

**UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE – UNIVILLE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE**

FERNANDO MARTINS DE ALBUQUERQUE

**ANÁLISE DE VIABILIDADE DA VALORIZAÇÃO DO RESÍDUOS TRUB
INCORPORADO NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE: UM ESTUDO
EXPERIMENTAL**

JOINVILLE

2020

FERNANDO MARTINS DE ALBUQUERQUE

**ANÁLISE DE VIABILIDADE DA VALORIZAÇÃO DO RESÍDUOS TRUB
INCORPORADO NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE: UM ESTUDO
EXPERIMENTAL**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, pela Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE. Orientador Prof. Dr. Rodolfo Coelho Prates, Coorientador Prof. Dr. Gilmar Sidnei Erzinger.

JOINVILLE

2020

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

A345a Albuquerque, Fernando Martins de
Análise de viabilidade da valorização dos resíduos Trub incorporado na dieta de frangos de corte: um estudo experimental / Fernando Martins de Albuquerque; orientador Dr. Rodolfo Coelho Prates; coorientador Dr. Gilmar Sidnei Erzinger. – Joinville: UNIVILLE, 2020.

81 p.: il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de Joinville)

1. Frango de corte – Alimentação e rações. 2. Cerveja – Indústria - Subprodutos. 3. Resíduos industriais. 4. Indústria avícola. I. Prates, Rodolfo Coelho (orient.). II. Erzinger, Gilmar Sidnei (coorient.). III. Título.

CDD 636.513

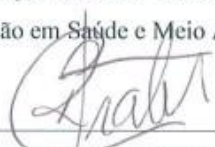
Termo de Aprovação

“Análise da Viabilidade da Inclusão do Trub na Dieta de Frangos de Corte: Um Estudo Experimental”

por

Fernando Martins de Albuquerque

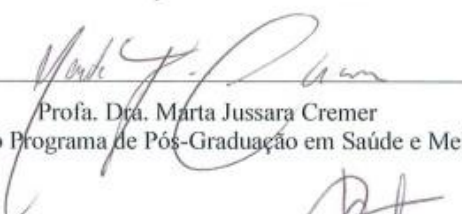
Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.



Prof. Dr. Rodolfo Coelho Prates
Orientador (UNIVILLE)

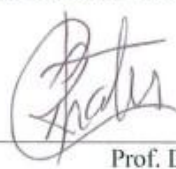


Prof. Dr. Gilmar Sidnei Erzinger
Coorientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Marta Jussara Cremer
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

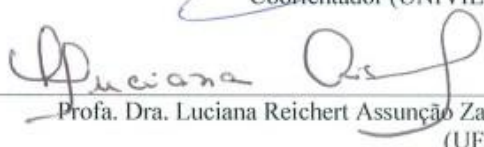
Banca Examinadora:



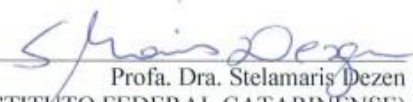
Prof. Dr. Rodolfo Coelho Prates
Orientador (UNIVILLE)



Prof. Dr. Gilmar Sidnei Erzinger
Coorientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Luciana Reichert Assunção Zanon
(UFPR)



Profa. Dra. Stelamariş Dezen
(INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE)



Profa. Dra. Bianca Goulart de Oliveira Maia
(UNIVILLE)

Joinville, 27 de agosto de 2020

LISTA DE ABREVIATURAS

% - Percentual

Ca - Cálcio

CA - Conversão Alimentar

CMR – Consumo de ração por animal

EM – Energia Metabolizável

FEP – Fator de Eficiência Produtiva

GMD – Ganho Médio Diário

kcal – Quilo calorias

kg – Quilograma

Lis. Dig – Lisina digestível

Lis – Lisina

Met + Cis Dig – Metionina mais cistina digestível

Met + Cis – Metionina mais cistina

Met Dig – Metionina digestível

Met – Metionina

NAVES – Número de animais

PB – Proteína Bruta

P14 – Peso das aves aos 14 dias

P21 - Peso das aves aos 21 dias

Pdisp – Proteína disponível

PI – Peso Inicial

REP – Repetição

TRA – Tratamento

Tre - Treonina

Tre Dig – Treonina Digestível

RESUMO

Com a produção de frangos de corte no Brasil aumentando, as exigências para obtenção de carne de forma inócua e sem resíduos de antibióticos é cada vez maior. Diante de sanções comerciais e de potenciais danos à saúde das aves e dos seres humanos, métodos alternativos vêm sendo desenvolvidos visando o controle de várias doenças, incluindo as Salmoneloses. Como métodos alternativos, o reaproveitamento de resíduos da indústria cervejeira se destaca ao proporcionar sustentabilidade ambiental e melhora no desenvolvimento das aves. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é avaliar a viabilidade técnica da inclusão do Trub (resíduo da indústria cervejeira) como aditivo na ração de frangos e sua ação bactericida no combate à *Salmonella* spp. Referente à metodologia, trata-se de estudo experimental, com base na análise de variâncias, contendo um grupo de controle e vários tratamentos. Foram utilizados no experimento 1040 pintinhos machos da linhagem COBB500. Foi inoculado, em todas as aves, um preparado com *Salmonella enteritidis*. O experimento foi organizado em blocos, com arranjo fatorial de 3X3+1 (3 níveis de inclusão de Trub, em 2 períodos diferentes: 1 aos 21 dias para um grupo e 22 a 41 dias para outro grupo, com 3 formas diferentes de inclusão: Ração, Cama, Ração e Cama) com 5 repetições e 9 tratamentos para cada período. No segundo período, houve o acréscimo de mais um tratamento com 15% de inclusão de Trub somente na ração. Em relação aos resultados, o grupo que recebeu a maior quantidade de Trub teve um ganho de peso, que representa cerca de 16% do peso médio de todos os grupos aos 41 dias de vida das aves. O mesmo grupo também foi o que apresentou melhor conversão alimentar, alcançando um padrão médio de 1,7149. O trabalho considera viável utilizar o Trub na dieta de frangos de corte influenciando positivamente o desenvolvimento das aves. Dessa forma, o Trub é capaz de melhorar o desenvolvimento das aves, contribuindo para um ganho ambiental e igualmente um ganho em termos de eficiência técnica, além do potencial para diminuir a contaminação por *Salmonella* spp. Para isso se faz necessário estudos complementares.

Palavras chave: Trub, frangos de corte, resíduo cervejeiro, nutrição, meio ambiente.

ABSTRACT

With the increase of production of broiler in Brazil, the demands to obtain innocuous poultry with no residue of antibiotics are even higher. Due to that, alternative methods have been developed targeting the control of several diseases, including salmonellosis. Within the various alternative methods, one of them shows big potential, which is by using residue of brewing industry, providing both environmental sustainability and increase in poultry yield. Objective Evaluate the technical viability of including Trub (brewing industry residue) as additive in the broiler diet and its bactericidal action against *Salmonella* spp. Methodology experimental study with a control group and several treatments through data quantitative method. In the experiment were used 1040 COBB500 male chicks. Initially, the broilers were experimentally challenged by an inoculum with *Salmonella enteritidis*. The broilers of this study were distributed in experimental block design, with factorial arrangement of 3X3+1 (3 levels of inclusion of Trub, in 2 different periods: one at 21 days for a group and 22 to 41 days for another group, with 3 different ways of inclusion: Food, Bed, Food plus Bed) with 5 repetitions and 9 treatments for each period. In the second period, there was an addition of one more treatment with 15% of inclusion of Trub only in the Food. Results the group that received the biggest amount of Trub had a weight gain, which represents around 16% of the average weight of all the groups at 41 days of life of the chickens. The same group also presented the best feed-gain ratio, reaching an average pattern of 1.7149. Conclusions this present work shows that it is viable to use Trub in the broilers diet influencing positively their development. This way, the Trub, which is normally discarded by the industry, is capable of increasing the development of broilers, contributing to an environmental gain and equally a gain in terms of technical efficiency. Besides that, the use of Trub in ration has the potential to decrease contamination by *Salmonella* spp. For that it is necessary complementary studies.

Keyword: Trub, broiler, brewing residue, nutrition, environment.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 PROBLEMA	17
3 HIPÓTESES	18
4 OBJETIVOS	19
4.1 Objetivo Geral.....	19
4.2 Objetivos Específicos.....	19
5 REVISÃO DE LITERATURA	20
5.1 Produção avícola	20
5.2 Promotores do Crescimento	20
5.3 Cama de frangos	22
5.4 <i>Salmonella spp</i>	22
5.5 Alimentos alternativos utilizados na alimentação animal	24
5.6 Produção de cerveja no Brasil	25
5.6.1 Trub no processo de produção de cerveja.....	26
5.6.2 Lúpulo e sua capacidade antimicrobiana.....	27
5.6.3 Características químicas do Trub.....	28
5.6.4 Contaminação ambiental no descarte do Trub	29
5.6.5 Reutilização do Trub e diminuição do impacto ambiental.....	30
6 METODOLOGIA	31
6.1 Procedimentos Estatísticos.....	44
6.2 Critérios de inclusão	45
6.3 Critérios de exclusão	45
6.4 Destino dos animais pós-experimentação	45
6.5 Aspectos éticos.....	45
7 RESULTADOS	46
7.1- Ganho de peso	46
7.2 Conversão alimentar.....	55
7.3 Resultados da necropsia	67

8 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	71
9 CONCLUSÃO	74
BIBLIOGRAFIA	75

1 INTRODUÇÃO

Dados do relatório da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) de 2020 revelam que o Brasil possuía, em 2019, mais de 51,5 milhões de matrizes de corte de frangos alojadas, equivalentes a 13,24 milhões de toneladas produzidas, atrás dos Estados Unidos, com a produção de 19,9 milhões de toneladas e da China com 13,75 milhões de toneladas anualmente. Mesmo diante de uma produção inferior, o Brasil se consolidou como o maior exportador de carne avícola do mundo, sendo o líder mundial desde 2004. Em 2019 o total exportado alcançou a cifra de 4,21 milhões de toneladas com receita de 6,99 bilhões de dólares americanos (ABPA, 2020).

O sistema de exploração avícola predominante no Brasil é o de confinamento total. Nesse sistema, as aves ficam alojadas em galpões, denominados aviários. O início do alojamento se dá a partir do 1º dia de vida das aves e dura até o término da produção, em média aos 42 dias. As aves têm sempre ao seu dispor água e ração, e a temperatura do ambiente é controlada por exaustores, ventiladores, nebulizadores, aquecedores e cortinas. Para conforto e proteção das aves, o piso é recoberto por um material de origem vegetal, na sua maioria composta por maravalha (subproduto do corte da madeira); o mesmo serve como leito para elas, e a este composto denomina-se "cama" (PAGANINI, 2004).

A cama é um subproduto da produção dos frangos de corte, a qual, ao término do confinamento, irá conter uma mistura de excretas, penas e sobras de ração. Com o aumento constante da produção, o volume de cama gerado é considerado um contaminante ambiental, chegando em torno de 5 a 6 milhões de toneladas por ano. Esse volume nem sempre é tratado adequadamente para evitar a contaminação ambiental, principalmente dos meios aquáticos e das lavouras (PAGANINI, 2004). De acordo com Santos *et al.* (2008), para as condições brasileiras, a quantidade de cama gerada por ave é de 2,2 kg por ave/ciclo de 42 dias, com base na matéria natural, admitindo-se a cama com 20% de umidade. A variabilidade nessas quantidades sofre influência de alguns fatores como dieta, idade de abate dos frangos, manejo da cama, condições climáticas, época do ano e a gestão dos resíduos na propriedade, por exemplo.

A Instrução Normativa nº 8, de 25/03/2004, proibiu “em todo o território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal” (FONTE?). Portanto, é vedado o fornecimento da cama de aviário para a alimentação de ruminantes.

O descarte inadequado da cama e sem o prévio tratamento, e a utilização de adubação orgânica, sem levar em consideração as propriedades químicas e físicas do solo e a necessidade da cultura a ser adubada, causam impactos negativos ao ambiente. Isso porque há comprometimento da qualidade do solo e da água com contaminação dos mananciais pelos microrganismos. Tal fato pode proporcionar alta toxicidade aos animais e às plantas e depreciação do produto. Como todo contaminante, há um grande acúmulo no meio, de tal forma que a percepção de contaminação seja percebida só a médio e longo prazos (RANATUNGA *et al.*, 2013). É válido ressaltar também que a cama de aviário pode conter, após um ciclo produtivo, muitos patógenos que sobrevivem até 11 semanas fora do sistema digestivo das aves (HAAAPAPURO *et al.*, 1997). Podem ser detectados também resíduos de antibióticos, usados como promotores de crescimento ou para o tratamento de enfermidades das aves, que não são totalmente absorvidos pelos animais e podem ser liberados em até 75% para o meio ambiente (CHEE-SANFORD *et al.*, 2001), configurando mais um agente de contaminação ambiental.

Pesquisas comprovam a presença de antimicrobianos utilizados na produção avícola no solo, na água, nas plantas e em sedimentos nas proximidades de regiões com elevada produtividade de frangos de corte (MANAGAKI *et al.*, 2007).

Como a cama contém excretas das aves, é comum ocorrer a contaminação bacteriana do local de descarte por *Salmonella spp.* Salmoneloses são consideradas como uma das mais importantes zoonoses de alta mortalidade entre as aves. Essa bactéria causa inúmeros prejuízos, como baixa produtividade, elevados custos com medicamentos e piora na qualidade de produção das aves. Além desses problemas relacionados à produção das aves, é frequente a infecção em humanos, que ocorre por meio do consumo de ovos, de carne de aves e do contato com a cama contaminada. Entre os seres humanos, as salmoneloses podem ocorrer de duas formas, dependendo do

sorotipo: salmonelose não tifóide e febre tifoide. Os sintomas da salmonelose não tifóide, geralmente, são autolimitadas entre pessoas saudáveis. A febre tifóide é considerada a mais grave, pois apresenta uma taxa de mortalidade maior que a salmonelose não tifóide. As bactérias *Salmonella spp* atuam sobre o intestino das pessoas, onde se multiplicam e podem entrar na corrente sanguínea, atingindo outros órgãos do corpo (HAFEZ, 2005).

Nascimento *et al.* (2010), demonstraram que mesmo sendo pequeno o número de aves infectadas com patógenos entéricos, estas podem contaminar toda a linha de abate. Assim, as contaminações de alimentos por microorganismos patogênicos têm alcançado dimensões consideradas sérias para o sistema produtivo e, principalmente, à saúde do consumidor final. Haapapuro *et al.* (1997), constataram que as *Salmonella spp.* são as principais bactérias encontradas na cama de frangos, e podem sobreviver até 11 semanas fora do sistema digestivo das aves, potencializando as chances de contágio e contaminação.

Dadas suas consequências negativas, tanto para o sistema produtivo quanto para o consumo humano, é imperativo o controle das *Salmonella spp.* Tradicionalmente, tal controle é feito por antibióticos, os quais, como se sabe, têm consequências negativas às aves e aos humanos.

Devido às consequências adversas, desde janeiro de 2006, a União Europeia proibiu o uso de qualquer tipo de antibiótico e quimioterápico como promotor de crescimento na produção animal, devido à possibilidade do surgimento e da ampliação da população de microorganismos refratários a qualquer tratamento médico convencional (FERREIRA *et al.*, 2010). Sendo assim, faz-se necessário o emprego de métodos alternativos que possam substituir o uso de antibióticos como promotores do crescimento.

Uma investigação da ONG Repórter Brasil com o jornal britânico The Guardian e Bureau of Investigative Journalism revelou ao público, em julho de 2019, que cerca de 1 milhão de frangos congelados brasileiros foram vetados no Reino Unido por não atenderem aos padrões sanitários da Europa e voltaram para o Brasil, onde foram vendidos *in natura* ou processados. De acordo com a apuração, toneladas de aves foram embargadas nos portos ingleses entre abril de 2017 e novembro de 2018 por apresentarem mais de 3,3% de contaminação

por *Salmonella spp.*, bactéria encontrada na carne crua que pode ser fatal para humanos.

Diante de sanções comerciais e de potenciais danos à saúde das aves e dos seres humanos, métodos alternativos vêm sendo desenvolvidos visando o controle da salmonelose. Segundo Ferket (2004), uma das várias possibilidades de combater as *Salmonella spp.* é o emprego da levedura da cerveja, a *Saccharomyces cerevisiae*. Esse autor ainda ressalta que dietas contendo levedura podem levar a um melhor desempenho de crescimento e eficiência alimentar das aves.

Cornelison *et al.* (2006), por sua vez, demonstraram que a inclusão de lúpulo moído em dietas de frangos de corte, na taxa de 0,45 kg por tonelada de ração, melhora significativamente a taxa de crescimento das aves, mesmo com sua utilização em alimentos sem antibióticos. Os autores também relataram que o lúpulo se encontra presente no Trub, que é um precipitado insolúvel formado no final da etapa de fervura durante a produção da cerveja.

Ademais, diversos setores econômicos, incluindo os diversos segmentos de produção de alimentos, estão em busca de sustentabilidade ambiental por meio da adoção de produtos e processos produtivos que minimizem o impacto sobre o meio ambiente.

Diante deste contexto, o objetivo desse trabalho é avaliar a viabilidade técnica da inclusão do Trub como aditivo na ração de frangos e sua ação bactericida no combate à *Salmonella spp.*

Para esclarecer melhor as etapas envolvidas com a pesquisa, a presente dissertação se divide em seis partes. A primeira se refere às informações a respeito da produção avícola de corte (características, subprodutos, nutrição, saúde, ambiente físico); a segunda às bactérias *Salmonella spp.* (origem, formas de contaminação, profilaxia e controle), à produção de cerveja (ingredientes, processo, subprodutos); a terceira, ao Trub (origem, características antimicrobianas, emprego como bactericida natural); a quarta, aos resultados obtidos no experimento desenvolvido em campo; a quinta, à discussão dos resultados; e a sexta, à conclusão.

2 PROBLEMA

Como enfatizado anteriormente, o sistema brasileiro de produção de aves é o terceiro maior do mundo e é responsável por gerar uma fonte de proteína ao mesmo tempo eficaz à dieta humana e de baixo custo econômico, fatores que contribuem para o amplo alcance desse alimento à mesa do consumidor.

A produção de aves conta com alta produtividade, taxa de crescimento elevada, redução da mortalidade e a produção de um alimento sanitariamente seguro ao consumidor. Mas para que isso seja possível são utilizados antibióticos, muitas vezes em níveis sub-terapêuticos, criando bactérias resistentes que podem contaminar a carne e a cama dos frangos. Dentre as bactérias contaminantes da cama e carne de frangos destacam-se as *Salmonella spp*, bactérias essas que costumam causar danos à saúde animal e humana. Portanto, é importante ao setor avícola minimizar a presença de bactérias por meio de novas técnicas e processos de produção que minimizem ou não gerem impactos nos mais diversos ambientes.

Por outro lado, durante o processo de produção de cerveja são gerados vários subprodutos, dentre eles o Trub. Este subproduto ainda é muito pouco utilizado, sendo normalmente descartado *in natura* no meio ambiente, caracterizando-se como um poluente de baixo impacto, mesmo assim um agente poluidor dependendo da quantidade a ser descartada. O Trub apresenta proteínas desnaturadas, cálcio e compostos do lúpulo, polifenóis e carboidratos. Os compostos do lúpulo têm um efeito antimicrobiano e apresentam potencial para serem usados como aditivos alimentares para frangos de corte, sem provocarem prejuízos à sua carne e, conseqüentemente, ao consumidor.

Com base nessas informações e constatações, surge a seguinte indagação: é tecnicamente viável incluir o Trub como insumo na produção de frangos de corte visando ganho na eficiência produtiva (peso e conversão alimentar) e no combate à incidência de *Salmonella spp* em aviários comerciais? Responder a essa indagação consiste o propósito da presente pesquisa.

3 HIPÓTESES

Uma vez que a criação de frangos de corte produz subprodutos contaminados, e levando-se em conta que a própria indústria vem rejeitando o uso de antibióticos como promotores do crescimento, se faz necessário desenvolver e adotar alternativas naturais e sustentáveis que venham a suprir esta lacuna. Tendo o Trub propriedades bactericidas já comprovadas, este pode então ser utilizado como aditivo na produção de frangos de corte, a fim de combater as *Salmonella spp*, reduzindo sua incidência na carne crua, sem afetar negativamente o desenvolvimento das aves. Desta forma, assume-se como hipóteses as seguintes declarações:

- 1- A incorporação do Trub na dieta dos frangos propicia o melhor desenvolvimento das aves;
- 2- A incorporação do Trub na dieta dos frangos propicia uma melhor conversão alimentar das aves;
- 3- A incorporação do Trub na dieta dos frangos reduz a presença das *Salmonella spp* na cloca;
- 4- A aspersão do Trub na cama de frango diminui a presença das *Salmonella spp* no ambiente de criação das aves (granjas).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar a viabilidade da inclusão do Trub, oriundo da produção de cerveja, como aditivo na ração de frangos de corte, linhagem COB500, visando ganho na eficiência produtiva, bem como o controle das *Salmonella spp* na produção e no ambiente de criação.

4.2 Objetivos Específicos

Avaliar a eficácia do Trub nas rações de frangos de corte de tal forma que promova o melhor ganho de peso das aves.

Apreciar o comportamento do Trub sobre a conversão alimentar das aves.

Analisar se o Trub da cerveja tem efeito bactericida sobre as *Salmonella spp* no aparelho digestório das aves.

Analisar se a aspersão do Trub da cerveja sobre a cama das aves diminui a presença das *Samonella spp*.

5 REVISÃO DE LITERATURA

A presente seção traz à discussão uma visão panorâmica dos trabalhos acadêmicos e relatórios técnicos concernentes ao tema de pesquisa deste estudo. Inicialmente aborda-se alguns aspectos da produção avícola, seguido pela apresentação dos promotores de crescimento. Posteriormente ressalta-se os agentes contaminantes, como a cama de frango e a *Salmonella spp.* Seguindo, há uma breve discussão sobre os alimentos alternativos na alimentação animal, destacando o Trub, bem como o seu processo de obtenção.

5.1 Produção avícola

O crescimento acelerado da produção avícola brasileira desperta a preocupação pela manutenção da inocuidade da carne, bem como quanto à contaminação dos resíduos por microrganismos, colocando em risco a vida de humanos, animais e meio ambiente. O uso de antibióticos promotores de crescimento em níveis sub-terapêuticos tornou-se uma prática rotineira no desenvolvimento de estratégias nutricionais para melhorar o desempenho animal (SANTOS, 2003).

Dentre as principais causas do crescimento e consolidação do setor avícola está o emprego dos antibióticos promotores de crescimento (APC) nas rações destinadas à alimentação das aves. Estas drogas foram usadas na dieta dos animais nos EUA e outros países por mais de 50 anos. Quando ingeridos pelas aves, os APC são utilizados na profilaxia de doenças, promovendo o crescimento e melhorando a conversão alimentar e ganho de peso dos animais (TEUBER, 2001).

5.2 Promotores do Crescimento

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (2002), antibióticos promotores do crescimento são agentes antibióticos utilizados com o propósito de aumentar o ganho de peso diário em animais destinados à alimentação humana. Segundo GUARDABBASI (2008), os antibióticos promotores do

crescimento destroem ou inibem o crescimento bacteriano e são administrados em doses baixas, denominadas sub-terapêuticas.

O mecanismo pelo qual os antibióticos agem como promotores de crescimento ainda não está completamente esclarecido. Acredita-se que ocorra uma série de modificações na microbiota intestinal das aves, diminuindo um grupo de bactérias sensíveis a antibióticos e favorecendo as resistentes (ALBUQUERQUE, 2009).

Todo antibiótico utilizado na produção animal deve ter respeitado o tempo requerido para que o resíduo do medicamento em questão atinja uma concentração segura, de acordo os níveis de segurança previamente estabelecidos por especialistas (BLOOD; RADOSTITS, 2001). Os programas de vigilância formulados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam, contudo, que nem sempre o tempo necessário é cumprido. Por esse motivo, programas de controle de resíduos de antibióticos e quimioterápicos nos produtos alimentícios, principalmente na carne, têm sido exigidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para comercialização nacional e internacional desses produtos (ANEXO 1).

O Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo (PAMVet), através da coleta de amostras no comércio, constatou que, em 2018, os resíduos de antibióticos ainda são um grave problema à saúde pública no Brasil (BRASIL, 2018).

A ingestão contínua de alimentos com antibióticos em baixas dosagens por humanos tem sido relacionada à seleção de cepas bacterianas resistentes aos tratamentos convencionais com antibióticos. Desde janeiro de 2006, a União Europeia proibiu o uso de qualquer tipo de antibiótico e quimioterápico como promotor de crescimento na produção animal, devido à possibilidade de surgimento e ampliação da população de micro-organismos refratários a qualquer tratamento médico convencional (GUARDABBASI , 2008).

Sabendo-se da restrição de uso de antibióticos e quimioterápicos, surge a necessidade de pesquisar e adotar novos aditivos na produção de animais, em particular frangos de corte. A Portaria SARC (Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo) nº 013, de 30/11/2004, estabelece os procedimentos básicos que devem ser adotados para avaliação de segurança de uso, registro e comercialização dos aditivos utilizados nos produtos destinados à alimentação

animal. Nesta portaria define-se aditivo como sendo uma “substância, micro-organismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente aos produtos, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais” (ANVISA, 2003, pag 6). No intuito de reduzir as perdas na produtividade, aditivos alternativos como as enzimas exógenas, prebióticos, probióticos, simbióticos, ácidos orgânicos e compostos fitogênicos estão sendo constantemente estudados para que se possa determinar até que ponto eles podem ou não ser utilizados, e em que condições são viáveis (ARAÚJO *et al.*, 2009).

5.3 Cama de frangos

A cama dos frangos é feita de material vegetal que, paulatinamente, vai sendo acrescentado sobre o piso do aviário. O material mais comumente utilizado é a maravalha e a casca de arroz e, além desses, a cama também é composta de excretas, penas e sobras de ração (BAPTISTA; JORGE E NILVA, 2005). A cama se faz necessária nos aviários para evitar o contato direto da ave com o piso, servir para a absorção de água e urina, incorporação de fezes e urina, penas e para controle da temperatura ambiente (PERDOMO, 2001). A produção média de cama é cerca de 2,2 kg por unidade de frango de corte, estimando-se que, em 2018, a produção de cama foi de aproximadamente 20 milhões de toneladas. De forma geral, a média de reutilização da cama é de quatro ciclos completos de criação, denominados lotes. A contaminação bacteriana dos materiais da cama pelos dejetos das aves originam doenças que podem atingir tanto os animais quanto os humanos. Entre as bactérias contaminantes da cama destacam-se as *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* e *Clostridium* (GERMANO, 2008).

5.4 *Salmonella spp*

As *Salmonella spp* são bactérias que podem infectar, além das aves, o homem, insetos, peixes, répteis e mamíferos em geral, causando a enfermidade

denominada salmonelose. Nas aves contaminadas, permanece latente, constituindo fonte de infecção para demais animais, incluindo os humanos. A *Salmonella* é um microrganismo de fácil adaptação, tornando-se muito difícil sua erradicação dos ambientes criatórios (BACK *et al.*, 2006).

O gênero *Salmonella* se divide em quatro espécies, *Salmonella enterica*, que contém mais de 2.460 sorovares (diferentes variedades de uma determinada espécie de bactéria), *S. Bongori*, com 18 sorovares, a *Salmonella subterranea* e a *Salmonella typhi* (*Salmonella enterica enterica* sorovar Typhi), que é a que mais causa infecções alimentares no homem (BACK *et al.*, 2006).

Uma das principais formas de contaminação é proveniente do ovo de galinha, que, na maioria das vezes, é contaminado no trato reprodutivo das aves devido à cloaca receber conteúdo do trato digestório e assim, durante a eclosão, gerar a transmissão vertical. A transmissão horizontal é fecal-oral, ou seja, quando patógenos em partículas fecais de um hospedeiro são introduzidas na cavidade oral de outro hospedeiro potencial (BONI, 2011).

Em pesquisas realizadas por Boni (2011), em aviários e abatedouros de frangos de corte na região central de Mato Grosso do Sul, foi constatado que 11,28% das 257 amostras analisadas apresentaram resultados positivos para as bactérias *Salmonella spp.* Esta forma de contaminação requer o uso de produtos antibióticos desde o primeiro dia de vida das aves, que acabam contaminando a sua carne em longo prazo, o que leva a sérios prejuízos à saúde pública quando consumida. Zancan *et al.* (2000), por sua vez, em suas pesquisas constataram a contaminação por *Salmonella spp.* nas caixas de transporte de aves com 1 dia de vida, com uma prevalência de 77% nos lotes examinados e concluíram que a contaminação dos ovos por meio do ambiente permite a sobrevivência das *Salmonella spp.* por mais de 40 dias.

A agência europeia Food Standards Agency (FSA) tolera cerca de 3% de contaminação por *Salmonella spp.* em frangos. No Brasil, o Ministério da Agricultura estabelece, como nível aceitável, 20% de contaminação. O controle e o monitoramento de *Salmonella spp.* em carne de frangos e perus são realizados no Brasil desde 2003, conforme Instrução Normativa nº 70, de 6 de outubro de 2003, a qual foi atualizada por meio da Instrução Normativa nº 20, de 21 de outubro de 2016 (ANVISA, 2019).

A Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal em 2014 conduziu um estudo de prevalência nacional de *Salmonella spp* em carcaças de frango realizado entre 2013 e 2014. Foram analisadas 856 amostras coletadas em 89 abatedouros, sendo que em 150 foram identificadas *Salmonella spp*, o que representa 17,2% (MAPA, 2016).

O Serviço Oficial da Agricultura tem a incumbência de realizar a verificação do programa de cada estabelecimento produtor. Essa verificação, dentre outras formas, é realizada por meio da coleta de carcaças e encaminhada para análise em laboratórios oficiais. Os resultados obtidos são tomados em ciclos de amostragem de oito amostras, em que no máximo duas podem apresentar resultado positivo para que o ciclo seja considerado conforme ($n=8$; $c=2$), sendo que as amostras positivas não podem ser dos sorovares de *Salmonella typhimurium* e *Salmonella enteritidis*.

5.5 Alimentos alternativos utilizados na alimentação animal

A alimentação das aves no Brasil é feita predominantemente com milho e farelo de soja, os quais sofrem grandes variações nos preços, por fatores ambientais e econômicos, tornando o custo da produção, em momentos adversos, bastante oneroso. Assim, novas pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de encontrar alimentos alternativos que sejam energéticos, protéicos e com boa disponibilidade, que favorecem um bom desempenho produtivo e reprodutivo das aves, diminuindo os custos e aumentando a lucratividade. Muitos desses alimentos alternativos utilizados na alimentação animal são provenientes da agroindústria, dentre eles, temos o resíduo seco de cervejaria, sendo um subproduto que inclui fibra dietética, proteína, aminoácidos essenciais, minerais, polifenóis e lipídeos (STEFANELLO *et al.*, 2014).

A agroindústria gera vários subprodutos, que, quando descartados, resultam na abdicação de potenciais ganhos econômicos no processo produtivo. Caso esses resíduos não recebam um destino adequado, acabam provocando problemas ambientais, sendo descartados diretamente ao solo ou em aterros sanitários, que muitas das vezes são insuficientes para drenar a grande quantidade produzida por ano (WHO, 2007). Dessa forma, pode-se consistir em um agente poluidor.

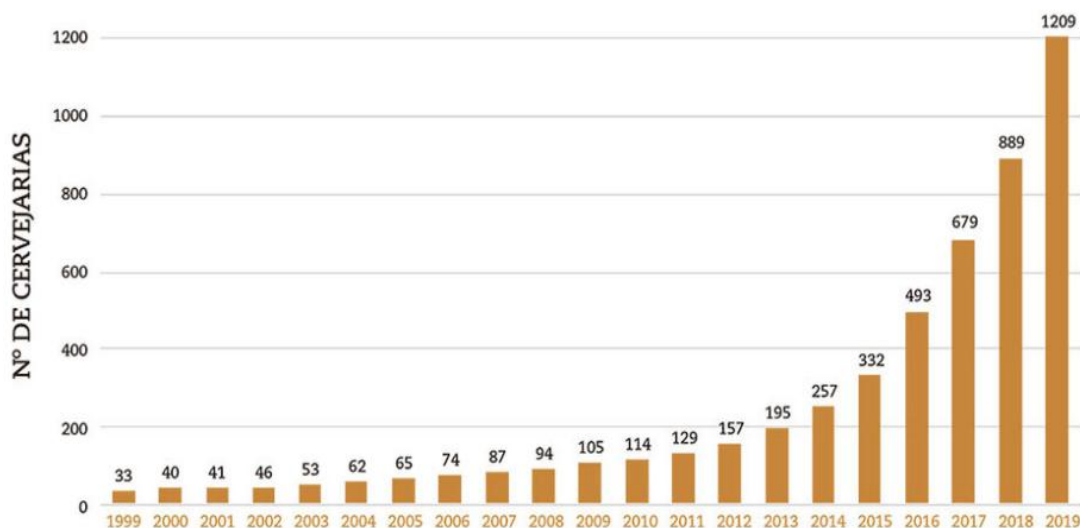
A adoção de métodos mais naturais e consideravelmente sustentáveis tem se constituído na característica marcante da sociedade atual, principalmente quanto ao reaproveitamento de resíduos de produção, destacando-se no presente caso, o da indústria cervejeira.

5.6 Produção de cerveja no Brasil

Em 2019, o Brasil chegou a 1.209 cervejarias registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), distribuídas por 26 unidades da federação, um crescimento de 36% em relação a 2018. Somente em 2018, 320 novas fábricas foram abertas no país, o que significa quase uma nova cervejaria por dia. Os dados estão no Anuário da Cerveja 2019, publicado em 12 de março pelo MAPA.

A seguir, é possível visualizar o crescimento nos últimos vinte anos do número de cervejarias registradas no MAPA (Gráfico 1).

Gráfico 1: Número total de registros de estabelecimentos cervejeiros no Brasil durante o período de 1999 e 2019.



Fonte: MAPA, 2020

Em se tratando da densidade cervejeira vemos um progressivo aumento no número de cervejarias, fazendo a relação com o espaço ser mais intensa, ou seja, uma cervejaria atende um público mais próximo de suas localidades. Dados

de 2019 revelam que o estado de Santa Catarina chegou ao mesmo patamar que o Rio Grande do Sul, que lidera a listagem. Nestes estados existe uma cervejaria a cada aproximadamente 48 mil pessoas, enquanto a média nacional é de 173 mil pessoas por cervejaria. No ano de 2017, a proporção nacional foi de 305 mil pessoas a cada planta cervejeira e no ano de 2018 era de 243 mil habitantes por cervejaria (hab/cerv) (IBGE, 2020).

A distribuição dos registros totais e de 2019 mostram novamente a concentração na região Sul-Sudeste com quase 90% dos registros. Enquanto nos dados totais o Rio Grande do Sul (5813 registros) e São Paulo (5430 registros) estão bem à frente dos demais. Em se tratando somente dos registros concedidos em 2019, temos São Paulo (1428 registros) com quase o dobro de Minas Geral, segundo colocado no número de registros (790 registros) (IBGE, 2020 registros).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a produção de cerveja no Brasil apresenta uma tendência crescente nos últimos 30 anos, e recentemente alcançou o patamar de 140 milhões de hectolitros (mi hl) colocando o Brasil em terceiro lugar no ranking mundial atrás apenas da líder China (460 mi hl) e dos EUA (221 mi hl) e a frente da Alemanha (95 mi hl) e da Rússia (78 mi hl) .

5.6.1 Trub no processo de produção de cerveja

O processo de produção da cerveja se inicia com adição de água ao malte e adjuntos já moídos (cereais ou outros vegetais ricos em carboidratos). Esta mistura é então cozida, e o resultado é um líquido turvo e grosso, chamado de mosto (mistura açucarada destinada à fermentação alcoólica), que depois será filtrado e fervido. No momento da fervura é adicionado o lúpulo, planta trepadeira perene, utilizada na indústria cervejeira como preservador por carregar α -ácidos e β -ácidos. Os principais componentes dos α -ácidos são o humulone e isohumulone, responsáveis pelo sabor amargo da cerveja. Os β -ácidos (lupulone) e seus congêneres (adlupulone, colupulone, prelupulone, postlupulone e adprelupulone) apresentam atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (HEYERICK; CLEEMPUT, 2009).

Na sequência do processo o mosto é resfriado. Ao término desse processo, ocorre a sedimentação de proteínas coaguladas e resinas de lúpulo, dando origem ao assim denominado Trub. O Trub é constituído de partículas de 30 a 80 micra, que são mais pesadas que o mosto. O Trub deve ser retirado do processo porque prejudica a clarificação do mosto, uma vez que cria uma película ao redor da levedura, impedindo sua ação no processo de fermentação e dificultando a filtração da cerveja quando isso não é feito. A retirada do Trub ocorre através do sistema *whirlpool* ou por centrifugação (MEGA *et al.*, 2011).

O *whirlpool* é um recipiente cilíndrico onde o mosto é bombeado tangencialmente para o seu interior, ocorrendo o vórtice, que é uma correnteza circular que faz com que o Trub forme um cone invertido no centro do fundo. Isto feito, é acrescentada, então, a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que é responsável pelo processamento e transformação da glicose existente no mosto, em etanol e gás carbônico, sob condições sem oxigênio (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

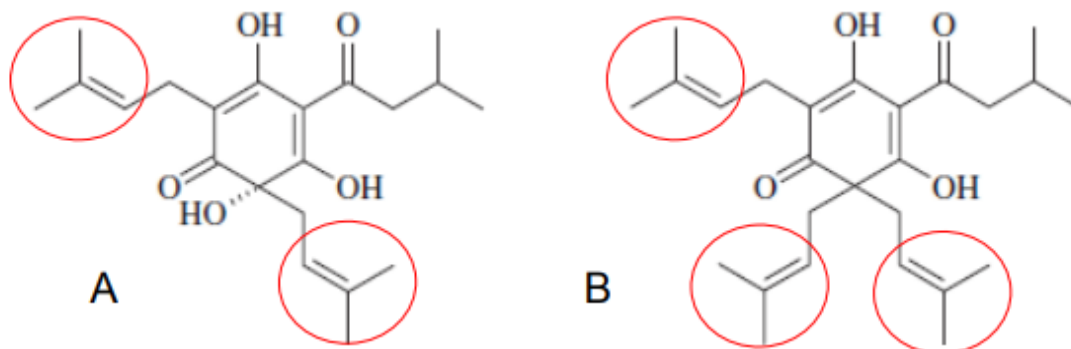
Cervejarias que reaproveitam o fermento e a levedura retiram o resto do sedimento após a fermentação (chamado Trub frio), a fim de eliminar o risco de criar uma película proteica fina ao redor da célula de fermento, o fazem através de um processo de centrifugação (HEYERICK *et al.*, 2009).

5.6.2 Lúpulo e sua capacidade antimicrobiana

Alguns compostos de lúpulo (*Humulus lupulus*) têm um efeito antimicrobiano, principalmente contra bactérias gram-positivas e negativas, fungos e leveduras (BORTOLUZZI *et al.*, 2014). Cornelison *et al.*, (2006), compararam o efeito da penicilina e do lúpulo (equivalente a 23 mg/kg de β -ácidos) e o resultado encontrado foi semelhante nos dois.

Almeida *et al.* (2012), observaram que os β -ácidos apresentam maior atividade antimicrobiana por possuírem três grupos prenil (radical alifático insaturado ramificado 3-metil-but-2-en-1-il) em sua estrutura, diferente dos α -ácidos, que apresentam apenas dois (figura 1).

Figura 1 - (A): Estrutura dos α -ácidos e (B): Estrutura dos β -ácidos



Fonte: Principles of Brewing Science

Bortoluzzi *et al.* (2014), analisaram os efeitos de β -ácidos de lúpulo (*Humulus lupulus*) no desempenho e na saúde intestinal de frangos de corte e concluíram que é possível usar este produto para substituir antibióticos nas dietas, visto que os animais alimentados com a dieta contendo o lúpulo tiveram um desenvolvimento superior aos alimentados com antibióticos, quando usados na dosagem de 30mg/kg de lúpulo por quilograma de ração. Os β -ácidos do lúpulo também promoveram melhoras no desempenho de frangos de corte, mostrando atividade antimicrobiana, conforme comprovaram Bozkurt e Kuçukylmaz (2009).

5.6.3 Características químicas do Trub

O Trub apresenta alta coagulação protéica, Ca^{2+} e carboidratos (PRIEST E STEWART, 2006). Em geral, formam-se entre 0,2 e 0,4 kg de Trub úmido (80 a 90% de umidade) para cada hectolitro de cerveja produzida (BRIGGS *et al.*, 2004). O Trub apresenta predominantemente proteínas (entre 50 e 70% da massa seca em sua composição), além de substâncias amargas do lúpulo (10 a 20%), polifenóis, carboidratos, minerais e ácidos graxos (BARCHET, 1993). Há poucos relatos na literatura à respeito deste resíduo, que é comumente misturado ao bagaço de malte para recuperação do mosto cervejeiro na etapa

de lavagem do bagaço e, posteriormente, destinado para elaboração de ração animal (PRIEST E STEWART, 2006).

Para cada 10 litros de cerveja produzida gera-se aproximadamente um litro de Trub, esse valor varia de acordo com a receita e tipo de cada cerveja (MUXEL, 2014).

5.6.4 Contaminação ambiental no descarte do Trub

Diversos avanços tecnológicos têm proporcionado à indústria cervejeira grandes economias pela menor geração de subprodutos ao longo do processo. Contudo, certos resíduos intrínsecos à produção da bebida dificilmente têm redução de sua quantidade gerada, como o bagaço de malte, o Trub e a levedura residual cervejeira. Estes resíduos são responsáveis pela perda de aproximadamente 20 litros de cada 100 litros de água cervejeira utilizada no processo, principalmente pelo elevado teor de umidade que os compõe, entre 80 e 90%, promovendo grande arraste de mosto e perda de extrato, o que acarreta a geração de significativas quantidades de efluentes (PRIEST E STEWART, 2006).

O Trub, além de possuir alto conteúdo nitrogenado, carrega consigo corantes e açúcar, sendo este lavado da panela de cozimento com grande quantidade de água e descartado de forma direta ao meio ambiente. (SANTOS E RIBEIRO, 2005; OLAJIRE, 2012).

Conforme relatado por Simate *et al.* (2001), Rao *et al.* (2006) e Seluy e Isla (2014), é de conhecimento que as características desses efluentes variam bastante, principalmente por consequência das diferentes condições operacionais e processos de fabricação, tecnologia utilizada, tipo de cerveja e da região de produção. Seluy e Isla (2014), descrevem que o Trub apresenta uma carga orgânica bastante alta, isso por causa da presença de etanol, glicerol e carboidratos remanescentes do processo de produção. Os autores mencionam, ainda, que o etanol pode ser responsável por até 60% da fração orgânica presente nesse efluente.

Cruz (2017), constatou que quase todas as indústrias cervejeiras de porte pequeno a médio descartam o Trub de forma direta no meio ambiente, como efluente gerado na limpeza dos equipamentos.

5.6.5 Reutilização do Trub e diminuição do impacto ambiental.

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, a população mundial poderá aumentar em 35% até o ano de 2050, desta forma a demanda alimentícia por cereais e produtos de origem animal também aumentará. Com o crescimento populacional irá ocorrer um aumento pela busca por alimentos, no qual a agricultura e a pecuária terão de duplicar sua produção. Com este aumento serão produzidos mais resíduos agroindustriais que, se não forem bem manejados, podem trazer sérias consequências ao meio ambiente (FAO, 2012; FAO, 2016).

O meio ambiente tem sido o foco de várias discussões entre as autoridades governamentais e não governamentais de todo mundo, devido a questão recorrente de como promover o desenvolvimento minimizando os impactos ambientais. Um dos principais fatores para diminuir os impactos ambientais causados pelo homem é a aplicação das práticas chamadas de sustentáveis (*FRIEDMAN et al.*, 2010).

De acordo com a lei nº 12.305/10, que descreve a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), existe uma ordem de prioridades na gestão dos resíduos. Para pôr em prática um consumo sustentável, a prioridade inicial é a não geração do resíduo, seguido da diminuição dos resíduos; do aumento da reciclagem; da reutilização; e por fim, da destinação ambientalmente correta dos mesmos. As atuais políticas ambientais trabalham com o enfoque de eliminar produtos com potencial poluente para o meio ambiente, e a utilização de subprodutos agroindustriais favorece esse objetivo (*MENEGHETTI et al.*, 2008).

Uma das alternativas na produção de frangos é utilizar resíduos, como os provenientes da cervejaria, na alimentação animal, os quais, além de reduzir o custo de produção dos animais também fornecem um destino adequado para esses resíduos, diminuindo, assim, o desequilíbrio ambiental (*VIEIRA*, 2016).

Se colocarmos o animal como agente de aproveitamento de resíduos, pode-se lançar o ponto de vista do animal como instrumento gerador de sustentabilidade, ou seja, inverter parcialmente seu papel de vilão na cadeia produtiva, passando de um agente que impacta negativamente o meio ambiente para um impacto positivo (*TURCHETTO*, 2016).

6 METODOLOGIA

A pesquisa foi do tipo exploratório, posto que este tipo de pesquisa busca aprimorar ideias, ampliando a familiaridade com o problema ou a construção de hipóteses, bem como permitiu a avaliação quanto à utilização de teorias e conceitos já existentes ou a necessidade de desenvolvimento de novos (GIL, 1999). Também apresentou característica descritiva, pois consistiu em observar, registrar, correlacionar e analisar os fatos ou fenômenos para assim aprofundar sua compreensão.

Além dessas duas características, o presente estudo é também experimental, que consiste no levantamento de dados através de experimentos e da realização de testes. Isso possibilita a observação e, conseqüentemente, análise e avaliação de comportamentos (GIL, 1999).

Utilizou-se uma abordagem quantitativa dos dados, por meio da coleta de informações e pelo emprego de procedimentos analíticos embasado em ferramental estatístico, garantindo precisão e confiabilidade dos resultados gerados (GIL, 1999).

Esta pesquisa abordou assuntos como produção de frangos e seus resíduos, utilização de resíduos da indústria cervejeira, focando na sua capacidade bactericida e na promoção de ganho na eficiência produtiva. Destaca-se também a atenção à contaminação da produção de frangos por *Salmonella spp*, que foram reunidos por meio de livros, artigos publicados, revistas, e pesquisa na Internet entre outros, tornando o trabalho atualizado em relação ao tema proposto.

Em relação à parte prática, o experimento foi realizado na zona rural do município de São Bento do Sul, nas instalações avícolas do senhor Gilberto Schreder, situadas no bairro Lençol, rua Amanda Schereder, número 1448.

Foram utilizados 1080 pintinhos machos, da linhagem COBB500, comprados da avícola Polastri para fins deste estudo. O número de animais utilizados no experimento foi estabelecido tomando-se por base pesquisas bibliográficas de experimentos semelhantes.

Os instrumentos de coleta utilizados foram:

- Planilha em Excel do Microsoft Office 2018;

- Balança eletrônica digital da marca Sagma[®], com prato tipo bandeja de 34 cm por 22 cm, com capacidade para 40 kg e com precisão de duas casas decimais;
- Anilhas de fixação por click, de 16 mm, enumeradas e de cor laranja, da marca Plastic[®];
- Swabs estéreis, de haste plástica, da marca Prolab[®], fabricados em polipropileno e frasco com tampa com lacre e superfície com etiqueta para identificação da amostra da ave, em caixa com 550 unidades;
- 550 tubos de cultura isolada, de poliestireno transparente com tampa de polietileno rosqueável com filtro, com dois estágios para fechamento e com posição “Vent” para permitir trocas gasosas da marca Prolab[®]; áreas de crescimento com 10 cm², esterilizados por raios gama;
- 510 meios de cultura do tipo Stuart, da marca Absorve[®];
- Comedouros, bebedouros, campânulas a gás, ventiladores, exaustores, iluminação através de lâmpadas, EPI's e macacões foram disponibilizados pela administração da avícola;
- Uma caixa de luvas de látex tamanho M, da marca Super Max[®];
- Quatro pares de botas de PVC da marca Fujiwara[®] de tamanho 41, na cor branca;
- Uma autoclave com capacidade de 41 litros da marca Cristofoli[®];
- Uma estufa de cultura bacteriológica com capacidade de 64 litros, da marca SolidSteel[®];
- Um notebook da marca Toshiba[®];
- Um copo tipo Becker de vidro de 500ml, um frasco tipo Erlenmeyer de 500ml, uma pipeta graduada de 1 ml da marca Uniglas[®];
- Materiais de consumo como papel toalha, desinfetantes, detergentes, canetas, folhas sulfite e outros.

Inicialmente, as aves foram desafiadas experimentalmente por um inóculo preparado com *Salmonella enteritidis*, isolada de amostras oriundas do laboratório de Biotecnologia da Univille, inóculo com a concentração mínima 4,8 x 10⁶ UFC (Unidade Formadora de Colônia) por dose de 0,3 mL (FERNÁNDEZ *et al.*, 2001), e que foi fornecido às aves com um dia de vida por via oral.

Para obtenção do inóculo, a cepa foi replicada em ágar verde brilhante e incubada a 37°C, por 20h. Em seguida, as células foram suspensas em solução

salina tamponada a 0,85%, mantidas à 4°C a concentração para 0,1 ml ajustada com auxílio da escala de MacFarland. A concentração foi confirmada pelo plaqueamento das diluições decimais seriadas em ágar verde brilhante, com posterior incubação a 37°C e contagem das UFC de *Salmonella* (FERNÁNDEZ *et al.*, 2001).

A *Salmonella enteritidis* foi escolhida como desafiador por ser líder em toxinfecções alimentares no homem, podendo ocasionalmente ser consideradas patogênicas para aves, principalmente as com menos de 10 dias de vida (BACK *et al.*, 2006). Devido a esse fato, esse gênero se destaca dentro da divisão por sua importância econômica e por sua implicação à saúde humana, constituindo patógeno entérico de origem alimentar frequente nas ocorrências de gastroenterites em seres humanos (CARRIQUE-MAS, 2006).

Nas dependências do aviário, as aves deste estudo foram distribuídas em um delineamento com blocos, com arranjo fatorial de 3X3+1 (3 níveis de inclusão de Trub, em 2 períodos diferentes: 1 ao 21 dias para um grupo e 22 a 41 dias para outro grupo, com 3 formas diferentes de inclusão: Ração, Cama, Ração e Cama) com 5 repetições e 9 tratamentos para cada período. No segundo período, houve o acréscimo de mais um tratamento com 15% de inclusão de Trub somente na ração.

Os procedimentos se deram da seguinte forma:

- Área 1: As aves foram alimentadas até os 21 dias de idade com ração e o aditivo; de 22 dias em diante foi fornecida somente a ração.
 - T1 – Ração contendo 2% de resíduo de 0 a 21 dias de idade.
 - T11- Cama contendo 2% de resíduo 0 a 21 dias de idade.
 - T111- Cama e ração contendo 2% de resíduo 0 a 21 dias de idade.
- Área 1.2: As aves foram alimentadas até 21 dias de idade somente com a ração; de 22 dias em diante, a alimentação passou a ser de ração com aditivo.
 - T1.2 – Ração contendo 2% de resíduo de 22 a 41 dias de idade.
 - T11.2- Cama contendo 2% de resíduo 22 a 41 dias de idade.
 - T111.2- Cama e ração contendo 2% de resíduo 22 a 41 dias de idade.
- Área 2: As aves foram alimentadas até os 21 dias de idade com ração e o aditivo; dos 22 dias em diante foi fornecida somente a ração.

T2 – Ração contendo 4% de resíduo de 0 a 21 dias de idade.

T22- Cama contendo 4% de resíduo de 0 a 21 dias de idade.

T222- Cama e ração contendo 4% de resíduo de 0 a 21 dias de idade.

- Área 1.2: As aves foram alimentadas até os 21 de idade somente com a ração; dos 22 dias em diante a alimentação passou a ser de ração com aditivo.

T2.2 – Ração contendo 4% de resíduo de 22 a 41 dias de idade.

T22.2- Cama contendo 4% de resíduo de 22 a 41 dias de idade.

T222.2- Cama e ração contendo 4% de 22 a 41 dias de idade.

- Área 3: As aves foram alimentadas até os 21 dias de idade com ração e o aditivo; de 22 dias em diante foi fornecida somente a ração.

T3 - Ração contendo 6% de resíduo de 0 a 21 dias de idade.

T33 - Cama contendo 6% de resíduo de 0 a 21 dias de idade.

T333 - Cama e ração contendo 6% de resíduo de 0 a 21 dias de idade.

- Área 3.3: As aves foram alimentadas até o dia 21 somente com a ração; do dia 22 em diante a alimentação passou a ser de ração com aditivo

T3.2 – Ração contendo 6% de resíduo de 22 a 41 dias de idade.

T33.2- Cama contendo 6% de resíduo de 22 a 41 dias de idade.

T333.2- Cama e ração contendo 6% de resíduo de 22 a 41 dias de idade.

Controle: Somente a ração e cama normal.

Extrapolação: Ração contendo 15% de resíduo

O Trub em estado líquido foi doado pela Indústria Cervejeira Schorstein, de Pomerode, SC.

Para garantir a homogeneidade do Trub com a ração, este foi desidratado por compressão em prensa mecânica (imagem à direita) com o auxílio de um saco de tecido como filtro (imagem à esquerda), conforme pode ser visualizado na figura 2.

Figura 2: Prensa mecânica para desidratação do Trub o lado direito e saco de tecido para retenção dos solidos no lado esquerdo



Fonte: O autor

Após a prensagem e eliminação da parte líquida presente no Trub, foi obtida uma massa semi-pastosa. A figura 3 mostra essa massa. Observe que ainda não apresenta a consistência farinácea, que é a forma adequada para a realização da mistura na ração das aves.

Figura 3: Trub desidratado



Fonte: O autor

Justamente por conta da necessidade de ter um produto com consistência farinácea e inócuo, a massa semi-pastosa obtida após a prensagem foi submetida à secagem em autoclave (Figura 4).

Figura 4: Esterilização do Trub acomodado em bandejas dentro do autoclave



Fonte: O autor

Além de promover a secagem, a autoclave também ocasionou a esterilização. Na figura 5 é possível visualizar a consistência final após todo o processo de secagem do Trub. Observa-se claramente um produto de consistência farinácea, com menor umidade, adequado para ser incorporado em diferentes dosagens à ração utilizada no ao experimento. (Figura 5)

Figura 5: Trub ao final da esterilização com consistência farinácea



Fonte: O autor

Na sequência o Trub foi pesado em balança digital para posteriormente ser acrescido à ração (figura 6).

Figura 6: Dosagem do Trub em balança digital



Fonte: O autor

A ração foi formulada à base de milho, farelo de soja, óleo vegetal, farinha de carne e ossos, calcário calcítico, sal comum, suplemento vitamínico-mineral. A empresa Machs Premium do Brasil forneceu toda a ração necessária para a realização do experimento.

As dietas experimentais que foram utilizadas para fins deste estudo, bem como sua composição, referentes a cada grupo de aves, são apresentadas na Tabela 1 e Tabela 2.

Tabela 1 - Composição percentual das dietas experimentais utilizadas para arraçoamento das aves.

Dietas Experimentais				
Ingredientes (%)	T1 -T111	T2-T222	T3-T333	Controle
Resíduo cerveja (Trub)	2,0	4,0	6,0	0,0
Milho	52,29	52,29	52,29	52,29
Farelo de Soja	34,12	32,12	30,12	36,12
Glúten Milho	2,89	2,89	2,89	2,89
Óleo de Soja	4,43	4,43	4,43	4,43

Fosf. Bicálc.	1,91	1,91	1,91	1,91
Cal. Calcítico	1,06	1,06	1,06	1,06
Sal	0,39	0,39	0,39	0,39
Lisina	0,21	0,21	0,21	0,21
Metionina	0,2	0,2	0,2	0,2
Treonina	0,0	0,0	0,0	0,0
Supl. Vit/Min.	0,5	0,5	0,5	0,5

Fonte: Elaborado pelo autor com base nos dados de Machs Premium do Brasil (2019)

Nota: Suplemento Vitamínico (kg de dieta): Vit (Vitamina) A 1500 U.I; Vit D3 500 U.I; Vit E 20mg; Vit K 0,49 mg; Vit B1 2mg; Vit B 6,6mg; Vit B12 20mcg; Pantotenato de Cálcio 10mg; Niacina 100mg; Ácido Fólico 0,5mg; Colina 250mg; Cobre 75mg; Iodo 1,25mg; Selênio 0,25mg; Manganês 120mg; Zinco 100mg; Ferro 50mg; Coccidicida 125mg; antioxidante 0,63mg; Veiculo q.s.p 1000g.

Tabela 2 - Análise calculada das dietas experimentais

Componetes	%
Proteína Bruta	22,00
Ca	1,00
Pdisp	0,47
Sódio	0,20
Lis. Dig	1,18
Lis	1,32
Met Dig	0,50
Met	0,58
Met + Cis dig	0,84
Met + Cis	0,96
Treo dig	0,70
Tre (%)	0,85

Fonte: Machs Premium do Brasi (2019)

Uma vez definidas as quantidades do Trub para serem incorporadas à ração, e visando garantir a homogeneidade do Trub com a ração, foi utilizada uma betoneira para a completa mistura. Após a mistura dos componentes, a ração resultante foi alocada em sacos com identificação do código referente ao tratamento para qual foi destinada (Figura 7).

Figura 7: Embalagem com a identificação da ração com seu respectivo código do tratamento



Fonte: O autor

O experimento foi desenvolvido em um aviário constituído por galpão de alvenaria, com ambiente climatizado. O aviário, quando em funcionamento, tinha capacidade para mais de dez mil aves. Dessa forma, o experimento teve bastante espaço para ser conduzido observando todos os critérios técnicos e sanitários. A infra-estrutura física do experimento contou com 54 partições de 1,00 m x 1,00 m, constituindo 1 m². Essas partições foram elaboradas por placas de papelão, conforme pode ser visto na figura 8.

Figura 8 – Blocos de divisão dos tratamentos com o tubo de distribuição de calor oriundo do forno a lenha.



Fonte: O autor

De posse da infra-estrutura e com a ração pronta, assim que as aves chegaram elas foram imediatamente separadas por faixas de peso para, em seguida, serem distribuídas entre as áreas, de forma que o peso das unidades experimentais fosse o mais homogêneo possível. Todas as aves foram identificadas individualmente de duas formas:

- a) Por anilha, contendo informações do código da ave, bloco e tratamento dispensado (Figura 9);

Figura 9: Aves identificadas individualmente com o uso da anilha.



Fonte: O autor

- b) Por meio de pintura corporal, de modo que as aves pintadas de verde no bloco 1, representam o código da ave 1 no bloco 2 a ave pintada de verde representa o código 11, e assim sucessivamente (Figura 10).

Figura 10: Aves pintadas para identificação individual



Fonte: O autor

Os dados foram coletados da seguinte maneira:

- Todas as aves tiveram seu peso aferido com 1, 7, 21 e 41 dias de idade, sendo os resultados obtidos anotados em planilha própria, desenvolvida para fins desta pesquisa.
- Foram efetuadas análises e da microbiota intestinal, com a inserção de *swab* na cloaca de cada uma das aves nos dias 1,7,14,21 e 41 dias de idade no total de 6 aves por bloco. Os resultados das análises foram anotadas em planilha própria, desenvolvida para fins desta pesquisa.
- Nos intervalos entre as coletas de dados, foram oferecidos às aves ração, acrescida do percentual de Trub (2, 4 e 6% para primeira fase, 2, 4, 6 e 15% para segunda fase) relativo a cada grupo, e água, bem como feita a aspersão do Trub sobre as camas de todos os grupos.

O grupo controle recebeu apenas água e ração sem o Trub.

O grupo Extrapolação recebeu ração com a inclusão de 15% de Trub, porém não recebeu a aspersão sobre a cama.

As aves do segundo período ficaram alojadas todas juntas na outra extremidade do galpão (Figura 11).

Figura 11 – Alojamento das aves do segundo período



Fonte: O autor

Na fase inicial, o galpão foi equipado com forno a lenha para aquecimento dos pintinhos, e os boxes foram equipados com comedouros tipo bandeja, bebedouros de pressão e cama constituída por cepilho de madeira (Figura 11). A substituição dos equipamentos infantis usados inicialmente foi feita de forma gradual; no 3º dia iniciou-se a introdução dos equipamentos destinados aos indivíduos maiores até que a substituição total, que foi concluída no 10º dia de vida das aves. O controle do aquecimento, bem como o manejo das cortinas, foi de acordo com a temperatura interna do galpão, atendendo às necessidades das aves.

Como as aves foram pesadas nos dias 1, 7, 21 e 41 dias de idade, foi calculado o consumo de ração, considerando a ração fornecida no período experimental, os desperdícios e sobras nos comedouros. A conversão alimentar foi calculada através da razão entre o consumo de ração e o ganho de peso das aves.

Para a realização da análise microbiológica, o material biológico coletado foi por meio "swab" estéril com haste de plástico. Após a coleta, o "swab" foi introduzido em um meio com crioprotetores formados por leite desnatado e BHI como caldo nutritivo (Meio adequado para a cultura de *Salmonella spp.*), e tamponado com glicerol, conforme estudos apresentados por Brumano *et al.*,

(2011). O glicerol foi usado como um bom crioprotetor e adicionado a concentrações finais de entre 15 a 50% (SPENCER E SPENCER, 1996). O efeito protetor do glicerol é representado por propriedades coligativas, diminuição do ponto de congelamento e conseqüente redução das concentrações de eletrólitos na fração não congelada da amostra (AGUIAR *et al.*, 2012). O leite desnatado foi usado para atuar na proteção ao congelamento devido à atuação dos diferentes componentes do leite na estrutura da célula (LEANDRO *et al.*, 2013). O cálcio pode também ser o responsável em contribuir para a estabilidade das enzimas celulares (CODY *et al.*, 2008). O congelamento ocorreu entre -10 a -20°C após a refrigeração por 5 dias.

Uma vez coletado o material, foi armazenado para posterior envio ao Laboratório Gimenes, localizado no município de Joinville, e responsável por realizar a análise microbiológica.

Além da análise microbiológica, foi também empregada a técnica de necropsia nas aves que morreram ao curso do experimento. A necropsia ocorreu por meio de uma incisão da pele por entre as pernas e abdômen. Com auxílio das mãos, foi rebatida a pele no sentido cranial, expondo toda a musculatura do peito. Com auxílio de uma tesoura, foi estendido o corte ao longo do pescoço da ave, inserindo-se a tesoura no tecido cutâneo do pescoço, cortando até a mandíbula inferior. A articulação coxo-femural foi desarticulada de ambos os membros, possibilitando a realização de um corte nos músculos abdominais e nas costelas na região da articulação. Levantou-se toda a região peitoral, rebatendo a musculatura para expor os órgãos "in situ". Foi aberta e examinada toda a cavidade bucal, traqueia e esôfago, posteriormente foram expostos todos os órgãos em uma bandeja, identificados e examinados.

Os sacos aéreos foram examinados logo após o rebatimento da musculatura peitoral. Nervo ciático e músculos foram expostos, levantando-se o músculo superficial sobre o lado medial da coxa. A musculatura da perna foi examinada com o objetivo de evidenciar se havia a presença de hemorragias ou de descoloração. Articulações dos membros pélvicos e ossos foram examinados para evidência de edema. No coração, a junção do saco pericárdico ao esterno foi rompida e o esterno removido. Neste ponto, o coração e o fígado foram expostos. O trato gastrointestinal (TGI) foi removido da cavidade peritoneal e colocado externamente à cavidade peritoneal (ao lado da ave). Toda cavidade

abdominal foi examinada. Os pulmões foram separados da caixa torácica, utilizando a extremidade romba da tesoura ou os dedos. As gônadas e as adrenais foram retiradas e examinadas separadamente. Traqueia foi aberta expondo sua mucosa.

6.1 Procedimentos Estatísticos

O procedimento estatístico utilizado na pesquisa foi a análise da variância, também conhecida como Anova, que consiste em comparar uma medida de posição proveniente de uma variável escalar entre diversos grupos. Como ressalta Hoffmann (1998), esse procedimento é bastante adequado quando se deseja testar hipóteses entre mais de dois grupos. A hipótese nula da Anova afirma que a média é igual entre os grupos; já a hipótese alternativa propõe que as médias são diferentes entre os grupos. A Anova segue distribuição F de Snedecor com $k - 1$ e $N - k$ graus de liberdade, em que k é o número de tratamentos e N representa o número total de indivíduos no experimento.

A Anova, por si só, não distingue quais médias são diferentes duas a duas. Para isso é necessário utilizar testes complementares, como o teste de Tukey, Schffé ou Bonferroni (HOFFMANN, 1998), sendo eles substitutos entre si.

O presente trabalho optou pelo teste de Bonferroni, que consiste em na aplicação do teste t para cada uma das médias calculadas. Para dados balanceados, como é o caso da presente pesquisa, o teste considera médias estatisticamente diferentes quando o valor absoluto de suas diferenças amostrais ultrapassar

$$t_{(\alpha, N-k)} \sqrt{2 \frac{QME}{n}}$$

O qual segue a distribuição de t de Student; sendo QME a somados quadrados médios.

6.2 Critérios de inclusão

- Animais saudáveis com 1 dia de vida
- Animais da linhagem COBB 500
- Animais do Sexo Macho.

6.3 Critérios de exclusão

- Apresentar qualquer tipo de problema de saúde

6.4 Destino dos animais pós-experimentação

Como não houve alteração no processo de desenvolvimento das aves utilizadas neste estudo, estas tiveram sua terminação produtiva até os 42 dias e, posteriormente, submetidas a tratamento com o antibiótico Amoxicilina. Após o período de carência, foram destinadas ao abate no frigorífico presente na propriedade para posterior comercialização de sua carne, já que esta não apresentou nenhum risco para o consumo humano.

6.5 Aspectos éticos

O desenvolvimento deste estudo segue os critérios estabelecidos na LEI nº. 11.794 de 8 de outubro de 2008, que regulamenta os procedimentos para o uso científico de animais. Este estudo já foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais CEUA da Univille, seguindo a Resolução Normativa nº 27, de 23/10/15 do CONCEA, pelo ofício numero 010/2019 -PRPPG/CEP.

7 RESULTADOS

A presente seção discute os resultados do experimento realizado e está dividida em subseções para melhor organização do trabalho. A primeira parte aborda o ganho de peso, a segunda a conversão alimentar, e a terceira a necropsia das aves.

7.1- Ganho de peso

Como definido e apresentado na metodologia, o estudo foi dividido em 11 grupos, sendo um de controle, totalizando 540 unidades de observações (aves). A tabela 3 mostra a quantidade de aves em cada grupo.

Tabela 3: Quantidade de aves para cada tratamento.

Tratamento	Frequência	Percentual	Cum.
Controle	50	9.26	9.26
Extrapolação	40	7.41	16.67
T1	50	9.26	25.93
T11	50	9.26	35.19
T111	50	9.26	44.44
T2	50	9.26	53.70
T22	50	9.26	62.96
T222	50	9.26	72.22
T3	50	7.22	88.70
T33	50	11.30	100.00
T333	50	9.26	
Total	540	100.00	

Fonte: O autor

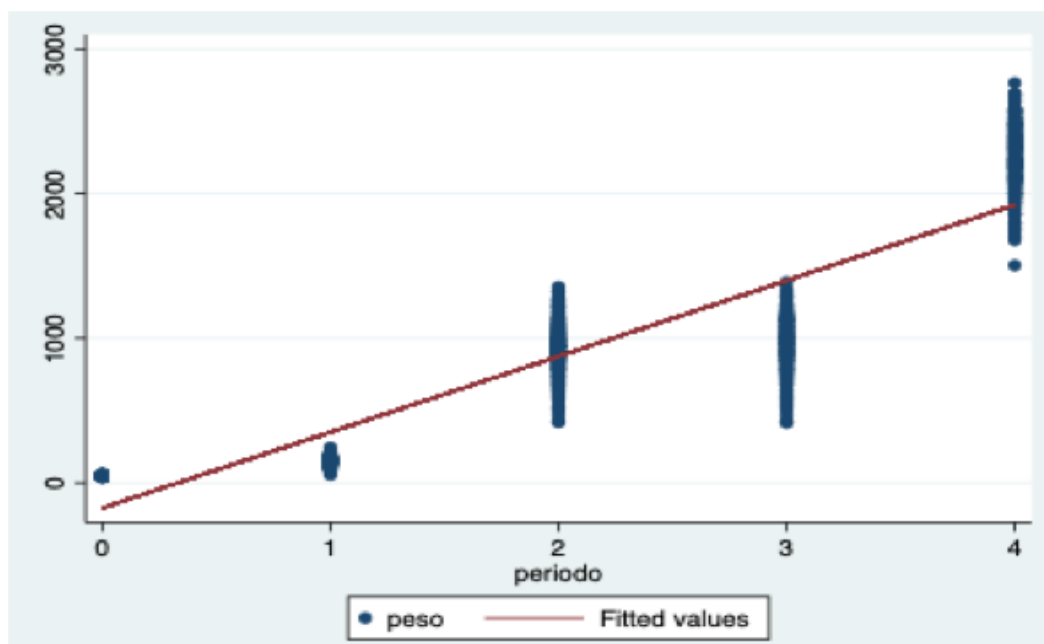
A evolução do ganho de peso das aves ao longo do tempo pode ser visto na figura 12. Nela, os pontos em azul indicam o peso de cada ave. Já a linha vermelha indica o comportamento médio ao longo do tempo.

Notadamente, a figura 12 mostra, para cada período, a superposição dos pontos. No período zero, nota-se uma pequena variabilidade no peso das aves, pois todas elas chegaram com 2 dias e apresentam pesos muito semelhantes. No período 1, transcorridos 7 dias, é possível observar o crescimento das aves, ou seja, apresentam maior peso. Além disso, é também possível constatar uma maior variabilidade entre elas.

A mesma tendência pode ser verificada no período dois. No entanto, constata-se uma grande disparidade entre o peso das aves, ou seja, elas apresentaram grande variabilidade. É notória a diferença de crescimento e também de variância entre os períodos um e dois. Embora com um elevado nível de agregação dos dados não seja possível afirmar categoricamente, mas há uma tendência que os diferentes tratamentos sejam a razão para tal variabilidade entre as aves.

Já no período três, quando outras 540 aves entraram no experimento, o peso das aves apresenta-se muito similar ao período 2. Além disso, percebe-se também a manutenção da mesma amplitude, indicando que as aves que não estavam recebendo o tratamento, não apresentaram alteração significativa em relação ao peso. É importante destacar que as aves que não recebiam tratamento sofreram menos estresse decorrente da manipulação, o que pode ter influenciado no ganho de peso.

Figura12: Evolução do ganho de peso nos períodos



Fonte: O autor

E por fim, no período quatro, é percebida uma evolução significativa do ganho de peso das aves em relação ao período anterior (três). Além disso, pode-se notar também uma ligeira ampliação da variabilidade. Esse comportamento, mais uma vez, sugere que os grupos, sob diferentes tratamentos, implicam em ganhos diferentes de peso.

De forma a compreender melhor a evolução do ganho de peso para cada nível de grupo, a tabela 4 apresenta os dados de média de peso para cada grupo, também levando em consideração o período de análise.

De maneira geral, a tabela 4 mostra que, assim como esperado, o passar do tempo implica no ganho de peso das aves. No período zero ($P=0$), a média de peso foi de 49,88 gramas. Não faz sentido, pelo menos nesse momento, apontar qual grupo apresentava maior ou menor peso, pois as aves foram escolhidas de forma aleatória, como ficou evidenciado no capítulo metodológico.

No período 1 ($P=1$), após 7 dias de experimento, a média de peso foi de 151,88 gramas. O grupo que mais ganhou peso nesse período do foi o t1, que alcançou 165,60 gramas. E o que menos ganhou peso foi o grupo t3, com 132,32 gramas. Já no período 2 ($P=2$), a média foi de 942 gramas. Há um destaque para

o grupo t333, que representa o grupo de maior ganho, atingindo 1.050 gramas. Por outro lado, o grupo controle foi o que menos conseguiu evoluir, apresentando apenas 824 gramas em média.

Tabela 4: peso das aves segundo grupo e período

	P=0	p=1	p=2	p=3	p=4
Cont	49,8	146,96	824,29	824,29	2.092,28
Extrap	49,88	151,88	942,25	919,60	2.475,31
t1	49,4	165,60	914,09	970,52	2.128,83
t11	49,0	165,02	930,29	1.038,20	2.141,33
t111	49,52	164,12	884,08	1.007,72	2.086,33
t2	50,12	142,60	954,51	974,36	2.286,49
t22	51	143,00	879,67	1.006,88	2.319,28
t222	50,6	160,18	1.038,60	977,16	2.305,27
t3	49,48	132,32	972,51	972,84	2.358,98
t33	49,48	139,85	940,21	1.032,21	2.424,56
t333	50,22	155,62	1.050,82	990,77	2.395,97
Média por período	49,88	151,88	942,25	974,77	2.271,2

Fonte: O autor

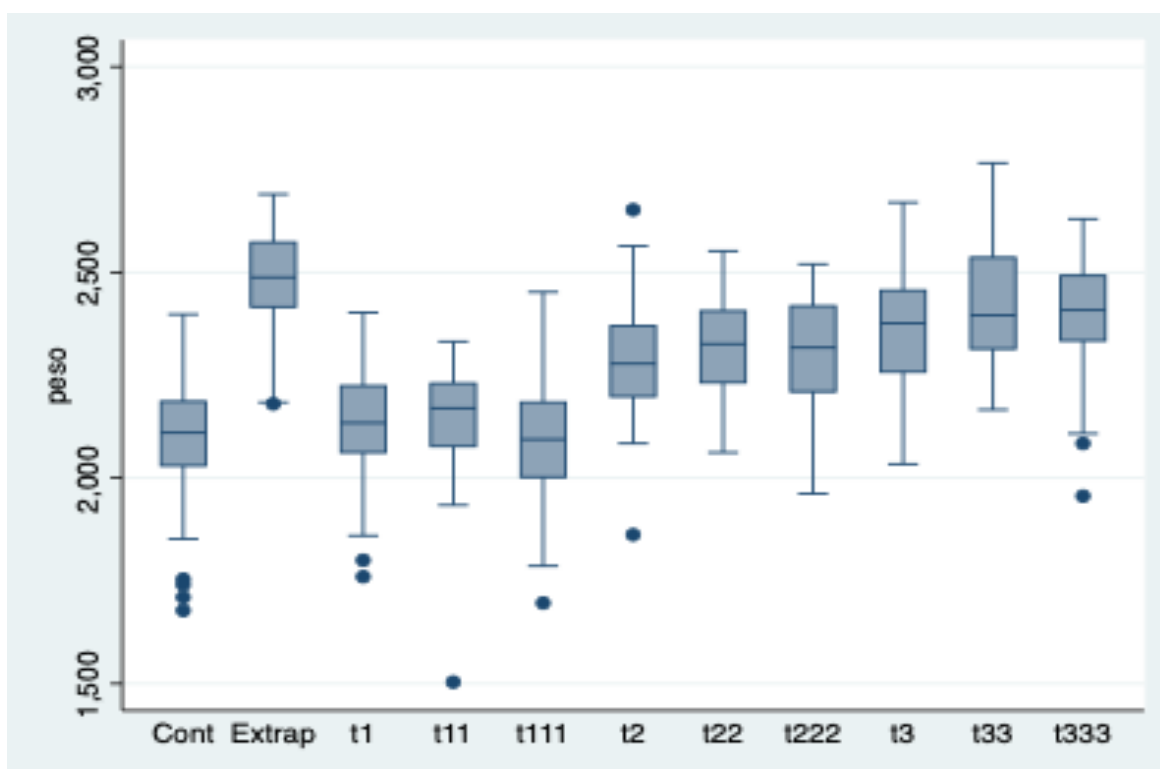
No período 3 (P=3) houve a troca das aves, da tal modo que as aves que estavam sem receber tratamento foram divididas entre todos os tratamentos exceto o controle, que se manteve o mesmo. Mais uma vez não faz sentido apontar qual grupo apresentava maior ou menor peso, pois as aves foram escolhidas de forma aleatória, como ficou evidenciado no capítulo metodológico.

E no período 4 (P=4), a média de peso alcançada foi de 2.271 gramas, representando um ganho adicional de 1.296 gramas. O grupo que menos ganhou peso em todo o período foi o t111, com 2.086 gramas; e o grupo que

mais ganhou peso foi o Extrap (Extrapolação com 15% de Trub), atingindo 2475 gramas. Esse grupo, em relação ao período 3, teve um ganho de 169%. Nota-se que a amplitude, ou seja, a diferença entre o grupo de maior peso médio e o menor peso médio foi de 389 gramas, o que representa cerca de 16% do peso médio de todos os grupos no período 4.

A Figura 13, mostra o gráfico *boxplot* para o período 4, levando em consideração a variável peso para cada tratamento empregado no estudo. Como se sabe, o *boxplot* é construído com base nos quartis. O traço horizontal dentro da caixa é a mediana, e os limites da caixa são os quartis 1 e 3. A diferença entre os quartis 1 e 3 é chamado de intervalo interquartil, e que é utilizado para determinar os valores máximos e mínimos. Os pontos além dos mínimos ou máximos são considerados *outliers*.

Figura 13: *Boxplot* do peso para cada grupo no período 4



Fonte: O autor

De fato, levando em consideração uma análise mais geral, nota-se que o grupo Extrap, além de apresentar a mediana mais elevada, se mostra bastante

diferente dos grupos de controle, t1, t11 e t111. No entanto, essa constatação é apenas visual, implicando na necessidade de um procedimento mais assertivo sobre o seu comportamento em relação aos demais grupos.

A esse respeito, foi calculado um teste de média de peso levando em consideração a presença de diversos grupos, ou seja, ao conjunto de dados foi aplicada a Anova. Antes disso, foi realizado o teste de normalidade para as variáveis. Na tabela 5, há dados de média e desvio padrão para o peso das aves, tomando como referência apenas o período 4, que é justamente o momento final do experimento.

Em relação à tabela 3, pode-se observar uma diferença quanto ao número de aves, pois algumas delas, como é também normal nas atividades econômicas de criação (granja), morreram ao longo do experimento. No entanto, o número inicial de aves foi calculado levando em consideração um determinado valor percentual de mortes de tal maneira que não interferisse nas análises estatísticas.

Tabela 5: Média e desvio padrão do peso das aves aos 41 dias de idade em relação aos tratamentos usados.

Tratamento	Média	Desvio Padrão	Frequência
Cont	2.092,28	169,16	46
Extrap	2.475,31	121,97	36
t1	2.128,83	137,86	47
t11	2.141,33	138,80	48
t111	2.086,33	143,78	48
t2	2.286,49	138,89	49
t22	2.319,28	118,57	50
t222	2.305,27	133,30	48
t3	2.358,98	142,82	49
t33	2.424,56	138,65	50

t333	2.395,97	138,18	50
Média	2.271,20	189,47	521

Fonte: O autor

Conforme a tabela 3, e como apontado anteriormente, o grupo Extrap foi o que conseguiu alcançar o maior peso, com 2.475 gramas. Em seguida foi o grupo t33, com 2.424. Por outro lado, os grupos que menos ganharam peso foram o t111 (2.086 gramas) e o cont (2.092 gramas).

Por sua vez, a variabilidade para todos os grupos, em conjunto, mensurada pelo desvio padrão, foi de 189,47 gramas. Por sua vez, individualmente, o grupo de maior desvio padrão foi o cont (controle), com 169 gramas. Por outro lado, o grupo de menor desvio padrão foi o t2. E curiosamente, o grupo Extrap foi o segundo com menor desvio.

De forma a avançar com a análise, a tabela 6 exibe os resultados da análise da variância. Inicialmente deve-se considerar o teste de variância, que testa se as variâncias entre os grupos são iguais ou diferentes. Como o nível de significância do teste foi maior que 0,05, não se rejeita a hipótese nula de que as variâncias entre os grupos são iguais.

Tabela 6: Anova para a variável peso segundo os grupos de tratamento

	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrados Médios	F	p>F
Entre grupos	8.802.074,5	10	880.207,45	45,5	0.0000
Dentre grupos	9.865.219,2	510	19.344,56		
Total	18.667.293	520	35.898,642		
				Chi 2	p>chi2
Teste de Bartlett		10		7,5981	0,668

Fonte: O autor

Os resultados da análise da variância evidenciam que o teste F se mostrou estatisticamente significativo, ou seja, não se rejeita a hipótese nula de que há pelo menos um grupo com média diferente dos demais. Embora saibamos que exista pelo menos um grupo com média estatisticamente significativa diferente dos demais, a Anova não permite identificar qual grupo se diferencia dos demais. Para identificar tal distinção é necessário empregar testes de comparação múltipla. Existem vários testes similares, no entanto, foi utilizado o teste de Bonferroni, que pode ser visualizado na tabela 7.

Tabela 7: Teste de Bonferroni para comparação múltipla dos grupos

Row Mean										
Col Mean	Controle	Extra.	t1	t11	t111	t2	t22	t222	t3	t33
Extra.	383.023									
	0.000									
T1	365.472	-346.476								
	1.000	0.000								
t11	490.507	-333.972	125.035							
	1.000	0.000	1.000							
t111	-594.928	-388.972	-424.965	-55						
	1.000	0.000	1.000	1.000						
t2	194.207	-188.816	157.66	145.156	200.156					
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
t22	226.997	-156.026	190.45	177.947	232.947	327.902				
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000				
t222	212.988	-170.035	176.441	163.938	218.938	18.781	-140.092			
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	1.000			
t3	266.697	-116.326	230.15	217.646	272.646	724.898	396.996	537.088		
	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.559	1.000	1.000		
t33	332.281	-507.415	295.734	283.231	338.231	138.074	105.284	119.293	655.845	
	0.000	0.378	0.000	0.000	0.000	0.003	0.024	0.004	1.000	
t333	303.685	-793.383	267.137	254.634	309.634	109.477	766.872	906.964	369.876	285.969
	0.000	0.378	0.000	0.000	0.000	0.003	0.221	0.043	1.000	1.000

Fonte: O autor

De forma a facilitar a compreensão dos resultados da tabela 5, foi construído o quadro 1, traduzindo os dados quantitativos em informações qualitativas. Dessa forma, a tabela mostra se um determinado grupo é estatisticamente igual, ou não, a outro grupo. Se dois grupos são estatisticamente diferentes um do outro, então eles serão representados por “dif”, indicando justamente tal diferença. Caso contrário, ou seja, se eles não forem estatisticamente diferentes, serão representados por “=”.

Quadro 1: Diferenças e igualdades entre os grupos para variável peso vivo das aves.

	Cont	Extrap	t1	t11	t111	t2	t22	t222	t3	t33
Extrap	dif									
t1	=	dif								
t11	=	dif	=							
t111	=	dif	=	=						
t2	dif	dif	dif	dif	dif					
t22	dif	dif	dif	dif	dif	=				
t222	dif	dif	dif	dif	dif	=	=			
t3	dif	dif	dif	dif	dif	=	=	=		
t33	dif	=	dif	dif	dif	dif	dif	dif	=	
T333	dif	=	dif	dif	dif	dif	=	dif	=	=

Fonte: O autor

A análise das informações do quadro 1 esclarecem a Tabela 7 apresentada anteriormente. Tomando como base o grupo de controle, ele não se mostrou estatisticamente diferente apenas dos grupos t1, t11 e t111. Para os demais grupos de tratamento (t2, t22, t222, t3, t33 e t333) pode-se perceber uma clara diferença. Além disso, o grupo de extrapolação, ou seja, aquele que recebeu mais quantidade de Trub em sua ração, é também diferente do grupo de controle. Além disso, levando em consideração os dados de média, nota-se que ele foi o que mais apresentou ganho de peso entre as aves, alcançando um padrão médio de 2,475 kg.

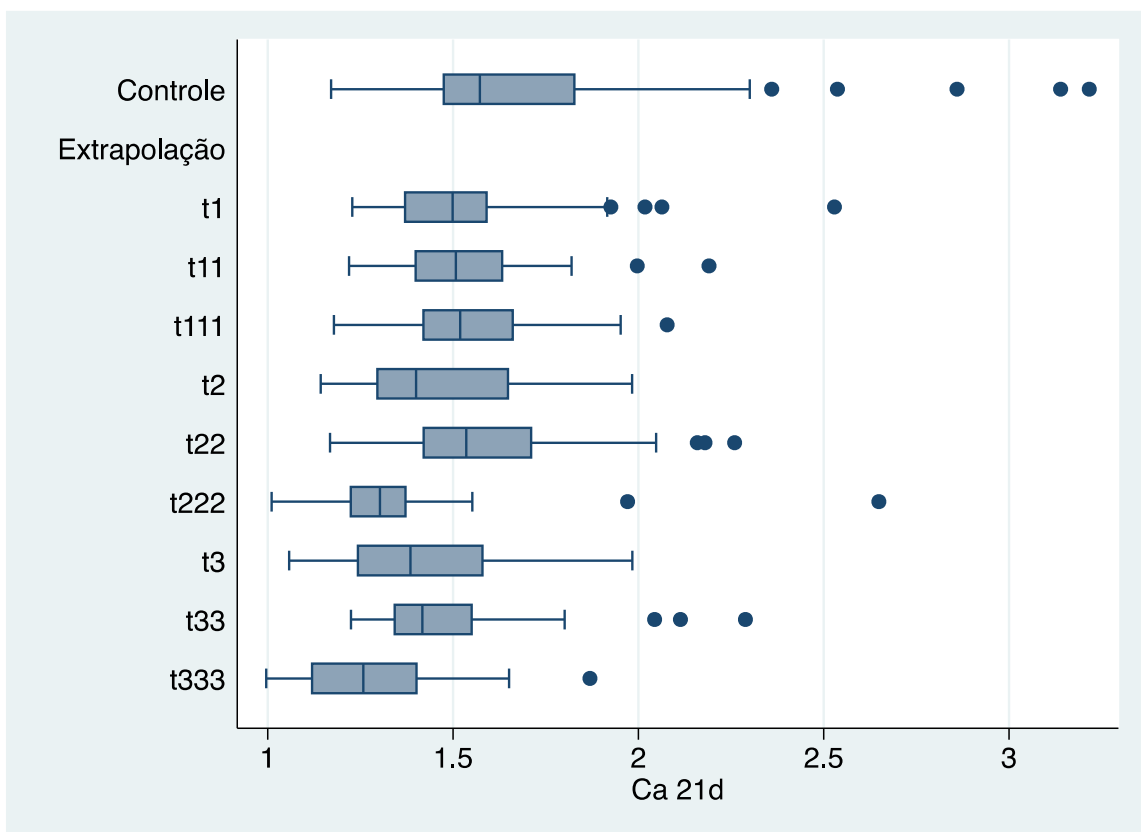
O grupo de extrapolação se difere estatisticamente dos grupos t1, t11, t111, t2, t22, t222 e t3. No entanto, ele não se difere estatisticamente dos grupos t33 e t333, que são os grupos que apresentaram a segunda e a terceira melhor média de peso.

Dessa forma, intui-se que a adição do Trub na ração que compõe a dieta das aves proporciona um melhor ganho de peso. Conforme pode ser constatado, quantidades crescentes do Trub geram maior ganho, no entanto, imagina-se que há um ponto de saturação, ou seja, quando quantidades maiores não acarretam acréscimo de peso. Dessa forma, pressupõe-se que o ganho de peso desenvolve uma trajetória côncava, ou seja, a taxa de variação do ganho de peso em função da adição do Trub é decrescente. E pode-se chegar a um ponto em que ela se torna negativa, o que representa que quantidades adicionais podem afetar negativamente o ganho de peso.

7.2 Conversão alimentar

O cálculo da conversão alimentar (CA) é por meio da relação entre ganho de peso obtido e alimento ingerido. A figura 13 exibe o gráfico no formato *boxplot* da conversão alimentar durante a primeira fase do experimento.

Figura 14: *Boxplot* da conversão alimentar para cada grupo no período 2



Fonte: o autor

Inicialmente é possível observar no gráfico que o grupo de controle apresentou grande dispersão, sendo inclusive maior do que todos os demais grupos de tratamento. Os demais grupos de tratamento apresentaram, mesmo com um grau de variabilidade, um comportamento mais homogêneo.

Ainda em relação ao gráfico, nota-se que o grupo t333, além de apresentar a mediana mais baixa, se mostra diferente dos grupos de controle, t1, t11 e t111. O grupo t222 também apresentou uma mediana consideravelmente baixa. Mesmo assim, é necessário verificar se tais comportamentos são estatisticamente significativos ou não.

Na tabela 6 há dados de média e desvio padrão para a conversão alimentar das aves, tomando como referência apenas o período 2 (aos 21 dias), que é justamente o momento final da primeira fase do experimento.

Tabela 8: Média e desvio padrão da conversão alimentar em relação aos tratamentos com os valores de máximo e mínimo.

Variável	Obs	Média	DP	Mínimo	Máximo
Controle	48	1,7225	0,4623	1,1711	3,2167
T1	47	1,5252	0,2507	1,2280	2,5292
T11	49	1,5411	0,1923	1,2191	2,1906
T111	50	1,5550	0,1910	1,1787	2,0777
T2	47	1,4669	0,2220	1,1431	1,9832
T22	46	1,5884	0,2575	1,1683	2,2597
T222	50	1,3329	0,2471	1,0109	2,6490
T3	47	1,4088	0,1989	1,0578	1,9835
T33	50	1,4823	0,2233	1,2248	2,2890
T333	50	1,2780	0,1824	0,9962	1,8694

Fonte: o autor

Em relação à tabela 8, embora seja possível observar uma diferença quanto ao número de aves, pois algumas delas, como é também normal nas atividades econômicas de criação (granja), morreram ao longo do experimento. Mesmo levando em consideração as mortes, do ponto de vista experimental e

analítico a quantidade de perdas não impôs qualquer tipo de restrição aos procedimentos estatísticos adotados no presente trabalho.

O grupo de controle, por exemplo, apresentou a maior média de conversão alimentar, com 1,72. Os grupos T1, T11, T111 e T22 tiveram média na casa de 1,5. Já os grupos T2, T222, T3 e T33 tiveram média entre 1,3 e 1,4. E finalmente o grupo T333 foi o que obteve a menor média, na casa de 1,2. Esses valores representam o quanto as aves devem comer de ração para converter em uma unidade de peso (em quilogramas) corporal.

A esse respeito, foi calculado um teste de média da conversão alimentar levando em consideração a presença de diversos grupos, ou seja, ao conjunto de dados foi aplicada a Anova, e na sequência o teste de Bonferroni para diferenciar os grupos dois a dois. Antes disso, foi realizado o teste de normalidade para as variáveis, os quais se tornaram normais. Caso não fossem, testes não paramétricos deveriam ser adotados caso o número de observações fosse pequeno. No entanto, o aumento do número de observações faz com que a distribuição tenha convergência para a distribuição normal, conforme o teorema do limite central¹. Por conta disso, os resultados foram omitidos.

De forma a avançar com a análise, a tabela 9 exhibe os resultados da análise da variância. Inicialmente deve-se considerar o teste de variância, que testa se as variâncias entre os grupos são iguais ou diferentes. Como o nível de significância do teste foi maior que 0,01, rejeita-se a hipótese nula de que as variâncias entre os grupos são iguais (teste de Bartlett).

Tabela 9: Anova para a variável conversão alimentar segundo os grupos de tratamento

	Soma dos Quadrados	Grau de liberdade	Quadrados Médios	F	p>F
Entre grupos	7,2562	9	0,80624442	12,48	0,000
Dentre grupos	30,6333	474	0,064627192		
Total	37,8895	483	0,078446146		

Chi 2 p>chi2

Teste de Bartlett		10		81,1943	0,000
--------------------------	--	----	--	---------	-------

Fonte: O autor

Segundo Hoffmann (1998), se há um conjunto de variáveis aleatórias independentes com sua média e variância finitas, a distribuição da combinação linear das variáveis tende a uma distribuição normal à medida com que o número de observações cresce.

Na tabela 9 pode-se ver o resultado da análise de variância (Anova), bem como os parâmetros de decisão, valor do teste F e seu respectivo nível de significância. Como se pode observar, o nível de significância é menor que o de referência, no caso, 5%. Portanto, rejeita-se a hipótese nula de que todas as médias amostrais são iguais entre si, ou seja, há pelo menos uma média que se difere das demais.

Dado que o teste F rejeita a hipótese nula, há necessidade de verificar quais grupos se diferem entre si. Dessa forma, a tabela 10 exhibe os resultados do teste de Bonferroni, que compara, com base no teste t, a igualdade de grupos dois a dois. Os números entre parênteses expressam o nível de significância.

Tabela 10: Teste de Bonferroni para comparação múltipla dos grupos

Grupos	Contrôle	t1	t11	t111	t2	t22	t222	t3	t33
t1	- 0,197 2								
	(0,008 0)								
t11	- 0,181 4	0,015 9							
	(0,022 0)	(1,00 00)							
t111	- 0,167 5	0,029 8	0,013 9						
	(0,054 0)	(1,00 00)	(1,00 00)						
t2	- 0,255 6	- 0,058 3	- 0,074 2	- 0,088 1					
	(0,000 0)	(1,00 00)	(1,00 00)	(1,00 00)					
t22	- 0,134 1	0,063 2	0,047 3	0,033 4	0,121 5				
	(0,490 0)	(1,00 00)	(1,00 00)	(1,00 00)	(0,97 10)				

t222	-	-	-	-	-	-			
	0,389	0,192	0,208	0,222	0,134	0,255			
	6	3	2	1	0	5			
	(0,000	(0,01	(0,00	(0,00	(0,44	(0,00			
	0)	00)	20)	10)	00)	00)			
t3	-	-	-	-	-	-	0,075		
	0,313	0,116	0,132	0,146	0,058	0,179	9		
	7	4	3	2	1	6			
	(0,000	(1,00	(0,49	(0,21	(1,00	(0,03	(1,00		
	0)	00)	90)	80)	00)	20)	00)		
t33	-	-	-	-	0,015	-	0,149	0,073	
	0,240	0,042	0,058	0,072	4	0,106	4	5	
	2	9	8	7		1			
	(0,000	(1,00	(1,00	(1,00	(1,00	(1,00	(0,15	(1,00	
	0)	00)	00)	00)	00)	00)	60)	00)	
t333	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,444	0,247	0,263	0,277	0,188	0,310	0,054	0,130	0,204
	5	2	1	0	9	4	9	8	3
	(0,000	(0,00	(0,00	(0,00	(0,01	(0,00	(1,00	(0,52	(0,00
	0)	00)	00)	00)	30)	00)	00)	50)	30)

Fonte: o autor

O quadro 2, originária dos resultados do teste de Bonferroni (Tabela 10), mostra se um determinado grupo é estatisticamente igual, ou não, a outro grupo. Se dois grupos são estatisticamente diferentes um do outro, então eles serão representados por “dif”, indicando justamente tal diferença. Caso contrário, ou seja, se eles não forem estatisticamente diferentes, serão representados por “=”. O quadro 2 possibilita compreender melhor quais grupos são diferentes ou iguais entre si.

A análise das informações do quadro 2 esclarece a tabela 10 apresentada anteriormente. Tomando como base o grupo de controle, ele não se mostrou estatisticamente diferente apenas dos grupos t111 e t22. Para os demais grupos de tratamento (t1, t11, t2, t222, t3, t33 e t333) pode-se perceber uma diferença.

Além disso, levando em consideração os dados de média, nota-se que ele o grupo t333 com 6% de Trub foi o que apresentou melhor conversão alimentar, alcançando um padrão médio de 1,2780.

Quadro 2: Diferenças e igualdades entre os grupos para variável conversão alimentar

	Cont	t1	t11	t111	t2	t22	t222	t3	t33
t1	dif								
t11	dif	=							
t111	=	=	=						
t2	dif	=	=	=					
t22	=	=	=	=	=				
t222	dif	dif	dif	dif	=	dif			
t3	dif	=	=	=	=	=	=		
t33	dif	=	=	=	=	=	dif	=	
T333	dif	dif	dif	dif	dif	dif	=	=	dif

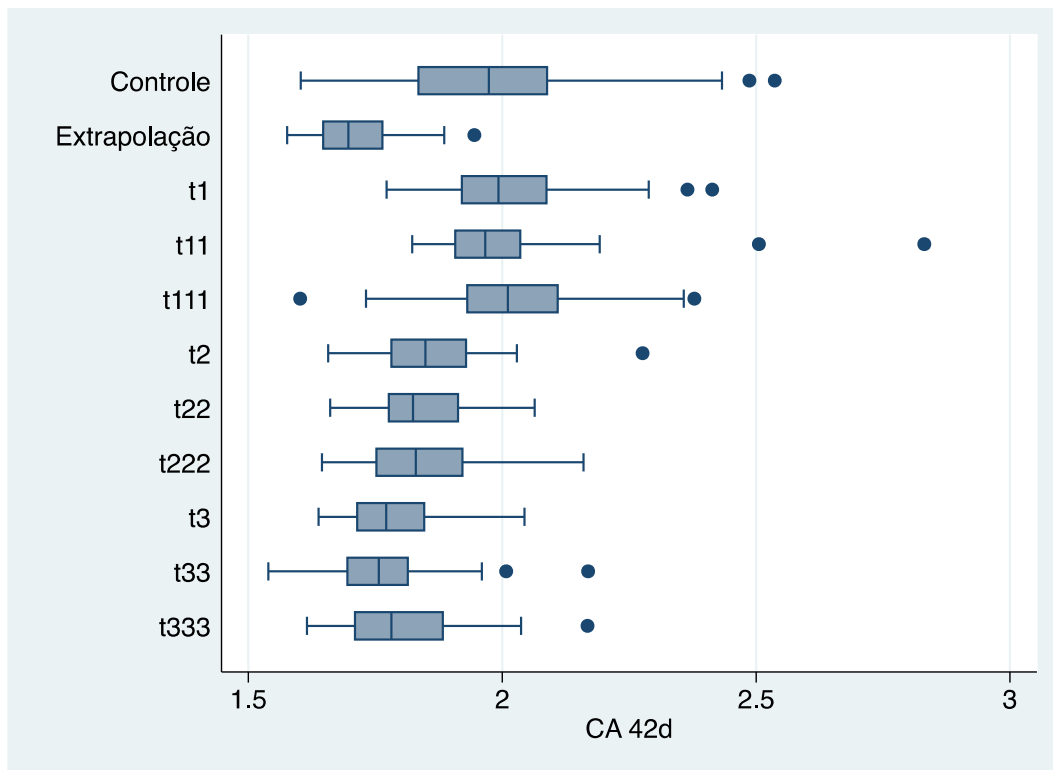
Fonte: O autor

A segunda melhor conversão alimentar foi do grupo t222 o qual não apresentou diferença significativa apenas para o T2.

Dessa forma, intui-se que a adição do Trub na ração que compõe a dieta das aves proporciona também uma melhor conversão alimentar para o período de vida até 21 dias.

No entanto, deve-se ressaltar o período completo, com 42 dias. A figura 15 exibe o gráfico no formato *boxplot* da conversão alimentar durante a segunda fase do experimento representada pelo período 4 (42 dias).

Figura 15: *Boxplot* da conversão alimentar para cada grupo no período 4



Fonte: O autor

É possível perceber no gráfico acima (Figura 15) diferentes comportamentos em relação ao período total. Inicialmente, o grupo de controle foi o que maior dispersão apresentou. Os demais grupos se mostraram com menos dispersão, mesmo assim com relativo grau de diferenciação entre si.

De maneira mais objetiva, na tabela 11 são apresentados os valores de média e desvio padrão para a conversão alimentar das aves no período 4. O grupo de maior média é, de fato, o grupo t111, com 2,014kg de ração para unidade de peso corpóreo (Kg) e o de menor média é o grupo de extrapolação, com 1,71kg para cada unidade de peso corpóreo.

Tabela 11: Média e desvio padrão da conversão alimentar em relação aos tratamentos.

Tratamento	Média	Desvio Padrão	Frequência
Cont	1,981647	0,22656912	48
Extrap	1,7149966	0,08489081	23
t1	2,0059468	0,13210561	47
t11	2,002631	0,17022922	49
t111	2,014123	0,149584	50
t2	1,8575804	0,10754232	47
t22	1,7979438	0,28847914	46
t222	1,8463458	0,11996433	50
t3	1,7892463	0,09070647	47
t33	1,7647779	0,11312251	50
t333	1,8148906	.0,2630676	50
Média	1,8798531	0,1874918	507

Fonte: O autor

A tabela 12 a seguir exhibe os resultados da análise da variância para a variável conversão alimentar na segunda fase do projeto, período 4.

Considerando o teste da variância (teste de Bartlett), nota-se que o nível de significância do teste é menor que 0,01, portanto, rejeita-se a hipótese nula de que as variâncias entre os grupos são iguais.

Tabela 12: Anova para a variável peso vivo das aves segundo os grupos de tratamento

		Soma dos Quadrados	Grau de liberdade	Quadrados Médios	F	>F
Entre grupos		5.15685671	10	0,51561	20.25	0.0000
Dentre Grupos		12.630667	496	0,02546		
	Total	17.7875237	506	0,03515		

Chi 2 p>chi2

Teste de Bartlett		10			81,19	0,000
--------------------------	--	----	--	--	-------	-------

Fonte: O autor

Mesmo com variâncias distintas, e conforme pode se verificar no gráfico no formato *boxplot*, a análise de variância (Anova) se mostrou estatisticamente significativa a, pelo menos, 1%. Isso implica que há evidências para se rejeitar a hipótese nula de que as médias de peso entre os grupos são iguais. Dito de outra forma, existe pelo menos um grupo que se difere dos demais.

Dado que existe pelo menos um grupo, é importante identificar quais grupos se diferem entre si. Para isso, foi novamente calculado o teste de Bonferroni, que compara as médias entre grupos dois a dois (Tabela 13).

Tabela 13: Teste de Bonferroni para comparação múltipla dos grupos

Variáveis	Controle	Extrapol	t1	t11	t111	t2	t22	t222	t3	t33
Extrapol	- 0,26 67									
	(0,00 00)									
t1	0,02 43	0,29 10								
	(1,00 00)	(0,00 00)								
t11	0,02 10	0,28 76	- 0,00 33							
	(1,00 00)	(0,00 00)	(1,0 000)							
t111	0,03 25	0,29 91	0,00 82	0,01 15						
	(1,00 00)	(0,00 00)	(1,0 000)	(1,0 000)						
t2	- 0,12 41	0,14 26	- 0,14 84	- 0,14 51	- 0,15 65					
	(0,00 90)	(0,02 70)	(0,0 000)	(0,0 010)	(0,0 000)					
t22	- 0,18 37	0,08 29	- 0,20 80	- 0,20 47	- 0,21 62	- 0,05 96				

	(0,00 00)	(1,00 00)	(0,0 000)	(0,0 000)	(0,0 000)	(1,0 000)				
t222	- 0,13 53	0,13 13	- 0,15 96	- 0,15 63	- 0,16 78	- 0,01 12	0,04 84			
	(0,00 20)	(0,06 40)	(0,0 000)	(0,0 000)	(0,0 000)	(1,0 000)	(1,0 000)			
t3	- 0,19 24	0,07 43	- 0,21 67	- 0,21 34	- 0,22 49	- 0,06 83	- 0,00 87	- 0,05 71		
	(0,00 00)	(1,00 00)	(0,0 000)	(0,0 000)	(0,0 000)	(1,0 000)	(1,0 000)	(1,0 000)		
t33	- 0,21 69	0,04 98	- 0,24 12	- 0,23 79	- 0,24 93	- 0,09 28	- 0,03 32	- 0,08 16	- 0,02 45	
	(0,00 00)	(1,00 00)	(0,0 000)	(0,0 000)	(0,0 000)	(0,2 410)	(1,0 000)	(0,5 990)	(1,0 000)	
t333	- 0,16 68	0,09 99	- 0,19 11	- 0,18 77	- 0,19 92	- 0,04 27	0,01 69	- 0,03 15	0,02 56	0,05 01
	(0,00 00)	(0,73 10)	(0,0 000)	(0,0 000)	(0,0 000)	(1,0 000)	(1,0 000)	(1,0 000)	(1,0 000)	(1,0 000)

Fonte: o autor

Novamente, visando facilitar o entendimento, o quadro 3, traduz os dados quantitativos em informações qualitativas. Dessa forma, a tabela mostra se um determinado grupo é estatisticamente igual, ou não, a outro grupo. Se dois grupos são estatisticamente diferentes um do outro, então eles serão representados por “dif”, indicando justamente tal diferença. Caso contrário, ou seja, se eles não forem estatisticamente diferentes, serão representados por “=”.

Quadro 3: Diferenças e igualdades entre os grupos

	Cont	Extra	T1	t11	t11	t2	t22	t222	t3	t33
		p.			1					
Extrapolação	dif									
t1	=	dif								
t11	=	dif	=							
t111	=	dif	=	=						
t2	dif	dif	dif	dif	dif					
t22	dif	=	dif	dif	dif	=				
t222	dif	dif	dif	dif	dif	=	=			
t3	dif	=	dif	dif	dif	=	=	=		
t33	dif	=	dif	dif	dif	=	=	=	=	
T333	dif	=	dif	dif	dif	=	=	=	=	=

Fonte: O autor

Levando em consideração os dados de média, nota-se que ele o grupo extrapolação foi o que apresentou melhor conversão alimentar, alcançando um padrão médio de 1.7149. E esse comportamento é estatisticamente diferente de todos os demais grupos.

A segunda melhor conversão alimentar foi do grupo t33. Os grupos t1, t11, t111 que receberam inserção de 2% de Trub na dieta apresentaram o pior rendimento em relação a conversão alimentar não apresentando diferença significativa para o grupo Controle, todos os demais grupos apresentaram uma diferença significativa.

7.3 Resultados da necropsia

O número total de aves mortas durante o experimento foi de 33 representando uma taxa de mortalidade de aproximadamente 3,17%

As causas de mortalidade registradas foram divididas em grupos para a avaliação dos dados coletados, em causas infecciosas, metabólicas, má formação, inanição.

Das 33 aves que morreram, nove delas, o que corresponde a 27% do total de mortes, apresentaram sinal de onfalite. Esta foi à única possível causa de mortalidade infecciosa encontrada na avaliação macroscópica das aves mortas em ambos os lotes. Isso se deve ao fato de que estas mortes terem ocorrido até, no máximo, dez dias de vida, cuja principal causa é contaminação dos ovos férteis por fezes das matrizes, cujas bactérias penetram através dos poros da casca do ovo, ou ainda pela exposição do umbigo das aves, que ainda não estava cicatrizado, com o ambiente contaminado. Os achados de necropsia revelam abdômen dilatado, com inflamação e edema no umbigo.

Foram registradas 36% (12/33) com indícios de afecções metabólicas relacionadas à síndrome ascítica. Das 12 carcaças, 5 estavam em boa condição corporal, com conteúdo gastrointestinal, e sem nenhuma lesão aparente, compatível com a da síndrome da morte súbita. As outras 7 com hipertensão pulmonar, observada pelo extravasamento do sangue do leito vascular, com consequente acúmulo na cavidade abdominal também indicativo de síndrome ascítica.

Foi evidenciado 18% (6/33) das aves com malformações ou defeitos congênitos. Dentre estas alterações estão animais com bico torto e pescoço torto, por exemplo.

Por fim foram contabilizadas 18% (6/33) de aves mortas por inanição, carcaças encontradas definhadas, por não conseguirem se alimentar ou ingerir água (Figura 16).

Figura 16. Necropsia de ave morta no 4º dia de experimento. Exposição do intestino delgado e fígado, ambos os órgãos sem alterações macroscópicas.



Fonte: O Autor

Na Figura 17 tem-se uma imagem da necropsia de uma ave morta por pescoço torto, na qual não se observa alterações macroscópicas sobre o aparelho digestório. Esta imagem pode ser comparada a outra retirada da literatura (Figura 18) de uma ave necropsiada com salmonelose, apresentando pequenos cistos contendo material caseoso, de cor âmbar sobre o aparelho digestório (Pinto, 2012).

Figura 17: Intestino e fígado retirados em necropsia de uma ave aos 20 dias de experimento na Fase 1, sem indicação de lesões macroscópicas aparentes.



Fonte: O Autor

Figura 18: Aparelho digestório retirado em necropsia apresentando nódulos de tamanhos variados sobre a serosa e mesentério dos intestinos grosso e delgado, característicos de salmonelose.



Fonte: Pinto (2012)

8 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Por meio do desenvolvimento deste estudo, verificou-se que a inclusão do Trub melhorou a eficiência produtiva das aves, promovendo maior ganho de peso e menor conversão alimentar, corroborando estudos realizados por Bozkurt *et al.*, (2009), quando constataram melhor peso vivo e conversão alimentar em frangos alimentados com dietas contendo lúpulo em comparação com aqueles do tratamento contendo o antibiótico avilamicina.

Cornelison *et al.* (2006), também demonstraram, assim como neste trabalho, que o lúpulo tem efeito como promotor de crescimento na alimentação de frangos.

Uma das possíveis causas do ganho de peso e diminuição da conversão alimentar das aves que receberam a maior quantidade de lúpulo pode estar relacionado a sua capacidade antimicrobiana, assim como demonstrado por Cornelison *et al.* (2006); Siragusa *et al.* (2008); Tillman *et al.* (2011); Bozkurt *et al.* (2009). Já Mega *et al.*, (2011), a partir de dados experimentais, atribuíram o ganho de peso ao constituinte de proteínas coaguladas e glicose presente do Trub.

Além do aumento no ganho de peso as aves apresentaram melhor conversão alimentar com o acréscimo do Trub às dietas formuladas para os frangos de corte. Uma melhora na conversão alimentar proporciona aumento da produtividade e diminuição dos custos. Os dois índices zootécnicos diretos que têm maior influência no custo de produção são sem dúvida, o peso médio das aves e a conversão alimentar. O peso médio, responsável pelo faturamento e, por conseguinte pela diluição dos custos fixos (cerca de 35% do custo total) e a conversão alimentar que tem no seu conteúdo o custo da ração por unidade de peso produzido equivalente à aproximadamente 65% do custo de produção (PERDOMO, 2011). Os achados aqui dão sustentação às hipóteses 1 e 2.

Neste projeto, a análise antimicrobiana do lúpulo sobre a *Salmonella spp.* teve seus resultados comprometidos devido à necessidade de urgência de congelamento das amostras. A princípio, todas amostras seriam processadas e analisadas nos laboratórios da Univille, porém, devido ao surgimento da

pandemia de COVID19, se tornou impossível o uso dos laboratórios e demais dependências da Univille. Diante de tal impedimento, realizou-se o congelamento das amostras por técnica de criopreservação descrita na revisão de literatura. Porém, ficou evidente falhas na técnica, já que nenhuma das amostras apresentou contaminação por *Salmonella spp.* Dessa forma, a técnica de congelamento descrita não se mostrou eficaz e, além disso, comprometeu toda a parte de análise microbiológica. A título de recomendação, sugere-se que estudos posteriores sejam cautelosos em relação à adoção dessa técnica, pois ela não se mostrou satisfatória no presente estudo. Um desdobramento é fazer um teste em pequenos lotes, assim é possível verificar se o procedimento gera resultados a ponto de expandir para o restante das análises.

Embora os trabalhos Ostermann *et al.*, (2005) e Smirnov *et al.*, (2003) já tenham demonstrado o efeito antimicrobiano do lúpulo sobre *Lactobacillus* e *C. Perfringens*, os resultados aqui, por estarem comprometidos, não endossa e nem refuta os achados dos autores. Dessa forma, sugere-se novos estudos que comprovem o efeito antimicrobiano do lúpulo. Portanto, não é possível comprovar ou refutar as hipóteses 3 e 4.

Vale ressaltar que todas as aves foram inoculadas com *Salmonella enteritidis*, e nenhuma delas apresentou sintomas clínicos ou achados de necropsia condizentes com salmonelose, o que leva a conclusão que possivelmente o lúpulo teve efeito bactericida sobre a *Salmonella enteritidis*.

Ao contrário do que se observou nesse experimento, Dhillon *et al.* (2001), descreveram que as aves inoculadas com *Salmonella enteritidis* sofreram enterite com grande número de morte das aves. Portanto, há indícios, ainda insuficientes, de que a ação do trub combate a *Salmonella*, o que daria suporte às hipóteses 3 e 4 desse trabalho.

Zancan (1998), Barrow (2003), Andreatti Filho (2002), Figueiredo *et al.* (2001), e Demateé Filho *et al.* (2012), demonstraram que aves com *Salmonella spp.* apresentam rendimento bem abaixo do potencial e muitas vezes morte do animal. Tal situação foi constatada apenas no grupo controle, que obteve um baixo rendimento, comparado a dados da literatura. Portanto, mesmo indiretamente, é possível associar o efeito bactericida do Trub, pois o grupo Extrapolação obteve resultados altos de ganho de peso e ótima conversão alimentar. Moir (2000), atribui a ação antimicrobiana do lúpulo a uma mistura de alfa e beta-ácidos, bem

como óleos essenciais e compostos polifenólicos. O efeito antimicrobiando do lúpulo já foi provado por Tillman et al. (2011) com auxílio da PCR em tempo real, onde observaram menor quantidade de *Clostridium perfringens* no intestino delgado e ceco das aves que receberam lupulone.

Perante os resultados do aumento da eficiência produtiva das aves ficou evidente a possibilidade do uso do Trub como ingrediente alternativo na alimentação animal, além de diminuir seu efeito poluente quando dispersos no meio ambiente. Permite também formular rações economicamente viáveis, quando em comparação com as atuais, além de ser uma ferramenta poderosa para manter a saúde do trato intestinal das aves, melhorando o rendimento zootécnico sem risco de resíduos, como os dos antibióticos, na carne e nos ovos.

9 CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que é possível reutilizar o Trub na dieta de frangos de corte, influenciando positivamente o desenvolvimento das aves e transformando o Trub, que seria totalmente descartado na forma de resíduo, ou até mesmo como contaminante ambiental, em um recurso adicional para produção de carne de frangos.

É evidente que o potencial de exploração do Trub ainda é muito grande, mesmo com o enorme desenvolvimento de pesquisas a respeito do seu uso, a utilização na alimentação de aves ainda foi muito pouco investigada. Nesse sentido, mesmo a ação do Trub não contribuindo para a minimização da presença da *Salmonella*, é notório o ganho de peso que as aves tiveram no experimento conduzido.

Como ressaltado ao longo do trabalho, mas especificamente na revisão de literatura, o Brasil é um grande produtor de cerveja, bebida esta destinada majoritariamente ao consumo doméstico, e igualmente um grande produtor de frango, cuja carne é tanto consumida domesticamente quanto exportada. Diante dessas proporções, e também pelos resultados obtidos no presente trabalho, recomenda-se a incorporação do Trub na ração destinada à alimentação das aves.

A utilização do Trub na produção de frangos induz a circularidade dos sistemas produtivos, produzindo mais carne com uma menor quantidade de alimentos convencionais de alto custo com o milho e farelo de soja. Além do mais, o uso do Trub na ração tem potencial para diminuir a contaminação por *Salmonella spp.* Sobre esse assunto, se faz necessário estudos complementares, pois o presente não conseguiu tecer conclusões significativas a esse respeito.

Além do mais, são sempre acatadas pela indústria e pelos mercados medidas que possam minimizar as perdas de produção e gerar um produto inócuo, por isso devem ser intensamente estudadas. E a isso se soma benefícios ambientais e também econômicos, pois resíduos que seriam descartados, com ou sem tratamento, têm potencial para serem incorporados na dieta de aves.

BIBLIOGRAFIA

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL Relatório Anual de 2020. São Paulo, SP – 2020 - pp 15-18.

AGUIAR T.A.F., Teixeira M.F.S., Teles C.H.A., Martins G.R, Bezerra R.Q.J, Costa E.C. 2012. Princípios básicos da criomicrobiologia: Enfoque nos tipos de micro-organismos e nos principais agentes crioprotetores. Acta Vet. Bras. 6(2): 80-92.

ALBUQUERQUE, D.M. Resíduo desidratado de cervejaria para suínos em crescimento e terminação. 2009, Dissertação (Mestrado em ciência animal).Universidade Federal do Piauí. Teresina.

Almeida, L. C.; Bogusz Junior, S.; Skibsted, L. H.; Cardoso, D. R.; Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids. Int. 2018, 105, 210

ANDREATTI FILHO, R. L.; FERNANDES, S. A.; BORETTI, L. P.; BARROS, M. R.; DEL BEM, S. R.; FONTANA, A.; SAMPAIO, H. M.; SAVANO, E. N. Sorovares de Salmonella isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. Rev. Educ. Contin. CRMV-SP, v. 4, p. 90-101, 2001.

ANVISA – AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA – PAMVet - Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo. Brasilia 2003.

Araújo ICS, Barnabé CS, Carneiro ALM, Café MB. Desempenho e escore de lesão de frangos desafiados experimentalmente com Salmonella Enteritidis e Eimeria tenella e tratados com ácidos orgânicos na ração. In: 46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 2009; Maringá. Anais...Maringá: Sociedade Brasileira de Zootecnia 2009

- BACK, A., BELTRÃO, N., & LEÃO, J. A. (2006). Monitoria e controle de Salmonella: Aspectos Práticos. VII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, pp. 95-103.
- BAPTISTA, T. M., JORGE, D. L., & NILVA, K. S. (2005). Effects of broiler stocking density and poultry litter reuse in broiler performance and poultry litter production. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100(553), 45-52.
- BARCHET, R. Hot Trub: Formation and removal. *Brewing Techniques*, v.1, n.4. 1993.
- BARROW, P.A. Salmonella control – past, present and future. *Avian Pathol.* v.22, p.651-669, 2003.
- BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. Manual de controle da saúde e produção dos animais. São Paulo, SP: MANOLE, 2001. 530 p.
- BONI, H. F. (Janeiro de 2011). Ocorrência de Salmonella spp. em aviários e abatedouro de frangos de corte na região central do Mato Grosso do Sul. (A. M. Barbosa, Ed.) *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12(1), 84-95.
- BORTOLUZZI, C., MENTEN, J. F., ROMANO, G. G., PEREIRA, R., & NAPT, G. S. (2014). Effect of hops β -acids (*Humulus lupulus*). *Poultry Science Association*, 437-443.
- BOZKURT, M., & KUÇUKYLMAZ, K. (2009). Effect of dietary mannan oligosaccharide with or without oregano essential oil and hop extract supplementation on the performance and slaughter characteristics of male broilers. *South African Journal of Animal Science*, 223-232.

BRIGGS, D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. *Brewing Science and Practice*. Flórida: CRC Press LLC and Woodhead Publishing Limited, 2004. 863p

CARRIQUE-MAS, J. J. (2008). *Salmonella enteritidis* in commercial layer flocks in Europe: Legislative background, on farm sampling and main challenges. *Brazilian Journal of Poultry Science*, pp. 1-9.

CHEE-SANFORD, J.C., R.I. AMINOV, I.J. KRAPAC, N. GARRIGUES-JEANJEAN, AND R.I. MACKIE. 2001. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:1494–1502

CODY W.L., WILSON J.W., HENDRIXON D.R., MCLVER K.S., HAGMAN K.E., OTT C.M., NICKERSON C.A., SCHURR M.J. 2008. Skim milk enhances the preservation of thawed -80°C bacterial stocks. *J. Microbiol. Methods.* 75(1): 135–138.

CORNELISON, J., & YAN, F. (2006). Evaluation of hops (*Humulus lupulus*) as an antimicrobial in broiler diets. *Int. J. Poult. Sci.*, pp. 134-136.

CRUZ, Juliana Gisele B. D. *Utilização de reatores microbianos com células imobilizadas no tratamento de efluente de uma indústria de bebidas*. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2007

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *J. Appl. Poult. Res.* 11:453–463.

FERKET, P. (2004). *Alternatives to antibiotics in poultry production: Responses, practical experience and recommendations*. *nutritional biotechnology in*

the feed and food industries. Proc. Alltech's 20 th Annual Symposium., pp. 57-67.

FERNÁNDEZ, A.; LARA, C.; LOSTE, A.; CALVO, S.; MARCA, M.C. Control of of Salmonella enteritidis phage type 4 experimental infection by fosfomycin in newly hatched chicks. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease, Oxford, v. 24, p.207-216, 2001.

FERREIRA, Z. T.; SESTERHENN, R.; KINDLEIN, L. Condenações por celulite em abatedouros de frangos de corte no Estado do Rio Grande do Sul abatidos sob inspeção Federal nos anos de 2005 a 2010. 38° CONBRAVET. Revista de Ciências Agroveterinárias. Número especial. Área: Produção de Alimentos. Disponível em: http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/lista_area_04.htm. Acesso em: 20 de jan. 2012. 2011.

GERMANO, P. L. (2008). Agentes bacterianos de toxinfecções. Higiene e vigilância sanitária de alimentos, pp. 317-323.

GIL, Antônio Carlos. Métodos e técnicas de pesquisa social. 5. Ed. São Paulo: Atlas, 1999.

GUARDABBASI, L.C. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup, F.M., Editor: Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. American Society for Microbiology.2006.

HAAPAPURO, E., Barnard, N., & Simon, M. (1997). Animal waste use as livestock feed: dangerous to human health. Prev Med, 26, 599-602.

HAFEZ, H. (2005). Governmental regulation and concept behind eradication and control of some important poultry diases - Reviews. World's Poultry Science Journal, 569,582.

HEYERICK, A. A.; CLEEMPUT, M. V. (2009). Hop (*Humulus lupulus*) - Derived Bitter Acids as Multipotent Bioactive Compounds. *Journal of Natural Products*, 72, 1220-1230.

HOFFMANN, Jussarah Maria Lerch. Avaliação: Mito e Desafio: Uma Perspectiva Construtivista. 32ª ed. Porto Alegre: Mediação, 2003.

IBGE - Portaria nº 215 , de 12 de agosto de 2004 .Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2004.

JUNQUEIRA D, CAMPOS A. Vetado na Europa, frango contaminado por salmonela é revendido no Brasil .Repórter Brasil, 03/07/19

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Producción (tonnes) in 2012.

FRIEDMAN, B. The moral consequences of economic growth. New York: Alfred A. Knopf, 2005.

LEANDRO E.S., CONCEIÇÃO L.L., CARVALHO A.F., COSTA M.D., MORAES C.A. 2013. Efeito de protetores e tratamentos de estresse na sobrevivência de *Lactococcus lactis* subsp *lactis* ao congelamento. *Rev Inst Latic "Candido Tostes"*. 390 (68):37-40.

MANAGAKI, S. et al. Distribution of Macrolides, Sulfonamides and Trimethoprim in Tropical Waters: Ubiquitous Occurrence of Veterinary Antibiotics in the Mekong Delta. *Environ. Sci. Technol.* 41, 8004–8010, 2007

MAPA. Instrução Normativa Nº 20, de 21 de outubro de 2016, diário oficial da união, pag 7. 2016

MEGA, J. F., Neves, E., & Andrade, C. J. (2011). A Produção de Cerveja no Brasil.

MENEGHETTI, C. H. Z.; BLASCOVI-ASSIS, S. M.; DELOROSO, F. T.; RODRIGUES, G. M. Políticas de Meio Ambiente. 13, n. 3, p.230-235, mai./jun., 2009.

MOIR, M.; SHARPE, F. R.; VERHAGEN, L. C.; WETWOOD, K. T.; Hops and Hop Products, Verlag Hans Carl: Nuremberg, 1997

MUXEL, ALFREDO (2018). Técnicas de Avaliação sensorial. 2. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, CEPPA, 2014. 101 p.

NASCIMENTO, M., BERCHIERI JÚNIOR, A., BARBOSA, M., ZANCAN, F., & ALMEIDA, W. (2010). Comparação de meios de enriquecimento e de plaqueamento utilizados na pesquisa de Salmonella em carcaças de frango e fezes de aves. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 2, 85-91.

OSTERMANN, D.; SANFELICE, A. M.; VIEIRA, S. L.; VIOLA, E. S. Metabolismo e bases conceituais para a ação benéfica de ácidos orgânicos para frangos de corte. Ave World, n. 15, p. 28-31, abr/maio, 2005.

PAGANINI, F. J. (2004). Produção de frangos de corte: manejo de camas. FACTA, 356.

PERDOMO, C. C. (2001). Controle do Ambiente e produtividade de frangos de corte: a produção animal na visão dos brasileiros. Revisão Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, pp. 91-110.

PINTO, D. O. (2012). Salmonelose Aviária: Relato De Caso. 4 Simpósio de agronomia e tecnologia de alimentos, 12-13.

PIRES, E. C.; CHAPARRO, T. R. Toxicity evaluation as a tool to assess the performance of an anaerobic immobilized biomass reactor. DYNA, Medellín, v.77, n.164, p.284-391, Oct. /Dec. 2010. Disponível em:

<http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v77n164/a28v77n164.pdf>. Acesso em 22/02/2017.

PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. Handbook of Brewing. 2 ed. Flórida: CRC Press and Taylor & Francis Group, 2006. 829p.

RANATUNGA, T.D.; REDDY, S.S.; TAYLOR, R.W. Phosphorus distribution in soil aggregate size fractions in a poultry litter applied soil and potential environmental impacts. Geoderma, Amsterdã, v.192, n.1, p.446-452, 2013.

RAO, Gangagni A.; REDDY, Sassi K.; PRAKASH, Surya S.; VANAJAKSHI, J; JOSEPH, Johny; SARMA, P. N. pH regulation of alkaline wastewater with carbon dioxide: a case study of treatment of brewery wastewater in UASB reactor coupled with absorber. Bioresource Technology, V.98, p 2131-2136, 2007.

SANTOS, F. G. Avaliação da adição de gesso e do revolvimento em pilhas de compostagem e na qualidade do composto de esterco de ave poedeira. Passo Fundo: UPF, 2008. 103p. Dissertação Mestrado

SANTOS, M.; JIMENEZ, J. J.; BARTOLOME, B.; GOMEZ-CORDOVES, C.; NOZAL, M. J. Variability of brewer's spent grain within a brewery. Food Chemistry, n. 80, p. 17-21, 2003.

SANTOS, M.S.; RIBEIRO, F.M. Cervejas e refrigerantes (Série P + L). São Paulo: CETESB, 2005. 58 p. Disponível em: Acesso em: 30/11/20

SELUY, Lisandro G.; ISLA, Miguel A. A process to treat high-strength brewery wastewater via ethanol recovery and vinasse fermentation. Industrial & Engineering Chemistry Research, v. 53, p 17043-17050, 2014.

SIMATE, Geoffrey S.; CLUETT, John; IYUKE, Sunny E.; MUSAPATIKA Evans T.; NDLOVU, Sehliselo; WALUBITA, Lubinda F.; ALVAREZ, Alex E. The

treatment of brewery wastewater for reuse: state of art. *Desalination*. Vol 273. P 235-437, 2011.

SIRAGUSA, G. R.; HAAS, G. J.; MATTHEWS, P. D.; SMITH, R. J.; BUHR, R. J.; DALE, N. M.; WISE, M. G. Antimicrobial activity of lupulone against *Clostridium perfringens* in the chicken intestinal tract jejunum and caecum. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.61, p.853–858, 2008.

SMIRNOV, A.; SKLAN, D. Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler. *Poultry Science*, v. 82, n. 2, p. 320-327, 2003.

SPENCER J.F.; SPENCER D.M. 1996. Maintenance and culture of yeasts. *Methods Mol. Biol.* 53:5-15.

STEFANELLO, M.D.; POLL, F.A. (2014). Estado nutricional e dieta enteral prescrita e recebida por pacientes de uma unidade de terapia intensiva. *ABCS Health Sciences* , 39 (2).

TEUBER, M. Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, Oxford, v. 4, n. 5, p. 493-499, 2001.

TILMANN, G. E., HASS, G. J., WISE, M. G., OAKLEY, B., SMITH, M. A., & SIRAGUSA, G. R. (2011). Chicken intestine microbiota following the administration of lupulone, a hopbased antimicrobial. *FEMS Microbiology Ecology*, 395-403.

TURCHETTO, R (2016). Resíduos orgânicos e suas implicações com o carbono orgânico e microbiota do solo e seus potenciais poderes poluente *Brazilian Journal of Development*, 23-24

VIEIRA, Marcia de Souza; VIEIRA, Antonio A. Nutritional value of barley bagasse determined with growing pigs. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, v. 24, n. 4, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Population health and waste management: scientific data and policy options. Report of a WHO workshop Rome, Italy, 29-30 March 2007. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2007.

ANEXO 1

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO GABINETE DO MINISTRO INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 41, DE 30 DE AGOSTO DE 2011

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, Parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto no Decreto-Lei, nº 467, de 13 de fevereiro de 1969, no Decreto nº 5.053, de 22 de abril de 2004, e o que consta do Processo nº 21000.005898/2011-43, resolve: Art. 1º Alterar os arts. 14 e 15 do Anexo I da Instrução Normativa nº 26, de 09 de julho de 2009, que passam a vigorar com seguinte redação: "Art. 14. Os estabelecimentos detentores do registro de produtos antimicrobianos de uso veterinário com indicação para animais destinados à produção de alimentos, sem a especificação do período de carência, bem como os que possuem, mas não apresentaram quando da concessão de registro, dispõem de prazo até 31 de dezembro de 2012, para apresentarem os estudos que demonstrem o período de carência a ser observado, em conformidade com o artigo 6º deste regulamento. § 1º Até o cumprimento da exigência constante do caput deste artigo, dos rótulos desses produtos devem constar um período de carência provisório definido de acordo com o produto de referência, aumentado, em no mínimo, 50% (cinquenta por cento) do período original. § 2º As empresas detentoras do registro desses produtos terão um prazo de 60 (sessenta) dias a contar da publicação desta Instrução Normativa para apresentar ao MAPA os novos rótulos para aprovação, com as informações previstas no § 1º. § 3º O descumprimento dos prazos estabelecidos no presente artigo implicará a suspensão imediata da fabricação e comercialização do produto." (NR) " Art. 15. Os estabelecimentos detentores do registro de produtos antimicrobianos de uso veterinário de longa ação ou ação prolongada dispõem do prazo até 31 de dezembro de 2012 para demonstrarem que seus produtos, quando comparados com outra formulação registrada de ação convencional (não prolongada), obtêm concentração plasmática ou tecidual eficaz mínima, por um período mínimo de tempo 80% (oitenta por cento) superior ao período de tempo obtido pela formulação de ação convencional." (NR) Art. 2º Esta

Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação. MENDES RIBEIRO FILHO D.O.U., 31/08/2011 - Seção 1

AUTORIZAÇÃO


Nome do autor: Fernando Martins de Albuquerque

RG: 3786783

Título da Dissertação: ANÁLISE DE VIABILIDADE DA VALORIZAÇÃO DO RESÍDUOS TRUB INCORPORADO NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE: UM ESTUDO EXPERIMENTAL

Autorizo a Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, através da Biblioteca Universitária, disponibilizar cópias da dissertação de minha autoria.

Joinville, 26 de Maio de 2021.


Assinatura do aluno