

TÓPICOS EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

VOLUME II

**WESCLEN VILAR
NOGUEIRA**
ORG.



2021

Wesclen Vilar Nogueira
Organizador

TÓPICOS EM CIÊNCIA
DOS ALIMENTOS
VOLUME II



Pantanal Editora

2021

Copyright© Pantanal Editora
Copyright do Texto© 2021 Os Autores
Copyright da Edição© 2021 Pantanal Editora
Editor Chefe: Prof. Dr. Alan Mario Zuffo
Editores Executivos: Prof. Dr. Jorge González Aguilera
Prof. Dr. Bruno Rodrigues de Oliveira

Diagramação: A editora

Edição de Arte: A editora. Imagens de capa e contra-capas: Canva.com

Revisão: O(s) autor(es), organizador(es) e a editora

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – OAB/PB
- Profa. Msc. Adriana Flávia Neu – Mun. Faxinal Soturno e Tupanciretã
- Profa. Dra. Albys Ferrer Dubois – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – IF SUDESTE MG
- Profa. Msc. Aris Verdecia Peña – Facultad de Medicina (Cuba)
- Profa. Arisleidis Chapman Verdecia – ISCM (Cuba)
- Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – UFESSPA
- Prof. Dr. Bruno Gomes de Araújo - UEA
- Prof. Dr. Caio Cesar Enside de Abreu – UNEMAT
- Prof. Dr. Carlos Nick – UFV
- Prof. Dr. Claudio Silveira Maia – AJES
- Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – UFGD
- Prof. Dr. Cristiano Pereira da Silva – UEMS
- Profa. Ma. Dayse Rodrigues dos Santos – IFPA
- Prof. Msc. David Chacon Alvarez – UNICENTRO
- Prof. Dr. Denis Silva Nogueira – IFMT
- Profa. Dra. Denise Silva Nogueira – UFMG
- Profa. Dra. Dennyura Oliveira Galvão – URCA
- Prof. Dr. Elias Rocha Gonçalves – ISEPAM-FAETEC
- Prof. Me. Ernane Rosa Martins – IFG
- Prof. Dr. Fábio Steiner – UEMS
- Prof. Dr. Fabiano dos Santos Souza – UFF
- Prof. Dr. Gabriel Andres Tafur Gomez (Colômbia)
- Prof. Dr. Hebert Hernán Soto Gonzáles – UNAM (Peru)
- Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira – IFRR
- Prof. Msc. Javier Revilla Armesto – UCG (México)
- Prof. Msc. João Camilo Sevilla – Mun. Rio de Janeiro
- Prof. Dr. José Luis Soto Gonzales – UNMSM (Peru)
- Prof. Dr. Julio Cezar Uzinski – UFMT
- Prof. Msc. Lucas R. Oliveira – Mun. de Chap. do Sul
- Profa. Dra. Keyla Christina Almeida Portela – IFPR
- Prof. Dr. Leandris Argente-Martínez – Tec-NM (México)
- Profa. Msc. Lidiene Jaqueline de Souza Costa Marchesan – Consultório em Santa Maria
- Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann – UFJF
- Prof. Msc. Marcos Pisarski Júnior – UEG
- Prof. Dr. Marcos Pereira dos Santos – FAQ
- Prof. Dr. Mario Rodrigo Esparza Mantilla – UNAM (Peru)
- Profa. Msc. Mary Jose Almeida Pereira – SEDUC/PA
- Profa. Msc. Nila Luciana Vilhena Madureira – IFPA
- Profa. Dra. Patrícia Maurer
- Profa. Msc. Queila Pahim da Silva – IFB
- Prof. Dr. Rafael Chapman Auty – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Rafael Felipe Ratke – UFMS
- Prof. Dr. Raphael Reis da Silva – UFPI
- Prof. Dr. Ricardo Alves de Araújo – UEMA
- Prof. Dr. Wéverson Lima Fonseca – UFPI
- Prof. Msc. Wesclen Vilar Nogueira – FURG
- Profa. Dra. Yilan Fung Boix – UO (Cuba)
- Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – UFT

Conselho Técnico Científico
- Esp. Joacir Mário Zuffo Júnior
- Esp. Maurício Amormino Júnior
- Esp. Tayronne de Almeida Rodrigues
- Lda. Rosalina Eufrausino Lustosa Zuffo

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
T673	Tópicos em ciência dos alimentos [livro eletrônico] : volume II / Organizador Wesclen Vilar Nogueira. – Nova Xavantina, MT: Pantanal Editora, 2021. 81p. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web ISBN 978-65-88319-69-7 DOI https://doi.org/10.46420/9786588319697 1. Alimentos – Análise. 2. Tecnologia de alimentos. I. Nogueira, Wesclen Vilar. CDD 664.07
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

O conteúdo dos e-books e capítulos, seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva do(s) autor (es) e não representam necessariamente a opinião da Pantanal Editora. Os e-books e/ou capítulos foram previamente submetidos à avaliação pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação. O download e o compartilhamento das obras são permitidos desde que sejam citadas devidamente, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais, exceto se houver autorização por escrito dos autores de cada capítulo ou e-book com a anuência dos editores da Pantanal Editora.



Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000. Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil.
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp).
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br

APRESENTAÇÃO

A economia mundial provoca com frequência grandes mudanças nos setores produtivos de alimentos. Desta forma, desafios diários são impostos para que o processamento de alimentos contemple as exigências dos consumidores e legislação vigente. Assim, conhecer alguns pontos que podem interferir ou contribuir para a produção de alimentos é de extrema importância.

Neste sentido, o segundo volume do e-book *Tópicos em Ciência dos Alimentos* aborda pontos importantes para produção de alimentos como: ocorrência de contaminantes em bebidas, determinação de metabólitos secundários de plantas e bioacessibilidade de compostos. Além disso, relata algumas alternativas que contribuem para o aumento da produção de alimentos (e.g. aditivos e melhoramento genético).

O conteúdo abordado demonstra a multidisciplinaridade da área de Ciência dos Alimentos sobre diferentes aspectos e realidades, de modo a suprir a escassez de material na literatura sobre os assuntos muitas vezes desconhecidos. Além disso, contribui para o acesso ao conhecimento em uma linguagem contextualizada e de fácil compreensão aos leitores. Assim, espero que os temas sejam de grande proveito e ofereçam subsídios teórico-metodológicos para profissionais da área de Ciência dos Alimentos e áreas afins.

O organizador

SUMÁRIO

Apresentação	4
Capítulo I	6
Micotoxinas em cervejas: ocorrência e risco de exposição para população brasileira	6
Capítulo II	20
Determinação de compostos fenólicos em frutas e tendências na avaliação dos seus teores bioacessíveis: Uma revisão	20
Capítulo III	41
A importância do melhoramento genético de tilápia na produção de alimentos	41
Capítulo IV	55
A dinâmica do resíduo de ractopamina na produção de suínos: farinha de carne e ossos, tecidos e urina	55
Capítulo V	71
Mitigação de contaminantes em alimentos	71
Índice Remissivo	81

A dinâmica do resíduo de ractopamina na produção de suínos: farinha de carne e ossos, tecidos e urina

Recebido em: 15/05/2021

Aceito em: 19/05/2021

 10.46420/9786588319697cap4

Vivian Feddern^{1*} 

Vanessa Gressler² 

Carolina Naves Aroeira^{3,8} 

Osmar Antonio Dalla Costa⁴

Carmen Josefina Contreras-Castillo⁵ 

Jane de Oliveira Peixoto⁶ 

Mônica Corrêa Ledur⁷ 

INTRODUÇÃO

A demanda por proteínas de origem animal para o consumo humano está aumentando globalmente a uma taxa sem precedentes devido ao aumento populacional, e em alguns países, em virtude do aumento do poder aquisitivo dos consumidores. Além disso, os alimentos considerados saudáveis estão na preferência da maioria dos consumidores. No que se refere à carne, o nutriente que vem sendo considerado como um vilão desta categoria, são os lipídios. Portanto, melhorias na saúde animal, genética e tecnologias nutricionais, especialmente como a utilização de agonistas β -adrenérgicos em dietas, têm se tornado importante para auxiliar o sistema produtivo a atender a essa crescente e seletiva demanda de carne com baixo conteúdo de gordura (Almeida et al., 2012). O cloridrato de ractopamina (RAC) é convencionalmente usado na produção de suínos e bovinos de corte (com exceção do Brasil), sendo um aditivo capaz de redirecionar os nutrientes, atuando como um agente repartidor de energia, resultando em uma maior produção de tecidos musculares e uma redução no teor de gordura da carne (Almeida et al., 2012; Ferreira et al., 2013; Niño et al., 2017).

A RAC também é convencionalmente utilizada na produção de suínos por melhorar a eficiência alimentar (Hagenmaier et al., 2017), ou seja, é necessária a utilização de uma menor quantidade de ração para produzir 1 kg de carne. Considerando que a ração contribui por volta de 80% do custo de produção de suínos, tecnologias que propiciam a sua diminuição tem sido cada vez mais procuradas, e tendo um papel relevante na cadeia de produção. Além disso, por ser necessário menor quantidade de alimento para

^{1,2,4,6,7} Embrapa Suínos e Aves, BR 153, km 110, 89715-899 Concórdia/SC, Brasil.

^{3,5} Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Cx. Postal 9, 13418-900 Piracicaba/SP, Brasil.

⁸ AgroProx Ltda, Av. Limeira, Areião, 13414-018, Piracicaba/SP, Brasil.

* Autora correspondente: vivian.feddern@embrapa.br

contribuir com o ganho de peso animal, isso faz com que a demanda por ração, água, mão de obra, tempo e geração de dejetos diminuam.

De acordo com Ross et al. (2011), a RAC traz outros benefícios ambientais, como a redução da pegada de carbono. Seu estudo demonstrou que a suplementação com RAC contribuiu para que a excreção de nitrogênio reduzisse em 5%, quando comparado ao grupo controle. Do mesmo modo, houve um aumento na deposição de proteína de 162 g/dia para 185 g/dia, enquanto a deposição de gordura diminuiu de 620 g/dia para 462 g/dia. Além disso, ao utilizar 10 mg/kg de RAC na ração, a ingestão diária de água foi reduzida em 1 L e a excreção em 0,7 L, o que significa redução dos requerimentos de água para suínos na fase de terminação. Devido a seus benefícios, segundo Cromwell (2009), o uso de RAC foi classificado no século passado como a 13ª tecnologia de maior sucesso na nutrição suína.

Através de simulações técnico-econômicas da inclusão de RAC em dietas de suínos em terminação, Brumatti e Kiefer (2010) ao avaliarem o sistema de receita por bonificação e por peso vivo utilizando de 0 a 20 mg/kg de RAC na ração, observaram que o lucro máximo (diferencial de até R\$ 11,15/cabeça) foi obtido com a inclusão de 12 mg/kg de RAC, enquanto o menor lucro, sem adição de RAC, foi de R\$ 43,01/cabeça.

Analisando a dieta dos suínos, os grãos de cereais e o farelo de soja respondem por aproximadamente 70% dos ingredientes da ração na maioria dos países (Fávero et al., 2003). As oscilações no custo da soja têm incentivado produtores e indústrias a substituir parcialmente essa fonte de proteína por farinha de carne e ossos (FCO). Esses subprodutos são produzidos em usinas de processamento ou fábrica de farinhas a preços competitivos e, sua utilização minimiza os impactos ambientais ao oferecer um destino correto (reciclagem) a estes resíduos gerados nos frigoríficos.

A FCO é considerada um importante subproduto da cadeia de suínos e aves, sendo composta por majoritariamente órgãos dos animais abatidos, possuindo um grande valor nutricional. Devido ao seu conteúdo de aminoácidos, minerais (cálcio e fósforo) e vitamina B₁₂ (Jayathilakan et al., 2012; NRC, 2012), a FCO é utilizada para compor dietas como fonte proteica em substituição parcial à farinha de soja, sendo superior aos ingredientes vegetais. Este emprego da FCO diminui o custo de produção animal e aumenta a competitividade do Brasil frente aos demais países produtores de carne. Além disso, a FCO é consumida por diferentes espécies animais (suínos, aves, cavalos, peixes e animais domésticos) em diversos países (Johnson et al., 2011), os quais possuem sua forma particular de produção desta farinha. De acordo com Li et al. (2018), a FCO proveniente de suínos é muito utilizada nos Estados Unidos. Karakas et al. (2001) também relataram a importância desta farinha na alimentação de monogástricos, como as aves e os suínos.

No entanto, a FCO obtida a partir do abate de suínos pode conter concentrações indesejáveis de resíduo de RAC. Considerando que aproximadamente 20% dos suínos (partes não aproveitadas pelos frigoríficos) são direcionados para a produção de FCO, informações sobre a quantidade de resíduos de

RAC presentes nestas farinhas podem se tornar motivo de preocupação, uma vez que não se tem o controle sobre os resíduos de RAC presentes nos mesmos. Desta forma, ao se utilizar a FCO como ingrediente na dieta dos suínos, tem-se o risco de a mesma conter resíduos de RAC, e assim, no balanço total da dieta do animal, a dosagem de RAC pode ultrapassar o limite máximo permitido por normativas nacionais e internacionais.

Mas por que existe essa preocupação em relação à RAC? Apesar dos benefícios citados previamente, existem estudos que indicam que a RAC tem implicações toxicológicas e farmacológicas, e por isso, a União Europeia (EU), China e Rússia, países com forte atuação na comercialização de carnes e produtos cárneos, proibiram seu uso como aditivo na ração animal e impuseram programas de rastreabilidade a fim de obter maior controle sobre o produto final e o mercado. Dependendo da espécie animal, em geral, o uso da RAC é permitido em países como Estados Unidos, Canadá, México e Coréia do Sul, enquanto é banido ou restringido em 160 países (Pacelle, 2014; Valesse et al., 2016; Liu et al., 2020).

Em países que permitem sua utilização, a mesma é regulamentada. No Brasil, a RAC pode ser adicionada à ração de suínos apenas na fase de terminação (últimos 28 dias antes do abate) na concentração de 5 a 20 mg/kg para melhorar a eficiência alimentar (Ungemach, 2004; Brasil, 2015). Os níveis e a presença de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal são legislados em diferentes países e a maioria deles segue as diretrizes do *Codex Alimentarius*. Com relação à RAC, uma ingestão diária aceitável (ADI) de 0-1 g/kg de peso corporal foi estabelecida e o limite máximo de resíduos (LMR) foi recomendado (JECFA, 2014). Para tecidos de bovinos e suínos (90 µg/kg em rim; 40 µg/kg em fígado; e 10 µg/kg em músculo e gordura), porém, o Brasil não autoriza seu uso em bovinos.

Como a UE e a China respondem por volta de 70% da produção mundial de suínos e têm política de tolerância zero para resíduos de RAC (Alemanno e Capodiecì, 2012; ABPA 2020), esta política vêm afetando as exportações brasileiras de carne e produtos cárneos. Esta divisão legalizada de acordo com as normas de cada país ou blocos, tem colocado a RAC como um potencial objeto de disputas comerciais. De acordo com Alemanno e Capodiecì (2012), a RAC deve se tornar não apenas uma fonte de preocupação pública, mas também o gatilho de uma disputa comercial transatlântica sem fim. Recentemente, o mercado canadense de exportação de carne suína sofreu proibições da Rússia, e a exportação de carne suína do país foi prejudicada devido aos resíduos de RAC, resultando em perda de receita de cerca de US\$ 260 milhões, conforme relatado por Sullivan (2013).

Existem produtos e/ou estratégias alimentares possíveis de serem aplicadas na alimentação de suínos que produzem alguns resultados como os promovidos pelo fornecimento de RAC em suas dietas. Porém, não existe nenhuma informação na literatura nacional e internacional de um substituto com as mesmas características da RAC, principalmente, no que diz respeito em manter a mesma eficiência de utilização da proteína na dieta para o crescimento muscular.

Desta forma, o objetivo deste capítulo é abordar a dinâmica do resíduo de RAC na produção de suínos, contemplando desde a análise de estudos de resíduos de RAC em FCO usada na ração, por meio da varredura realizada em indústrias, até resíduos de RAC em tecidos (lombo, fígado, rim e pulmão) e urina de leitões tratadas com ração contendo quantidade conhecida de RAC, que obtiveram um percentual crescente de FCO na composição da ração, conforme esquematizado na Figura 1, e suas implicações perante as legislações vigentes.

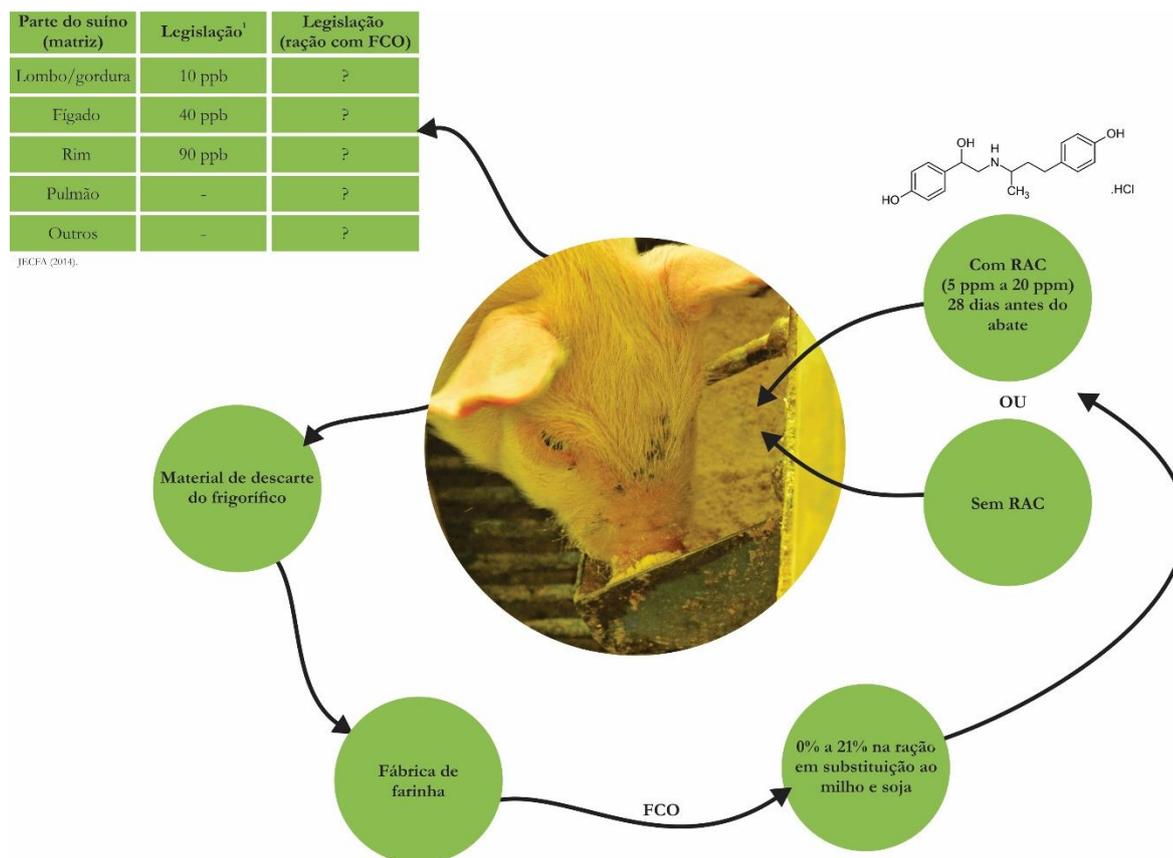


Figura 1. A dinâmica do resíduo de ractopamina na produção de suínos. Fonte: Os autores, com design gráfico de Vivian Fracasso.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos de extração de RAC em farinha de carne e ossos, tecidos e urina

a) Farinha de Carne e Ossos: As amostras de FCO foram homogeneizadas e pesadas ($5,00 \pm 0,05$ g) em tubos de polipropileno de 50 mL e 5 mg de protease, 15 mL de tampão Tris (1 M, pH 9.5) e 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de padrão interno (PI) isoxsuprina foram adicionados. A mistura foi agitada em vórtex por 1 min e digerida *overnight* a 60 °C. Após resfriamento a temperatura ambiente, foram adicionados 3 mL de tampão acetato de amônio (2 M, pH 5,2) e o pH ajustado para 4,5 – 5,0 com HCl 4 M. Após, 100 μL de β -glucuronidase (~100.000 unidades/mL) foram usados para hidrolisar os conjugados da RAC e liberar

RAC livre em banho maria (2 h a 65 °C). Após resfriamento, as amostras foram ajustadas para pH 12 com NaOH 10 M. A extração e *clean-up* por QuEChERS iniciou pela adição de 10 mL de acetonitrila seguido de agitação em vórtex por 1 min. Após, os sais de QuEChERS (4,0 g de MgSO₄, 1,0 g of NaCl, 1,0 g de citrato de sódio tribásico diidratado e 0,5 g de citrato de sódio dibásico sesquidratado) foram adicionados aos tubos, seguido de agitação (1 min) e centrifugação (1.780 g, 10 min). Uma alíquota de 6 mL do sobrenadante foi transferido para um tubo de centrifugação de 15 mL contendo uma mistura de 900 mg of MgSO₄, 150 mg de PSA e 150 mg of C18E (dSPE) para realização do *clean-up* da amostra. Esta mistura foi agitada por 1 min e centrifugada a 1.780 g por 10 min. O sobrenadante (1 mL) foi transferido para *vial* para posterior análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), segundo Gressler et al. (2016).

b) Tecidos (lombo, fígado, rim e pulmão): Para as amostras de tecidos, o procedimento de extração utilizado foi baseado no aplicado para FCO, tendo como única diferença a quantidade adicionada de tampão Tris (1 M, pH 9.5), que foi de 5 mL (Gressler et al., 2018; Feddern et al., 2018).

c) Urina: As amostras de urina (5 mL) foram homogeneizadas e transferidas para tubo de polipropileno de 50 mL e o PI (isoxsuprina) adicionado (10 µg/L) e o pH ajustado para 4,5 – 5,0 com HCl 4 M. Após, 75 µL de β-glucuronidase (~100.000 unidades/mL) foram usados para hidrólise da RAC em banho maria (2 h, 65 °C). Após resfriamento, as amostras foram ajustadas para pH 7,0 com NaOH 1 M. Para a etapa de extração em fase sólida (SPE) os cartuchos foram ativados com 1 mL de metanol, seguido de 1 mL de água Milli-Q e 1 mL de tampão acetato de amônio (25 mM, pH 6,7). As amostras de urina foram adicionadas ao cartucho seguido de lavagem do cartucho com 1,0 mL de acetonitrila (1% ácido acético), 1 mL de tampão acetato de amônio (50 mM, pH 6,7) e 1 mL de 60% de acetonitrila em água, e aplicação de vácuo por 2 min. A eluição da RAC do cartucho foi realizada com 3 mL de metanol contendo 10% de ácido acético. Após as amostras foram evaporadas em nitrogênio gasoso a 55 °C até *secura*. As amostras foram ressuspensas em 500 µL de metanol e 500 µL de água para posterior análise por LC-MS/MS (Gressler et al., 2018).

Análise de RAC por LC-MS/MS

Para a separação cromatográfica, foi utilizado o cromatógrafo líquido Thermo Surveyor Plus equipado com degaseificador. A separação cromatográfica foi realizada com a coluna Kinetex C18 100A (10 mm x 4,6 mm, 5 µm, Phenomenex) com coluna guarda C18 (Phenomenex). Os solventes de eluição utilizados foram (A) metanol com 0,1% de ácido fórmico e (B) água com 0,1% de ácido fórmico com fluxo de 1 mL/min e bombeados para a coluna conforme programa descrito na **Tabela 1**. A temperatura da coluna foi mantida a 30 °C e o volume de injeção foi de 10 µL.

Tabela 1. Gradiente de eluição da fase móvel. Fonte: Os autores.

Tempo (min)	Fase móvel A (%)	Fase móvel B (%)
0,0	15	85
0,5	15	85
3,0	100	0
7,0	100	0
7,5	15	85
10,0	15	85
0,0	15	85

Para detecção dos analitos, o espectrômetro de massas triplo quadrupolo Quantum Access Max (Thermo Scientific) foi utilizado, com ionização por electrospray (ESI) no modo positivo e monitorado por MRM (multiple reaction monitoring). Os íons de identificação monitorados foram m/z 302,2 > 284,2 (9 eV), m/z 302,2 > 164,2 (12 eV) e m/z 302,2 > 107,2 (30 eV) para RAC (sendo o íon m/z 164,2 o selecionado também para quantificação) e os íons m/z 302,1 > 284,1 (9 eV) e m/z 302,1 > 150,1 (21 eV) para isoxsuprina (com o íon m/z 150,1 também selecionado para quantificação). Gás nitrogênio foi utilizado como bainha de gás e gás auxiliar a pressões de 45 e 20 psi, respectivamente. A voltagem do spray aplicada foi de 4,5 kV e as temperaturas de vaporização e do capilar foram de 300 e 305 °C, respectivamente. O gás de colisão utilizado foi argônio a 1,7 m Torr.

Devido à complexidade das matrizes, as curvas de calibração foram realizadas em suas respectivas amostras branco. As curvas de calibração para RAC foram construídas em concentrações de 0 a 250 µg/kg para FCO e tecidos e de 0 a 75 µg/L para urina. As amostras foram fortificadas com quantidades apropriadas de padrão de RAC e adicionadas quantidades de 10 µg/kg (ou 10 µg/L, para urina) de isoxsuprina (PI). As curvas de calibração plotadas foram a razão entre a área do pico de RAC/área do pico do PI versus concentração de RAC. O critério de aceitação foi o coeficiente de determinação (R^2) maior que 0,98. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram determinados através da razão sinal-ruído de maior que 3 para o LD e maior que 10 para LQ. Para FCO obteve-se um LD de 1,91 µg/kg e um LQ de 6,36 µg/kg. Para fígado, rim e pulmão, os LD e LQ encontrados foram de 0,5 e 2,5 µg/kg, respectivamente. Para lombo, obteve-se um LD de 0,15 µg/kg e um LQ de 0,5 µg/kg. Já para a urina, o LD encontrado foi de 0,5 µg/L e o LQ de 1,5 µg/L.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parte 1) Resultados nas farinhas de carne e ossos

No Oeste Catarinense, região com alta relevância de produção de FCO oriundas de suínos, foi realizado um estudo publicado por Feddern et al. (2017), onde foram quantificados resíduos de RAC em diferentes fábricas de produção destes subprodutos, totalizando 27 amostras. Os resultados desse estudo mostraram que todas as amostras de FCO analisadas apresentaram resíduos de RAC, conforme observado na Figura 2, porém a concentração variou de 3,87 a 81,25 µg/kg. Estima-se também que a concentração de resíduos de RAC em FCO pode ser ainda superior ao encontrado, devido à variação da composição da matéria-prima.

Encontrar resíduos de RAC em FCO era esperado, visto que a RAC possui estrutura química relativamente estável, inclusive termicamente, portanto ela não se degrada completamente nos processos de cozimento utilizados na fabricação de FCO. A confirmação da presença de RAC em FCO instigou a investigação *in vivo* a fim de avaliar se esta quantidade de RAC seria passível de ser transferida a algum tecido dos suínos após consumo de ração contendo FCO “contaminada” com RAC. Como o Brasil exporta para diferentes mercados, é imperativo a garantia da elegibilidade de seus produtos frente aos países importadores de acordo com a legislação vigente no que concerne ao uso deste aditivo que é o mais utilizado na cadeia suinícola na atualidade.

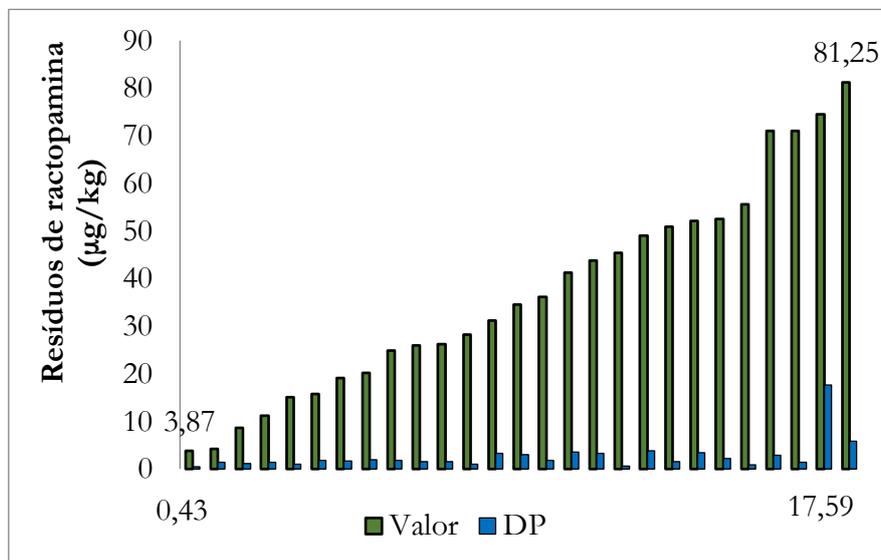


Figura 2. Resultados do monitoramento de 27 amostras quanto aos resíduos de RAC em FCO. Fonte: Feddern et al. (2017).

Parte 2) Resultados da varredura de RAC em lombos de suínos

O monitoramento de resíduos de RAC em lombo (*longissimus dorsi*) faz parte do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) do Governo Federal brasileiro, porém poucas amostras

são coletadas anualmente para este fim. O Sul do Brasil é o maior produtor de carne suína e desta forma, uma avaliação de resíduos de RAC em lombo foi realizada através da coleta aleatória de 48 amostras proveniente de agroindústrias no Norte do Rio Grande do Sul e Oeste de Santa Catarina. A Figura 3 mostra os resultados de resíduos de RAC nos lombos coletados. A concentração mais alta verificada foi de 7,86 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Dentre as amostras analisadas, 10 apresentaram valores abaixo do LD; portanto, a Figura 3 mostra apenas os 38 resultados quantificáveis. Considerando que o Brasil segue a legislação do *Codex Alimentarius* que adota limites máximos de resíduos (LMR) de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para esta matriz, como todas as amostras de lombo analisadas apresentaram resultados abaixo deste limite, as mesmas estão de acordo com a legislação e podem ser consideradas seguras para consumo humano.

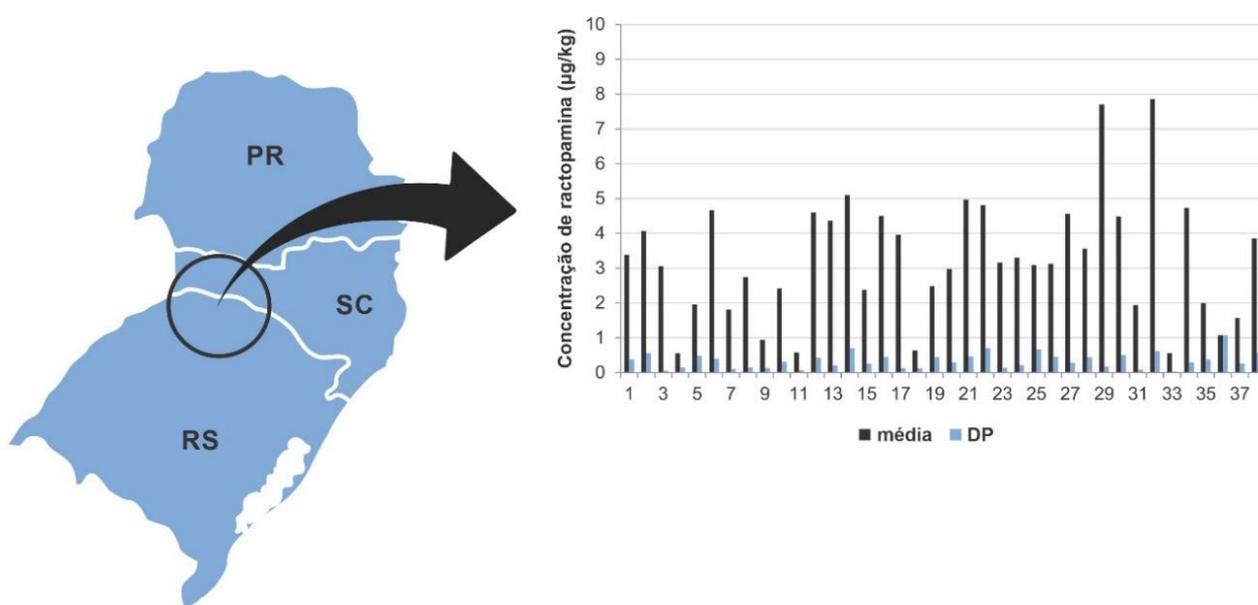
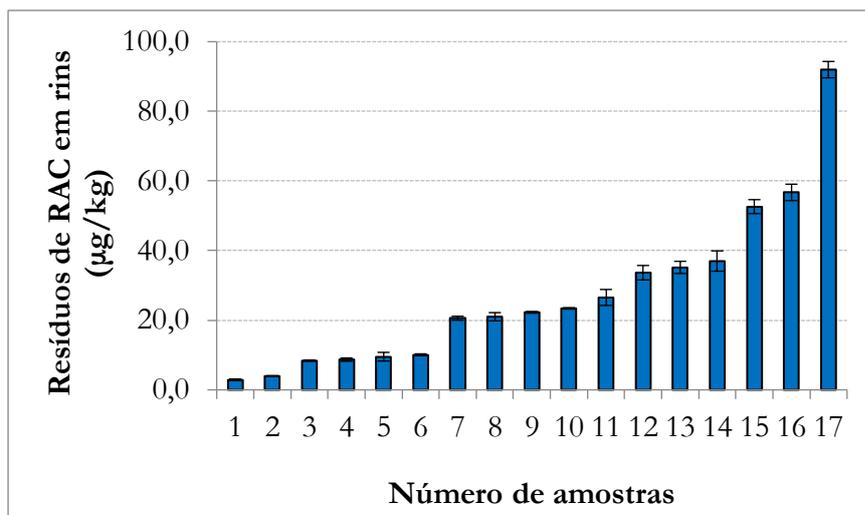


Figura 3. Concentração de RAC em lombos suínos de várias agroindústrias. LD = 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Fonte: Adaptado de Gressler et al. (2018), com design gráfico de Marina Schmitt.

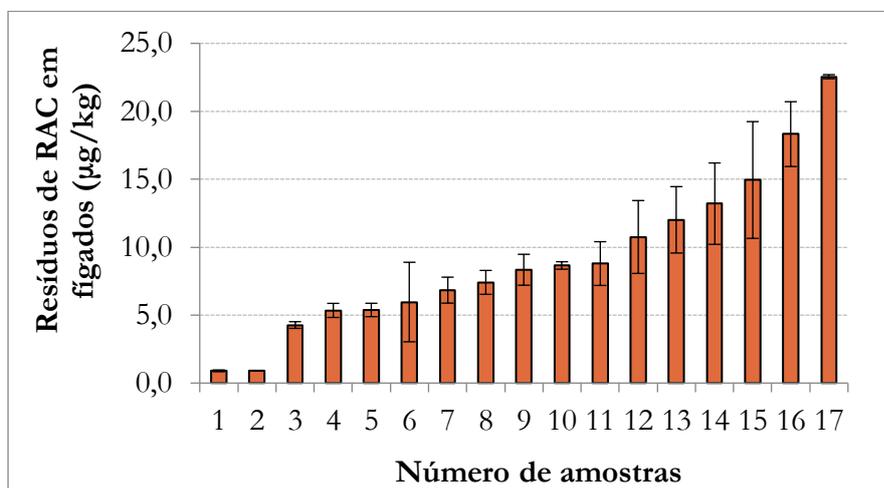
Parte 3) Resultados da varredura de RAC em tecidos de suínos

Da mesma forma que em lombos, amostras de rins, fígados e pulmões de suínos ($n = 17$, cada) coletados aleatoriamente de agroindústrias foram analisadas a fim de se conhecer o perfil de resíduos de RAC. A Figura 4 a, b, c mostra a concentração média de resíduos de RAC encontrados, respectivamente, em rins, fígados e pulmões.

a)



b)



c)

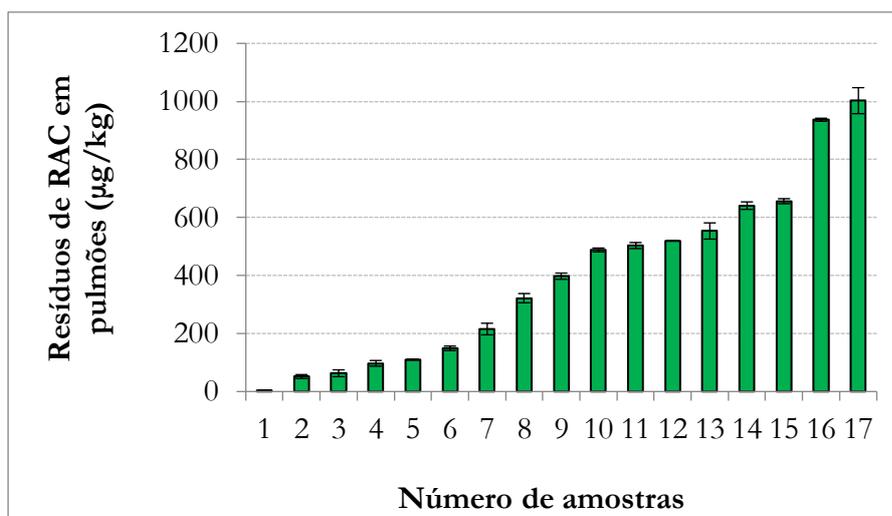


Figura 4. Concentrações de RAC em rins (a), fígados (b) e pulmões (c). LD = 0,5 µg/kg para rins e fígados e 1,0 µg/kg para pulmão; LQ = 2,5 µg/kg para todos os tecidos. Fonte: Os autores.

Conforme pode ser observado, os valores $\mu\text{g}/\text{kg} \pm \text{DP}$ (Desvio Padrão) variaram de $2,9 \pm 0,2$ a 92 ± 2 para rins, $0,9 \pm 0,1$ a $22,5 \pm 0,1$ para fígados e para pulmões de $<\text{LQ}$ a 1.003 ± 45 . Em relação a estes, os resultados encontrados para rins e fígados estão dentro dos limites estabelecidos pela legislação nacional e internacional, que preconiza LMR de RAC de 90 e 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. Contudo, observa-se que uma das amostras de rim teve resultado no limite máximo permitido, porém ao se considerar seu DP, a mesma fica dentro do LMR.

Comparando estes tecidos, os pulmões foram aqueles que apresentaram as maiores concentrações de RAC. Apesar desta alta concentração, não há restrições estabelecidas pelo *Codex Alimentarius* quanto ao LMR desse aditivo para os pulmões. Contudo, estudos são necessários para auxiliar órgãos regulamentadores a estipularem o LMR nos pulmões, uma vez que os mesmos são comercializados, por exemplo, na China (Oh e See, 2012), podendo ser prejudiciais aos consumidores se resíduos de RAC estiverem presentes em altas concentrações. Segundo Alemanno e Capodici (2012), países como China e Taiwan com tolerância zero em relação à resíduos de RAC em produtos cárneos, consomem mais órgãos internos do que os consumidores americanos e europeus.

Dong et al. (2011) analisaram uma maior variedade de tecidos, e ao adicionarem 20 mg/kg de RAC na ração de suínos por 30 dias consecutivos observaram que as maiores concentrações foram encontradas em 0,5 dias de retirada, na seguinte ordem decrescente: pulmão (599 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > rim (144,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > intestino delgado (76,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > intestino grosso (61,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > fígado (50,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > estômago (49,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > coração (15,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > músculo (7,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$). No entanto, aos 5 dias de período de retirada, todos os níveis caíram para valores dentro da legislação, e portanto os autores recomendaram que fosse estabelecido 5 dias de período de retirada da RAC antes do abate. Neste estudo, realizado na China, foram encontradas concentrações bastante altas comparadas com os limites existentes para outras matrizes, com destaque para os pulmões, que devido à falta de legislação, apresenta risco, conforme comentado.

Esta alta quantificação de RAC encontrada nos pulmões pode ser devido ao alto número de receptores β -agonistas presentes nestes órgãos (Antignac et al., 2002), o que contribui para a maior deposição de RAC devido à interação molécula/receptor. Além disso, o comportamento do suíno que usa o focinho para explorar o ambiente, procurando, cheirando, mastigando, pode ter possibilitado a inalação de partículas de RAC da ração (Vaarst et al., 2004). O pulmão, em específico, tem sido um dos órgãos foco de interesse quando se deseja analisar a presença ou ausência de RAC como forma de monitoramento.

Parte 4) Resultados em tecidos e urina de leitões alimentadas com FCO contendo RAC

Apesar dos resultados mostrarem que os lombos, fígado e rins de suínos obtiveram resultados de resíduo de RAC dentro do permitido pela legislação vigente (parte 2 e 3), a comprovação de que a

alimentação oferecida a estes animais possuía ou não FCO em sua composição é um desafio. Além disso, as altas concentrações de RAC em pulmão (tecido comumente destinado à fabricação de FCO) levou a pesquisas avaliando a presença de resíduos de RAC em tecidos (lombo, fígado, rins e pulmões) e de urina de leitoas após serem alimentadas com ração contendo diferentes percentuais de FCO com resíduo conhecido de RAC.

Experimento fornecendo 4 diferentes níveis de inclusão (0, 7, 14 e 21%) de FCO (contendo 53,5 µg/kg de RAC) na dieta de 40 leitoas por 112 dias (dos 63 aos 175 dias), em que a FCO substituiu o percentual de farelo de soja, foi realizado por Aroeira et al. (2019). As amostras de lombo, fígado, rim e pulmões de cada animal foram coletados na linha de abate e analisadas quanto à concentração residual de RAC. Os resultados mostraram concentrações abaixo do LQ do método utilizado (LQ de 0,5, 2,5, 2,5 e 2,5 µg/kg para lombo, fígado, rim e pulmão, respectivamente). Portanto, a inclusão de FCO na dieta, mesmo sendo administrada por um período mais longo, não acarretou em uma deposição significativa de RAC nos tecidos avaliados.

Neste estudo, também foi avaliada a concentração de RAC na urina destas leitoas ao longo do experimento (dias 0, 28, 56, 84 e 112) e os resultados estão apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Resíduos de ractopamina (µg/L)* em urina de leitoas alimentadas com concentrações crescentes de FCO na ração. Fonte: Os autores.

Dia de coleta	Tratamento			
	0% FCO	7% FCO	14% FCO	21% FCO
0	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
28	< LQ	0,75 ± 0,05	0,83 ± 0,04	1,35 ± 0,08
56	< LQ	< LQ	0,54 ± 0,11	0,58 ± 0,06
84	< LQ	< LQ	< LQ	0,62 ± 0,08
112	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ

* Valores são médias ± DP de três repetições. LQ = limite de quantificação = 0,5 µg/L; FCO = farinha de carne e ossos, adicionada à dieta de leitoas.

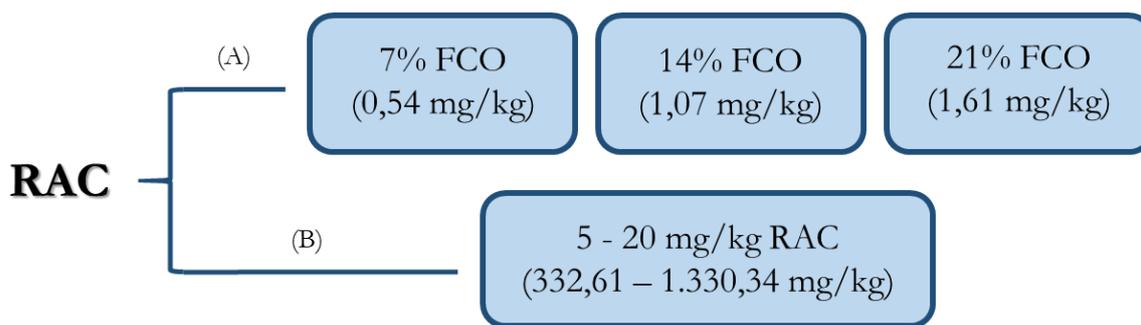
Conforme mostram os resultados da Tabela 2, foi detectado no máximo 1,35 µg/L de RAC na urina de leitoas no tratamento com maior nível de inclusão de FCO (21%), concentração residual esta considerada baixa, comparada com a literatura (Qiang et al., 2007; Thompson et al., 2008). Niño et al. (2017) afirmaram que se concentrações menores que 1 µg/L são detectadas na urina, a probabilidade é de que no lombo deste animal não seja quantificado resíduos de RAC.

É importante ressaltar que no estudo de Aroeira et al. (2019), a RAC foi veiculada exclusivamente via FCO durante as fases de criação dos suínos desde a 9ª semana até o dia do abate (63 + 112 dias), e não

via adição do produto comercial à ração, nos 28 dias que antecedem o abate, possibilitando, com isso, que houvesse maior tempo de deposição de resíduos do que em outros trabalhos relatados na literatura como o de Qiang et al. (2007).

Neste experimento, a FCO foi um subproduto proveniente da produção de suínos que receberam o nível máximo de 20 mg/kg de RAC, conforme preconizado pela legislação brasileira. A utilização de uma quantidade de 53,5 µg/kg de RAC na FCO para este experimento, foi devido ao valor médio encontrado das FCO que são comercializadas, e em nível experimental houve uma substituição de até 21% de FCO na ração animal, a fim de analisar a utilização de uma alta concentração de FCO para simular o que tem sido praticado rotineiramente na produção de suínos, e verificar se a RAC se acumula nos tecidos e urina por ser fornecida em maiores quantidades, por um maior tempo. Assim, de acordo com os resultados observados na Tabela 2, embora a varredura de 27 amostras de farinhas coletadas em diferentes indústrias (Figura 2) tenha mostrado uma grande variação de RAC, concentrações em torno de 50 µg/kg de RAC são comumente encontradas em FCO (Gressler et al., 2016; Feddern et al., 2017), o que torna seguro a utilização deste subproduto na alimentação animal quanto aos resíduos de RAC para mercados não restritivos, ou seja, onde a RAC é permitida.

Ainda no experimento realizado por Aroeira et al. (2019), foi calculada uma estimativa do consumo de RAC por cada animal comparando-se o consumo via FCO contendo RAC (53,5 µg/kg), com inclusão de 7, 14 e 21% e consumo de RAC via comercial (forma sintética), a qual é adicionada na ração em dose que legalmente pode variar de 5 a 20 mg/kg (Esquema 1). Conforme observado, mesmo na maior inclusão de FCO na dieta (21%), ao longo da vida do animal, há um consumo estimado total de 1,61 mg/kg de RAC, valor muito abaixo do que aquele estimado pelo consumo da RAC comercial. Apesar de parecer alto o valor estimado de 1330,34 mg/kg de RAC é importante salientar que é considerado seguro, uma vez que vários estudos já asseguram este nível de dosagem na fase de terminação (20 mg/kg). Conforme comentado, e observado nos experimentos aqui destacados, a RAC não se acumula ao longo da vida do animal, sendo metabolizada e eliminada, com isso, não há risco de deposição acentuada em tecidos comestíveis, uma vez que as dosagens recomendadas sejam respeitadas.



(A) na FCO adicionada à ração das fases de crescimento e terminação
 (B) na ração (últimos 28 dias antes do abate)

Esquema 1. Consumo estimado de RAC por animal analisado via FCO (com inclusão de 7, 14 e 21%) contendo RAC, e via o fornecimento de RAC de uso comercial. Fonte: Adaptado de Aroeira et al. (2019).

CONCLUSÕES

O uso da RAC na alimentação de suínos e bovinos como repartidor de energia é motivo de controvérsias e imposição de barreiras comerciais no mundo. O Brasil, sendo um dos principais produtores de carne suína, atende demandas tanto para os mercados restritivos quanto para os não restritivos, portanto necessita de um controle aprimorado de sua utilização.

Desta forma, o desenvolvimento de métodos eficientes de detecção de RAC em diferentes matérias-primas, bem como sua aplicabilidade para diferentes amostras é de extrema relevância para fins de controle oficial na verificação da conformidade com os limites regulatórios. Além disso, este controle é imprescindível dentro das empresas, que buscam ingredientes livres desse aditivo e precisam garantir suas exportações para mercados que restringem o uso de RAC. Assim, a existência de metodologias de análises sensíveis, precisas, rápidas e simples, como as demonstradas neste capítulo, por QuEChERS-LC-MS/MS e SPE-LC-MS/MS, facilitam a fiscalização por parte dos órgãos oficiais desse resíduo na produção de suínos e na saúde humana.

Considerando que, em se tratando de RAC, existem apenas LMR estabelecidos para músculo/gordura, fígado e rim, e que concentrações consideravelmente mais altas foram encontradas em pulmões, é de se questionar a necessidade de definição de um LMR para esta matriz, visto que, uma vez detectado RAC nos pulmões, tem-se um forte indício de que aquela granja/sistema utilizou este aditivo na ração ou que houve uma contaminação cruzada, e desta forma, não se deve direcionar os produtos cárneos contendo qualquer traço de RAC para mercados restritivos, evitando assim, embargos e constrangimentos internacionais.

Por outro lado, os estudos utilizando FCO contendo resíduos de RAC (53,5 µg/kg) na alimentação de suínos (até 21%) mostrou não ser um fator de risco para a produção de carnes destinados a mercados não restritivos, pois as amostras de lombo, fígado rim e pulmão destes animais não apresentaram

concentrações quantificáveis de RAC. Nesse sentido, esses tecidos podem ser considerados seguros para os consumidores. Além disso, poucos resíduos foram eliminados pela urina (máximo 1,35 µg/L). Com estes resultados, a FCO, que é um subproduto de alto valor nutricional e baixo custo, passa a apresentar mais um fator favorável para sua utilização, tornando-se viável e atrativa para a produção de suínos. No entanto, para mercados que não aceitam o uso de RAC, essas farinhas não devem ser adicionadas à dieta, pois um controle extremamente rigoroso deve ocorrer para atender aos parâmetros solicitados.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Federal de Defesa Animal - LFDA/RS, Seção Laboratorial Avançada SLAV, de São José/SC, pelo auxílio nas determinações cromatográficas. À FAPEG, pelo apoio financeiro na publicação do artigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. (2020). Relatório Anual. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <<http://abpa-br.org/relatorios/>>. Acesso em: 31/08/2020.
- Alemanno A et al. (2012). Testing the limits of global food governance: The case of ractopamine. *Eur J Risk Regul.* 3: 400–407.
- Almeida VVD et al. (2012). Ractopamine as a metabolic modifier feed additive for finishing pigs: a review. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(3): 445–456.
- Antignac JP et al. (2002). Identification of ractopamine residues in tissue and urine samples at ultra-trace level using liquid chromatography–positive electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B.* 774: 59–66.
- Aroeira CN et al. (2019). Determination of ractopamine residue in tissues and urine from pig fed meat and bone meal. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(3): 424–433.
- Brumatti RC et al. (2010). Simulação técnico-econômica da inclusão de ractopamina em dietas de suínos em terminação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(1): 163–171.
- Brasil (2015). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Tabela de Aditivos Antimicrobianos, Anticoccidianos e Agonistas com uso Autorizado na Alimentação Animal. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>. Acesso em 16/05/2021.
- Cromwell GL (2009). ASAS centennial paper: landmark discoveries in swine nutrition in the past century. *Journal of Animal Science*, 87(2): 778–792.

- Dong Y et al. (2011). Validation of an ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of ractopamine: Application to residue depletion study in swine. *Food Chemistry*, 127: 327–332.
- Fávero JA et al. (2003). Sistema de Produção, 1, Sistema de Produção de Suínos, Nutrição. ISSN 1678-8850. Versão Eletrônica Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/SP/suinos/nutricao.html>. Acesso em: 16/05/2021.
- Feddern V et al. (2017). A farinha de carne e ossos com resíduos de ractopamina pode ser utilizada com segurança na alimentação de suínos?. *Embrapa Suínos e Aves-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*. ISSN: 0100-8862. Concórdia/SC, Brazil.
- Feddern V et al. (2018). Ractopamine analysis in pig kidney, liver and lungs: A validation of the method scope extension using QuEChERS as a sample preparation step. *Journal of Chromatography B*, 1091: 79–86.
- Ferreira AS et al. (2013). Ractopamine for pigs: a review about nutritional requirements. *of Basic and Applied Sciences*, 9: 276–285.
- Gressler V et al. (2018). Application of enzyme digestion and deconjugation followed by Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry methodology to determine ractopamine residue in pork. 2018. *Journal of Food Protection*, 81(8): 1258–1263.
- Gressler V et al. (2016). Development of a readily applied method to quantify ractopamine residue in meat and bone meal by QuEChERS-LC–MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 1015–1016: 192–200.
- Hagenmaier JA et al. (2017). Effects of ractopamine hydrochloride on growth performance, carcass characteristics, and physiological response to different handling techniques. *Journal of Animal Science*, 95: 1977–1992.
- JECFA (2014). Residue evaluation of certain veterinary drugs. 78th Meeting 2013, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. FAO/WHO, Rome, Italy.
- Johnson CJ et al. (2011). Meat and bone meal and mineral feed additives may increase the risk of oral prion disease transmission. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 74(2-4): 161–166.
- Jayathilakan K et al. (2012). Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry, and fish processing industries: a review. *Journal of food science and technology*, 49(3): 278–293.
- Karakas P et al. (2001). Nutritive value of the meat and bone meals from cattle or pigs in broiler diets. *Poult Science*, 80: 1180–1189.
- Li MH et al. (2018). Evaluation of porcine meat and bone meal in diets for pond-raised hybrid catfish. *North American Journal of Aquaculture*, 80(1): 69–73.

- Liu J et al. (2020). Ultramarine blue nanoparticles as a label for immunochromatographic on-site determination of ractopamine. *Microchimica Acta*, 187: 1–8.
- Niño AM et al. (2017). The challenges of ractopamine use in meat production for export to European Union and Russia. *Food Control*, 72: 289–292.
- NRC (2012). National Research Council. Nutrient requirements of swine. 11 Revised ed. Washington, D.C. 20418 USA: National Academic Press.
- Oh SH, See MT (2012). Pork preference for consumers in China, Japan and South Korea. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 25(1): 143.
- Pacelle W (2014). Banned in 160 Nations, why is ractopamine in U.S. Pork?. In *Livescience*.
- Qiang Z et al. (2007). Residue depletion of ractopamine and its metabolites in swine tissues, urine, and serum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4319–4326.
- Ross KA et al. (2011). The impact of ractopamine hydrochloride on growth and metabolism, with special consideration of its role on nitrogen balance and water utilization in pork production. *Journal of Animal Science*, 89(7): 2243–2256.
- Sullivan K (2013). Trade stops here! how trade barriers undermine Canada’s international competitiveness. In *London Swine Conference*, 1183 (201.2): 70.
- Thompson CS et al. (2008). Effective monitoring for ractopamine residues in samples of animal origin by SPR biosensor and mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 608: 217–225.
- Ungemach FR (2004). WHO food additives series: 53. Ractopamine (addendum). *IPCS Inchem*, 1: 1-46.
- Vaarst M et al. (2004). *Animal Health and Welfare in Organic Agriculture*, 1st ed., CABI, Wallingford.
- Valese AC et al. (2016). A QuEChERS/LC–MS method for the analysis of ractopamine in pork. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47: 38–44.

ÍNDICE REMISSIVO

A

agrotóxicos, 72, 73
 alimentos, 4, 6, 7, 8, 15, 21, 22, 23, 24, 25, 28,
 30, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 42, 43, 44, 48, 49,
 50, 56, 58, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 81
 aproveitamento, 44, 48, 50

B

bebida alcoólica, 6
 bioacessibilidade, 4, 13, 22, 29, 31, 32, 33, 34,
 35, 36, 37
 bioatividade, 22, 24, 30
 biodisponibilidade, 13, 22, 29, 30, 31, 32
 Brasil, 3, 6, 8, 9, 11, 13, 14, 15, 17, 21, 30, 32, 35,
 36, 37, 42, 43, 44, 45, 46, 49, 51, 52, 53, 54,
 56, 57, 58, 62, 63, 68, 69

C

cadeia produtiva, 44, 45, 46, 52, 72, 78
 cloridrato de ractopamina, 56
 contaminantes de processamento, 72

D

Desoxinivalenol, 9

F

farinha de carne e ossos, 56, 57, 59, 66, 70

I

ingestão diária, 13, 57, 58

L

limite
 de detecção, 61
 de quantificação, 61, 66
 máximo de resíduos, 58

M

melhoramento genético, 4, 42, 43, 44, 46, 48, 50,
 51, 52, 54
 metais pesados, 72, 73
 micotoxinas, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 72, 73,
 74, 75, 76

O

Oreochromis niloticus, 42, 53, 55

P

piscicultura, 43, 46, 47, 54
 processamento de alimentos, 4



 **Wesclen Vilar Nogueira**

Graduado em Engenharia de Pesca pela UNIR. Mestre e doutorando em Engenharia e Ciência de Alimentos pela FURG.



Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp)
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br

