambiente em cinco recipientes plásticos com quantidades semelhantes ( $14,57 \pm 1,41$  kg), sendo cada um processado em um momento distinto, como segue: imediatamente após a recepção (tempo zero); doze horas (12h); vinte e quatro horas (24h); trinta e seis horas (36h) e quarenta e oito horas (48h), perfazendo dessa forma 5 diferentes Tempos para o processo.

#### *Análises laboratoriais*

Nas amostras de FVA obtidas, foram analisados a atividade de água, composição nutricional, índice de dispersibilidade proteica (PDI), estabilidade oxidativa, residual de antioxidantes, hexanal, aminas biogênicas, contagem bacteriana, digestibilidade *in vitro* e palatabilidade.

Para a determinação da Atividade de água (WA) utilizou-se de equipamento específico (Labswift-aw, Novasina, Estados Unidos). A análise de PDI foi realizada segundo a AOAC, 2005 (método Ba 10a-05). A composição química das amostras de FVA, foram realizadas seguindo as metodologias descritas por Association of the Official Analytical Chemists (AOAC, 2005). Para tal, foram determinadas a umidade (método 930.15), matéria mineral (método 942.05), proteína bruta (método: 954.01) e extrato etéreo por hidrólise ácida (método: 954.02), no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA-UEM).

A estabilidade oxidativa foi avaliada em reator de oxidação (Oxitest, Velp Scientifica, Osmate, Milan, Itália), AOCs *International Standard Procedure* (Cd 12c-16). As amostras de FVA (10 g) foram inseridas em câmara pressurizada a 6 atm de oxigênio e aquecidas a 90°C. Mediu-se o período de indução (PI), que corresponde ao momento em que a amostra perde a estabilidade e passa a consumir oxigênio em redução de escala exponencial, reduzindo a pressão da câmara analítica do equipamento. Este tempo necessário para ocorrer este processo é denominado de PI, e é registrado pelo software do equipamento. Para determinação das concentrações de antioxidante sintético, utilizou-se cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (GC-FID), segundo Yang & Choong (2002).



Para a determinação das concentrações de hexanal utilizou-se a Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-MS), pela técnica adaptada de Headspace (SPME - *Solid Phase Micro Extration*), conforme descrito por Sghaier et al. (2016). Para tal, 5 gramas de amostra foi mantida em um vial de 30mL, a amostra foi primeiramente ambientada durante 10 minutos a 60°C, após já utilizando um SPME holder com a fibra exposta à amostra foi mantida em banho-maria durante um período de 40 minutos a 60°C, então a fibra era recolhida e a mesma exposta no Cromatógrafo. Por meio desta técnica foi quantificado o principal composto de oxidação do ácido linoleico, o hexanal. A temperatura da coluna foi mantida a 40°C por 5 minutos e elevada para 200°C, sendo 5°C por minuto e mantida constante. O gás de arraste foi o Hélio e a pressão mantida constante a 275 kPa. A temperatura do injetor foi de 240°C. Para realização da curva padrão foi utilizado o padrão comercial do Hexanal (18109 SIGMA-ALDRICH). Foi realizada uma curva com cinco pontos do padrão; 0, 20, 40, 60 e 90 ppm. Após a realização de todas diluições 0,5 ml de cada foi adicionado a 1g de amostra padrão (farelada- massa de ingredientes moídos) e depois quantificadas por SPME. Estas análises foram realizadas no departamento de química da Universidade Estadual de Maringá (DQI-UEM).

As aminas biogênicas foram quantificadas no Laboratório de Bioquímica de Alimentos, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, seguindo método de Extração com ácido tricloroacético 5% (Cirilo et al., 2003), separação por cromatografia por pareamento de íons em cromatógrafo líquido de alta eficiência, e quantificação pós-coluna com o-ftalaldeído e detecção por fluorescência a 340 e 450nm de excitação e emissão, respectivamente (Vale and Gloria, 1997). As aminas biogênicas analisadas foram Espermidina; Putrescina; Cadaverina; Tiramina; Histamina; Feniletilamina; Triptamina; Serotonina e Agmatina.

Para análise de detecção de *Salmonella* spp., amostras foram enviadas a um laboratório privado, com credenciamento pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A detecção foi realizada por meio de Isolamento com identificação bioquímica e sorológica (sorotipagem) segundo metodologia descrita por ISO (ISO 6579-1: 2017). Todas as amostras de FVA analisadas apresentaram Ausência de *Salmonella* spp em 25 g.

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.

O protocolo para a realização do ensaio de palatabilidade foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá, sob protocolo 5736190218. Para o teste de palatabilidade, foram comparadas amostras apenas do tratamento Controle entre os tempos de espera para o processamento. Para isto foram formuladas cinco dietas isonutritivas segundo *European Pet Food Industry Federation* (FEDIAF, 2017) contendo em cada uma respectivamente as FVA referentes ao tratamento Controle, obtidas nos diferentes tempos para o processamento. Para tais formulações, optou-se em adicionar as FVA experimentais, de forma que estas tivessem a apenas a metade da inclusão total de FVA (Tabela 2).

As dietas foram extrusadas em extrusora experimental com capacidade produtiva de 100 kg/hora (Imbramaq, Campinas, Brasil). Para isto uma mesma mistura dos ingredientes foi obtida, diferindo apenas quanto a adição das farinhas experimentais. A mistura das rações foi moída em moinho de martelos equipado com peneira com furos de 0,8 mm e posteriormente extrusado. Para que as características dos extrusados fosse semelhante foram monitorados durante o processo, a densidade da ração, taxa de expansão, produtividade da extrusora, temperatura do condicionador e umidade da ração que saiu da extrusora e após a saída do secador. Após a secagem todos os tratamentos receberam cobertura de gordura de aves (5%) e palatilizante líquido (2%).

Para o teste de palatabilidade utilizou-se o método das duas vasilhas. Todos os desafios foram feitos em relação ao tratamento Controle. Durante os testes os animais foram alimentados para atender as necessidades energéticas para gatos em manutenção segundo o NRC (2006), com adição de 30% a mais para se obter sobras. Cada desafio teve a duração de 2 dias, sendo a quantidade calculada de cada alimento oferecida 4 vezes ao dia aos animais e mantida disponível à vontade durante 20 minutos a cada oferta. A posição dos comedouros A e B foram alternadas a cada oferta de alimento, visando minimizar problemas de lateralidade. Para cada animal os comedouros, contendo os alimentos A e B de cada desafio, foram apresentados simultaneamente, sendo observada a dieta que foi a primeira opção de consumo do animal e comparados o consumo total de ambas as rações. A finalidade deste teste foi verificar se a deterioração do material

visceral processado afeta na preferência e consumo dos animais. Para a análise dos resultados calculou-se a primeira escolha e Razão de Ingestão, segundo Griffin (2003).

#### *Análises estatísticas*

Para os dados obtidos de Atividade de água, composição química (UM, MM, PB, EEHA) e residuais de antioxidantes nas FVA experimentais, realizou-se análise estatística descritiva.

Os dados de qualidade nutricional, Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e Índice de Dispersibilidade Proteica e os dados de estabilidade oxidativa (Período de Indução e Hexanal), utilizou-se o procedimento PROC MIXED, com repetição no Tempo. Avaliando-se os efeitos de tratamentos, tempo e sua interação. Para estas análises, foram previamente verificados os requisitos de Distribuição Normal e Igualdade de Variâncias. As comparações das médias entre os tratamentos e tempo, foram feitas por LSMeans, com aplicação do Teste Tukey, considerando probabilidade significativa a 5%.

Para os dados de amins biogênicas, realizou-se análise estatística descritiva.

Para o teste de palatabilidade foram comparadas as Razões de Ingestão de cada Tempo (T12; T24; T36 e T48) em relação ao Tempo Zero (T0), do Tratamento Controle. Da mesma forma, verificou-se os requisitos de Distribuição Normal e Igualdade de Variâncias. As avaliações de preferências foram feitas utilizando Teste T. Para os procedimentos da análise estatística, utilizou-se o Programa *Statistical Analysis System* (SAS).

## RESULTADOS

Os resultados das análises de composição química (Tabela 3) em base de matéria seca das FVA foram: atividade de água ( $0,33 \pm 0,14$ ), umidade ( $54,95 \pm 30,57$  g/kg), matéria mineral ( $70,28 \pm 12,24$  g/kg), proteína bruta ( $759,07 \pm 46,24$  g/kg) e extrato etéreo por hidrólise ácida ( $170,68 \pm 47,76$  g/kg).

Houve interação Tratamento x Tempo ( $P=0,0041$ ) para Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (Tabela 4). À medida em que aumentaram os tempos para o processamento, houve aumento ( $P=0,0001$ ) nos valores de forma linear crescente (Figura 1). Para os comparativos da adição dos aditivos, observou-se que no Tempo de 24 e 48 horas, não houve diferença (24 horas  $P=0,1980$  e 48 horas  $P=0,2740$ ), indicando que a adição dos aditivos não contribuiu para melhora na digestibilidade nestes tempos. Observando os resultados no Tempo 0, o melhor valor ( $P=0,0050$ ) foi observado no Tratamento com adição do Metabissulfito de Sódio. Para o Tempo de 12 horas, a adição dos aditivos ácido Fórmico; ácido Lático e Metabissulfito de sódio, apresentaram os melhores valores e diferenciaram do Tratamento Controle ( $P=0,0330$ ).

Da mesma forma, como a DIVMO, houve interação para Tratamento x Tempo ( $P=0,0001$ ) para o Índice de dispersibilidade proteica (Tabela 5). No Tratamento Controle houve aumento nos valores de índice de dispersibilidade proteica, na medida que aumentaram os tempos de espera para o processamento ( $P=0,0001$ ). Os dados apresentaram um comportamento linear ( $P<0,0001$ ) em todos os tratamentos e tempos (Figura 2). O menor valor para PDI ( $P=0,0001$ ), no Tempo 0, foi com o tratamento contendo  $\alpha$ -Monopropionina. No tempo de 12 horas, os melhores resultados ( $P=0,0001$ ) foram observados com adição de ácido Lático, ácido Lático + Cítrico e  $\alpha$ -Monopropionina. Os demais tempos para o processo também apresentaram diferenças, 24 horas ( $P=0,0001$ ), 36 horas ( $P=0,0001$ ) e 48 horas ( $P=0,0001$ ).

As concentrações de antioxidantes residuais nas FVA experimentais (Tabela 6), foram Total de antioxidante ( $137,69 \pm 124,68$  mg/kg), BHT ( $55,34 \pm 47,75$  mg/kg), BHA ( $17,25 \pm 17,38$  mg/kg) e Etoxiquin ( $66,98 \pm 79,86$  mg/kg).

Houve interação entre Tratamento x Tempo ( $P < 0,0001$ ) para Período de indução (Tabela 7). Não houve efeito de tratamento ( $P = 0,6115$ ) e houve efeito de Tempo ( $P < 0,0001$ ). O período de indução, não foi afetado pelo uso de aditivos nos diferentes tempos para o processo. No entanto, o tratamento contendo somente ácido Lático, houve diferença ( $P = 0,0339$ ) para os diferentes tempos para o processo.

Os resultados da análise de Hexanal (Tabela 8), mostrou que houve interação entre Tratamento x Tempo ( $P = 0,0001$ ). Quando analisado o efeito do tratamento, observou-se que tanto para o Tempo 0 como Tempo 12 horas de espera para o processamento, os melhores resultados (T0  $P = 0,0001$  e T12  $P = 0,0001$ ) foram obtidos com o ácido Lático, no qual apresentou valores nulos, indicado pela não detecção de picos de área no cromatógrafo gasoso.

Os resultados das análises de concentração de aminas biogênicas no tratamento Controle (Tabela 9), mostrou que a concentração de aminas, apresentou comportamento exponencial ( $R^2 = 0,9699$ ), à medida que aumentou o tempo para o processo (Figura 3). Quando analisados as concentrações totais de aminas biogênicas nos tratamentos experimentais ao tempo de 0 e 12 horas (Tabela 10), indica que o uso dos aditivos, contribuiu para a redução da concentração de aminas biogênicas ao tempo de 12 horas para o processo.

Os resultados do teste de preferência alimentar (Tabela 11), apresentaram diferenças na relação de ingestão (RI-A) para todos os desafios realizados, exceto, para o desafio Tempo 0 horas *versus* Tempo 24 horas ( $P = 0,6780$ ).

## DISCUSSÃO

O material visceral processado apresentou boa uniformidade em composição química e está dentro de um padrão aceitável (Dozier III et al., 2003; Cramer et al., 2007; Carciofi, 2008), porém com valores médios aquém dos encontrados na literatura para coeficientes de digestibilidade da matéria orgânica (Awonorin et al., 1995; Cramer et al., 2007; Carciofi, 2008; da Silva et al., 2012; Kawauchi et al., 2014; Laflamme et al., 2014). Acredita-se que devido a metodologia utilizada para estimativa dos coeficientes *in vitro*, tenha subestimados os valores.

Contudo, o tempo para o processo, e conseqüentemente o processo de instalação de autólise e início de putrefação pode ter contribuído diretamente para este comportamento da DIVMO, confirmando outros estudos (Ferrolí et al., 2000; Jamdar and Harikumar, 2005; Oliveira and Zanoelo, 2012; Lasekan et al., 2013; Laflamme et al., 2014; Martínez-Alvarez et al., 2015). Nesse sentido, pode-se observar que na medida em que aumentou o tempo para o processo, houve aumento dos coeficientes de digestibilidade. Indicando que a partir de 24 horas de espera o processo de autólise se sobressaia sobre qualquer efeito de adição de aditivos.

Ao contrário da hipótese de que o uso de aditivos com tais características como os usados nesse estudo, pudessem retardar a degradação e autólise do material por longos tempos de espera, acredita-se que isso seria possível apenas com a conservação do material sob baixas temperaturas (Ockerman and Hansen, 1999). Porém, uso de câmaras frias para o armazenamento ou veículos refrigerados para o transporte desse material, são inviáveis economicamente, para a indústria processadora.

No entanto, pode-se observar que diferenças significativas para as variáveis de DIVMO, possam ter sido influenciadas pela adição de aditivos em tempos menores de espera (Tempo 0 e 12 horas). Nesse caso, a característica dos aditivos e suas respectivas doses, podem ter contribuído com o processo de aumento digestibilidade.

Aliado a esse fato, o Índice de Dispersibilidade Proteica (PDI), é uma análise rotineira para derivados de soja. Utilizada geralmente para identificar deficiências de processamento, foi adaptada para identificar o grau de deterioração dos materiais constituintes de FVA. A hipótese, era que a medida que o material entra em autólise, as proteínas tornam-se mais disponível, pela quebra em amino ácidos livres ou pequenos peptídeos (Jamdar and Harikumar, 2005; Oliveira and Zanoelo, 2012; Rojas and Stein, 2013; Martínez-Alvarez et al., 2015). Como observou-se que o tratamento Controle ao longo dos tempos para o processo, apresentou tendência linear ( $P < 0,0001$ ), ou seja, à medida que o material evolui em seu processo de autólise, a FVA resultante apresenta aumento dos valores de PDI e conseqüentemente DIVMO. Sustentando que o material se torna mais liquefeito, perdendo suas características físicas, pelo extravasamento celular (Jamdar and Harikumar, 2005; Lasekan et al., 2013).

No entanto, à medida que ocorre o processo de autólise e o material visceral se torna mais liquefeito, isso dificulta as ações de processamento, como secagem e prensagem (Ockerman and Hansen, 1999; Ferroli et al., 2000). Na verdade, o processo de cozimento, evaporação da água e fervura em óleo, característica de fritura, ocorre em todos os tempos observados (0; 12; 24; 36 e 48 horas). No entanto, o material torna-se pastoso na medida que a autólise evolui para putrefação (Jamdar and Harikumar, 2005). Este material, apresenta-se com característica de difícil manipulação e processamento, principalmente de secagem e extração de óleo.

Os resultados obtidos para período de indução já eram esperados, uma vez que os efeitos principais dos aditivos, devido suas características, eram esperados apenas em parâmetros referentes a qualidade nutricional das farinhas de vísceras de aves. Contudo, estas análises complementares, reforçam o entendimento do processo e conservação deste ingrediente.

Contudo, o aumento da digestibilidade e do PDI, dos materiais e possivelmente maiores disponibilidades de aminoácidos livres, que poderiam contribuir para ganhos na qualidade nutricional de FVA. No entanto, deve-se ressaltar que o processo de autólise é início de processo de putrefação microbiana, pode elevar a susceptibilidade de desenvolvimento de microrganismos e aumento das aminas biogênicas (Jamdar and Harikumar, 2005; Lasekan et al., 2013; Martínez-Alvarez et al., 2015). Foi diante desse fato, que se realizou análise complementares para identificar contaminação de *Salmonella* e quantificação de aminas biogênicas. Como não fora detectado presença de *Salmonella*, nas FVA experimentais, este resultado nos indica duas situações possíveis, uma sendo de

que as Boas Práticas de Fabricação adotadas durante o processo evitaram contaminações do produto acabado ou de que o uso dos aditivos antimicrobianos tenha contribuído para a não proliferação de *Salmonella*.

Alguns antimicrobianos com base de ácido orgânicos como, acético, cítrico, láctico e propiônico, possuem melhor capacidade de controle de proliferação de *Salmonella* (Mani-López et al., 2012). Os resultados de identificação ausente para *Salmonella*, neste estudo são pouco conclusivos, no entanto, estudos controlados e com submissão de desafios maiores, são indicados para testar os efeitos no controle da *Salmonella* utilizando os respectivos antimicrobianos.

Contudo, o principal objetivo do experimento e uso dos aditivos utilizados, está na qualidade nutricional das FVA, e a quantificação de aminas biogênicas nos confirmou a importância de processamento de matérias o mais breve possível (Ockerman and Hansen, 1999; Murray et al., 1997; Ferroli et al., 2000; Cramer, et al., 2007), pois este material, é altamente susceptível à deterioração, por autólise e putrefação microbiana (Jamdar and Harikumar, 2005).

À medida em que aumentou o tempo para o processo, aumentou a concentração total das aminas biogênicas de forma exponencial ( $R^2 = 0,9699$ ). Este resultado, confirma que o processo de autólise, eleva a susceptibilidade de desenvolvimento de microrganismos e aumento das aminas biogênicas (Jamdar and Harikumar, 2005; Lasekan et al., 2013; Martínez-Alvarez et al., 2015). Indicando que a partir do tempo 12 horas, as concentrações totais de aminas biogênicas, já se encontram em níveis críticos.

Estudos específicos de toxicidade de aminas biogênicas em farinhas de vísceras de aves, para animais de companhia, não foram encontrados. Contudo, estudos indicam que o efeito de toxicidade está relacionado com a eficiência do organismo animal eliminar estes compostos (Halász et al., 1994). Diante disso, alguns autores recomendam que não devam ser administrados alimentos com concentrações de Histamina acima de 100 mg/kg de alimento; Tiramina 100 – 800 mg/kg de alimento; Feniletilamina 30 mg/kg (Halász et al., 1994; Santos, 1996; Shalaby, 1996; Stadnik & Dolatowski, 2010). Porém, os efeitos de toxicidade de aminas biogênicas podem ser potencializado, com baixas concentrações de outras aminas, como, cadaverina, putrescina, espermidina (Shalaby, 1996; Ruiz-Capillas and Jiménez-Colmenero, 2005; Stadnik & Dolatowski, 2010; Drabik-Markiewicz et al., 2011). Nesse sentido, mesmo o produto estando dentro dos limites máximos recomendados, para Histamina, Tiramina e Feniletilamina, quando compostos como Cadaverina, Putrescina e Espermidina, estiverem presente mesmo em doses baixas, estes



poderiam ter seu efeito de toxicidade ampliado e trazer complicações para os animais que ingerisse esse alimento espermidina (Shalaby, 1996; Ruiz-Capillas and Jiménez-Colmenero, 2005; Stadnik & Dolatowski, 2010; Drabik-Markiewicz et al., 2011).

Quando observados os resultados de concentração de amins biogênicas para os tratamentos experimentais, pode-se ter um indicativo que o uso de aditivos antimicrobianos tenha controlado de forma satisfatório a formação de amins, até o tempo de 12 horas. Para que ocorra a formação de amins, é necessário que haja a contaminação microbiana, temperatura, pH e outros fatores relacionados a proliferação de microrganismo (Halász et al., 1994; Santos, 1996; Galgano et al., 2009; Buňková et al., 2010; Alvarez and Moreno-Arribas, 2014; Papageorgiou et al., 2017). Desta forma, pelas características dos antimicrobianos, e resultados obtidos nas análises pode-se observar que as concentrações de amins biogênicas nos tratamentos experimentais, ficam próxima aos resultados obtidos para controle em tempo 0, não havendo evolução nas concentrações em tempo de 12 horas, como observado no tratamento controle.

Contudo, esses resultados complementares corroboram na afirmativa, de que apesar de haver aumento nos coeficientes de DIVMO, na medida em que o material levou mais tempo para o processo, não é indicado o processamento de material constituinte para formação de farinhas de vísceras de aves para alimentação animal, com tempo maior que 12 horas sem uso de aditivos antimicrobianos. No teste de preferência alimentar, houve claramente a preferência pelo alimento que se utilizou FVA processada nos tempo 0 horas.

## CONCLUSÃO

O processamento dos materiais para a produção de farinhas de vísceras de aves, deve ser realizado o mais rápido possível. Apesar de haver aumento da digestibilidade das FVA à medida em que se aumenta os tempos de espera para o processamento, esse não deve ultrapassar as 12 horas de espera sem o tratamento com antimicrobianos. A adição de antimicrobianos não teve efeito sobre a estabilidade oxidativa, porém sugere-se mais estudos a respeito.

Tabela 1. Dados relativos a produtividade das FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.

Quantidade de Material Cru (kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	14,420	13,500	15,500	15,420	15,120	14,790	0,780
Ácido Fórmico	14,600	13,900	13,280	12,960	12,980	13,540	0,650
Ácido Lático	16,000	15,420	17,240	15,000	16,180	15,970	0,790
Ácido Lático + Cítrico	17,620	15,040	17,320	15,320	14,040	15,870	1,430
Metabissulfito de Sódio	14,100	14,760	14,660	14,300	14,140	14,390	0,280
$\alpha$ -Monopropionina	12,820	13,720	13,000	13,000	11,660	12,840	0,690
Média	14,930	14,390	15,170	14,330	14,020		
DP <sup>3</sup>	1,570	0,740	1,760	1,050	1,490		
Rendimento de Farinha de Vísceras (kg de MS)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	1,431	1,123	1,319	1,274	1,270	1,283	0,100
Ácido Fórmico	1,432	1,153	1,166	1,611	0,924	1,257	0,250
Ácido Lático	1,973	1,899	2,225	1,427	1,853	1,875	0,270
Ácido Lático + Cítrico	2,747	1,801	2,376	1,650	1,619	2,038	0,460
Metabissulfito de Sódio	1,523	1,456	1,726	1,678	1,370	1,551	0,140
$\alpha$ -Monopropionina	1,378	1,341	1,040	1,328	0,959	1,209	0,180
Média	1,747	1,462	1,642	1,495	1,332		
DP <sup>3</sup>	0,500	0,310	0,530	0,170	0,340		
Rendimento de Óleo de Vísceras (kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	1,499	1,597	1,627	1,869	2,105	1,739	0,230
Ácido Fórmico	2,094	2,375	2,250	1,796	2,073	2,118	0,200
Ácido Lático	2,367	2,181	2,116	2,837	2,286	2,357	0,270
Ácido Lático + Cítrico	1,983	2,066	2,383	2,943	3,400	2,555	0,570
Metabissulfito de Sódio	2,387	2,848	2,702	2,102	3,106	2,629	0,360
$\alpha$ -Monopropionina	2,154	3,125	2,799	2,712	2,176	2,593	0,390
Média	2,081	2,365	2,313	2,376	2,524		
DP <sup>3</sup>	0,310	0,520	0,400	0,480	0,540		

1. Tratamentos experimentais
2. Tempo para o processamento
3. Desvio Padrão

Tabela 2. Composição quantitativa e qualitativa das dietas experimentais formuladas, com inclusão de FVA referente ao tratamento Controle ao longo dos diferentes tempos para o processamento.

Ingredientes <sup>1</sup>	Dietas experimentais				
	T0	T12	T24	T36	T48
Farelo de glúten de milho 60%	16,13	16,13	16,13	16,13	16,13
Milho grão integral	15,84	15,84	15,84	15,84	15,84
Farinha de vísceras de aves comercial	14,52	14,52	14,52	14,52	14,52
Quirera de arroz	9,68	9,68	9,68	9,68	9,68
Concentrado proteico de soja	8,07	8,07	8,07	8,07	8,07
Casca de soja	5,65	5,65	5,65	5,65	5,65
Óleo de vísceras de aves	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Hidrolisado de fígado	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Celulose	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61
Levedura seca de cerveja	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61
Cloreto de colina	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
Cloreto de sódio (sal comum)	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Premix mineral vitamínico <sup>2</sup>	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
Cloreto de potássio	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Adsorvente de micotoxinas	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
Antifúngico <sup>3</sup>	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
L-Taurina	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Antioxidante <sup>4</sup>	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Farinha experimental (FVA)	18,00	18,00	18,00	18,00	18,00
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Nutrientes <sup>5</sup>	T0	T12	T24	T36	T48
Umidade, g/kg	66,90	58,90	68,20	64,30	60,00
Matéria seca, g/kg	933,10	941,10	931,80	935,70	940,00
Matéria mineral, g/kg	67,30	67,90	65,30	68,40	67,90
Matéria orgânica, g/kg	852,80	822,90	856,60	837,80	837,30
Proteína bruta, g/kg	383,50	399,80	428,70	413,10	413,20
Extrato etéreo por hidrolise ácida, g/kg	101,60	100,70	99,30	107,30	105,00
Fibra bruta, g/kg	47,40	51,50	60,10	40,60	38,80

1. Ingredientes expresso em percentual (%)

2. Ácido fólico (mín.) 158,57 mg/kg; Ácido Pantotênico (mín.) 1149,64 mg/kg; Biotina (mín.) 14,86 mg/kg; Cobre (mín.) 770,83 mg/kg; Colina (mín.) 249,75 mg/kg; Ferro (mín.) 12,33 mg/kg; Iodo (mín.) 77,08 mg/kg; Manganês (mín.) 770,83 mg/kg; Niacina (mín.) 7928,57 mg/kg; Selênio (mín.) 59,46 mg/kg; Taurina (mín.) 138,75 g/kg; Vitamina A (mín.) 680,05 UI/kg; Vitamina B1 (mín.) 1110,00 mg/kg; Vitamina B12 (mín.) 4458,00 mg/kg; Vitamina B2 (mín.) 792,65 mg/kg; Vitamina B6 (mín.) 495,53 mg/kg; Vitamina C (mín.) 10,00 g/kg; Vitamina D3 (mín.) 49,55 UI/kg; Vitamina E (mín.) 7532,14 UI/kg; Vitamina K3 (mín.) 19,82 mg/kg; Zinco (mín.) 11,58 g/kg.

3. Antifúngico comercial à base de ácido propiônico, ácido acético, hidróxido de amônio, ácido sórbico.

4. Antioxidante comercial à base de BHT e BHA

5. Análise realizada no Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA-UEM).

Tabela 3. Valores de Atividade de água e teores de nutrientes expressos em g/kg na base de matéria seca (MS), de amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.

Atividade de água							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	0,341	0,265	0,496	0,176	0,366	0,329	0,111
Ácido Fórmico	0,335	0,164	0,158	0,174	0,285	0,223	0,076
Ácido Lático	0,586	0,323	0,222	0,196	0,284	0,322	0,145
Ácido Lático + Cítrico	0,589	0,432	0,272	0,215	0,224	0,346	0,150
Metabissulfito de Sódio	0,594	0,226	0,401	0,174	0,314	0,342	0,154
$\alpha$ -Monopropionina	0,620	0,368	0,192	0,342	0,459	0,396	0,147
Média	0,511	0,296	0,290	0,213	0,322		
DP <sup>3</sup>	0,127	0,093	0,124	0,063	0,077		
Umidade (g/kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	55,87	32,00	122,95	33,70	79,79	64,86	35,18
Ácido Fórmico	57,14	31,23	26,82	25,99	23,34	32,90	12,87
Ácido Lático	103,36	50,73	36,67	25,25	32,14	49,63	29,24
Ácido Lático + Cítrico	89,43	42,02	42,07	34,75	32,88	48,23	21,76
Metabissulfito de Sódio	99,02	45,78	66,46	31,01	40,50	56,55	25,15
$\alpha$ -Monopropionina	109,31	48,97	28,07	80,70	120,52	77,51	36,40
Média	85,69	41,79	53,84	38,57	54,86		
DP <sup>3</sup>	22,24	8,30	34,64	19,89	35,57		
Matéria Mineral (g/kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	54,75	55,90	68,09	56,15	64,46	59,87	5,59
Ácido Fórmico	57,37	63,77	52,28	56,16	44,23	54,76	6,69
Ácido Lático	64,63	75,72	59,13	74,24	86,00	71,95	9,73
Ácido Lático + Cítrico	76,02	70,27	87,48	78,17	67,33	75,85	7,28
Metabissulfito de Sódio	81,14	75,85	76,78	90,33	69,92	78,81	7,08
$\alpha$ -Monopropionina	81,61	82,63	66,16	78,70	93,01	80,42	8,96
Média	69,25	70,69	68,32	72,29	70,83		
DP <sup>3</sup>	11,25	9,06	11,80	12,81	16,20		
Proteína Bruta (g/kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	767,03	878,67	867,99	770,76	742,87	805,47	58,91
Ácido Fórmico	808,29	817,16	739,41	738,38	653,32	751,31	61,52
Ácido Lático	756,30	785,69	724,70	764,23	724,83	751,15	24,88
Ácido Lático + Cítrico	733,32	712,99	753,61	762,53	726,97	737,89	19,03
Metabissulfito de Sódio	678,84	765,25	783,24	785,52	707,23	744,02	45,23
$\alpha$ -Monopropionina	750,92	759,72	772,27	772,95	767,62	764,70	10,78
Média	749,12	786,58	773,54	765,73	720,47		
DP <sup>3</sup>	40,47	53,51	48,25	15,92	36,82		
Extrato Etéreo Por Hidrolise Ácida (g/kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	178,23	65,43	63,92	173,09	192,65	134,67	59,83
Ácido Fórmico	134,35	119,07	208,32	205,46	302,45	193,93	67,83
Ácido Lático	179,08	138,59	216,16	161,52	189,17	176,90	27,17

Ácido Lático + Cítrico	190,67	216,74	158,91	159,31	205,69	186,26	24,64
Metabissulfito de Sódio	240,02	158,89	139,96	124,15	222,85	177,17	47,80
$\alpha$ -Monopropionina	168,59	157,65	161,57	148,35	139,37	155,10	10,75
Média	181,82	142,73	158,14	161,98	208,70		
DP <sup>3</sup>	32,63	47,18	51,82	25,71	50,69		

1. Tratamentos experimentais
2. Tempo para o processamento
3. Desvio padrão

Tabela 4. Coeficientes de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) expressa em g/kg, de amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.

Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	EPM <sup>3</sup>	P valor
	0	12	24	36	48			
Controle	568 <sup>cC</sup>	642 <sup>bB</sup>	684 <sup>bA</sup>	696 <sup>bC</sup>	775 <sup>aA</sup>	672,9	26,45	0,0001
Ácido Fórmico	634 <sup>bABC</sup>	723 <sup>aA</sup>	728 <sup>aA</sup>	753 <sup>aAB</sup>	778 <sup>aA</sup>	723,2	24,79	0,0001
Ácido Lático	623 <sup>cABC</sup>	711 <sup>abA</sup>	708 <sup>bA</sup>	715 <sup>abBC</sup>	806 <sup>aA</sup>	712,4	35,97	0,0001
Ácido Lático + Cítrico	592 <sup>dBC</sup>	644 <sup>cB</sup>	686 <sup>bA</sup>	767 <sup>aAB</sup>	766 <sup>aA</sup>	690,8	12,90	0,0001
Metabissulfito de Sódio	662 <sup>bA</sup>	698 <sup>abA</sup>	717 <sup>abA</sup>	729 <sup>abBC</sup>	756 <sup>aA</sup>	712,7	28,31	0,0010
$\alpha$ -Monopropionina	636 <sup>bAB</sup>	644 <sup>bB</sup>	735 <sup>aA</sup>	775 <sup>aA</sup>	764 <sup>aA</sup>	710,7	26,73	0,0001
Média	619,2	677,1	709,6	738,9	774,1			
EPM <sup>3</sup>	24,08	34,60	27,75	20,22	24,88			
P valor	0,005	0,033	0,198	0,003	0,274			
P - Anova								
Tratamentos	0,0062							
Tempo	<0,0001							
Tratamentos x Tempo	0,0041							

1. Tratamentos experimentais
2. Tempo para o processamento
3. Erro Padrão Médio
4. Médias seguidas de letras Minúsculas diferentes na linha, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.
5. Médias seguidas de letras Maiúsculas diferentes na coluna, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.

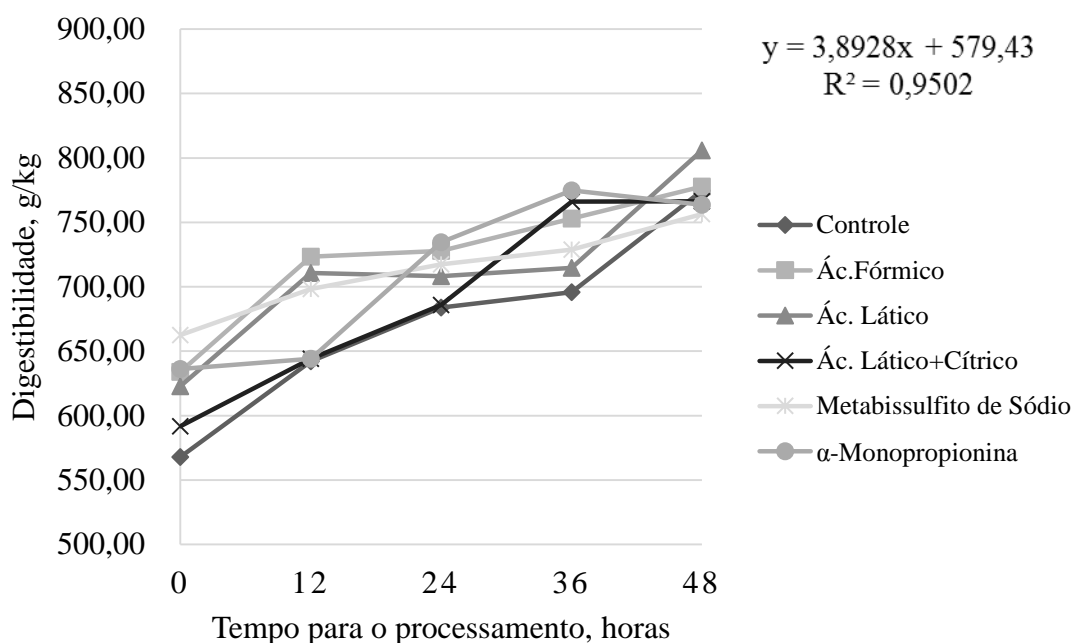


Figura 1. Distribuição gráfica dos resultados da análise de Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), das amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos (legenda) e diferentes tempos para processamento (0, 12, 24, 36 e 48 horas).

Tabela 5. Índice de Dispersibilidade Proteica (PDI) expressa em g/kg, de amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.

Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	EPM <sup>3</sup>	P valor
	0	12	24	36	48			
Controle	166 <sup>dAB</sup>	239 <sup>cB</sup>	379 <sup>bA</sup>	402 <sup>bA</sup>	518 <sup>aA</sup>	340,5	13,28	0,0001
Ácido Fórmico	183 <sup>eAB</sup>	267 <sup>dA</sup>	312 <sup>cBC</sup>	366 <sup>bBC</sup>	456 <sup>aBC</sup>	316,6	5,71	0,0001
Ácido Lático	167 <sup>eAB</sup>	209 <sup>dC</sup>	289 <sup>cC</sup>	345 <sup>bC</sup>	433 <sup>aCD</sup>	288,6	9,28	0,0001
Ácido Lático + Cítrico	160 <sup>eB</sup>	209 <sup>dC</sup>	332 <sup>cB</sup>	427 <sup>bA</sup>	474 <sup>aB</sup>	320,2	10,28	0,0001
Metabissulfito de Sódio	186 <sup>eA</sup>	233 <sup>dB</sup>	296 <sup>cC</sup>	346 <sup>bC</sup>	397 <sup>aD</sup>	291,6	15,68	0,0001
α-Monopropionina	130 <sup>eC</sup>	209 <sup>dC</sup>	297 <sup>cC</sup>	398 <sup>bAB</sup>	451 <sup>aBC</sup>	296,9	9,17	0,0001
Média	165,3	227,3	317,4	380,6	454,7			
EPM <sup>3</sup>	8,74	8,66	9,12	12,81	14,50			
P valor	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001			
P - Anova								
Tratamentos	<0,0001							
Tempo	<0,0001							
Tratamentos x Tempo	<0,0001							

1. Tratamentos experimentais

2. Tempo para o processamento

3. Erro Padrão Médio

4. Médias seguidas de letras Minúsculas diferentes na linha, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.

5. Médias seguidas de letras Maiúsculas diferentes na coluna, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.

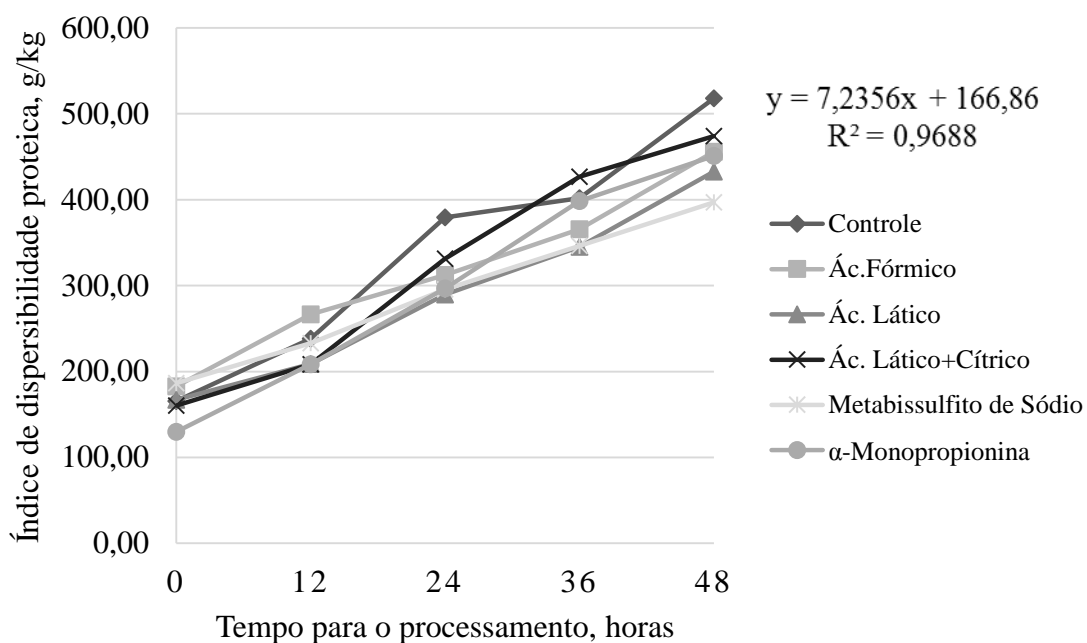


Figura 2. Distribuição gráfica dos resultados da análise de Índice de Dispersibilidade Proteica (PDI), das amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos (legenda) e diferentes tempos para processamento (0, 12, 24, 36 e 48 horas).

Tabela 6. Concentração de Antioxidantes, expressa em mg/kg, de amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.

Total de Antioxidante (mg/kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	59,15	49,93	186,08	168,04	182,59	129,16	68,53
Ácido Fórmico	92,65	9,15	57,23	350	152,25	132,26	132,44
Ácido Lático	42,51	12,45	20,55	225,27	108,74	81,90	88,62
Ácido Lático + Cítrico	97,68	72,27	36,36	142,96	199,32	109,72	63,37
Metabissulfito de Sódio	44,42	56,17	606,33	297,57	284,51	257,80	229,10
$\alpha$ -Monopropionina	56,87	86,14	123,64	120,77	189,14	115,31	49,54
Média	65,55	47,69	171,70	217,44	186,09		
DP <sup>3</sup>	23,92	31,26	221,67	90,98	58,33		
BHT (mg/kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	31,29	26,23	110,25	96,91	69,92	66,92	37,79
Ácido Fórmico	57,18	3,79	33,32	7,13	32,13	26,71	21,85
Ácido Lático	25,99	4,52	9,06	104,65	29,35	34,71	40,51
Ácido Lático + Cítrico	56,54	39,35	23,01	53,6	79,92	50,48	21,16
Metabissulfito de Sódio	26,49	27,18	235,37	134,36	98,36	104,35	86,78
$\alpha$ -Monopropionina	32,72	48,98	65,71	37,56	59,21	48,84	13,96
Média	38,37	25,01	79,45	72,37	61,48		
DP <sup>3</sup>	14,56	18,20	84,52	47,55	27,09		
BHA (mg/kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	10,53	10,24	20,91	20,52	18,56	16,15	5,34
Ácido Fórmico	10,38	3,57	8,13	3,45	21,71	9,45	7,47
Ácido Lático	7,43	4,82	7,15	16,67	16,32	10,48	5,59
Ácido Lático + Cítrico	62,42	10,56	5,14	14,27	19,03	22,28	23,01
Metabissulfito de Sódio	7,35	10,01	89,25	21,99	18,87	29,49	33,95
$\alpha$ -Monopropionina	7,95	12,46	22	14,45	21,24	15,62	5,97
Média	17,68	8,61	25,43	15,23	19,29		
DP <sup>3</sup>	21,97	3,55	32,09	6,57	1,96		
Etoxiquin (mg/kg)							
Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	DP <sup>3</sup>
	0	12	24	36	48		
Controle	17,33	13,46	54,92	50,61	94,1	46,08	32,77
Ácido Fórmico	25,09	1,79	15,78	339,42	98,42	96,10	141,07
Ácido Lático	9,09	3,11	4,34	103,95	63,07	36,71	45,15
Ácido Lático + Cítrico	34,91	22,36	8,21	75,1	100,36	48,19	38,37
Metabissulfito de Sódio	10,58	18,98	281,71	141,22	167,28	123,95	112,84
$\alpha$ -Monopropionina	16,2	24,7	35,93	68,77	108,69	50,86	37,99
Média	18,87	14,07	66,82	129,85	105,32		
DP <sup>3</sup>	9,69	9,77	106,97	107,45	34,16		

1. Tratamentos experimentais
2. Tempo para o processamento
3. Desvio Padrão



Tabela 7. Valores de Período de indução (minutos) obtido em bomba de oxigênio (Oxitest), nas amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a diferentes tempos para o processamento.

Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>					Média	EPM <sup>3</sup>	P valor
	0	12	24	36	48			
Controle	1396 <sup>aa</sup>	1225 <sup>aa</sup>	1623 <sup>aa</sup>	1435 <sup>aa</sup>	617 <sup>aa</sup>	1259,2	451,91	0,1439
Ácido Fórmico	1136 <sup>aa</sup>	846 <sup>aa</sup>	2153 <sup>aa</sup>	878 <sup>aa</sup>	1242 <sup>aa</sup>	1251,1	511,98	0,0602
Ácido Lático	1123 <sup>ba</sup>	769 <sup>ba</sup>	2125 <sup>abA</sup>	2459 <sup>aa</sup>	1390 <sup>abA</sup>	1573,2	606,73	0,0339
Ácido Lático + Cítrico	1454 <sup>aa</sup>	1532 <sup>aa</sup>	2086 <sup>aa</sup>	2436 <sup>aa</sup>	1630 <sup>aa</sup>	1827,6	468,31	0,1188
Metabissulfito de Sódio	906 <sup>aa</sup>	1233 <sup>aa</sup>	1300 <sup>aa</sup>	822 <sup>aa</sup>	1886 <sup>aa</sup>	1229,4	468,61	0,1178
$\alpha$ -Monopropionina	1137 <sup>aa</sup>	2192 <sup>aa</sup>	1445 <sup>aa</sup>	1146 <sup>aa</sup>	1313 <sup>aa</sup>	1446,6	449,17	0,0834
Média	1192,0	1299,5	1788,7	1529,3	1346,3			
EPM <sup>3</sup>	368,35	521,51	456,21	618,72	480,23			
P valor	0,5132	0,0567	0,1398	0,0174	0,1008			
P - Anova								
Tratamentos	0,6115							
Tempo	<0,0001							
Tratamentos x Tempo	<0,0001							

1. Tratamentos experimentais
2. Tempo para o processamento
3. Erro Padrão Médio
4. Médias seguidas de letras Minúsculas diferentes na linha, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.
5. Médias seguidas de letras Maiúsculas diferentes na coluna, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey

Tabela 8. Valores de concentração (mg/kg) de Hexanal obtido pela técnica de análise de Headspace em cromatografia gasosa, nas amostras de FVA tratadas com diferentes antimicrobianos e submetidas a tempos para o processamento de 0 e 12 horas.

Tratamentos <sup>1</sup>	Tempo <sup>2</sup>		Média	EPM <sup>3</sup>	P valor
	0	12			
Controle	30,62 <sup>aB</sup>	26,69 <sup>bD</sup>	28,65	0,4234	0,0003
Ácido Fórmico	32,45 <sup>aA</sup>	12,33 <sup>bE</sup>	22,39	0,2652	0,0001
Ácido Lático <sup>4</sup>	0,00 <sup>aE</sup>	0,00 <sup>aF</sup>	0,00	0,0000	0,0000
Ácido Lático + Cítrico	22,28 <sup>bC</sup>	28,17 <sup>aC</sup>	25,23	0,4289	0,0001
Metabissulfito de Sódio	12,32 <sup>bD</sup>	36,10 <sup>aA</sup>	24,21	0,3353	0,0001
$\alpha$ -Monopropionina	21,77 <sup>bC</sup>	29,86 <sup>aB</sup>	25,82	0,2963	0,0001
Média	19,91	22,19			
EPM <sup>3</sup>	0,2544	0,3828			
P valor	0,0001	0,0001			
P - Anova					
Tratamentos	<0,0001				
Tempo	<0,0001				
Tratamentos x Tempo	<0,0001				

1. Tratamentos experimentais
2. Tempo para o processamento
3. Erro Padrão Médio
4. Resultado de valor não detectado na análise e fora considerado com zero.
5. Médias seguidas de letras Minúsculas diferentes na linha, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey.
6. Médias seguidas de letras Maiúsculas diferentes na coluna, diferem entre si (P<0.05) pelo teste Tukey

Tabela 9. Resultados de análise de concentração (mg/kg) de aminas biogênicas nas amostras de FVA, referente ao tratamento Controle ao longo dos diferentes tempos para o processamento.

Aminas Biogênicas	Tempo <sup>1</sup>					Equação	R <sup>2</sup>
	0	12	24	36	48		
Cadaverina	3	340	1050	1671	4316	$y = 3,1215e^{1,6025x}$	0,801
Tiramina	1	58	671	1369	3431	$y = 0,3762e^{2,0272x}$	0,870
Putrescina	15	119	563	1218	2921	$y = 6,7927e^{1,288x}$	0,955
Histamina	10	40	118	339	1103	$y = 3,3737e^{1,164x}$	0,997
Espermidina	143	297	108	140	158	$y = -12,636x + 207,07$	0,074
Triptamina	0	0	14	73	104	$y = 27,99x - 45,938$	0,873
Agmatina	0	10	65	65	0	$y = -14,602x^2 + 93,086x - 90,66$	0,716
Feniletilamina	2	10	16	51	58	$y = 15,404x - 18,672$	0,913
Serotonina	0	0	0	0	0	-	-
Total	173	873	2605	4925	12091	$y = 243,37e^{0,0852x}$	0,9699

1. Tempo para o processamento

3. Dados obtidos durante o processamento das FVA

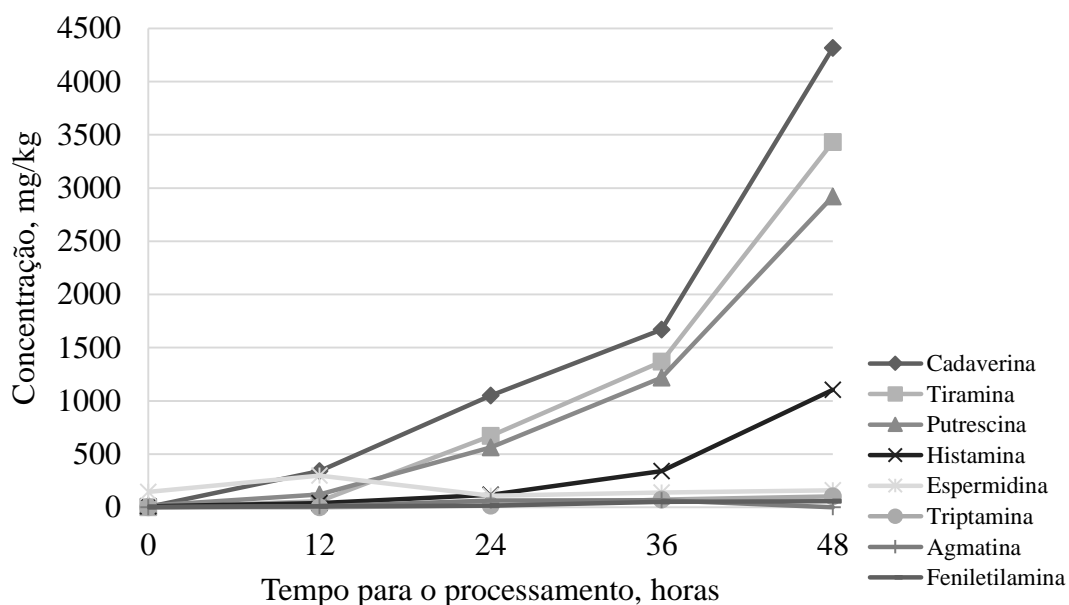


Figura 3. Resultados da evolução das concentrações de aminas biogênicas (mg/kg), no tratamento controle ao longo dos diferentes tempos para o processamento.

Tabela 10. Resultados de análise de concentração de aminas biogênicas (mg/kg), nas amostras de FVA, referente ao tratamento experimentais nos tempos para processamento de 0 e 12 horas.

Tratamento <sup>1</sup>	Tempo 0 horas							Total
	Aminas Biogênicas (mg/kg) <sup>2</sup>							
	CAD	TIR	PUT	HIST	ESP	AGM	FEN	
Controle	3	1	15	10	143	0	2	173
Ácido Fórmico	10	0	30	16	155	0	0	211
Ácido Lático	8	0	22	12	134	0	0	176
Ácido Lático + Cítrico	11	0	32	14	199	0	0	256
Metabissulfito de Sódio	22	0	20	14	119	0	0	175
$\alpha$ -Monopropionina	8	0	23	17	139	0	0	187
Média	10,3	0,2	23,7	13,8	148,2	0,0	0,3	196,3
Desvio Padrão	6,35	0,41	6,35	2,56	27,54	0,00	0,82	32,48
Tratamento <sup>1</sup>	Tempo 12 horas							Total
	Aminas Biogênicas (mg/kg) <sup>2</sup>							
	CAD	TIR	PUT	HIST	ESP	AGM	FEN	
Controle	340	58	119	40	297	10	10	873
Ácido Fórmico	5	0	25	20	176	0	0	226
Ácido Lático	4	0	25	16	155	0	0	199
Ácido Lático + Cítrico	41	3	31	17	161	0	0	253
Metabissulfito de Sódio	4	0	18	13	111	0	0	146
$\alpha$ -Monopropionina	122	14	37	21	141	8	0	342
Média	86,0	12,5	42,5	21,2	173,5	3,0	1,7	339,8
Desvio Padrão	132,55	22,94	38,02	9,66	64,37	4,69	4,08	269,14

Triptamina e Serotonina – apresentaram valores não detectáveis pela análise

1. Tratamentos experimentais

2. Aminas Biogênicas: CAD= Cadaverina; TIR = Tiramina; PUT= Putrescina; HIST = Histamina; ESP= Espermidina; AGM= Agmatina; FEN= Feniletilamina

Tabela 11. Teste de preferência alimentar de gatos adultos, alimentados com dietas experimentais contendo FVA processadas em diferentes tempos para o processamento.

Desafios <sup>1</sup>	Olfato (n=40) <sup>2</sup>			Paladar (n=40) <sup>3</sup>			Razão de Ingestão <sup>3</sup>			
	A	B	P valor	A	B	P valor	RI-A	Mediana	EPM <sup>4</sup>	P valor
T0 x T12	0,50	0,50	1,0000	0,80	0,20	0,0073	0,673	0,685	0,039	0,0001
T0 x T24	0,40	0,60	0,3711	0,35	0,65	0,1797	0,514	0,485	0,046	0,6780
T0 x T36	0,65	0,35	0,1797	0,60	0,40	0,3711	0,607	0,645	0,055	0,0089
T0 x T48	0,40	0,60	0,3711	0,65	0,35	0,1797	0,622	0,680	0,062	0,0086

1. A versus B

2. 40 observações de 20 gatos em 2 dias

3. Razão de Ingestão A= ingestão (g) da Dieta A/ ingestão total das duas dietas (g) (A+B).

4. Erro Padrão Médio

## LITERATURA CITADA

- AAFCO. 2017. Official Publication. Association of American Feed Control Officials.
- Alvarez, M.A., Moreno-Arribas, M.V., 2014. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends in food science & technology* 39, 146-155.
- AOAC, 2005. Official Methods of Analysis AOAC. 18th ed. . AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Awonorin, S., Ayoade, J., Bamiro, F., Oyewole, L., 1995. Relationship of rendering process temperature and time to selected quality parameters of poultry by-product meal. *LWT-Food Science and Technology* 28, 129-134.
- Brandelli, A.; Sala, L.; Kalil, S.J., 2015. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. *Food Research International*, 73, 3–12.
- Buňková, L., Buňka, F., Klčovská, P., Mrkvička, V., Doležalová, M., Kráčmar, S., 2010. Formation of biogenic amines by Gram-negative bacteria isolated from poultry skin. *Food chemistry* 121, 203-206.
- Carciofi, A.C., 2008. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37, 28-41.
- Cirilo, M.P., Coelho, A.F.S., Araújo, C.M., Gonçalves, F.R., Nogueira, F.D., Glória, M.B.A., 2003. Profile and levels of bioactive amines in green and roasted coffee. *Food chemistry* 82, 397-402.
- Cramer, K.R., Greenwood, M.W., Moritz, J.S., Beyer, R.S., Parsons, C.M., 2007. Protein quality of various raw and rendered by-product meals commonly incorporated into companion animal diets. *Journal of animal science* 85, 3285-3293.
- da Silva, E., Rabello, C., de Lima, M., de Arruda, E., Ludke, J., Ludke, M., 2012. Determination of the chemical composition, amino acid levels and energy values of different poultry offal meals for broilers. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 14, 97-107.
- Dozier III, W., Dale, N., Dove, C., 2003. Nutrient composition of feed-grade and pet-food-grade poultry by-product meal. *Journal of applied poultry research* 12, 526-530.
- Drabik-Markiewicz, G., Dejaegher, B., De Mey, E., Kowalska, T., Paelinck, H., Vander Heyden, Y., 2011. Influence of putrescine, cadaverine, spermidine or spermine on the formation of N-nitrosamine in heated cured pork meat. *Food chemistry* 126, 1539-1545.
- FEDIAF, 2016. European Pet Food Industry Federation. Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs, 100.
- Ferroli, P.C.M., Fiod Neto, M., Casarotto Filho, N., Castro, J.E.E., 2000. Fábricas de subprodutos de origem animal: a importância do balanceamento das cargas dos digestores de vísceras. *Production* 10, 05-20.
- Galgano, F., Favati, F., Bonadio, M., Lorusso, V., Romano, P., 2009. Role of biogenic amines as index of freshness in beef meat packed with different biopolymeric materials. *Food Research International* 42, 1147-1152.
- Griffin, R., 2003. Palatability testing methods: Parameters and analyses that influence test conditions.
- Halász, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W., 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science & Technology* 5, 42-49.

- Hervera, M., Baucells, M.D., Blanch, F., Castrillo, C., 2007. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 91, 205-209.
- ISO, 2017. Microbiology of the Food Chain—Horizontal Method for the Detection, Enumeration and Serotyping of Salmonella—Part 1: Detection of Salmonella spp, International Organization for Standardization Geneva, Switzerland (ISO 6579-1: 2017).
- Jamdar, S., Harikumar, P., 2005. Autolytic degradation of chicken intestinal proteins. *Bioresource technology* 96, 1276-1284.
- 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., 2014. Prediction of crude protein digestibility of animal by-product meals for dogs by the protein solubility in pepsin method. *Journal of nutritional science* 3, e36.
- Laflamme, D., Izquierdo, O., Eirmann, L., Binder, S., 2014. Myths and misperceptions about ingredients used in commercial pet foods. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 44, 689-698.
- Lasekan, A., Abu Bakar, F., Hashim, D., 2013. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. *Waste management* 33, 552-565.
- Mani-López, E., García, H.S., López-Malo, A., 2012. Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Research International* 45, 713-721.
- Martínez-Alvarez, O., Chamorro, S., Brenes, A., 2015. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. *Food Research International* 73, 204-212.
- 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 of animal science* 75, 2497-2505.
- NRC, 2006. Nutrient Requirements of Dogs and Cats. The National Academies Press, Washington, DC.
- Ockerman, H.W., Hansen, C.L., 1999. Animal by-product processing & utilization. CRC Press.
- Oliveira, G.A., Zanoelo, E.F., 2012. Thermophysical properties of hydrolyzed by-products from the meat industry. *Journal of Food Process Engineering* 35, 930-939.
- Papageorgiou, M., Lambropoulou, D., Morrison, C., Kłodzińska, E., Namieśnik, J., Płotka-Wasyłka, J., 2017. Literature update of analytical methods for biogenic amines determination in food and beverages. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*.
- Rojas, O.J., Stein, H.H., 2013. Concentration of digestible and metabolizable energy and digestibility of amino acids in chicken meal, poultry byproduct meal, hydrolyzed porcine intestines, a spent hen-soybean meal mixture, and conventional soybean meal fed to weanling pigs. *Journal of animal science* 91, 3220-3230.
- Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F., 2005. Biogenic amines in meat and meat products. *Critical Reviews in food Science and Nutrition* 44, 489-599.
- Santos, M.S., 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *International journal of food microbiology* 29, 213-231.
- Sghaier, L., Cordella, C.B., Rutledge, D.N., Watiez, M., Breton, S., Sassi, P., Thiebaut, D., Vial, J., 2016. Validation of a headspace trap gas chromatography and mass spectrometry method for the quantitative analysis of volatile compounds from degraded rapeseed oil. *Journal of separation science* 39, 1675-1683.
- Shalaby, A.R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International* 29, 675-690.

- Silva, E.P.; Rabello, C.B.; Lima, M.B.; Arruda, E.M.F.; Ludke, J.V., 2012. Determination of the chemical composition, amino acid levels and energy values of different poultry offal meals for broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 14, 71-158.
- Stadnik, J., J Dolatowski, Z., 2010. Biogenic amines in meat and fermented meat products. *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 9, 251-263.
- Vale, S.R., Gloria, M., 1997. Determination of biogenic amines in cheese. *Journal of AOAC International* 80, 1006-1012.
- Yang, M., Lin, H., & Choong, Y. 2002. A rapid gas chromatographic method for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. *Food Research International*, 35, 627-633.