UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DENIS SATO

**Medida da corrente elétrica de frequência híbrida no cérebro de
frangos para fins de insensibilização**

Pirassununga
2016

DENIS SATO

**Medida da corrente elétrica de frequência híbrida no cérebro de
frangos para fins de insensibilização
(versão corrigida)**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo como parte dos
requisitos para a obtenção do Título de
Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Ernane José Xavier da
Costa

Pirassununga

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S253m Sato, Denis
Medida da corrente elétrica de frequência híbrida
no cérebro de frangos para fins de insensibilização
/ Denis Sato ; orientador Prof. Dr. Ernane José
Xavier Costa. -- Pirassununga, 2016.
50 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Insensibilização elétrica. 2. Abate
humanitário. 3. Frangos. 4. Parâmetros elétricos. 5.
Bem-estar animal. I. Xavier Costa, Prof. Dr. Ernane
José, orient. II. Título.

世の中は

三日見ぬ間に

桜かな

大島蓼太

“Nem sequer três dias este mundo vê passar - cerejeira em flor! ”

Ôshima Ryôta (1716 - 1787)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Osvaldo Hiroshi Sato e Maria de Fátima dos Santos Sato pelo amor e apoio incondicional em todas as escolhas que fiz na vida, aos meus irmãos Deivis e Ayane pela fraternidade, incentivo e amor.

À Embrapa Suínos e Aves – Concórdia/SC pela oportunidade e estrutura para a realização desta pesquisa, aos pesquisadores Paulo Sérgio Rosa, Arlei Coldebella e Gerson Neudí Scheuermann, bem como todos os funcionários que colaboraram para a realização deste trabalho.

À Marília Rangel Campos, à Associação Brasileira de Proteína Animal, Sullivan Alves, Lenoir Carminatti e à Fluxo Eletrônica industrial pelo apoio e auxílio técnico para a realização desta pesquisa.

À Universidade de São Paulo e Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade de poder adquirir conhecimentos tão vitais para o crescimento pessoal e profissional.

Aos funcionários Gilson Ament Moura, Luan de Oliveira, Cláudio São Romão, Ronaldo Chiesa e todos os demais funcionários da USP Campus Fernando Costa em reconhecimento ao seu trabalho.

À Martha Zaninetti e Vilma Finotti pelo amor e carinho.

Aos amigos José Pedro Mello, Gustavo Akira Hara, Pedro Marques, Cristina Moncau, Thiago Bernardino, Fábio Xavier e Alyne Suesique pelo convívio e irmandade.

Ao professor Ernane José Xavier Costa por acreditar em mim, pela sua comunicação horizontal, orientação, amizade e respeito.

À todos que participaram dessa etapa da minha vida, muito obrigado!

RESUMO

Neste estudo foram realizadas as medidas de intensidade da corrente elétrica contínua no cérebro de frangos de corte utilizando ondas de frequências híbridas e comparadas com ondas de frequências únicas. Considerando uma onda quadrada com frequência de 50 Hz, com ciclo de trabalho de 50%, a onda híbrida gera pulsos de 1500 Hz durante a metade de cada ciclo da onda, durante a fase ativa do pulso elétrico. Para cada uma das frequências híbridas utilizadas, o mesmo princípio foi aplicado. Foram utilizados 30 frangos de corte ROSS aos 42 dias de idade, com peso médio de 2,96 kg (std = 0,02), distribuídos aleatoriamente em 6 tratamentos com 5 repetições. Os tratamentos foram: 1) 50 Hz, 100 mA; 2) 200 Hz, 100 mA; 3) 400 Hz, 150 mA; 4) 50 Hz híbrida, 100 mA; 5) 200 Hz híbrida, 100 mA; e 6) 400 Hz híbrida, 150 mA. As formas de onda foram monitoradas através de um osciloscópio portátil. As aves foram abatidas e eletrodos de aço inoxidável, montados em uma base de polietileno, foram então inseridos nos hemisférios direito e esquerdo do cérebro das aves, logo abaixo do osso frontal do crânio, mantendo-se uma distância de 15 mm entre as agulhas. Os fios dos eletrodos foram conectados a um multímetro digital e a corrente elétrica foi registrada em microampères (μA), para cada um dos tratamentos. A corrente elétrica foi aplicada em cada ave individualmente, em banho eletrificado utilizando-se uma cuba experimental de acrílico e respeitando os parâmetros de insensibilização elétrica da Resolução 1099/2009 da União Europeia. A análise da variância detectou efeito significativo de frango, de sistema de frequência e de frequência para a corrente medida no cérebro dos frangos. Não houve efeito significativo da interação e da ordem de aplicação dos tratamentos. O desdobramento da análise mostrou que a onda híbrida apresenta maiores correntes (média = $58,4 \pm 4,4 \mu\text{A}$) passando pelo cérebro das aves comparado aos resultados obtidos pela onda única (média = $48,2 \pm 4,1 \mu\text{A}$). Visto que o sistema de onda híbrida apresentou um maior fluxo de corrente elétrica no cérebro de frangos de corte, sugere-se que o sistema de onda híbrida possa apresentar melhores índices de qualidade de carne mantendo o índice de bem-estar animal. Estudos sobre a eficácia da insensibilização por eletroencefalografia e parâmetros de qualidade da carne, utilizando este sistema, são necessários para se confirmar ou rejeitar tais suposições.

Palavras chave: *insensibilização, frangos, frequências*

ABSTRACT

In this study, the intensity of the electrical direct current (DC) in the brain of broilers using hybrid-frequency waveforms system compared to single frequencies was measured. Considering a square-wave with frequency of 50 Hz (duty-cycle 50%), the hybrid-frequency waveform is obtained generating pulses at 1500 Hz in half of each cycle, in pulse-width phase. The same principle was used in the others tested hybrid frequencies. A total of 30 broilers ROSS 42 days-old with an average weight of 2.96 kg (std = 0.02), randomly distributed in a design of 6 treatments with 5 repetitions. The treatments were: 1) 50 Hz, 100 mA; 2) 200 Hz, 100 mA; 3) 400 Hz, 150 mA; 4) hybrid 50 Hz, 100 mA; 5) hybrid 200 Hz, 100 mA; and 6) hybrid 400 Hz, 150 mA. The waveforms were monitored with a portable oscilloscope. The birds were slaughtered and stainless steel electrodes, mounted on a polyethylene basis, were inserted into the right and left hemispheres of the brain of broilers, below the frontal bone of the skull, keeping a distance of 15 mm between needles. The wire electrodes were connected to a digital multimeter and the electric current was recorded in micro-amperes (μA) for each treatment. Electric current was applied to each individual bird in electrified bath using an experimental acrylic chamber according to the electrical stunning parameters of resolution 1099/2009 of the European Union. The analysis of variance indicated significant effect of broiler, frequency and system frequency for the current measured in the brain. There was no significant interaction of treatment and the application order. Detailed statistical analysis showed that the hybrid-frequency waveform system has higher currents (mean = $58.4 \pm 4.4 \mu\text{A}$) passing through the brain of the broilers compared to the results obtained by the single wave system (mean = $48.2 \pm 4.1 \mu\text{A}$). Since the hybrid wave system showed a greater flow of electric current in the brain of broilers, it is suggested that the hybrid wave system can provide better meat quality indices maintaining animal welfare. Studies about the effectiveness of stunning by electroencephalography and meat quality parameters, using this system, are needed to confirm or reject these assumptions.

Key words: *stunning, broilers, frequencies.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação gráfica de uma onda elétrica	18
Figura 2 – Representação gráfica de uma onda senoidal.....	19
Figura 3 – Representação gráfica de uma onda quadrada.....	20
Figura 4 – Representação gráfica de uma onda pulsada	20
Figura 5 – Insensibilização elétrica em banho eletrificado.....	29
Figura 6 – Sistema de insensibilização elétrica de aplicação do choque apenas na cabeça.....	29
Figura 7 – Representação gráfica de diferentes formas de onda utilizadas na insensibilização elétrica.....	32
Figura 8 – Bloco de montagem dos eletrodos.....	36
Figura 9 – Posicionamento dos eletrodos no crânio	36
Figura 10 – Bloco com eletrodos fixados à cabeça da ave.....	37
Figura 11 – Equipamento insensibilizador utilizado	37
Figura 12 – Representação gráfica de onda de frequência simples e híbrida	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diversas configurações de parâmetros elétricos em estudos de insensibilização	21
Tabela 2 – Impedância de diferentes tecidos de frangos recém-abatidos	22
Tabela 3 – Sinais clínicos utilizados para avaliar perda da consciência pós-insensibilização	24
Tabela 4 – Valores mínimos de corrente em mili-ampères (mA) para insensibilização em banho eletrificado de frangos	33
Tabela 5 – Análise descritiva do peso corporal e da impedância antes e depois da aplicação dos tratamentos.	40
Tabela 6 – Médias e erros-padrão da corrente (μ A) medida no cérebro das aves em função dos tratamentos	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CA – Corrente alternada

CC – Corrente contínua

ddp – Diferença de potencial

ECG – Eletrocardiografia

EEG – Eletroencefalografia

Hz – Hertz

mA – Mili-ampères

PEA – Potenciais evocados auditivos

PESS – Potenciais evocados somatossensitivos

PEV – Potenciais evocados visuais

SNC – Sistema Nervoso Central

V – Volts

μ A – Microampères

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
1. Consciência animal	12
2. Insensibilização para o abate.....	14
3. Tipos de insensibilização	15
3.1. Insensibilização mecânica	15
3.2. Insensibilização em atmosfera controlada	15
3.3. Insensibilização elétrica	17
4. Parâmetros elétricos	17
5. Características do fluxo de corrente elétrica em tecidos vivos	21
6. Avaliação da insensibilização	23
7. Insensibilização elétrica em frangos de corte.....	28
7.1. Métodos	28
7.2. Eficiência na insensibilização de frangos de corte.....	30
8. Qualidade de carne e carcaça.....	33
9. Experimento.....	34
9.1. Objetivos	34
9.1.1. Objetivo geral.....	34
9.1.2. Objetivos específicos.....	34
9.2. Materiais e métodos	35
9.3. Onda de frequência híbrida.....	38
9.4. Análise estatística	39
9.5. Resultados e discussão	39
9.6. Conclusões	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

INTRODUÇÃO

Os estudos sobre o bem-estar animal têm evoluído nos últimos anos levando os setores da produção a discutir técnicas para melhorar as condições de abate dos animais sem diminuir os índices produtivos.

A insensibilização elétrica é uma das técnicas de atordoamento, necessária para levar o animal à um estado de inconsciência no momento do abate de modo a preservar seu bem-estar adequado. Devido às diferentes técnicas neste tipo de atordoamento, a sua efetividade deve ser comprovada através de avaliação técnica.

A corrente alternada (CA) e corrente contínua (CC) com diferentes frequências e formas de onda são utilizadas por abatedouros para a insensibilização de aves, suínos, peixes e outros pequenos animais. Altas frequências apresentam melhores índices de qualidade de carne e carcaça e baixas frequências apresentam melhores índices de insensibilização. Os abatedouros ao redor do mundo utilizam equipamentos e combinações dos parâmetros elétricos diferentes que, mesmo em acordo com as normas de bem-estar animal, representam um desafio em relação à eficácia da insensibilização visto que a relação entre estes parâmetros é complexa.

A insensibilização elétrica, quando aplicada sob controle monitorado dos parâmetros escolhidos, apresenta alta eficácia em levar o animal à um estado de inconsciência. É claro que há diversos problemas relacionados com o método, principalmente com os procedimentos pré-abate. Estudos de parâmetros que possam reduzir as perdas por defeitos da carne e manter a eficácia do atordoamento podem contribuir para elevar o bem-estar animal nas linhas de abate. Dessa forma, este estudo avalia a intensidade da corrente elétrica no cérebro de frangos de corte utilizando ondas de frequência híbrida.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Consciência animal

Definir o que é a consciência sempre foi um obstáculo para a ciência do bem-estar animal por ser um dos fenômenos biológicos mais complexos para o estudo científico devido à riqueza das experiências subjetivas que cada indivíduo pode experimentar. Mesmo em humanos, que possuem a comunicação linguística, tais experiências subjetivas apresentam diferenças individuais ainda não totalmente compreendidas pela ciência (DAWKINS, 2015).

O conceito de consciência envolve basicamente dois sentidos fundamentais: estado de vigília e estado consciente. Vigília é um estado de consciência que se distingue de outros estados como o sono e o coma. Estes estados admitem graus como: desperto, meio acordado, levemente ou profundamente anestesiado. O córtex cerebral é fundamental para as funções neurológicas elaboradas, incluindo a autoconsciência (a capacidade de perceber a si mesmo como distinto do mundo exterior), a avaliação dos estímulos externos, a percepção do ambiente usando os sentidos; e estímulos internos, que são relativos ao estado interno corporal (TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2016).

Diferentes partes do córtex interpretam diferentes tipos de informação, como a informação visual, auditiva ou sensorial. Córtices primários estão envolvidos na decodificação do sinal inicial e na execução de movimentos. Córtices associativos permitem a conceituação da informação e a sua integração num contexto mais amplo. Portanto, a percepção consciente do ambiente requer um bom funcionamento dos córtex primário e associativo, a fim de conhecer, compreender e dar um sentido para o que é percebido (TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2016).

A definição de “níveis da consciência”, têm sido utilizada para descrever estados associados com a atividade cerebral de humanos em relação às desordens patológicas, como crises epiléticas, estado vegetativo, crises de ausência, coma e outros (BAYNE; HOHWY; OWEN, 2016).

Temple Grandin (2002) descreve seu tipo particular de consciência, que usando como exemplo argumentativo o comportamento autista, admite ser baseada no pensamento através de imagens sem conexões com linguagem e emoções. A pesquisadora argumenta que sua consciência figura no segundo tipo dentre quatro

hierarquias da consciência: 1) consciência com apenas um tipo de sistema sensorial; 2) consciência que integra todos os sistemas sensoriais; 3) consciência que conecta os sistemas sensoriais às emoções; e 4) uma consciência que permite traduzir todas as experiências sensoriais e emocionais em uma linguagem simbólica.

Gross (2013) sugere que classificar a consciência em tipos hierárquicos, com diferentes níveis de conectividade entre experiências sensoriais, estados emocionais e representações mentais complexas, pode colaborar para o estudo da extensão da consciência em animais.

Dawkins (2015) afirma que, em relação à consciência animal, há quatro linhas de pensamento entre os cientistas do bem-estar animal: 1) a consciência animal não é um problema para o estudo científico; 2) a consciência animal representa um problema para o estudo científico, mas os estudos comportamentais e fisiológicos podem elucidar muitos problemas relacionados; 3) a consciência animal representa um problema para o estudo científico, mas futuramente com novas ferramentas e pesquisas tal paradoxo será resolvido; e 4) a confirmação ou não da presença de consciência animal não interfere nos estudos do bem-estar animal. Assim, conclui que não aceitar que a consciência possui elementos subjetivos ainda desconhecidos podem prejudicar as pesquisas que possam futuramente contribuir para valiosas informações científicas sobre o assunto.

Uma teoria recente sugere que a consciência possa ter surgido com o enriquecimento do sistema nervoso através da evolução, proporcionando diferentes ferramentas para cada espécie em lidar com o ambiente, o que possibilitou a *diversificação* da consciência entre as espécies. De forma mais detalhada, as estruturas cerebrais responsáveis pelos aspectos exteroceptivos (sensoriamento externo), interoceptivos (sensoriamento interno) e afetivos (relacionados à emoções), apresentam diferentes níveis de desenvolvimento estruturais e locais de ação em diferentes espécies (FEINBERG; MALLATT, 2016).

Por exemplo, evidências comportamentais sugerem que a presença de consciência em aves é tão consistente quanto em mamíferos (BUTLER et al., 2005; CLAYTON; DALLY; EMERY, 2007; NICOLAKAKIS; BOIRE; LEFEBVRE, 2002). No entanto, estruturas cerebrais relacionadas à consciência em humanos, como o córtex visual primário, estão localizadas bem mais à frente no cérebro das aves (DUGAS-FORD; ROWELL; RAGSDALE, 2012; JARVIS et al., 2013; KARTEN, 2013; TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2016). O naturalismo neurobiológico é baseado na

teoria de John Searle, filósofo e escritor norte americano, que interpreta a consciência como sendo totalmente causada por processos neurobiológicos, e que o traço essencial da consciência à ser explicado é o Qualia. Qualia é um termo usado na filosofia que define as qualidades subjetivas das experiências mentais conscientes (BOAG, 2013; FEINBERG; MALLATT, 2016).

Embora a questão da consciência animal ainda seja alvo de discussões, vários autores têm sugerido que os animais podem apresentar características consideradas peculiares à consciência humana, como emoções negativas e positivas (BOISSY et al., 2007; DÉSIÉ; BOISSY; VEISSIER, 2002; MENDL et al., 2009; PAUL; HARDING; MENDL, 2005; REEFMANN et al., 2009; ZIMMERMAN et al., 2011), capacidade para resolver problemas de relativa complexidade, demonstrar afeto e possuir relações familiares (CLAY; DE WAAL, 2013; GROSS, 2013; PANKSEPP, 2005; ZENTALL, 2016). Do ponto de vista do abate, a inconsciência é determinada pela perda da habilidade de processar estímulos sensoriais, incluindo a dor (RAJ, 2014).

Dessa forma, diversos países criaram regulamentações que regulam os procedimentos para tornar o animal inconsciente para evitar a dor e o sofrimento (BRASIL, 2000; EFSA, 2013; EUROPEAN UNION COUNCIL, 2009; LUDTKE et al., 2010). No momento do abate, o procedimento que leva o animal à inconsciência é denominado *insensibilização*.

2. Insensibilização para o abate

A insensibilização é um processo intencional com a finalidade de induzir a perda de consciência e sensibilidade à dor nos animais durante o abate, incluindo os procedimentos que culminam na morte. O procedimento deve provocar dano ou disfunção do Sistema Nervoso Central (SNC) antes da ocisão, que é realizada através do corte das artérias carótidas e veias jugulares. Dessa forma o animal estará inconsciente e em analgesia até que a sangria ocasione a morte (EUROPEAN UNION COUNCIL, 2009).

Considera-se que o animal se torna inconsciente através da disfunção dos hemisférios cerebrais em grande escala, afetando a formação reticular ou o sistema ativador reticular ascendente e a região do tálamo (TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2016). Não existe um método de atordoamento ideal, sendo necessária avaliação das vantagens e desvantagens em relação ao bem-estar animal para cada espécie em

questão (EFSA, 2004). Basicamente há 3 tipos de insensibilização: mecânica, atmosfera controlada e elétrica.

3. Tipos de insensibilização

3.1. Insensibilização mecânica

A insensibilização mecânica consiste na aplicação de um golpe no crânio do animal com força e velocidade suficiente para causar perda da consciência. O principal método é realizado utilizando-se uma pistola de dardo cativo que pode ser penetrativo ou não penetrativo. No sistema penetrativo, uma haste de metal é propulsionada a partir do cano da pistola perfurando o crânio e causando lesão grave no tecido cerebral. No sistema não-penetrativo, um parafuso em forma de cabeça de cogumelo é propulsionado na direção do crânio sendo referenciado como insensibilização por percussão cerebral. Ambos os métodos provocam a ruptura de vasos sanguíneos no cérebro levando o animal à inconsciência. Este método é mais utilizado para o atordoamento de bovinos (ALGERS; ATKINSON, 2014).

Estudos demonstraram eficácia na insensibilização de frangos utilizando tal método, com melhoria na qualidade da carne e um início mais rápido do rigor mortis em relação ao sistema elétrico (GÖKSOY et al., 1999; HILLEBRAND; LAMBOOY; VEERKAMP, 1996). Apesar das vantagens, tal método não é aplicado em grandes plantas de abate de aves visto a alta velocidade das linhas (HARRIS, 2013).

3.2. Insensibilização em atmosfera controlada

Originalmente proposto em 1982 pelo Conselho de Bem-Estar Animal do Reino Unido (*Farm Animal Welfare Council – UK*) este método surgiu como uma alternativa aos problemas de bem-estar relacionados ao pré-abate. As aves são mantidas dentro das caixas de transporte e inseridas em um ambiente de atmosfera controlada (RAJ, 2014).

Os mecanismos que levam à perda da consciência neste método são: a falta de oxigênio (hipóxia), altos níveis de dióxido de carbono (CO₂ - hipercapnia/hipóxia) e/ou a combinação dos dois métodos (hipercapnia/anóxia); o uso de oxigênio com gases inertes como argônio ou nitrogênio (hiperoxigenação hipercápica); ou

despressurização atmosférica (SCHILLING; VIZZIER-THAXTON; ALVARADO, 2014). O dióxido de carbono induz à inconsciência reduzindo o pH do fluido cérebro-espinhal abaixo do nível normal (7,4) alterando as reações enzimáticas, permeabilidade da membrana celular e balanço eletrolítico (SCHILLING et al., 2012).

Este método tem sido considerado por alguns pesquisadores uma alternativa mais benéfica em relação ao atordoamento elétrico de aves e suínos, do ponto de vista do bem-estar animal. Os suínos são introduzidos em pequenos grupos e sem a necessidade de contenção individual. As aves são insensibilizadas sem a necessidade de remoção das caixas de transporte (RAJ, 2014; SCHILLING; VIZZIER-THAXTON; ALVARADO, 2014).

Muitos estudos têm demonstrado que a qualidade da carne e carcaça é superior com a utilização de tal sistema de insensibilização em relação ao índice de hemorragias, fraturas ósseas e defeitos na carne (BERTOLONI et al., 2006; CHANNON; PAYNE; WARNER, 2002; NICOLAU et al., 2015; NOWAK; MUEFFLING; HARTUNG, 2007; SCHILLING et al., 2012; VELARDE et al., 2000).

As críticas ao sistema gasoso estão relacionadas com o desconforto respiratório que os animais sofrem, visto que a perda da consciência não é instantânea, considerando o tempo para perda da postura ou para apresentação de um EEG isoeletrico, como observado em vários estudos (COENEN et al., 2009; FLEMING et al., 1991; NICOLAU et al., 2015; TURCSÁN et al., 2001; WEBSTER; FLETCHER, 2001).

Diferentes métodos através de misturas e concentrações de gases (HÄNSCH; NOWAK; HARTUNG, 2009; TURCSÁN et al., 2001; WEBSTER; FLETCHER, 2001), insensibilização em etapas (COENEN et al., 2009; GERRITZEN et al., 2013; TURCSÁN et al., 2001) e alteração da pressão atmosférica (MARTIN et al., 2016a, 2016b; SCHILLING et al., 2012), têm sido avaliados com o objetivo de diminuir o desconforto até os animais atingirem a inconsciência.

Autores têm defendido que o estresse provocado nos momentos iniciais do sistema de atmosfera controlada, pode ser considerado aceitável comparativamente ao estresse pré-abate gerado pela manipulação no sistema de insensibilização elétrica. Em suínos o estresse advém da necessidade de contenção física e isolamento no sistema elétrico. Em relação às aves, os problemas envolvem: o desembarque e remoção das aves para fora das caixas de transporte, problemas com lesões e fraturas durante a pendura, pré-choques e atordoamento ineficaz devido a

possíveis problemas nos equipamentos de insensibilização elétrica (GERRITZEN et al., 2013; RAJ, 2014, 1998).

3.3. Insensibilização elétrica

O procedimento envolve a passagem de uma corrente elétrica, de magnitude suficiente, através da cabeça do animal, de forma que uma atividade epileptiforme (atividade elétrica excessiva e descontrolada dos neurônios) generalizada seja induzida no cérebro. Os animais são considerados estarem em um estado de inconsciência e insensibilidade ao apresentar atividade epileptiforme quando eletricamente insensibilizados (LAMBOOIJ, 2014).

Diversas combinações de frequências, formas de onda e amperagens da corrente elétrica contínua e alternada têm sido utilizadas para a insensibilização de aves. Dessa forma, a seguir serão apresentadas as definições de tais parâmetros para melhor compreensão dos estudos apresentados nesta revisão.

4. Parâmetros elétricos

Originalmente eletricidade e magnetismo eram considerados fenômenos separados, mas Michael Faraday realizou vários experimentos que sugeriram existir uma relação entre eles. Então em 1873, o cientista escocês James Clerk Maxwell publicou um trabalho chamado "*A treatise on electricity and magnetism*" ("Um tratado sobre eletricidade e magnetismo") onde demonstrou que os fenômenos elétricos e magnéticos eram manifestações diferentes de uma mesma força que denominou *eletromagnetismo* (MAXWELL, 1873). Em um trabalho anterior intitulado "*A dynamical theory of the electromagnetic field*" ("Uma teoria dinâmica sobre o campo eletromagnético"), Maxwell (1865) demonstrou que campos elétricos e magnéticos podem viajar pelo vácuo como ondas se movendo na velocidade da luz. Estas "ondas eletromagnéticas" tiveram sua existência provada por Heinrich Hertz em uma série de experimentos (HERTZ; JONES; SCHOTT, 1896). Tais estudos são a base das informações sobre os parâmetros elétricos descritos abaixo.

A tensão elétrica (mensurada em Volts – V) é a diferença de potencial (ddp) elétrico entre dois pontos. A corrente elétrica (mensurada em Ampères – A) é o fluxo ou deslocamento de cargas dentro de um condutor quando existe uma diferença de

potencial entre as extremidades. A resistência elétrica (mensurada em Ohms – Ω) é a capacidade de um corpo qualquer se opor à passagem de corrente elétrica. Estes 3 parâmetros relacionam-se através da primeira lei de Ohm, representada pela eq. (1) abaixo:

$$U=R.I \quad (1)$$

onde R = resistência, I = intensidade da corrente e U = tensão.

Fisicamente, uma onda é um pulso energético ou uma perturbação física que se propaga através de um meio (vácuo, líquido, sólido ou gasoso), com velocidade definida. Basicamente, as ondas são descritas pelas suas propriedades: a frequência, o comprimento de onda, a amplitude e o período.

A variação de uma tensão ou corrente elétrica ao longo do tempo, pode ser visualmente representada em um gráfico. Isto significa que, se plotarmos as variações de tensão ou corrente elétrica em um gráfico, com eixos X (tempo) e Y (amplitude), o desenho resultante representa a forma de onda conforme demonstrado na Figura 1.

Figura 1 – Representação gráfica de uma onda elétrica

Fonte: própria autoria.

Existem muitos tipos diferentes de representação matemática das formas de ondas elétricas, mas basicamente elas podem ser divididas em dois grupos distintos:

Formas de onda unidirecionais – são sempre de natureza positiva ou negativa fluindo apenas em uma direção sem cruzar o eixo X. São as formas de onda que representam a corrente contínua (CC).

Formas de onda bidirecionais – apresentam inversão de polaridade, constantemente cruzando o eixo X. São as formas de onda que representam a corrente alternada (CA) e sua forma mais comum é chamada de senoidal.

Período é o tempo de um ciclo completo de oscilação da onda. Frequência (f) é o período dividido por uma unidade de tempo, ou seja, quantas vezes o ciclo completo de oscilação ocorre por segundo, e é expressa em Hertz (Hz). O comprimento de onda é proporcional ao inverso da frequência e define o tamanho de um ciclo de uma onda, ou seja, a distância entre dois vales ou duas cristas. É representado pela letra grega lambda (λ). A amplitude é a intensidade da onda representada pelos valores da tensão ou corrente elétrica. A Figura 2 representa uma forma de onda senoidal.

Figura 2 – Representação gráfica de uma onda senoidal.

Fonte: própria autoria. Considerando $T=0,5$ segundo, a frequência é 2 Hz.

Formas de *onda quadrada* são simétricas e possuem uma variação da amplitude quase totalmente vertical para cima e para baixo. Durante o período, há um momento de maior amplitude e um de menor amplitude. A fase em que a onda permanece em sua maior amplitude é chamada *largura de pulso* e a fase de amplitude baixa é denominada *espaço*. A relação entre o tempo que a onda quadrada apresenta maior amplitude e o tempo que apresenta menor amplitude é chamado de *ciclo de trabalho* (*duty-cycle*). A Figura 3 representa uma forma de onda quadrada.

Figura 3 – Representação gráfica de uma onda quadrada.

Fonte: própria autoria. O ciclo de trabalho de 50%, significa que durante 1 período a onda permanece metade do tempo com a amplitude máxima e metade com sua amplitude mínima.

A onda pulsada possui o aspecto geral de uma onda quadrada, exceto que têm toda sua ação se desenvolvendo acima do eixo dos tempos, ou seja, apenas valores positivos de tensão. No início de um pulso, a tensão muda repentinamente de um nível baixo para um nível alto. Esta onda também é reconhecida pela denominação *trem de pulsos*, caracterizado pela alternância entre amplitude nula (ou quase nula) e outro de amplitude máxima. Quando o tempo de duração em um dos níveis é maior ou menor que no outro, recebe o nome de *trem de pulsos retangulares*. A Figura 4 representa uma forma de onda pulsada.

Figura 4 – Representação gráfica de uma forma de onda pulsada.

Fonte: autoria própria.

Os equipamentos de atordoamento elétrico possuem um circuito gerador de diferentes frequências, amplitudes e formas de onda. Alguns ainda possuem circuitos

de compensação para corrigir as variações de impedância garantindo assim os requerimentos regulatórios.

Apesar de haver outros tipos, as formas de onda mencionadas acima são as mais utilizadas em diversos estudos de atordoamento elétrico em aves conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Diversas configurações de parâmetros elétricos em estudos de insensibilização.

Estudo	Tensão (V)	Forma de onda	Frequências (Hz)	Corrente (mA)
Gregory & Wotton (1991a)	NI	quadrada unipolar pulsada	350	120
Craig & Fletcher (1993)	110 CA 11 CC	Senoidal Pulsada	50 500	125 6
Wilkins et. al (1998)	80-117 CC 90-154 CA	retificada, quadrada pulsada senoidal, clipada	100, 500, 1500 50	104-111 105
Wilkins et. al (1999)	NI	Senoidal	50, 500, 1500	80-105
Raj & O'Callaghan (2004)	Pico 620 CA	Senoidal	50, 400, 1500	100/150
Xu et. al (2011)	35, 50, 65 CA	Senoidal	160, 400, 1000	47, 67, 86
Prinz et. al (2012)	60, 80, 120 CA/CC	Senoidal Retangular Pulsada	50 e 70	36-174

Fonte: dados dos estudos citados. NI – não informado; CA - corrente alternada; CC - corrente contínua; mA - mili-ampères.

Pode-se observar uma grande variação nos parâmetros elétricos utilizados nas pesquisas, como diferentes valores de tensão e amperagem, ao se comparar a mesma frequência. Tais variações podem ser responsáveis por efeitos diversos em relação à profundidade da insensibilização e qualidade da carne. Para melhor compreensão de tais efeitos necessita-se compreender os efeitos da corrente elétrica em tecidos vivos.

5. Características do fluxo de corrente elétrica em tecidos vivos

Bioimpedância (impedância de um tecido vivo) é a capacidade de um tecido de se opor à passagem da corrente elétrica e seu valor é expresso em ohms (Ω). Ao se

mensurar a bioimpedância, são utilizados eletrodos de metais de diversos tipos inseridos no tecido (GRIMNES; MARTINSEN, 2015a).

Há diferenças de bioimpedância entre os diferentes tecidos de um organismo, devido às estruturas celulares diferentes, com diferentes porcentagens de água, proteínas e lipídios (GABRIEL; GABRIEL; CORTHOUT, 1996; GRIMNES; MARTINSEN, 2015b). Em frangos, pesquisadores relataram que a impedância dos tecidos também pode variar de ave para ave (Tabela 2), visto que pode haver diferenças de composição corpórea e hidratação, de forma que a corrente elétrica pode fluir por diferentes meios em cada indivíduo (SPARREY; PAICE; KETTLEWELL, 1992; WOOLLEY; BORTHWICK; GENTLE, 1986).

Tabela 2 – Impedância de diferentes tecidos de frangos recém-abatidos.

Tecido	Impedância (Ω)
Crista	$60 \pm 4,76$
m. Pectoralis	$80 \pm 7,16$
m. Sartorius	$150 \pm 0,47$
Fígado	$180 \pm 17,89$
Sangue	$227 \pm 2,40$
Esterno	$250 \pm 14,27$
Pâncreas	$280 \pm 12,35$
Cérebro	$260-280 \pm 11,47$
Tecido epitelial	$300 \pm 15,88$
Coração	$350 \pm 22,48$
Tíbia	$365 \pm 38,24$
Gordura	$1.110 \pm 17,18$

Fonte: adaptado de WOOLLEY, S. C.; BORTHWICK, F. J.; GENTLE, M. J. Tissue resistivities and current pathways and their importance in pre-slaughter stunning of chickens. **British Poultry Science**, v. 27, n. 2, p. 304, 1986.

Os portadores de carga que fluem nos cabos elétricos são elétrons, diferentemente dos tecidos que são íons. A corrente elétrica através de um metal, em muitos casos, pode fluir sem alterar o condutor. Diferentemente, o transporte de corrente elétrica em um tecido, sendo iônica, não poderá fluir indefinidamente sem alterar o meio (GRIMNES; MARTINSEN, 2015c).

A corrente elétrica flui melhor através dos espaços extracelulares, pois possuem maior condutividade devido à maior concentração de íons livres para receber carga. Isso se deve ao fato de os espaços intracelulares estarem envoltos pela

membrana celular que apresenta baixa condutividade devido aos lipídios em sua estrutura (GRIMNES; MARTINSEN, 2015c).

Quando o fluxo de corrente elétrica atravessa o cérebro, a bomba de íons das membranas celulares falha em manter o equilíbrio entre os espaços intra e extracelulares. Ocorre então um efluxo de íons (Na^+ , K^+), levando ao influxo de água nas células, diminuindo o volume do espaço extracelular. A impedância do tecido cerebral aumenta instantaneamente podendo indicar dano e perda da função (SAVENIJE et al., 2000).

Apesar de haver diferentes caminhos para a corrente elétrica atingir o cérebro, como o nervo ótico e a medula espinhal, a principal rota é através do crânio. Como os ossos do crânio possuem alta resistência à passagem da corrente elétrica, e esta resistência varia individualmente, isso pode explicar porque alguns animais não são eficazmente insensibilizados pela corrente elétrica (WOOLLEY; BORTHWICK; GENTLE, 1986).

6. Avaliação da insensibilização

Indicadores observáveis e biopotenciais elétricos mensuráveis têm sido utilizados para avaliar a perda da consciência após a insensibilização. Os indicadores observáveis são baseados em sinais clínicos avaliados por um observador treinado. Os indicadores observáveis de consciência mais utilizados são: ausência de perda de postura, tentativa de retorno à posição normal da cabeça e/ou do corpo; vocalizações; piscar os olhos espontaneamente; seguir movimentos com os olhos e reflexo ocular; resposta à ameaça; respiração rítmica e resposta à estímulos dolorosos (TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2015).

Estes sinais clínicos têm sido utilizados em auditorias de abatedouros (GRANDIN, 2010) e em diversos estudos com a finalidade de comparar diferentes métodos de atordoamento (ERASMUS; TURNER; WIDOWSKI, 2010; GREGORY; WOTTON, 1991a, 1992a; PRINZ et al., 2012; SANDERCOCK et al., 2014; WILKINS et al., 1998). Uma revisão sobre o assunto pode ser lida nos trabalhos de Terlouw et al. (2015) e Verhoeven et al. (2015). A Tabela 3 apresenta os sinais clínicos utilizados para avaliação da insensibilização.

Tabela 3 – Sinais clínicos utilizados para avaliar perda da consciência pós-insensibilização.

Sinal Clínico	Definição	Baseado em	Observação
Reflexo córnea	Movimento involuntário de piscar em resposta à um estímulo corneal	Nervos craniais V e VII e músculos oculares	Um dos reflexos mais comumente usados após a insensibilização. Geralmente é o último reflexo a cessar em animais anestesiados. Pode estar presente após insensibilização elétrica mas nunca após insensibilização mecânica.
Reflexo palpebral	Movimento involuntário de piscar em resposta à um toque no canto medial do olho	Nervos craniais II e III e músculos oculares	Desaparece antes que o reflexo corneal em animais anestesiados.
Reflexo pupilar	Estreitamento da pupila em resposta à luz que cai sobre a retina	Nervos craniais V e VII e músculos oculares	Considerado de pouco valor durante a sangria, como o fornecimento de sangue à retina está restringido durante este período. dilatação pupilar é considerado um sinal de disfunção cerebral total. Podem estar ausentes em paralisado, embora animais conscientes.
Reflexo de ameaça	Movimento involuntário de piscar ou retirada da cabeça em resposta um movimento brusco em direção ao olho do animal	Nervo craniano VII, músculos do olho e integração com o córtex motor	Não pode ser testado se os olhos estiverem fechados.
Reflexo espinhal	Reflexos originados da medula espinhal	Requer funcionamento da medula espinhal mas não necessariamente coordenação cerebral	Pode ocorrer mais vigorosamente quando há falta de inibição a partir do cérebro
Ausência de dor	Resposta à um estímulo doloroso em parte do corpo		Altamente valorizado como indicador de inconsciência
Reflexo podal	Retirar o pé em resposta à um beliscão entre os dedos		Difícil de avaliar durante as convulsões. Não é facilmente testado em todas as espécies.
Tentativa de retorno à posição normal	Tentativa de retorno à posição normal (de pé) quando fora desta posição		Difícil de avaliar durante as convulsões.

Continua...

Tabela 3 – Sinais clínicos utilizados para avaliar perda da consciência pós-insensibilização.
Continuação.

Sinal Clínico	Definição	Baseado em	Observação
Perda de postura	Inabilidade do animal em se manter de pé	Ausente córtex cerebral quando não podem mais controlar a postura	Insensibilização elétrica e mecânica devem provocar colapso imediato. Mais pronunciado durante a insensibilização gasosa e antes da perda da consciência.
Nistagmo	Cintilação horizontal e involuntária dos olhos	Dano ao sistema vestibular, labirinto ou sistema nervoso central	Deve estar ausente, mas a sua presença atordoamento mecânico por dardo cativo poderia adicionar força à conclusão de que a profundidade do abalo foi superficial. Pode ocorrer como um resultado de insensibilização elétrica. Não observada em suínos após insensibilização por CO ₂ .
Vocalizações	Sons voluntários pela vibração das cordas vocais.	Uma grande área do cérebro envolvida na produção de sons.	Não deve estar presente após insensibilização. Ocorrência depende da espécie.
Movimento voluntário dos olhos	Seguir um objeto com os olhos.	Tronco cerebral e córtex	Não é usado como um indicador em si, no entanto pode ser observado quando se avalia outros indicadores. Considerado um sinal definitivo de consciência.
Protusão de língua	Língua para fora da boca	Nervo craniano XII e músculos de controle da língua.	Pouco reportado na literatura. Baseado em observações de especialistas e depende do método de insensibilização.
Mandíbula relaxada	Sem tensão na mandíbula	Nervo craniano V e controle dos músculos da mandíbula.	Pouco reportado na literatura. Baseado em observações de especialistas e depende do método de insensibilização.
Ausência de tensão no pescoço		Nervo craniano XI e controle dos músculos do pescoço.	Pode ser mascarado quando os músculos do pescoço são cortados

Tabela 3 – Sinais clínicos utilizados para avaliar perda da consciência pós-insensibilização. *Conclusão.*

Sinal Clínico	Definição	Baseado em	Observação
Respiração rítmica	Movimentos de inspiração e expiração	Corticoespinal intacta, coluna lateral e ventral da medula espinhal.	Considerado o primeiro sinal de recuperação e potencial retorno à consciência pós insensibilização. Difícil averiguar durante as convulsões.
Convulsões	Movimentos involuntários e descoordenados dos músculos. Movimentos clônicos e tônicos.	Controle motor central.	Variável entre espécies animais. Não é considerado compatível com consciência. Pode ser confundido com respiração ritmada.
Engasgos	Inalações de baixa frequência, pescoço arqueado em direção às patas e ocasionalmente emissão de sons semelhantes ao ronco.	Nervos craniais IX e X e controle dos músculos faríngeos.	Considerado um indicador de profunda inconsciência.
Ofegante	Respiração profunda não rítmica com a boca aberta.	Supressão da atividade neuronal relacionada à respiração.	Primeiro indicador de falta de ar e pode estar presente mesmo sem atividade cerebral. Pode ocorrer pós insensibilização por CO ₂ e elétrica.

Adaptado de: VERHOEVEN, M. T. W. et al. Indicators used in livestock to assess unconsciousness after stunning: a review. **Animal : an international journal of animal bioscience**, v. 9, n. 2, p. 324-325, 2015.

Os biopotenciais elétricos são avaliados através de eletroencefalografia (EEG) e eletrocardiografia (ECG). A eletroencefalografia permite detectar a epilepsia generalizada e a ausência de potenciais evocados somatossensitivos. A eletrocardiografia permite avaliar a parada cardíaca indicando a morte do animal. Ambos os métodos são considerados superiores para determinar a eficácia do atordoamento, mas são utilizados apenas em pesquisa experimental pois necessitam de avaliação técnica incompatível com as velocidades das linhas de abate (BENSON et al., 2012; ERASMUS; TURNER; WIDOWSKI, 2010; TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2016).

A eletroencefalografia (EEG) é uma gravação da atividade elétrica cerebral. A partir da eletroencefalografia, é realizada a análise e interpretação destas formas de onda e suas frequências, geralmente em um contexto clínico (MACDONALD, 2015). Fundamentalmente, é a representação gráfica dos potenciais elétricos gerados pelo cérebro que podem ocorrer como breves descargas e ritmos em curso. A EEG é mais

frequentemente obtida a partir de eletrodos posicionados na superfície da cabeça, mas também pode ser gravado a partir de eletrodos colocados cirurgicamente diretamente sobre a superfície cerebral ou por eletrodos colocados dentro do parênquima cerebral (MILLETT; COUTIN-CHURCHMAN; STERN, 2015; MURRELL; JOHNSON, 2006).

Os íons sódio (Na^+), potássio (K^+), cálcio (Ca^{++}), cloro (Cl^-) e orgânicos são essenciais na atividade elétrica dos neurônios. As células em repouso apresentam polarização da membrana celular devido à diferença de potencial, predominando cargas positivas fora da célula e negativas dentro. A alteração do potencial da membrana que ocorre ao longo dos axônios, gera o potencial de ação até atingir o limiar para a despolarização com abertura súbita dos canais de sódio, acarretando diminuição negativa do potencial de membrana. A chegada dos potenciais de ação na terminação pré-sináptica causa a liberação de neurotransmissores nas fendas que se ligam a receptores específicos na célula e geram alterações em seu potencial de membrana. Tais neurotransmissores podem ser excitatórios ou inibitórios. Os neurotransmissores excitatórios geram os potenciais excitatórios pós-sinápticos; e os neurotransmissores inibitórios geram os potenciais inibitórios pós-sinápticos. Os sinais captados pela EEG representam a expressão gráfica da movimentação dos íons através da membrana, potencial de membrana e células do córtex cerebral (CRIPPA; DOMINGOS; PAOLA, 2013; MURRELL; JOHNSON, 2006).

Em condições normais, os neurotransmissores excitadores e inibidores controlam o balanço da atividade cerebral em animais conscientes. Em cérebros humanos, as ondas beta (13 a 25 Hz) e gama (25 a 60 Hz) estão associadas a um estado de vigília e atividade cognitiva. As ondas teta (4 a 8 Hz) e delta (1 a 4 Hz) estão associadas à sonolência e sono respectivamente. Entretanto, quando dois neurotransmissores excitatórios rápidos, aspartato e glutamato, são excessivamente liberados no espaço extracelular, eles têm um papel importante no desencadeamento, propagação e manutenção da atividade epiléptica no cérebro. Dessa forma, quando a eletroencefalografia apresenta uma leitura isoeletrica de baixa amplitude, menor ou igual à 10% da atividade normal, considera-se que a atividade cognitiva está ausente e dependendo das circunstâncias, pode ser um sinal de morte cerebral (TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2016). O ácido gama-aminobutírico é o principal neurotransmissor inibidor que, quando liberado no espaço extracelular, inibe a atividade neuronal e a epilepsia (RAJ; O'CALLAGHAN, 2004).

Os potenciais evocados são respostas do sistema nervoso à uma estimulação externa, detectadas em uma leitura de EEG. Os potenciais evocados podem ser: potenciais evocados auditivos (PEA), potenciais evocados visuais (PEV), ou potenciais evocados somatossensitivos (PESS). Os PESS, utilizados nos estudos de insensibilização, avaliam a transmissão dos impulsos nas vias nervosas dos membros superiores e inferiores até o cérebro. Eles podem ser usados para diagnosticar lesões ao nível das raízes nervosas, medula e encéfalo. O procedimento é realizado através da aplicação de estímulos elétricos de baixa intensidade, normalmente descritos como ligeiros choques. A ausência de resposta é considerada como um sinal de que o sistema nervoso central não interpreta tais estímulos sensoriais externos, sendo considerado um indicador de inconsciência (MURRELL; JOHNSON, 2006; TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2016).

7. Insensibilização elétrica em frangos de corte

7.1. Métodos

O método de insensibilização elétrica em frangos de corte mais utilizado é realizado através de banho eletrificado em água salinizada (Figura 5), onde a corrente é aplicada à diversos animais por um mesmo eletrodo em linha ao serem mergulhados em uma cuba. O sistema pode ser por eletronarcose (*head-only*), onde o choque é aplicado apenas na cabeça ou eletrocussão (*head-to-brisket*, *head-body*), onde a corrente flui também pelo corpo do animal de forma a induzir parada cardíaca e, conseqüentemente, a morte (LEARY et al., 2013; RAJ, 2004). Há também equipamentos em que eletrodos humedecidos são projetados para entrar em contato direto com a cabeça da ave (Figura 6) (LAMBOOIJ et al., 2014).

Figura 5 – Insensibilização elétrica em banho eletrificado.

Fonte: autoria própria.

Figura 6 – Sistema de insensibilização elétrica de aplicação do choque apenas na cabeça. A – equipamento de larga escala. B – equipamento de baixa escala.

Fonte: BERG, C.; RAJ, M. A Review of Different Stunning Methods for Poultry — Animal Welfare Aspects (Stunning Methods for Poultry). *Animals*, v. 5, n. 4, 2015. p. 1212.

Em relação ao sistema de banho eletrificado, pesquisadores não observaram diferenças significativas entre duas profundidades de mergulho das aves, bem como na eficácia da insensibilização utilizando uma corrente elétrica alternada de 60-103 mA com frequência de 50 Hz senoidal (GREGORY; WOTTON, 1991a). Porém, outro autor afirma que a tensão necessária para entregar uma corrente constante parece variar de acordo com a profundidade de imersão das aves (RAJ, 2004). Em outro

estudo foi demonstrado que, caso as aves estejam molhadas, uma maior parte da corrente elétrica flui através da pele e penas, prejudicando a eficácia da insensibilização, sendo necessário utilizar uma corrente elétrica de maior intensidade (GREGORY; WOTTON, 1992b).

Apesar do método de atordoamento onde somente a cabeça da ave é mergulhada no banho eletrificado, devido às diferenças na resistência elétrica de vários tecidos, a corrente que flui através da cabeça pode ser apenas uma pequena parte da corrente que flui pelo corpo (WOOLLEY; BORTHWICK; GENTLE, 1986). A quantidade de corrente que flui através do corpo, provavelmente contribui para os defeitos de qualidade na carcaça. É recomendado que o eletrodo aplicador da corrente elétrica deve estender-se por todo o comprimento da cuba (RAJ, 2004; SANDERCOCK et al., 2014).

Em grandes abatedouros vários animais são insensibilizados ao mesmo tempo e a variação na impedância elétrica entre as aves na cuba interfere na quantidade de corrente enviada para cada ave. Este problema pode ser superado através da utilização de um insensibilizador de corrente constante onde a bioimpedância das aves é monitorada. O equipamento insensibilizador regula a tensão necessária para aplicar uma corrente pré-definida a um grupo de aves (KETTLEWELL; HALLWORTH, 1990). No entanto, devido às altas velocidades de abate em plantas comerciais, pode não ser possível isolar cada ave por tempo suficiente para medir a resistência elétrica na via e entregar a corrente pré-definida (WILKINS et al., 1999).

7.2. Eficiência na insensibilização de frangos de corte

A leitura de um padrão isoelétrico de eletroencefalografia (EEG) abaixo de 10% dos níveis pré-insensibilização, a ausência de resposta dos potenciais evocados somatossensitivos (PESS) e o índice de parada cardíaca e ausência de respiração rítmica, são os parâmetros considerados mais confiáveis para avaliação da eficácia do sistema elétrico (PRINZ et al., 2012; RAJ; O'CALLAGHAN, 2004; RAJ; O'CALLAGHAN; KNOWLES, 2006).

Os resultados de pesquisas utilizando corrente alternada (PRINZ et al., 2010b) e corrente contínua (PRINZ et al., 2010a), com diversas combinações de níveis de corrente e frequências, indicam que o aumento da frequência tem um efeito deletério na eficácia da insensibilização sendo necessário elevar a intensidade da corrente.

Estes efeitos relacionados ao aumento da frequência também foram observados por outros autores (GREGORY; WOTTON, 1991b; RAJ; O'CALLAGHAN, 2004; RAJ; O'CALLAGHAN; KNOWLES, 2006; WILKINS et al., 1998).

A profundidade da inconsciência, ou seja, a magnitude da inibição neuronal causada pela insensibilização elétrica avaliada pelo nível de supressão dos sinais da EEG, parece estar relacionada com a duração de cada ciclo da onda. No caso da corrente contínua, mais especificamente relacionado à *largura-de-pulso* (RAJ; O'CALLAGHAN, 2004; RAJ; O'CALLAGHAN; KNOWLES, 2006). É importante ressaltar que há diferenças entre os estudos citados que interferem na avaliação da eficácia da insensibilização, como: tempo de aplicação do choque, formas de onda, níveis de tensão, tipo de aplicação do choque (banho eletrificado ou eletrodos em contato direto com a cabeça), peso vivo, sexo e condição corporal dos animais.

Por exemplo, em um estudo avaliando 3 tipos de formas de onda (senoidal AC, retangular CA e pulsada CC) com 3 valores de tensão (60, 80 e 120 V / 3 segundos), verificou-se que fêmeas receberam menos corrente elétrica que machos nas mesmas combinações (PRINZ et al., 2012). Em outro estudo que foram utilizadas frequências de 50, 400 e 1500 Hz (correntes de 100 e 150 mA CA senoidal / 1 segundo) concluiu-se que para garantir a efetividade são necessárias correntes de 100, 150 e 200 mA para cada uma das frequências respectivamente (RAJ; O'CALLAGHAN, 2004). No entanto, outro estudo utilizou aves de 3 faixas de peso (< 1,68 kg, 1,72 – 2,68 kg e > 2,68 kg) para aplicação de 5 diferentes frequências (50 Hz CA senoidal, 50Hz CA clipada, 100 Hz CC senoidal retificada, 500 Hz CC pulsada e 1500 Hz CC pulsada – 105 mA por ave) e concluiu que todas as combinações foram eficazes na insensibilização, porém observa-se que foi utilizado um tempo de aplicação do choque de 4 segundos (WILKINS et al., 1998). A Figura 7 apresenta algumas representações gráficas de formas de onda utilizadas em estudos de insensibilização elétrica.

Figura 7 – Representação gráfica de diferentes formas de onda utilizadas na insensibilização elétrica.

Fonte: Adaptado de Wilkins et al. Effectiveness of electrical stunning applied using a variety of waveform-frequency combinations and consequences for carcass quality in broiler chickens. **British poultry science**, v. 39, n. 4, 1998. p. 512.

O índice de parada cardíaca, considerado como um indicador de efetividade da insensibilização visto que o procedimento leva o animal à morte, também diminui com o aumento da frequência da corrente elétrica (GREGORY; WOTTON, 1991b; LAMBOOIJ, 2014; WILKINS et al., 1998). Porém no contexto do abate religioso, a ave não pode ir à óbito antes do corte dos vasos sanguíneos, e neste caso, este parâmetro não pode ser considerado (FAROUK et al., 2014; TERLOUW; BOURGUET; DEISS, 2016).

Em auditorias nos abatedouros, é indicado realizar a avaliação da porcentagem de aves insensibilizadas através de resposta à dor (realizada através de uma picada de agulha na crista), movimento espontâneo dos olhos, vocalizações e movimentos espontâneos de asa; onde tais indicadores devem estar ausentes em 100% das aves (GRANDIN, 2010).

8. Qualidade da carne e carcaça

Estudos sobre a utilização de altas frequências da corrente elétrica na insensibilização têm demonstrado melhoria dos parâmetros de qualidade da carne e carcaça em diversas espécies de animais de produção como gansos (TURCSÁN et al., 2003), suínos (ANIL; MCKINSTRY, 1992; LAMBOOIJ et al., 1996), bovinos (ROBINS et al., 2014), coelhos (MARÍA et al., 2001), ovinos/caprinos (LAMBOOY, 1982) e peixes (GRIMSBØ et al., 2014).

Em frangos de corte, estudos relataram que a utilização de altas frequências resulta em menores índices de fraturas e hemorragias (WILKINS et al., 1998, 1999; XU et al., 2011). Hemorragias e fraturas representam prejuízos para a indústria de abate e estão relacionadas com o aumento da corrente ou tensão (ALI et al., 2007; CRAIG; FLETCHER, 1997; GÖKSOY et al., 1999). A hemorragia ocorre devido a um aumento brusco da pressão intravascular causando ruptura dos vasos sanguíneos e as fraturas ósseas tem relação com as contrações musculares vigorosas causadas pelo fluxo da corrente elétrica (LAMBOOIJ, 2014).

Em um estudo sobre o efeito de combinações de frequências e níveis de corrente elétrica na qualidade da carne e em indicadores sanguíneos de estresse, pesquisadores afirmaram que a utilização de altas frequências (entre 400 e 1.000 Hz) têm potencial para melhorar a qualidade da carne sem prejudicar o bem-estar animal (XU et al., 2011).

A Tabela 4 apresenta os valores de corrente elétrica e frequência preconizados pelo Regulamento n.º 1099/2009 do Conselho da União Europeia.

Tabela 4 – Valores mínimos de corrente em mili-ampères (mA) para insensibilização em banho eletrificado de frangos.

Frequência	Corrente elétrica (mA)
Até 200 Hz	100
200 a 400 Hz	150
400 a 1500 Hz	200

Fonte: (EUROPEAN UNION COUNCIL, 2009)

A legislação brasileira através da Instrução Normativa 3 de 17 de Janeiro de 2000 (BRASIL, 2000) não apresenta parâmetros definidos para a insensibilização elétrica de aves. Porém o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA,

responsável pela legislação nacional, tem realizado projetos de treinamento através de parcerias, por exemplo, com a Sociedade Protetora dos Animais (sigla em inglês – WSPA) que têm como objetivo ações diretamente ligadas aos requisitos de bem-estar animal e abate humanitário. Como resultado desta parceria, foi desenvolvido o programa STEPS – Abate Humanitário de Aves, que aconselha a utilização dos parâmetros elétricos descritos acima (LUDTKE et al., 2010).

A utilização de um sistema que possa aplicar uma corrente elétrica com características das ondas de baixa e alta frequência, pode colaborar para elevar a qualidade da carne mantendo bom índice de bem-estar animal.

9. Experimento

Na revisão bibliográfica pode-se conhecer quais parâmetros têm sido utilizados na insensibilização elétrica e seus efeitos na profundidade da insensibilização e na qualidade da carne. Mas qual é a corrente elétrica que atravessa o cérebro durante o procedimento? Utilizando um sistema de ondas de frequência híbrida essa corrente é a mesma? Dessa forma foi proposto o trabalho detalhado a seguir.

9.1. Objetivos

9.1.1. Objetivo geral

Avaliar a intensidade da corrente elétrica no cérebro de frangos de corte após o abate com utilização de frequência híbrida comparada à frequência única.

9.1.2. Objetivos específicos

- Avaliar a corrente elétrica no cérebro de frangos de corte após o abate com a utilização de frequências únicas (50, 200 e 400 Hz);
- Avaliar a corrente elétrica no cérebro de frangos de corte após o abate com frequências híbridas (50, 200 e 400 Hz híbridas com 1500 Hz).

9.2. Materiais e métodos

O presente estudo faz parte da pesquisa sob título “Avaliação das lesões nas carcaças em função das características do procedimento de insensibilização por eletronarcose”, sob responsabilidade do pesquisador da Embrapa Suínos e Aves Dr. Paulo Rosa, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/CNPISA) sob protocolo n.º 009/2013.

O experimento foi realizado no Laboratório Experimental da Embrapa Suínos e Aves, localizada na Rodovia BR-153, Km 110 (27°18'43.8"S 51°59'10.6"W), Distrito de Tamanduá, cidade de Concórdia/SC.

Foram utilizados 30 frangos de corte (*Gallus gallus*), de linhagem ROSS, machos, com peso médio de 2,96 kg (std = 0.02), com 42 dias de idade, criados no setor de avicultura da Embrapa Suínos e Aves. As aves foram abatidas através de uma corrente contínua de 150 mA, com frequência de 200 Hz, aplicada em banho eletrificado, por 6 segundos cada ave, em uma cuba experimental de acrílico. A morte foi confirmada por ausência de respiração rítmica e parada cardíaca (avaliada por eletrocardiografia).

Após a confirmação da morte dos animais, foi realizada uma incisão transversal de 2,5 cm na pele da região dorsal da cabeça, atrás da crista, acima do osso frontal do crânio, a uma distância média entre os olhos e ouvidos. Ao ser exposto o osso frontal do crânio, foi realizada uma dupla perfuração com broca de aço de 2 mm, mantendo uma distância de 15 mm entre os furos com cuidado para romper apenas a parte óssea.

Foram utilizados eletrodos constituídos de agulha em aço inoxidável de 13 mm e corpo do material em cloreto de polivinila, sendo o cabo em material de cobre flexível com cobertura em polietileno. Os eletrodos foram inseridos em um bloco de polietileno com dimensões de 27,50 x 12,40 x 8,20 mm através de furos de 2 mm, de modo a reduzir possível movimentação durante a aplicação do choque (Figura 8).

Figura 8 – Bloco de montagem dos eletrodos.

Fonte: autoria própria.

A montagem dos eletrodos neste bloco, permitiu que um ducto de polietileno (1,8 mm) fosse introduzido até a base dos furos realizados no crânio e as agulhas dos eletrodos, inseridas através deste ducto, perfuraram o tecido cerebral (Figura 9). O bloco dos eletrodos foi colado aos tecidos com cola de cianoacrilato.

Figura 9 – Posicionamento dos eletrodos no crânio.

Adaptado de: Encyclopaedia Britannica. 11th ed., vol. 3. New York, NY: The Encyclopaedia Britannica Company, p. 960, 1910. Visão caudal do crânio. HE – hemisfério direito; HD – hemisfério esquerdo; Fm – Forame magno.

Os fios dos eletrodos, na parte superior da base, também foram vedados para impedir a entrada de água. Após a inserção dos eletrodos, o conjunto foi envolvido na cabeça da ave com fita adesiva para diminuir a movimentação da pele ao redor do sistema e prevenir possível rompimento (Figura 10).

Figura 10 – Bloco com eletrodos fixados na cabeça da ave.

Fonte: autoria própria.

O equipamento de insensibilização elétrica utilizado, modelo UFX 7 (Fluxo® Eletrônica Industrial – SC/Brasil), possui seleção de forma de onda para corrente elétrica contínua ou alternada, frequência variável de 20 a 3000 Hz, regulação de ciclo de trabalho entre 10 a 90% e tensão de saída de 10 a 350 V RMS (Figura 11).

Figura 11 – Equipamento insensibilizador utilizado.

Fonte: autoria própria.

As aves foram previamente amostradas de forma aleatória e distribuídas em um delineamento quadrado latino de 6 tratamentos com 5 repetições. Os tratamentos

também foram amostrados de modo que em cada frango a ordem de aplicação dos choques foi aleatória.

A impedância foi registrada antes e depois da aplicação dos tratamentos utilizando uma ponte LCR modelo MXB-821 (Minipa – BRASIL). O choque foi aplicado por 3 segundos em banho eletrificado utilizando uma cuba experimental de acrílico. Os parâmetros de corrente contínua (CC) na aplicação dos 6 tratamentos foram: 1) 50 Hz / 100 mA; 2) 200 Hz / 100 mA; 3) 400 Hz / 150 mA; 4) 50 Hz híbrida / 100 mA; 5) 200 Hz híbrida / 100 mA; 6) 400 Hz híbrida / 150 mA. Cada ave passou por todos os tratamentos descritos e a aplicação de todos os choques em cada ave durou cerca de 50 segundos com intervalo de 3 segundos entre os choques.

Para a obtenção dos dados de corrente elétrica foi utilizado um multímetro digital modelo U1252B (Keysight Technologies® – EUA) e um osciloscópio portátil modelo H110-037 (HOMIS® – Brasil) foi utilizado para o monitoramento das formas de onda.

9.3. Onda de frequência híbrida

Considerando uma onda quadrada de corrente contínua com frequência de 50 Hz (ciclo de trabalho 50%), a onda híbrida é criada através da aplicação de pulsos com frequência de 1500 Hz durante metade do ciclo, no momento da largura de pulso. Para cada uma das frequências híbridas utilizadas (50, 200 e 400 Hz), o mesmo princípio foi aplicado. A Figura 12 apresenta uma representação gráfica de onda simples e onda híbrida utilizada neste estudo.

Figura 12 – Representação gráfica de onda de frequência simples e híbrida.

Fonte: autoria própria.

9.4. Análise estatística

Para realização das análises, primeiramente foram calculadas as médias, erros padrão, mínimos e máximos das variáveis (peso vivo, impedância antes, impedância depois). Em seguida, foi realizada a análise estatística da corrente no cérebro, por meio da análise da variância do modelo considerando o peso vivo, a ordem da aplicação dos tratamentos, frequência, sistema de frequência e a interação entre os dois últimos fatores. O desdobramento da análise para o efeito de frequência e da interação foi realizado através do teste de Tukey para comparação de médias múltiplas, assumindo um comportamento gaussiano das variáveis. O frango 5 foi descartado das análises pois apresentou um resultado muito discrepante em relação aos demais. Os testes estatísticos foram realizados utilizando o software SAS (SAS INSTITUTE INC., 2012).

9.5. Resultados e discussão

Na Tabela 5 é apresentada a análise descritiva do peso corporal e da impedância antes e depois da aplicação dos tratamentos.

Tabela 5 – Análise descritiva do peso corporal e da impedância antes e depois da aplicação dos tratamentos.

Variáveis	<i>n</i>	Média	Std	Mínimo	Máximo
Peso kg	30	2,96	0,02	2,73	3,22
Imp._antes KΩ	29	5,71	3,42	0,60	100,00
Imp._depois KΩ	30	1,86	0,30	0,70	7,60

O teste F da análise da variância detectou efeito significativo em cada ave, de sistema de frequência e de frequência para a corrente medida no cérebro dos frangos. Não houve efeito significativo da interação e da ordem de aplicação dos tratamentos. O desdobramento da análise mostrou que a onda híbrida apresenta maiores correntes passando pelo cérebro das aves quando comparado aos resultados obtidos pela onda única (Tabela 6).

Tabela 6 – Médias e erros-padrão da corrente elétrica (μA) medida no cérebro das aves em função dos tratamentos.

Sistema de frequência	Corrente elétrica (μA)			Média da corrente (μA)
	50 Hz	200 Hz	400 Hz	
Híbrido	54,8 ± 7,9 Ab	53,5 ± 6,9 Ab	66,9 ± 8,2 Aa	58,4 ± 4,4 A
Único	48,6 ± 6,9 Aa	44,3 ± 7,8 Ba	51,6 ± 6,8 Ba	48,2 ± 4,1 B
Média	51,7 ± 5,2 b	48,9 ± 5,2 b	59,2 ± 5,4 a	53,3 ± 3,0

Médias seguidas por letras minúsculas distintas nas linhas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$); Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste F ($P \leq 0,05$).

Os resultados de impedância apresentaram valores altamente variáveis entre as aves e não seguiram uma distribuição normal. Provavelmente os valores tiveram tal variação visto que não foi verificado o local exato de inserção dos eletrodos no tecido cerebral. Assim o eletrodo pode ter se relacionado com diferentes partes do tecido (por exemplo: massa cinzenta, massa branca, vasos sanguíneos, sangue). Uma necropsia poderia colaborar para avaliar os danos da corrente elétrica no tecido cerebral após os choques. Apesar destes resultados, a mensuração da bioimpedância foi realizada com o intuito de controlar níveis de corrente diferentes entre as aves o que foi verificado pelo efeito significativo em cada ave. Porém, avaliando os dados de corrente elétrica, individualmente foram obtidos valores de corrente coerentes entre

os tratamentos. Foster et al. (1979) demonstraram haver diferenças nas propriedades elétricas entre a massa cinzenta e massa branca do tecido cerebral.

Apesar da indústria medir a impedância das aves considerando todo o corpo, os tecidos possuem propriedades elétricas diferentes. No espaço extracelular, a corrente elétrica flui de forma semelhante ao que ocorre em um eletrólito (condução iônica) enquanto que em relação às células, há um fator capacitivo a ser considerado visto que a membrana celular possui uma característica dielétrica (isolante). O comportamento da corrente elétrica nos tecidos também pode variar com a frequência da corrente elétrica (GRIMNES; MARTINSEN, 2015a).

Savenije et al. (2002) avaliando o volume do espaço extracelular cerebral através de registros de impedância após a insensibilização elétrica com uma tensão de 50 V (50 Hz) e com a corrente elétrica passando através de todo o corpo das aves, demonstraram que os danos provocados pela corrente elétrica, levam a uma imediata e progressiva queda no volume extracelular indicando que os danos provocam inconsciência instantânea e duradoura em frangos de corte. Adicionalmente, a parada cardíaca que é muitas vezes induzida durante a insensibilização elétrica; e a sangria, contribuem positivamente com tal efeito devido à isquemia subsequente (RUISEHEUTINCK et al., 1998; SAVENIJE et al., 2000).

Os problemas associados com a insensibilização elétrica estão relacionados com o fato de que um grande número de parâmetros como: formas de onda (onda senoidal CA ou CC pulsadas), frequências (Hz) e níveis de corrente elétrica; são utilizados comercialmente e a relação entre estas diferentes variáveis é complexa (BERG; RAJ, 2015). A intensidade da corrente elétrica está diretamente relacionada com a frequência aplicada e pesquisas têm demonstrado que as frequências mais altas requerem maiores níveis de corrente para alcançar um atordoamento eficaz (GREGORY; WOTTON, 1991b; WILKINS et al., 1998; XU et al., 2011).

Os resultados da medição da corrente elétrica no cérebro, com a utilização do sistema de onda híbrida, demonstram que a intensidade da corrente elétrica no cérebro das aves varia de acordo com os parâmetros do choque aplicado. Não houve diferença significativa da corrente elétrica no cérebro das aves abatidas utilizando o sistema de onda simples. No sistema de onda híbrida também não houve diferença significativa entre as frequências de 50 e 200 Hz visto que a intensidade da corrente elétrica aplicada foi a mesma. Porém considerando o sistema de onda híbrida, a

intensidade da corrente elétrica foi significativamente maior nas frequências de 200 e 400 Hz.

Nesta avaliação, sob as mesmas condições, a intensidade da corrente aumentou com a utilização do sistema híbrido, embora tal avaliação não reflita a real intensidade da corrente elétrica fluindo através do tecido cerebral em condições normais de insensibilização visto que as aves já estavam mortas durante os tratamentos.

Uma medição com menor perturbação poderia ser feita através da implantação de eletrodos diretamente na superfície do tecido cerebral, lateralmente ou na parte central dos hemisférios direito e esquerdo, e aferir a corrente após recuperação das aves. Entretanto tal metodologia fere questões éticas e de bem-estar animal das aves e ainda assim não representaria a real corrente no cérebro. Por exemplo, em uma avaliação dos efeitos da corrente elétrica e frequência na leitura de eletroencefalografia e PESS, diversas aves morreram durante os procedimentos de implantação dos eletrodos (RAJ; O'CALLAGHAN, 2004).

Conforme sugerido em outros estudos (RAJ; O'CALLAGHAN, 2004; RAJ; O'CALLAGHAN; KNOWLES, 2006), a profundidade da insensibilização pode estar relacionada com o tempo da *largura de pulso*. Neste caso, a aplicação do choque com onda de frequência híbrida respeitando-se a proporção do ciclo de trabalho da onda única pode ter contribuído para a obtenção de níveis superiores de corrente.

Já que a utilização de altas frequências têm o potencial de elevar a qualidade da carne, como verificado por diversos autores (GREGORY; WOTTON, 1991b; HUANG et al., 2014; WILKINS et al., 1998; XU et al., 2011) a utilização de um sistema de ondas com frequências híbridas talvez tenha um efeito positivo na qualidade da carne sem prejudicar o bem-estar animal o que deverá ser avaliado através de estudos posteriores.

9.6. Conclusões

Neste estudo verificou-se que a aplicação de corrente elétrica com a utilização de um sistema de ondas de frequências híbridas apresentou um aumento na intensidade da corrente elétrica no cérebro de frangos pós-abate nas mesmas condições. Visto que a corrente elétrica atravessando o cérebro é essencial para a insensibilização, tal sistema cumpre os requisitos da Resolução 1099/2009 da União

Europeia. Observou-se que a corrente elétrica no cérebro é da ordem de micro-ampères (μA), valor muito abaixo da corrente aplicada em mili-ampères (mA).

Devido às diferentes configurações de equipamentos de insensibilização elétrica utilizados no mercado, sugere-se uma abordagem de validação das plantas de abate com base em avaliações de eletroencefalografia e sinais clínicos *in loco* de forma a definir parâmetros elétricos que determinem a eficácia da insensibilização.

Visto que o sistema de onda híbrida apresentou um maior fluxo de corrente elétrica, sugere-se que tal sistema possa apresentar melhores índices de qualidade de carne mantendo o índice de bem-estar animal. Estudos sobre a eficácia da insensibilização por eletroencefalografia e parâmetros de qualidade da carne, utilizando este sistema, são necessários para se confirmar ou rejeitar tais suposições.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALGERS, B.; ATKINSON, S. STUNNING | Mechanical Stunning. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 3, p. 413–417, 2014.
- ALI, A. S. A. et al. Influence of electrical stunning voltages on bleed out and carcass quality in slaughtered broiler chickens. **Archiv fur Geflugelkunde**, v. 71, n. 1, p. 35–40, 2007.
- ANIL, M. H.; MCKINSTRY, J. L. The effectiveness of high frequency electrical stunning in pigs. **Meat Science**, v. 31, n. 4, p. 481–491, 1992.
- BAYNE, T.; HOHWY, J.; OWEN, A. M. Are There Levels of Consciousness? **Trends in Cognitive Sciences**, v. 20, n. 6, p. 405–413, 2016.
- BENSON, E. R. et al. Evaluation of EEG based determination of unconsciousness vs. loss of posture in broilers. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 2, p. 960–964, 2012.
- BERG, C.; RAJ, M. A Review of Different Stunning Methods for Poultry — Animal Welfare Aspects (Stunning Methods for Poultry). **Animals**, v. 5, n. 4, p. 1207–1219, 2015.
- BERTOLONI, W. et al. Avaliação de diferentes híbridos suínos submetidos à insensibilização elétrica e gasosa (CO₂). Parte 2: mensurações objetivas de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 343–351, 2006.
- BOAG, Z. Searle: It upsets me when I read the nonsense written by my contemporaries. **New Philosopher**, p. 132, 2013.
- BOISSY, A. et al. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. **Physiology and Behavior**, v. 92, n. 3, p. 375–397, 22 out. 2007.
- BRAZIL. Instrução Normativa 3 de 17 de Janeiro de 2000. **Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2000.
- BUTLER, A. B. et al. Evolution of the neural basis of consciousness: A bird-mammal comparison. **BioEssays**, v. 27, n. 9, p. 923–936, 2005.
- CHANNON, H. A.; PAYNE, A. M.; WARNER, R. D. Comparison of CO₂ stunning with manual electrical stunning (50 Hz) of pigs on carcass and meat quality. **Meat Science**, v. 60, n. 1, p. 63–68, 2002.
- CLAY, Z.; DE WAAL, F. B. M. Development of socio-emotional competence in bonobos. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 45, p. 18121–6, 2013.
- CLAYTON, N. S.; DALLY, J. M.; EMERY, N. J. Social cognition by food-caching corvids. The western scrub-jay as a natural psychologist. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences**, v. 362, n. February, p. 507–522, 2007.
- COENEN, A. M. L. et al. Remote monitoring of electroencephalogram, electrocardiogram, and behavior during controlled atmosphere stunning in broilers: implications for welfare. **Poultry science**, v. 88, n. 1, p. 10–19, jan. 2009.

CRAIG, E.; FLETCHER, D. A comparison of high current and low voltage electrical stunning systems on broiler breast rigor development and meat quality. **Poultry Science**, v. 76, n. 8, p. 1178–1181, 1 ago. 1997.

CRIPPA, A. C. DE S.; DOMINGOS, C. J.; PAOLA, L. Eletroencefalografia. In: **Tratado de Neurologia da Academia Brasileira de Neurologia**. 1° ed. Rio de Janeiro: Elsevier Ltd, 2013. p. 86–95.

DAWKINS, M. Animal welfare and the paradox of animal consciousness. **Advances in the Study of Behavior**, v. 47, p. 5–38, 2015.

DÉSIRÉ, L.; BOISSY, A.; VEISSIER, I. Emotions in farm animals:: A new approach to animal welfare in applied ethology. **Behavioural Processes**, v. 60, n. 2, p. 165–180, 2002.

DUGAS-FORD, J.; ROWELL, J. J.; RAGSDALE, C. W. Cell-type homologies and the origins of the neocortex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 42, p. 16974–9, 2012.

EFSA. Welfare aspects of the main systems of stunning and killing the main commercial species of animals. Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare on a request from the Commission related to welfare aspects of the main systems of stunning an. **The EFSA Journal**, n. 45, p. 1–29, 2004.

EFSA. Guidance on the assessment criteria for studies evaluating the effectiveness of stunning interventions regarding animal protection at the time of killing. **European Food Safety Authority**, v. 11, n. 12, 2013.

ERASMUS, M. A.; TURNER, P. V.; WIDOWSKI, T. M. Measures of insensibility used to determine effective stunning and killing of poultry. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 19, n. 3, p. 288–298, 2010.

EUROPEAN UNION COUNCIL. Regulamento (CE) N.º 1099 de 24 de Setembro de 2009 relativo à proteção dos animais no momento da occisão. **Jornal Oficial da União Europeia**, 2009.

FAROUK, M. M. et al. Halal and kosher slaughter methods and meat quality: A review. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 505–519, 2014.

FEINBERG, T. E.; MALLATT, J. The nature of primary consciousness. A new synthesis. **Consciousness and Cognition**, v. 43, p. 113–127, 2016.

FLEMING, B. K. et al. The Effect of Carbon Dioxide as a Preslaughter Stunning Method for Turkeys. **Poultry Science**, v. 70, n. 10, p. 2201–2206, 1 out. 1991.

FOSTER, K. R. et al. Dielectric properties of brain tissue between 0.01 and 10 GHz. **Physics in medicine and biology**, v. 24, n. 6, p. 1177–1187, 1979.

GABRIEL, C.; GABRIEL, S.; CORTHOUT, E. The dielectric properties of biological tissues .1. Literature survey. **Physics in Medicine and Biology**, v. 41, n. 11, p. 2231–2249, 1996.

GERRITZEN, M. A. et al. Multistage carbon dioxide gas stunning of broilers. **Poultry science**, v. 92, n. 1, p. 41–50, 2013.

GÖKSOY, E. O. et al. Broiler stunning and meat quality. **Poultry Science**, v. 78, n. 12, p. 1796–1800, 1999.

GRANDIN, T. Do animals and people with autism have true consciousness? **Evolution and Cognition**, v. 8, n. 2, p. 241–248, 2002.

GRANDIN, T. Auditing animal welfare at slaughter plants. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 56–65, 2010.

GREGORY, N. G.; WOTTON, S. B. Effect of depth of immersion in the waterbath on the effectiveness of electrical stunning in chickens. **Research in veterinary science**, v. 51, n. 2, p. 200–202, 1991a.

GREGORY, N. G.; WOTTON, S. B. Effect of a 350 Hz DC stunning current on evoked responses in the chicken's brain. **Research in veterinary science**, v. 50, n. 2, p. 250–251, 1991b.

GREGORY, N. G.; WOTTON, S. B. Effect of incomplete immersion of the head in waterbath stunners on the effectiveness of electrical stunning in ducks. **Research in Veterinary Science**, v. 53, n. 2, p. 269–270, 1992a.

GREGORY, N. G.; WOTTON, S. B. Effect of wetting a chicken's feathers on the effectiveness of electrical stunning. **Research in Veterinary Science**, v. 53, n. 2, p. 250–251, set. 1992b.

GRIMNES, S.; MARTINSEN, Ø. G. Chapter 1 - Introduction BT - Bioimpedance and Bioelectricity Basics (Third Edition). In: Oxford: Academic Press, 2015a. p. 1–7.

GRIMNES, S.; MARTINSEN, Ø. G. Chapter 3 - Dielectrics BT - Bioimpedance and Bioelectricity Basics (Third Edition). In: Oxford: Academic Press, 2015b. p. 37–75.

GRIMNES, S.; MARTINSEN, Ø. G. Chapter 2 - Electrolytics BT - Bioimpedance and Bioelectricity Basics (Third Edition). In: Oxford: Academic Press, 2015c. p. 9–36.

GRIMSBØ, E. et al. Preventing injuries and recovery for electrically stunned Atlantic salmon (*Salmo salar*) using high frequency spectrum combined with a thermal shock. **Aquaculture**, v. 434, p. 277–281, 2014.

GROSS, M. Elements of consciousness in animals. **Current Biology**, v. 23, n. 22, p. R981–R983, 2013.

HÄNSCH, F.; NOWAK, B.; HARTUNG, J. Evaluation of a gas stunning equipment used for turkeys under slaughterhouse conditions. **Livestock Science**, v. 124, n. 1–3, p. 248–254, 2009.

HARRIS, C. **EU Regulation Changes View on Stunning at Slaughter**. Disponível em: <<http://www.thepoultrysite.com/articles/2867/eu-regulation-changes-view-on-stunning-at-slaughter/>>.

HERTZ, H. R.; JONES, D. .; SCHOTT, G. . Miscellaneous papers. **Macmillan and Co. Ltd**, v. 92, p. 156–171, 1896.

HILLEBRAND, S. J.; LAMBOOY, E.; VEERKAMP, C. H. The effects of alternative electrical and mechanical stunning methods on hemorrhaging and meat quality of broiler breast and thigh muscles. **Poultry science**, v. 75, n. 5, p. 664–671, 1996.

HUANG, J. C. et al. The effects of electrical stunning methods on broiler meat quality: Effect on stress, glycolysis, water distribution, and myofibrillar ultrastructures. **Poultry Science**, v. 93, n. 8, p. 2087–2095, 1 ago. 2014.

JARVIS, E. D. et al. Global view of the functional molecular organization of the avian cerebrum: Mirror images and functional columns. **Journal of Comparative Neurology**, v. 521, n. 16, p. 3614–3665, 2013.

KARTEN, H. J. Neocortical evolution: Neuronal circuits arise independently of lamination. **Current Biology**, v. 23, n. 1, p. R12–R15, 2013.

KETTLEWELL, P. J.; HALLWORTH, R. N. Electrical Stunning of Chickens. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 47, p. 139–151, 1990.

LAMBOOIJ, B. et al. Effect of a low voltage with a high frequency electrical stunning on unconsciousness in slaughter pigs. **Fleischwirtschaft**, v. 76, n. 12, p. 1327–1328, 1996.

LAMBOOIJ, E. STUNNING | Electrical Stunning. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 3, p. 407–412, 2014.

LAMBOOIJ, E. et al. Cone restraining and head-only electrical stunning in broilers: Effects on physiological responses and meat quality. **American Historical Review**, v. 119, n. 2, p. 512–518, 2014.

LAMBOOY, E. Electrical stunning of sheep. **Meat Science**, v. 6, n. 2, p. 123–135, 1982.

LEARY, S. et al. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. **American Veterinary Medical Association**, p. 98, 2013.

LUDTKE, C. B. et al. **Abate humanitário de aves**. 1. ed. Rio de Janeiro: WSPA, 2010.

MACDONALD, D. B. Electroencephalography: Basic Principles and Applications. In: **International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences**. 2. ed. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 353–363.

MARÍA, G. et al. Evaluation of electrical stunning methods using alternative frequencies in commercial rabbits. **Meat Science**, v. 57, n. 2, p. 139–143, 2001.

MARTIN, J. E. et al. Effects of light on responses to Low Atmospheric Pressure Stunning. **Applied Animal Behaviour Science**, 2016a.

MARTIN, J. E. et al. Effects of analgesic intervention on behavioural responses to Low Atmospheric Pressure Stunning. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 180, p. 157–165, 1 ago. 2016b.

MAXWELL, J. C. A dynamical theory of the electromagnetic field. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 155, n. January, p. 459–512, 1865.

MAXWELL, J. C. **A treatise on electricity and magnetism**. Oxford: Clarendon Press, 1873.

MENDL, M. et al. Cognitive bias as an indicator of animal emotion and welfare: Emerging evidence and underlying mechanisms. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 118, n. 3–4, p. 161–181, 2009.

MILLETT, D.; COUTIN-CHURCHMAN, P.; STERN, J. M. Brain Mapping. In: **Brain Mapping**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 75–80.

MURRELL, J. C.; JOHNSON, C. B. Neurophysiological techniques to assess pain in animals. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 29, n. 5, p. 325–335, 2006.

NICOLAKAKIS, N.; BOIRE, D.; LEFEBVRE, L. Tools and Brains in Birds. **Behaviour**, v. 139, n. 7, p. 939–973, 2002.

NICOLAU, J. et al. Exposure to carbonic gas enriched atmosphere or electrical water bath to stun or kill chickens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 17, n. 3, p. 341–346, set. 2015.

NOWAK, B.; MUEFFLING, T. V.; HARTUNG, J. Effect of different carbon dioxide concentrations and exposure times in stunning of slaughter pigs: Impact on animal welfare and meat quality. **Meat Science**, v. 75, n. 2, p. 300–308, 2007.

PANKSEPP, J. Affective consciousness: Core emotional feelings in animals and humans. **Consciousness and Cognition**, v. 14, n. 1, p. 30–80, 2005.

PAUL, E. S.; HARDING, E. J.; MENDL, M. Measuring emotional processes in animals: The utility of a cognitive approach. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 3, p. 469–491, 2005.

PRINZ, S. et al. Effects of waterbath stunning on the electroencephalograms and physical reflexes of broilers using a pulsed direct current. **Poultry Science**, v. 89, n. 6, p. 1275–1284, 2010a.

PRINZ, S. et al. Electroencephalograms and physical reflexes of broilers after electrical waterbath stunning using an alternating current. **Poultry Science**, v. 89, n. 6, p. 1265–1274, 1 jun. 2010b.

PRINZ, S. et al. Electrical waterbath stunning: Influence of different waveform and voltage settings on the induction of unconsciousness and death in male and female broiler chickens. **Poultry Science**, v. 91, n. 4, p. 998–1008, 2012.

RAJ, A. B. M.; O'CALLAGHAN, M. Effect of amount and frequency of head-only stunning currents on the electroencephalogram and somatosensory evoked potentials in broilers. **Animal Welfare**, v. 13, n. 2, p. 159–170, 2004.

RAJ, A. B. M. Stunning and slaughter of poultry. In: **Poultry Meat Processing and Quality**. 1. ed. Crambrige: Woodhead Publishing, 2004. p. 65–89.

RAJ, A. B. M. STUNNING | CO₂ and Other Gases. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 3, p. 401–406, 2014.

RAJ, A. B. M.; O'CALLAGHAN, M.; KNOWLES, T. G. The effects of amount and frequency of alternating current used in water bath stunning and of slaughter methods on electroencephalograms in broilers. **Animal Welfare**, v. 15, n. 1, p. 7–18, 2006.

RAJ, M. Welfare during stunning and slaughter of poultry. **Poultry science**, v. 77, n. 12, p. 1815–1819, 1998.

REEFMANN, N. et al. Ear and tail postures as indicators of emotional valence in sheep. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 118, n. 3–4, p. 199–207, 2009.

ROBINS, A. et al. The efficacy of pulsed ultrahigh current for the stunning of cattle prior to slaughter. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1201–1209, 2014.

RUIS-HEUTINCK, L. F. et al. Impedance recordings to determine change in extracellular volume in the brain following cardiac arrest in broiler chickens. **Poultry science**, v. 77, n. 9, p. 1422–1427, 1998.

SANDERCOCK, D. A. et al. Avian reflex and electroencephalogram responses in different states of consciousness. **Physiology and Behavior**, v. 133, p. 252–259, 2014.

SAS INSTITUTE INC. System for Microsoft Windows, Release 9.4, Cary, NC, USA, 2002-2012. (cd-rom).

SAVENIJE, B. et al. Electrical stunning and exsanguination decrease the extracellular volume in the broiler brain as studied with brain impedance recordings. **Poultry science**, v. 79, n. 7, p. 1062–1066, 2000.

SAVENIJE, B. et al. Development of brain damage as measured by brain impedance recordings, and changes in heart rate, and blood pressure induced by different stunning and killing methods. **Poultry science**, v. 81, n. 4, p. 572–578, 2002.

SCHILLING, M. W. et al. PROCESSING , PRODUCTS , AND FOOD SAFETY The effects of low atmosphere stunning and deboning time on broiler breast meat quality. **Poultry science**, v. 91, n. 12, p. 3214–3222, 2012.

SCHILLING, M. W.; VIZZIER-THAXTON, Y.; ALVARADO, C. Z. SLAUGHTER-LINE OPERATION | Poultry. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 3, p. 303–308, 2014.

SPARREY, J. M.; PAICE, M. E. R.; KETTLEWELL, P. J. Model of current pathways in electrical water bath stunners used for poultry. **British Poultry Science**, v. 33, n. 5, p. 907–916, 1992.

TERLOUW, C.; BOURGUET, C.; DEISS, V. Consciousness, unconsciousness and death in the context of slaughter. Part II. Evaluation methods. **Meat Science**, 2015.

TERLOUW, C.; BOURGUET, C.; DEISS, V. Consciousness, unconsciousness and death in the context of slaughter. Part I. Neurobiological mechanisms underlying stunning and killing. **Meat Science**, v. 118, p. 133–146, ago. 2016.

TURCSÁN, Z. et al. Effects of electrical stunning frequency and voltage combinations on the presence of engorged blood vessels in goose liver. **Poultry science**, v. 82, n. 11, p. 1816–1819, 2003.

TURCSÁN, Z. S. et al. The effects of electrical and controlled atmosphere stunning methods on meat and liver quality of geese. **Poultry science**, v. 80, n. 11, p. 1647–1651, 2001.

VELARDE, A et al. The effect of stunning method on the incidence of PSE meat and haemorrhages in pork carcasses. **Meat Science**, v. 55, n. 3, p. 309–314, 2000.

VERHOEVEN, M. T. W. et al. Indicators used in livestock to assess unconsciousness after stunning: a review. **Animal : an international journal of animal bioscience**, v. 9, n. 2, p. 320–30, 2015.

WEBSTER, A. B.; FLETCHER, D. L. PROCESSING AND PRODUCTS Reactions of Laying Hens and Broilers to Different Gases Used for Stunning Poultry. **Poultry Science**, v. 80, p. 1371–1377, 2001.

WILKINS, L. J. et al. Effectiveness of electrical stunning applied using a variety of waveform-frequency combinations and consequences for carcase quality in broiler chickens. **British poultry science**, v. 39, n. 4, p. 511–518, 1998.

WILKINS, L. J. et al. Constant current stunning effects on bird welfare and carcass quality. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 8, n. 4, p. 465–471, 1999.

WOOLLEY, S. C.; BORTHWICK, F. J.; GENTLE, M. J. Tissue resistivities and current pathways and their importance in pre-slaughter stunning of chickens. **British Poultry Science**, v. 27, n. 2, p. 301–306, 1986.

XU, L. et al. Effect of electrical stunning current and frequency on meat quality, plasma parameters, and glycolytic potential in broilers. **Poultry science**, v. 90, n. 8, p. 1823–1830, 2011.

ZENTALL, T. Bird minds: Cognition and behaviour of Australian native birds. **Animal Behaviour**, v. 114, p. 11–12, 2016.

ZIMMERMAN, P. H. et al. Behaviour of domestic fowl in anticipation of positive and negative stimuli. **Animal Behaviour**, v. 81, n. 3, p. 569–577, 2011.