

PERFIL E TEORES DE AMINAS BIOATIVAS LIVRES EM FARINHAS DE ORIGEM ANIMAL

PROFILE AND LEVELS OF FREE BIOACTIVE AMINES IN ANIMAL MEALS

Douglas Evangelista Braga^{a,b}; Audecir Giombelli^a; Maria Beatriz A. Glória^{a,b}

^a LBqA - Laboratório de Bioquímica de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, 31270-901, Brasil.

^b Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Resumo

A indústria de proteína animal gera resíduos e subprodutos não comestíveis pelo homem, mas que podem ser destinados à alimentação animal. Farinha de origem animal são boas fontes de proteína, mas caso se degradem, geram aminos bioativas. O acúmulo destas aminos pode indicar qualidade inadequada do produto e ser um risco para a saúde animal. O objetivo do estudo foi investigar os teores de proteína e de aminos bioativas livres em quatro tipos de farinhas de origem animal. Os teores de proteínas foram maiores na farinha de penas (82,9 g/100 g), seguido das de vísceras de aves, víscera suína e carne bovina (59,2; 53,1 e 45,2, respectivamente). Maior teor total de aminos foi encontrado na farinha de vísceras de aves (201,10 mg/kg), seguido das de vísceras suínas, de carne bovina e de penas (60,32; 52,41 e 33,71, respectivamente).

Palavras-chave Aminos bioativas, farinha animal, subproduto animal

Introdução

Segundo o USDA (2018), o Brasil é o segundo maior produtor mundial de carnes bovina e de frango e o quarto maior produtor de carne suína. Com a alta produção, surgem problemas relativos ao sistema produtivo com a geração de resíduos animais não comestíveis pelos homens e a necessidade de destinação adequada destes resíduos, os quais têm valor proteico e podem ser aproveitados como ingredientes e subprodutos, como as farinhas de origem animal, destinados à alimentação animal e na aquicultura.

As farinhas de origem animal são fontes de aminoácidos essenciais e vitaminas do grupo B, além de proteínas hidrolisadas (GILBERT, WONG, & WEBB, 2008; JAYATHILAKAN et al., 2012; TOLDRÁ et al., 2016). Estas farinhas representam uma alternativa interessante ao farelo de soja, como fonte proteica na alimentação animal, com ausência de fatores antinutricionais e presença de grandes quantidades de aminoácidos essenciais (MARTÍNEZ-ALVAREZ et al., 2015; TOLDRÁ et al., 2016).

Entretanto, os principais riscos relacionados ao aproveitamento destes resíduos, são as contaminações microbiológicas, a formação e o acúmulo de aminos biogênicas e também a preocupação quanto à BSE (Encefalopatia Espongiforme Bovina). Com o intuito de minimizar a ocorrência de qualquer um destes riscos, é necessário que a indústria processadora opere sob rígido padrão de qualidade e que a utilização das farinhas de origem animal limite-se às rações para monogástricos (SCHEUERMANN, 2008).

A contaminação microbiana pode ocorrer pela riqueza proteica da matéria prima e condições higiênico-sanitárias inadequadas na cadeia produtiva, entretanto, o tratamento térmico usado na produção e a baixa atividade de água das farinhas, podem minimizar a sobrevivência de micro-organismos. Por outro lado, as aminos bioativas que são produzidas pela microbiota, permanecem no produto final por serem termo-resistentes (ALVAREZ & MORENO-ARRIBAS, 2014). Assim sendo, as aminos são relevantes do ponto de vista sanitário e toxicológico, podendo indicar a qualidade da matéria prima e as condições higiênico-sanitárias prevalentes na produção de alimentos e ingredientes. Ainda, as aminos,

Trabalhos Apresentados

em concentrações elevadas, podem causar efeitos adversos e intoxicação no homem e em animais (EFSA, 2011; TABANELLI et al., 2018).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo investigar o perfil e os teores de aminas bioativas livres em quatro tipos de farinhas de origem animal (vísceras suínas, vísceras de aves, penas de aves e carne bovina) produzidas por empresas com SIF (Sistema de Inspeção Federal), e investigar o potencial de uso de aminas como índice de qualidade sanitário e toxicológico das farinhas de carne de forma a viabilizar o aproveitamento seguro de resíduos e subprodutos da produção industrial de aves, bovinos e suínos, e colaborar na manutenção da saúde animal na busca da padronização do produto com requisitos mínimos de qualidade e identidade assistidos.

Material e Métodos

As amostras foram obtidas em três dias de produção de quatro fábricas diferentes de cada um dos quatro tipos de farinha produzidas pela empresa (farinha de vísceras de aves, farinha de vísceras suínas, farinha de penas e farinha de carne bovina). Estas as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente (50 g de cada tipo), acondicionadas em embalagens plásticas lacradas, transportadas ao laboratório e analisadas imediatamente.

Foram utilizados os padrões de aminas, agmatina (sal sulfato), cadaverina (dicloridrato), espermidina (tricloridratado), 2-feniletilamina (cloridratado), histamina (dicloridratado), putrescina (dicloridratado), serotonina (cloridratado), tiramina (cloridratado) e triptamina (cloridratado) e *o*-ftalaldeído (OPA) adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). Acetonitrila e metanol de grau cromatográfico (HPLC) foram adquiridos da Hexis Científica (Jundiaí, SP, Brasil). Para o preparo de soluções foi utilizada água ultrapura obtida do sistema Milli-Q Plus (Milli-Q System Milipore Corp., Milford, MA, EUA). Os solventes aquosos foram filtrados em membrana HAWP e os solventes orgânicos em membrana HVLP, com 0,45 µm de tamanho de poro (Milipore Corp., Milford, MA, EUA).

O teor de proteína bruta das farinhas foi determinado por destilação após digestão utilizando o aparelho de Kjeldahl, utilizando o fator 6,25 (MAPA, 2017).

As aminas foram quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência por par iônico, derivação pós-coluna com OPA e detecção fluorimétrica (EVANGELISTA et al., 2015). As aminas foram extraídas das amostras (0,4 g) com ácido tricloroacético (TCA) 5,0% (3 x 7 mL) por agitação em mesa agitadora (TE-140 Tecnal, SP, Brazil) a 700 rpm por 5 minutos, centrifugação (Jouan SA MR23i, Saint Herblain, France) a 11.180 x *g* por 21 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro qualitativo, coletado em balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume final ajustado com TCA 5,0%.

O sistema de cromatografia líquida utilizado consistiu em cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu modelo LC-10 AD com câmara de mistura à baixa pressão; conjunto de lavagem automática de pistão; injetor automático modelo LC-10 AD (Shimadzu); detector fluorimétrico modelo RF-551 (Shimadzu) a 340 de excitação e 445 nm de emissão. Utilizou-se uma coluna µBondapak C18 em fase reversa de 3,9 x 300 mm, 10 µm (Waters, Milford, MA, EUA) e pré-coluna µBondapak C18 (Waters). A fase móvel consistiu de dois solventes: A - tampão acetato 0,2 M contendo octanosulfonato de sódio 15 mM, pH ajustado para 4,9 com ácido acético e B – acetonitrila, em sistema gradiente de eluição.

As aminas foram identificadas por comparação do tempo de retenção com o dos padrões e confirmado pela adição da amina suspeita à amostra. A concentração das aminas foi calculada por meio de interpolação em curva analítica com soluções padrão.

Os resultados foram avaliados quanto à normalidade. Aqueles que seguiram distribuição normal foram submetidos à anova e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Os resultados que não seguiram distribuição normal tiveram as medianas comparadas pelo teste de Kruskal Wallis. O nível de significância utilizado foi de 5%.

Resultados e Discussão

Os teores de proteínas nas amostras variaram de 45,2 a 82,9 g/100 g, sendo os menores teores encontrados na farinha de carne e os maiores na de pena (Figura 1). Estes teores são similares aos descritos por EMBRAPA (1991), AMIPIG (2000) e ROSTAGNO et al. (2000) para farinhas de carne e ossos, farinha de vísceras suínas e vísceras suínas. Não

Trabalhos Apresentados

houve correlação significativa entre os teores de proteínas e os teores totais de aminas, sugerindo que o teor de proteína não influencia os teores de aminas nas farinhas.

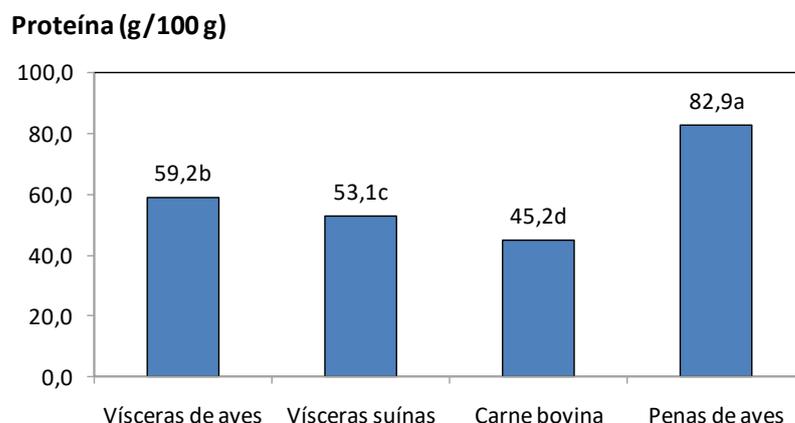


Figura 1. Teores médios de proteína encontrados nas farinhas de vísceras de aves, vísceras suínas, de carne bovina e de penas de aves (medias com letras diferentes [a-d] são significativamente diferentes, teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

Dentre as nove aminas pesquisadas (Tabela 1), oito foram encontradas nas amostras (exceto serotonina). Uma maior diversidade de aminas (8) estava presente na farinha de vísceras de aves, seguido das farinhas de penas de aves (7), de vísceras suínas (6) e de carne bovina (4). Espermidina, agmatina, putrescina, cadaverina e tiramina foram detectadas em todos os tipos de farinha. Entretanto, triptamina só foi encontrada em farinha de vísceras de aves; feniletilamina só em farinha de vísceras de aves e penas de aves; e histamina e agmatina não foram detectadas em farinha de carne bovina. Em trabalho realizado com farinhas de vísceras de aves, cinco aminas foram encontradas: putrescina, cadaverina, histamina, feniletilamina e tiramina (TAMIM & DOERR, 2003). Existem poucos estudos sobre o perfil e teores de aminas bioativas em farinhas de origem animal (LIMA et al., 2017).

Tabela 1 - Medianas das aminas bioativas livres em mg/kg em farinhas de vísceras de aves, de vísceras suínas, de carne bovina e de penas de aves analisadas.

Aminas bioativas	Medianas (Mínimo – máximo) em mg/kg / Tipo de farinha			
	Vísceras de aves	Vísceras suínas	Carne bovina	Penas de aves
Espermidina	31,16 ^a (nd - 54,30)	11,08 ^b (nd - 24,34)	3,62 ^b (nd - 4,79)	5,30 ^b (nd - 9,69)
Agmatina	5,23 ^a (nd - 13,00)	2,59 ^a (nd - 2,59)	0,00 ^a (nd)	2,26 ^a (nd - 2,77)
Putrescina	33,42 ^a (1,55 - 182,43)	8,41 ^a (0,82 - 17,94)	16,78 ^a (nd - 67,96)	9,63 ^a (nd - 26,48)
Cadaverina	48,47 ^a (3,27 - 223,75)	14,88 ^{ab} (2,83 - 41,61)	20,38 ^{ab} (nd - 52,67)	5,67 ^a (nd - 10,52)
Histamina	10,53 ^a (nd - 23,09)	3,20 ^a (nd - 6,10)	0,00 ^a (nd)	6,04 ^a (nd - 6,04)
Tiramina	30,38 ^a (5,91 - 122,27)	20,16 ^{ab} (1,77 - 39,16)	11,63 ^{ab} (nd - 23,18)	2,60 ^b (nd - 4,76)
Feniletilamina	3,12 ^a (nd - 7,58)	0,00 ^a (nd)	0,00 ^a (nd)	2,21 ^a (nd - 2,21)
Triptamina	38,79 ^a (nd - 65,39)	0,00 ^a (nd)	0,00 ^a (nd)	0,00 ^a (nd)

n = 12 amostras por tipo de farinha. Médias com letra diferente em uma mesma linha são significativamente diferentes (Kruskal Wallis, $p \leq 0,05$).

As farinhas analisadas apresentaram teores totais de aminas livres diferenciados, sendo os maiores teores encontrados nas farinhas de vísceras de aves, seguido das de

Trabalhos Apresentados

vísceras suínas e carne bovina, e de penas de aves (201,10; 60,32; 52,41 e 33,71 mg/kg, respectivamente).

Comparando os teores de aminas entre farinhas, os maiores teores de espermidina e triptamina foram encontrados na de vísceras de aves. Feniletilamina foi encontrada apenas em farinhas obtidas de aves. As farinhas de vísceras pareceram acumular mais aminas comparadas às demais, fato observado também na literatura (BEDENDO et al., 2018).

Ao considerar a contribuição de cada amina ao teor total, observou-se que a cadaverina foi a amina predominante contribuindo com 24,1% e 38,9% do total de aminas presentes nas farinhas de vísceras de aves e de carne bovina, respectivamente. Nas farinhas de vísceras suínas, a tiramina contribuiu com 33,4% do total de aminas e nas farinhas de penas a putrescina contribuiu com 28,6% do total.

Apenas algumas aminas estavam presentes em 100% das amostras, como por exemplo, putrescina, cadaverina e tiramina nas farinhas de vísceras.

Conclusão

As farinhas de vísceras suínas, farinha de carne bovina, farinha de vísceras de aves e a farinha de penas são significativamente diferentes quanto ao teor à presença de proteínas e de aminas bioativas. Não foi observada correlação entres proteínas e aminas. A ocorrência e os teores de aminas nas diferentes farinhas pode ser útil como critérios de identidade, qualidade da matéria prima, e segurança frente as especificidades do uso pretendido. Sendo assim as aminas bioativas podem ser indicadores de qualidade de alimentos, sendo que quanto maior o seu teor, maior o grau de degradação ocorrido na matéria prima ou no produto acabado.

Referências Bibliográficas

ALVAREZ, M. A.; MORENO-ARRIBAS, M. V. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. **Trends in Food Science and Technology**. v. 39, n. 2, p. 146-155, 2014.

AMIPIG: Ileal standardised digestibility of amino acids in feedstuffs for pigs. **AFZ, Ajinomoto Eurolysine, Aventis Animal Nutrition, INRA, ITCF**, 44 p. 2000.

BEDENDO, G. C.; FONSECA, F. N.; COREZZOLLA, L. R.; CONTREIRA, C. L. Levantamento do teor de aminas biogênicas em farinhas de origem animal provenientes de diferentes estabelecimentos. **Comunicado Técnico**, 551, 1ª ed., 8p. Concórdia, SC. Março 2018. Disponível em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/173994/1/final8802.pdf>.

EFSA. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) European Food Safety Authority (EFSA), **Annual Report 2011 European Food Safety Authority Journal - EFSA**, v. 9, n. 10, p. 2393, 2011.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa Suínos e Aves - CNPSA. **Tabela de composição química e valores energéticos de alimentos para suínos e aves**. 3. Ed. Concórdia, SC, 97p. 1991.

EVANGELISTA, W. P.; TETTE, P. A.; GLORIA, M. B. A. Quality control of the analysis of histamine in fish by proficiency test. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 575, n. 1, 2015.

GILBERT, E. R.; WONG, E. A.; WEBB, K. E. Board-invited review: Peptide absorption and utilization: Implications for animal nutrition and health. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 2135-2155, 2008.

Trabalhos Apresentados

JAYATHILAKAN, K.; SULTANA, K.; RADHAKRISHNA, K.; BAWA, A. S. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 278-293, 2012.

LIMA, G. J. M. M.; FEDDEM, V.; MAZZUCO, H. Aminas biogênicas são compostos indicativos de putrefação de subprodutos animais. **Suinocultura Industrial**, v. 1, p. 14-17, 2017.

MAPA. **Manual de métodos oficiais para análise de alimentos e origem animal 2017**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/poa/Manualdemtodosoficiaisparaanlisedealimentosdeorigemanimal2017.pdf>

MARTÍNEZ-ALVAREZ, O.; CHAMORRO, S.; BRENES, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International**, v. 73, p. 204-212, 2015.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, UFV. 141p. 2000.

SCHEUERMANN, G. N. Farinhas de origem animal na alimentação de monogástricos: a qualidade dos produtos define seu potencial de utilização. **EMBRAPA Suínos e Aves, 2008**. **AGROLINK**, 2008. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/saudeanimal/artigo/farinhas-de-origem-animal-na-alimentacao-de-monogastricos_65392.html.

TABANELLI, G.; MONTANARI, C.; GARDINI, F. Biogenic amines in food: A review of factors affecting their formation. **Reference Module in Food Science**, p. 1–7, 2018.

TAMIM, N. M.; DOERR, J. A. Effect of putrefaction of poultry carcasses prior to rendering on biogenic amine production. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.12, p. 456–460, 2003

TOLDRÁ, F.; MORA, L.; REIG, M. New insights into meat by-product utilization. **Meat Science**, v. 120, p. 54–59, 2016.

USDA. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. April 2018. Disponível em https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf

Agradecimentos: Fapemig, CNPq e CAPES.

Autor(a) a ser contatado: Maria Beatriz Abreu Glória. mbeatriz@ufmg.br