

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Ana Maria Osorio Dias

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA TRAÇABILIDADE E QUALIDADE DE
CARNE DE CORDEIRO**

Santa Maria, RS
2019

Ana Maria Osorio Dias

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA TRAÇABILIDADE E QUALIDADE DE CARNE DE
CORDEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutora em Zootecnia.**

Orientador: Prof. Dr. Cleber Cassol Pires

Santa Maria, RS
2019

Dias, Ana Maria Osorio
Isótopos estáveis para traçabilidade e qualidade de
carne de cordeiro / Ana Maria Osorio Dias.- 2019.
65 p.; 30 cm

Orientador: Cleber Cassol Pires
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Zootecnia, RS, 2019

1. Carbono 2. Nitrogênio 3. Lã 4. Ovinos 5. Razão
isotópica I. Pires, Cleber Cassol II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2019

Todos os direitos autorais reservados a Ana Maria Osorio Dias. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: anamariaodias@hotmail.com

Ana Maria Osorio Dias

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA TRAÇABILIDADE E QUALIDADE DE CARNE DE
CORDEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutora em Zootecnia.**

Aprovada em 18 de março de 2019:

Cleber Cassol Pires, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Leila Picolli da Silva, Dra. (UFSM)

Paulo Santana Pacheco, Dr. (UFSM)

Stefani Macari, Dr. (UFPEL)

Vladimir Eliodoro da Costa, Dr. (UNESP)
(Videoconferência)

Santa Maria, RS
2019

Agradço...

A vida...

De forma muito especial, meu orientador e amigo Prof. Cleber Cassol Pires, por acreditar e confiar em mim, ao encarar um novo desafio, por me proporcionar realizar esta pesquisa e tantas outras oportunidades!

A Prof. Leila pelo incentivo ao tema, elaboração do projeto, a pesquisa, acolhimento ao laboratório, enfim a co-orientação!

*Aos meus pais, Luiz e Elvira por todo o apoio, para que eu chegasse até aqui...
Que tornaram possível minha formação e presença na minha vida...
Ao meu irmão Matheus, por compartilhar alguns momentos...*

*Ao meu amor, parceiro de vida Gabriel Rodrigues, principalmente por me lembrar que se vive um dia de cada vez, por ter muita paciência e carinho comigo...
Por toda a ajuda nesta pesquisa e no dia-a-dia...
Por dividir sua vida, bons momentos e até a profissão!*

A minha segunda família, Beto, Guacira e Iza, pelo apoio, cuidados e a presença nesta jornada...

Aos meus tios Benjamin e Rosana, pela amizade, longas conversas, auxílio no projeto e na qualificação. Ao apoio nesta etapa e por momentos de alegria, com a chegada do Pedro!

*A UFSM, ao PPGZ e aos professores pela oportunidade de aprendizado nesta instituição...
principalmente a Jaqueline S. Lemes e Paulo Pacheco.*

*Aos lugares e pessoas incríveis e que conheci neste período principalmente os que fui em busca de conhecimento e experiência...
Principalmente ao Prof. Vladimir/ CIE Unesp-Botucatu e Prof. Alfredo Teixeira/IPB-Bragança, PT.*

Aos verdadeiros amigos, que sempre dispuseram de algum tempo para me auxiliar, na pesquisa, nas conversas, nas comemorações ou no dia-a-dia: Anderson Moro, Andressa Martins, Júnior Mendes, Liane Seibert, Mabel Molinari, Marta A. Machado e a Taciara Horst, presentes da pós graduação e para vida!

As todas as pessoas que conheci ao longo desta jornada...

Aos estagiários e integrantes do Setor de Ovinocultura...

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos em prol da pesquisa!

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes”.

(Isaac Newton)

RESUMO

ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA TRAÇABILIDADE E QUALIDADE DE CARNE DE CORDEIRO

AUTORA: Ana Maria Osorio Dias
ORIENTADOR: Cleber Cassol Pires

Métodos analíticos e não invasivos e inerte a saúde animal capaz de identificar a alimentação fornecida aos ovinos são necessárias, pois além de atuarem como marcadores físicos da dieta, detectando o que realmente foi fornecido aos animais, ainda possibilita alavancar a cadeia produtiva, proporcionando maior visibilidade a qualidade final dos produtos. Este trabalho teve como objetivo o uso dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, para determinar dietas fornecidas aos cordeiros, *in vivo e pós mortem*, por meio de análises de lã, sangue e fezes e carne, descrevendo qual a amostra mais indicada para a traçabilidade e além disto, o efeito das dietas sobre a qualidade da carne. O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Ovinocultura da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Utilizou-se 32 cordeiros machos não castrados distribuídos aleatoriamente em 2 sistemas de terminação, com 4 dietas distintas, com oito repetições em cada: Pastagem de azevém (*Lolium multiflorum*), caracterizando a dieta C3; Confinamento de Feno de Tifton (*Cynodon spp.*) + milho (*Zea mays*), para animais exclusivamente na dieta C4; confinamento de Aveia em grãos (*Avena sativa*) com farelo de soja (*Glycine Max*) e confinamento de Feno de Alfafa (*Medicago sativa*), *ad libitum*, ambos com dietas exclusivas C3. Os animais mantiveram-se confinado até a obtenção de 30 kg de peso vivo. A identificação das dietas pela análise de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) foi determinada através das análises de lã, sangue e fezes coletadas a cada 15 dias e posteriormente analisadas no espectrômetro de massa de razões isotópicas. Após os abates foram realizada as isotópicas da carne e análises sensoriais por painel treinado da carne ovina. O delineamento experimental utilizado é inteiramente casualizado, num esquema fatorial. Houve a completa diferenciação isotópicas das dietas. Assim a análise de isótopos estáveis de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ é uma ferramenta eficaz para traçabilidade. Através do conjunto dos isótopos $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ possibilitou a diferenciação das dietas caracterizados com plantas C3 e C4 e dos sistemas alimentares, pastagem e confinamento. A variação do $\delta^{13}\text{C}$ determina alimentos enriquecidos ou empobrecidos de $\delta^{13}\text{C}$. As espécies C4, apresentam um enriquecimento relativo de $\delta^{13}\text{C}$, diferindo significativamente dos tratamentos, com dietas C3. A análise do $\delta^{15}\text{N}$ permitiu distinguir a separação dos sistemas, desta forma o sistema composto por pastagem de Azevém apresenta maior concentração natural de ^{15}N . Logo, os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ permite diferenciar e certificar as dietas e os sistemas de produção ovina, demonstrando marcadores lentos da dieta, como a lã e fezes a dieta como as fezes. Para análises sensoriais foram utilizados 32 amostras, 8 por tratamento, amostras do corte do *longissimus dorsi*. As avaliações foram realizadas por um grupo formado por 11 pessoas treinadas, estes foram instruídos a descrever os atributos percebidos. A qualidade da carne dos animais em pastagem de azevém destaca-se por apresentar o menor teor de lipídios e teor de proteína preconizado para carne ovina. Os atributos sensoriais da carne sofreram influência direta dos sistemas de terminação. A aceitabilidade dos julgadores, comprova a preferência do consumo de carne a pasto. O odor característico mais intenso está presente na carne dos animais alimentados em pastagem de azevém, enquanto que a carne dos animais confinamos com milho apresentam a maior maciez.

Palavras-chave: Carbono. Nitrogênio. Lã. Ovinos. Razão isotópica.

ABSTRACT

STABLE ISOTOPES FOR TRACEABILITY AND QUALITY OF LAMB MEAT

AUTHOR: Ana Maria Osorio Dias

ADIVISOR: Cleber Cassol Pires

Analytical and non-invasive methods and inert animal health capable of identifying the feed provided to sheep are necessary, since in addition to acting as physical markers of the diet, detecting what was actually provided to the animals, still allows leverage the productive chain, providing greater visibility the final quality of the products. The objective of this study was to use stable isotopes of carbon and nitrogen to determine the diets supplied to lambs, in vivo and postmortem, by analysis of wool, blood and feces and meat, describing which sample is most suitable for traceability and in addition, the effect of diets on the quality of the meat. The experiment was carried out at the Ovinocultura Laboratory of the Federal University of Santa Maria (UFSM). Twenty-two uncastrated male lambs were randomly distributed in 2 finishing systems, with 4 distinct diets, with eight replicates in each: Rapegrass (*Lolium multiflorum*), characterizing the diet C3; Confinement of Tifton Hay (*Cynodon* spp.) + Maize (*Zea mays*), exclusively for the C4 diet; (*Alya sativa*) confinement with soybean meal (*Glycine Max*) and confinement of Alfalfa Hay (*Medicago sativa*), ad libitum, both with exclusive diets C3. The animals were kept confined until they obtained 30 kg of live weight. The identification of the diets by the analysis of stable isotopes of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) was determined by analysis of wool, blood and faeces collected every 15 days and later analyzed in the mass spectrometer of isotopic ratios. After the slaughtering, the meat isotopic and sensorial analyzes were carried out by trained panel of ovine meat. The experimental design was completely randomized, in a factorial scheme. There was complete isotope differentiation of diets. Thus the stable isotope analysis of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ is an effective tool for traceability. Through the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ isotopes, the diets characterized with C3 and C4 plants, as well as food, pasture and confinement systems were differentiated. The variation of $\delta^{13}\text{C}$ determines enriched or depleted foods of $\delta^{13}\text{C}$. The C4 species present a relative $\delta^{13}\text{C}$ enrichment, differing significantly from the treatments, with C3 diets. The analysis of the $\delta^{15}\text{N}$ allowed to distinguish the separation of the systems, in this way the system composed by Azevém pasture presents a higher natural concentration of ^{15}N . Therefore, the isotopic values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ allow differentiation and certification of diets and sheep production systems, demonstrating slow dietary markers such as wool and faithful diets such as faeces. For sensorial analysis 32 samples were used, 8 per treatment, samples from the cut of longissimus dorsi. The evaluations were carried out by a group of 11 trained people, who were instructed to describe the perceived attributes. The quality of animas meat in ryegrass pasture stands out because it presents the lowest lipid content and recommended protein content for sheep meat. The sensory attributes of the flesh were influenced directly by the termination systems. The acceptability of the judges, proves the preference of meat consumption to pasture. The most characteristic characteristic odor is present in the meat of the animals fed on ryegrass pasture, while the meat of the animals confined with maize presents the greatest softness.

Keywords: Carbon. Nitrogen. Wool. Sheep. Isotopic ratio.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura 1 – Dispersão dos valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de lã dos animais em diferentes intervalos de coletas.....	24
Figura 2 – Dispersão dos valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de lã dos animais em diferentes intervalos de coletas.....	26
Figura 3 – Dispersão dos valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de sangue dos animais em diferentes intervalos de coletas.....	28
Figura 4 – Dispersão dos valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de sangue dos animais em diferentes intervalos de coletas.....	30
Figura 5 – Dispersão dos valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de fezes dos animais em diferentes intervalos de coletas.....	33
Figura 6 – Dispersão dos valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de fezes dos animais em diferentes intervalos de coletas.....	35

ARTIGO 2

Figura 1 – Gráfico de dispersão das razões isotópicas de Carbono-13 e Nitrogênio-15 marcados no músculo <i>Longissimus dorsi</i> de cordeiros terminados em diferentes dietas e sistemas de terminação	43
--	----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1 – Composição bromatológica e isotópica das dietas	21
Tabela 2 – Médias e valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de lã dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas.....	23
Tabela 3 – Médias e valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de lã dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas.....	25
Tabela 4 – Médias e valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de sangue dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas	27
Tabela 5 – Médias e valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de sangue dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas	30
Tabela 6 – Médias e valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de fezes dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas	32
Tabela 7 – Médias e valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de fezes dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas	34

ARTIGO 2

Tabela 1 – Valor isotópico das dietas para cordeiros em diferentes sistemas alimentares	42
Tabela 2 – Médias e erros médios padrões do enriquecimento isotópico dos elementos C e N nas amostras do músculo <i>Longissimus dorsi</i> , nos diferentes sistemas de terminação de cordeiros	42

ARTIGO 3

Tabela 1 – Valores da composição bromatológica dos alimentos utilizados nos sistemas de terminação	51
Tabela 2 – Composição química da carne de cordeiros terminados em diferentes sistemas alimentares.....	53
Tabela 3 – Médias dos atributos sensoriais avaliados pelos julgadores na carne de cordeiros submetidos a sistemas de terminação à base de grãos, forragem verdes ou conservadas.....	54

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISSÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	ISÓTOPOS ESTÁVEIS.....	11
2.2	TRAÇABILIDADE	13
2.3	ISÓTOPOS ESTÁVEIS NA DISCRIMINAÇÃO DE DIETAS	14
2.4	QUALIDADE DE CARNE	15
3	ARTIGO 1 – ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA A TRAÇABILIDADE DE DIETAS.....	17
4	ARTIGO 2 – TRAÇABILIDADE DE DIETAS EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE CORDEIROS PELAS RAZÕES ISOTÓPICAS DA CARNE.....	38
5	ARTIGO 3 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E SENSORIAIS DA CARNE DE CORDEIROS SUBMETIDOS A SISTEMAS DE TERMINAÇÃO À BASE DE GRÃOS, FORRAGEM VERDES OU CONSERVADAS	48
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
	ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DA UFSM	64

1 INTRODUÇÃO

A ovinocultura nacional representa uma atividade de importância cultural, econômica e social, destacando-se como estratégia de desenvolvimento, demonstrando tendências promissoras, através de sistemas de produção com características únicas, que podem resultar em carnes com atributos diferenciados, afim de atender distintos nichos de mercado, valorizando a atividade e expandindo a cadeia. Por isto, cada vez mais intensifica-se a necessidade de desenvolver novos conhecimentos, que qualifiquem e aprimorem o sistema produtivo, afim de garantir modernizar e certificar o produto final.

Dentre os pilares da produção animal, a nutrição adequada é responsável por produzir carne ovina de qualidade, portanto necessita-se avaliar e ofertar dietas que irão influenciar decisivamente as características do produto final (NERES et al., 2001). Ofertar de forma exclusiva ou consorciada as fontes de volumosos como as pastagens cultivadas e os fenos, assim como os concentrados, na forma de grãos e farelos, causam alterações nos atributos nutricionais e organolépticos da carne (PINHEIRO et al., 2008), refletindo-se nas preferências do mercado.

Portanto, definir técnicas analíticas que contribuam para garantir um padrão qualitativo da carne ovina é urgente para abrir novos mercados e obter a fidelidade dos distintos paladares do público consumidor.

Maioria dos sistemas alimentares na ovinocultura estão associados à condição climática regional. Na região sul do País, é comum a oferta de pastagem de azevém (*Lolium multiflorum*) e de feno de Tifton (*Cynodon spp.*), que são plantas de ciclo fotossintético C3 e C4, respectivamente (CARVALHO et al., 2012).

A combinação destas forrageiras na dieta, aliadas ou não ao fornecimento de concentrados, promovem distintas “assinaturas químicas” no produto animal, que funcionam como uma identidade, possível de ser determinada por mensurações isotópicas (PRACHE et al., 2009) de multi-elementos carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre (C, H, O, N, S), que estarão em concentrações diferenciadas em vegetais com ciclo fotossintético C3 ou C4.

Considerando este fato a quantificação de isótopos estáveis surge como ferramenta de traçabilidade, permitindo identificar as dietas, sistemas produtivos e origem geográfica, com intenções de qualificar e autenticar o produto final.

Este trabalho objetiva identificar dietas fornecidas a cordeiros lactentes e desmamados, através da análise dos isótopos estáveis de Carbono e Nitrogênio, com análises da carne, fezes, lã e sangue, e o efeito das dietas sobre a qualidade da carne.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ISÓTOPOS ESTÁVEIS

Os isótopos são átomos do mesmo elemento químico, com o mesmo número de prótons e diferentes números de nêutrons e, conseqüentemente, com diferentes massas (DUCATTI et al., 2011), são elementos que apresentam as mesmas propriedades químicas (eletrosfera) e diferentes propriedades físicas (núcleo). A expressão “estável” significa que ocorrem de maneira comum na natureza, podendo ser utilizados sem riscos à saúde e ao ambiente, uma vez que não emitem radiações (THORPE; THORPE, 2011).

Um estudo mostrou que existem mais que 2500 diferentes isótopos conhecidos em 110 elementos químicos diferentes com 264 isótopos estáveis (CRISS, 1999), porém há uma crescente descoberta sobre os isótopos existentes. Os primeiros estudos de isótopos estáveis, foram para finalidades geológicos e arqueológicos, mas nas últimas décadas têm sido aplicados de forma crescente e contínua em pesquisas agrícolas, ecológicas, em estudos de digestibilidade e metabolismo humano e animal. Tais investigações demonstraram que as abundâncias de diferentes isótopos estáveis dos tecidos de animais dependem da alimentação, da água ingerida e gases inalados (DUCATTI, 2007).

Os isótopos estáveis dos bioelementos (C, H, O, N, S) são analisados na forma gasosa, principalmente, por espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS), no qual a amostra é comparada com um padrão internacional específico para cada elemento, com erro analítico da ordem de 0,2‰, através da expressão adimensional:

$$\delta (\text{amostra, padrão}) = (R \text{ amostra} - R \text{ padrão})/R \text{ padrão}$$

Como os valores numéricos das diferenças entre as razões isotópicas (R) são pequenos, costuma-se multiplicar a expressão por 1000, obtendo-se a terminologia em delta per mil (δ ‰) e sempre expressos a razão do mais pesado em relação ao isótopo mais leve (DUCATTI, 2007).

O elemento químico carbono, por exemplo, apresenta somente dois isótopos estáveis; $^{12}\text{C}_6$ e $^{13}\text{C}_6$, sendo que o ^{12}C é o mais leve e o mais abundante na natureza em relação ao ^{13}C , de aproximadamente 98,89% e 1,11% de átomos, respectivamente (KENNEDY; KROUSE, 1990) e os dois diferem pela existência de um nêutron a mais no núcleo.

Os isótopos estáveis do Carbono apresentam-se como alternativa em estudos relacionados à digestão, absorção e metabolismo, por estarem presentes em todos nutrientes capazes de gerar energia aos animais (MARTINS, 2014).

A presença do ^{13}C na alimentação animal, é oriunda da molécula de CO_2 o qual apresenta valor de $\delta^{13}\text{C}$ de aproximadamente $-7,7\text{‰}$ (KENNEDY; KROUSE, 1990), o gás é absorvido na rota metabólica que compõe o ciclo fotossintético vegetal, permitindo uma concentração do $\delta^{13}\text{C}$ menor em plantas de ciclo metabólico C3 em relação a C4. Logo a utilização de isótopos pode ser útil para a certificação de origem da carne ovina, pois a razão entre os isótopos estáveis possibilita traçar os fluxos de Carbono na cadeia alimentar, até sua deposição no tecido animal.

As plantas e os subprodutos do ciclo fotossintético C3 (azevém, alfafa, aveia, soja, arroz, trigo, cevada), apresentam valor médio isotópico de $\delta^{13}\text{C} = -28\text{‰}$ (-22 a -34‰), e as plantas e seus subprodutos do ciclo fotossintético C4 (tifton, milho, milheto e demais gramíneas tropicais), com valor médio de $\delta^{13}\text{C} = -12\text{‰}$ (-9 e -16‰) (BOUTTON, 1996; DUCATTI et al., 2011).

Os valores isotópicos do $\delta^{13}\text{C}$ são expressos em termos do padrão internacional, Peedee Belemnite (PDB). Trata-se do carbonato sólido de Belemnite da era cretáceo, *Belemnite americana*, da formação Peedee da Carolina do Sul, empregado inicialmente como padrão por Craig (1957).

Das considerações sobre os isótopos de Carbono, este é caracterizado como o principal elemento na análise da fonte alimentar, e ainda existem complexas interpretação dos valores isotópicos sobre as possíveis fontes. Portanto, sugere-se a necessidade de complementação com outros elementos como o Nitrogênio.

Tão importante como os demais átomos, o Nitrogênio atmosférico apresenta distinção da razão isotópica em $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ o que se reflete na sua fixação nos tecidos vegetais. As plantas que possuem bactéria fixadoras de nitrogênio consegue fixá-lo do ar, as demais fixam através da incorporação de compostos nitrogenados do solo. Na maioria das leguminosas, por realizar simbiose com micorrizas, o valor de $\delta^{15}\text{N}$ varia ao redor de uma unidade, próximo ao padrão ($\delta^{15}\text{N} = 0,0 \pm 1,0\text{‰}$) e o $\delta^{15}\text{N}$ das plantas que não conseguem fixar o nitrogênio atmosférico é dependente, em grande parte, da abundância isotópica do solo e da variação causada pela adubação, sendo o valor do $\delta^{15}\text{N}$ mais significativo e ao redor de 10‰ (SHIBUYA et al., 2006; WERNER; SCHIMIDT, 2002).

Para os isótopos estáveis do nitrogênio, o padrão internacional é o nitrogênio do ar atmosférico (LAJTHA; MARSHALL, 1994). Os valores isotópicos de ^{15}N também são

expressos na notação delta per mil ($\delta^{15}\text{N}$) da razão isotópica $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ (mais leve e mais abundante sobre o mais pesado e raro) do produto em relação ao padrão internacional, e apresentam uma abundância natural expressa em 99,63% dos átomos de ^{14}N enquanto seu isótopo ^{15}N de 0,36% e são comparados pelo com o N_2 .

2.2 TRAÇABILIDADE

O termo traçabilidade ou rastreabilidade oriundo do inglês “traceability”, refere-se ao caminho traçado, fonte ou acompanhamento de um produto (produtos de origem vegetal ou animal ou substâncias incorporadas) desde sua origem até o seu consumidor. Desta forma, entende-se por traçar, acompanhar o caminho durante a vida do animal, além de acompanhar um conjunto de informações e componentes que se relacionam entre si, com o intuito de facilitar o controle do produto final (SILVA, 2004). E a rastreabilidade refere-se mais a registros físicos, há cadastros feitos, principalmente em animais, sobre dados, que permitirão reconhecê-lo futuramente.

A crescente preocupação mundial com a alimentação, motiva a busca de informações precisas que comprovem a garantia do produto final e com a traçabilidade, teremos o primeiro passo para atender essa demanda. Neste cenário, a identificação precisa da dieta fornecida aos animais é a base para reconhecer os sistema de manejo, que resultam em progressos zootécnicos, controle e economia da produção. Técnicas capazes de identificar a alimentação fornecida aos ovinos são necessárias, pois além de atuarem como marcadores físicos da dieta, detectando o que realmente foi fornecido aos animais, ainda possibilita alavancar a cadeia produtiva, proporcionando maior visibilidade a qualidade dos produtos.

Até agora, vários estudos foram relatados sobre a traçabilidade da dieta e da origem geográfica da carne, do leite e mel, pela qual variados graus de sucesso foi alcançado por composição isotópica.

A confiabilidade da análise dos isótopos como ferramenta na determinação de alimentos ingeridos, principalmente de plantas C3 e C4 também foi demonstrada por Coates, Schachenmann and Jones (1987), Norman et al. (2009) e Martins (2010). Essa mensuração vem sendo utilizada em processos de autenticação de produtos alimentares como queijo, manteiga (MANCA et al., 2001), leite (RENOU et al., 2004), certificação de origem geográfica da carne bovina (BAHAR et al., 2008), dieta de bovinos (GUO et al., 2010), caracterização e diferenciação de regime dietético de suínos ibéricos (GONZALES MARTIN et al., 1999), dietas de ovinos (PIASANTIER et al., 2003), verificação de adulteração do mel (SOUZA-

KRULISKI et al., 2010), percentual de malte em cervejas (SLEIMAN et al., 2008), autenticidade e rastreabilidade de produtos agrícolas (ZHAO et al., 2014) entre outros. Ainda mais recente os dados de Erasmus et al. (2016) além de descreverem sobre a produção de carne de cordeiros na África do Sul, verificam que as razões isotópicas de carbono e nitrogênio, são extremamente úteis na identificação de dietas.

2.3 ISÓTOPOS ESTÁVEIS NA DISCRIMINAÇÃO DE DIETAS

Ludlow, Troughton, e Jones (1976) propuseram que as proporções de espécies de plantas na dieta dos animais fosse determinada considerando o processo fotossintético, onde ^{13}C oriundo do CO_2 atmosférico sofre discriminação isotópica em relação ao total de carbono, quando integrado aos tecidos das plantas C3 ou C4.

Anos após as primeiras análises isotópicas Piasentier et al. (2003) analisaram, além do isótopos ^{13}C , o ^{15}N e descreveram que os valores para o isótopo, sofre interferência em função do tipo de solo, pela presença de plantas leguminosas na dieta e ainda, por fatores metabólicos do animal. Os isótopos estáveis têm sido utilizados há décadas, na experimentação animal, porque os valores isotópicos determinados são diretamente relacionados com os elementos iguais assimilados, e não apenas aqueles ingeridos.

Fry et al., (1978) estudando a relação isotópica do conteúdo estomacal, de ruminantes, afirmaram que os isótopos estáveis refletem história alimentar, porque, são resultantes dos elementos acumulados via dieta, durante a vida.

Atualmente na busca por uma alimentação saudável ou até mesmo pelo rótulo de “carne à pasto”, a traçabilidade torna-se útil para identificar se os animais, foram alimentados exclusivamente com pastagens cultivadas (PRACHE, 2009) ou em confinamento, podendo diferenciar sistemas produtivos e certificar a origem da carne.

Quando a análise dos isótopos estáveis é aplicada em partes específicas do corpo, gera informação mais precisa de qual foi a fonte alimentar efetivamente incorporada ao tecido do animal ao longo do tempo (SPONHEIMER et al., 2003). Essa incorporação pode variar de acordo com o tecido analisado e seu *turnover* isotópico, ou seja, há velocidade de variação na concentração isotópica. Os estudos comprovam que a escolha da amostra, tecido ou órgão animal para autenticação de produtos influencia as conclusões sobre a dieta, pois amostras com rápido metabolismo, como as fezes, indicam dietas recentes, enquanto aqueles com taxa de substituição lenta, como a lã, indicam alimentos ingeridos anteriormente (DUCATTI et al., 2011).

A exemplo de identificação de dietas, Knobbe et al. (2006) estudaram as razões isotópicas de carbono e nitrogênio no leite e na urina de vacas sob diferentes regimes alimentares, e encontraram valores estáveis do $\delta^{13}\text{C}$ no leite e na urina 10 dias após o início da mudança de dieta consorciada entre C4/C3 para uma dieta exclusiva C3. O inverso, nas concentrações de ^{13}C após a mudança da alimentação C3 para o consorcio C4/C3, foram alcançados em 6 dias.

A análise isotópica de ^{13}C nas fezes mostrou ser uma ferramenta viável para estudos de composição da dieta de ovinos, pois refletiu de maneira fiel o alimento ingerido.

Perdigão (2017), ao estudar os isótopos de carbono e nitrogênio, verificou a diferenciação de sistemas alimentares (confinamento, semi-confinamento e pasto) com exatidão, através de análise de carne entre bovinos de uma mesma propriedade. Logo, a análise de isótopos estáveis para traçabilidade oferece suporte analítico e científico para o controle de qualidade, origem do produto e até vigilância de mercado, proporcionando a certificação do produto final (CHEN et al., 2017).

2.4 QUALIDADE DE CARNE

As exigências de mercado na busca por alimentos saudáveis e de responsabilidade ambiental, direcionam as pesquisas para o melhor entendimento da produção, devendo sempre priorizar e diferenciar o produto final. As características da carcaça são determinadas por fatores intrínsecos (idade, sexo, genética, peso ao nascimento e ao abate), fatores extrínsecos (alimentação e manejo) e fatores relacionados com a própria carcaça (peso, comprimento, conformação e acabamento) (MARTINS, 2017) e entre todos os fatores a alimentação novamente tem papel fundamental para monitorar a qualidade do produto final.

Em sistemas produtivos de carne é essencial levar em conta a idade, grupo genético, sexo e a alimentação, que pode causar efeito sobre o sabor, suculência, maciez, cor e gordura e da carne. Salienta-se sobre a coloração a diferença encontrada na carne e na gordura (RIPOLL; ALBERTÍ; JOY, 2012). Estas características serão determinantes na qualidade e aceitação, sobressaindo-se os aspectos organolépticos de sabor e de suculência (MACIEL et al., 2011).

Animais jovens, cordeiros, fornecem carne de melhor qualidade e maior eficiência de produção, devido à alta velocidade de crescimento, Pires, Silva e Sanchez (2000), desta foram, ocorre a distribuição das gorduras de cobertura, intermuscular e intramuscular, desenvolvimento do tecido muscular, maciez, cor e rendimentos.

Referente a alimentação, Gois et al. (2016) descreveram que os concentrados promovem aumento da suculência da carne de cordeiros e, como alteram a composição em ácidos graxos da gordura, permitem modificar o sabor e o odor. Já as pastagens possibilitam elevadas concentrações de vitamina A, vitamina E, altos níveis de ômega-3. A presença de vitamina E evita a oxidação e melhora os aspectos sensoriais da carne (GOIS et al., 2016; SALES et al., 2012). O perfil de ácidos graxos da carne de animais alimentados em pastagens apresenta maiores proporções de ácido linolênico (ômega-3) no seu metabolismo que animais confinados (FUNCK et al., 2006). Já animais que recebem grãos possuem maior concentração de ácido linoléico (ômega-6). Desta forma sugere-se que a relação dos ômegas (n-6)/(n-3) pode contribuir na diferenciação da carne de cordeiros em pasto e confinados (GOIS et al., 2016).

Para a valorização da carcaça, à sua porção comestível, que deve apresentar a máxima qualidade e quantidade, o conhecimento da composição das características da carcaça ovina, é de grande importância, pois visa a melhorar os aspectos dos cortes, facilitando a comercialização e proporcionando a satisfação ao consumidor (OSÓRIO et al., 2002).

Para avaliações da qualidade da carne, a análise instrumental faz-se importante, pois compreende itens qualitativos como a maciez, cor, marmoreio, força de cisalhamento e a capacidade de retenção de água, fatores que implicam diretamente na qualidade do produto, desta forma para Sañudo et al. (2000), o sistema de alimentação é responsável pelas características diretas da carne.

Já na análise sensorial define-se como medidas e interpretações das propriedades de um alimento, através das sensações percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gustação, tato e audição. A avaliação sensorial determina aceitabilidade ou rejeição de alimentos, para os quais a percepção de atributos como cor, aroma, aparência, sabor e textura são fatores decisivos para a compra do produto Pal, Sachdeva e Singh (1995).

O sabor da carne é um atributo sensorial de grande importância na aceitabilidade geral do produto. Conforme Pinheiro et al. (2006) o sabor do alimento corresponde ao conjunto de impressões olfativas e gustativas, provocadas no momento do consumo. Contudo o a alimentação fornecida aos animais determinará as respostas para a análise sensorial de determinando assim a carne de melhor aceitação para atender o mercado consumidor.

3 ARTIGO 1 – ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA A TRAÇABILIDADE DE DIETAS

ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA A TRAÇABILIDADE DE DIETAS

Resumo: Traçar o caminho percorrido para a produção de carne de qualidade e com a garantia de um sistema de produção sustentável, torna-se uma ferramenta bastante expressiva nos dias atuais. Objetiva-se identificar a dieta através da análise de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$), verificar sistemas produtivo, nas amostra de lã, sangue e fezes de cordeiros, e ainda identificar a amostra mais indicada para a traçabilidade. Foram utilizados 16 cordeiros lactentes, a partir do dia do nascimentos, distribuídos ao acaso em Pastagem de azevém - C3 e Confinamento com Feno de Tifton e milho – C4. O conjunto ovelha + cordeiro, permaneceram livres em pastagem. O conjunto de animais confinados, foram alojados em baias coletivas. A alimentação fornecida em confinamento aos cordeiros foi pelo sistemas creep-feding e para as ovelhas feno de tifton *ad libitum* e milho na proporção de 1,5% do peso vivo. As coletas de material ocorreu a cada 15 dias até a obtenção de 30 kg de PV. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo método dos modelos mistos, considerando o delineamento experimental inteiramente causalizado, em esquema fatorial. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$). Os resultados demonstraram que a lã, apresenta resposta lenta na metabolização, apresenta valores da mobilização de nutrientes da dieta da ovelha e a partir de 60 dias o reflexo da dieta, com traços da dieta inicial. O ^{15}N na lã apresenta-se elevado, com tecido enriquecido em ^{15}N resultante do aproveitamento metabólico de N no processo de formação tecidual. O sangue e as vezes apresentam o mesmo tempo, 30 dias de marcação isotópica, com tudo as fezes é a amostra mais fiel do valor isotópico da dieta e permite claramente a diferenciação das fontes alimentares em C3 e C4, com um alta velocidade de incorporação e trocas de ^{13}C e ^{15}N . O N no sangue, resultam em valores muito próximos entre as dietas porém ressalta-se a importância sobre os estudos em relação a atividade metabólica do animal. Assim a análise de isótopos estáveis de C e N é uma ferramenta eficaz na traçabilidade de dietas.

Palavras-chave: Assinatura isotópica. Ovinos. Carbono. Nitrogênio.

STABLE ISOTOPES FOR THE TRACEABILITY OF DIETS

Abstract: Charting the road to quality meat production and the guarantee of a sustainable production system becomes a very significant tool these days. The objective of this study was to identify the diet through the analysis of stable isotopes of carbon ($\delta^{13}\text{C}$), nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$), to verify productive systems in the samples of wool, blood and faeces of lambs, and to identify the best sample for traceability. Sixteen lambs were used, from the day of birth, randomly distributed in ryegrass pasture - C3 and confinement with Tifton hay and corn - C4. The set sheep + lamb, remained free on pasture. The set of confined animals were housed in collective pens. Feed fed to lambs was by creep-feding systems and for the sheep hay of tifton *ad libitum* and maize at the ratio of 1.5% of live weight. The material collections occurred every 15 days until obtaining 30 kg of PV. The data were submitted to analysis of variance by the mixed models method, considering the completely causalized experimental design, in a factorial scheme. The averages were compared by the Tukey-Kramer test ($P < 0.05$). The results showed that wool presents a slow response in the metabolization, presents nutrient mobilization values from the sheep diet and from 60 days the diet reflex, with traces of the initial diet. ^{15}N in wool is high, with tissue enriched in ^{15}N resulting from the metabolic use of N in the tissue formation

process. The blood and sometimes the same time, 30 days of isotopic labeling, with all faeces is the most accurate sample of the isotopic value of the diet and clearly allows the differentiation of food sources in C3 and C4, with a high speed of incorporation and exchanges of ^{13}C and ^{15}N . The N in the blood, results in values very close between the diets, but the importance of the studies in relation to the metabolic activity of the animal is emphasized. Thus the stable isotope analysis of C and N is an effective tool in the traceability of diets.

Keywords: Isotopic Signature. Sheep. Carbon. Nitrogen.

1 Introdução

Traçar precisamente o caminho percorrido para a produção de carne de qualidade e com a garantia de um sistema de produção sustentável, torna-se uma ferramenta necessária nos dias atuais, afim de garantir a origem do produto final e atender as exigências de consumidores preocupado, com a saúde e o meio ambiente.

Entre as possíveis análises para traçabilidade de um produto, a espectrometria de massa de razão isotópica (CAMIN et al., 2017) pode proporcionar uma fonte de informações acerca de processos que acontecem ao longo da vida do animal.

Abrindo novas perspectivas para o estudo do metabolismo do carbono na experimentação animal, Ducatti (2002) descreve sobre a diferença entre fontes alimentares da ordem de 14‰, originárias de plantas com ciclos fotossintéticos distintos pra a detecção de dietas, através do ^{13}C fixados conforme as rotas metabólicas de C3 e C4, assim como a presença do ^{15}N , de 0 a 10‰ via fixação biológica das leguminosas ou condições do solo. Desta forma, os estudos de Factori (2014) analisam a adubação dos pastos, para identificação dos sistemas produtivos pelo isótopo de nitrogênio e Lima (2018) rastreando os sistemas produtivos, refere-se a inclusão da cama de aviário na dieta de bovinos e determina o tecido mais indicada na rastreabilidade desse resíduo, este que tem seu uso proibido pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento).

Ainda são poucas as pesquisas nacionais sobre o emprego da análise dos Isótopos Estáveis com foco na nutrição e produção de ruminantes, portanto seria importante ter um sistema que permitisse identificar como o animal foi produzido, especialmente quando trata-se da alimentação, assim constituindo em avanço para a rastreabilidade nacional e que atenda todas as espécies. Atualmente contamos apenas com o SISBOVI (Sistema de Identificação e Certificação de Origem), que registra e identifica o rebanho bovino e bubalino do território nacional, apenas via registros físicos.

A análise dos Isótopos Estáveis torna-se uma ferramenta de autenticidade dos alimentos, possibilitando a investigação de fontes alimentares isotopicamente distintas (DENIRO; EPSTEIN, 1978). Com resultados promissores de certificação dos produtos tanto de origem animal e vegetal, assim poderemos atender demandas internacionais, que primam pela excelência de qualidade.

O objetivo do presente estudo foi identificar a amostra mais indicada para a traçabilidade a partir da identificação da dieta e a verificação do sistemas produtivo através da análise de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) nas fezes, lã e sangue de cordeiros.

2 Material e métodos

2.1 Local e Época experimental

Este estudo foi conduzido conforme as normas do comitê de ética para uso de animais em experimentação da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) sob o protocolo CEUA nº 7118230616.

A fase experimental foi realizada no Laboratório de Ovinocultura, do Departamento de Zootecnia, CCR-UFSM, no período de agosto a dezembro de 2015.

2.2 Animais e manejo alimentar

Foram utilizados neste estudo 16 cordeiros, lactentes (conjunto ovelha + cordeiros), a partir do dia do nascimentos, oriundo de ovelhas que estavam em pastagem de Azevém, no terço final de gestação, e distribuídos ao acaso em dois sistemas produtivos, C3-PA animais com oferta *ad libitum* de forrageira C3 (azevém), mantidos livres na pastagem. C4-FTM animais com oferta *ad libitum* de forrageira C4 (Feno de Tifton + milho grão), mantidos em baias coletivas providas de comedouros e bebedouros. Neste grupo, os cordeiros, foram manejados no sistema *creep-feeding* e as ovelhas receberam 1,5% do peso vivo em milho grão.

A pastagem de azevém foi implementada nos meses março/abril, três meses antes do período experimental, feno de tifton e o milho foram adquiridos do comércio local. Os cordeiros se mantiveram com as mães até a obtenção dos 30 kg de peso vivo e momento do abate.

2.3 Coletas e preparação de amostras

No dia do nascimento (dia 0), foram coletadas amostras de lã e sangue dos animais. As amostras de lã foram coletadas com tesoura em uma área de 10x10 cm² da região lombar, próximas da pele, afim de evitar ferimentos. Imediatamente após a coleta, a lã foi acondicionada em sacos plásticos identificados, para posterior secagem em estufa e moagem e preparo em capsulas de estanho para a análise isotópica.

Para a obtenção do sangue, os animal foi contido, sendo coletados 10 ml da veia jugular, acondicionados em vacuteiner e congelados em freezer a -10°C, até o momento das análises, onde as amostras foram liofilizadas e preparadas em capsulas de estanho.

As coletas de fezes iniciaram-se aos 30 dias de vida, os animais foram contidos e coletados diretamente da ampola retal, afim de evitar contaminações com o meio externo. O material foi mantido em sacos plásticos devidamente identificados e acondicionados em refrigeração até o momento de preparação das amostras, secagem em estufa a 65°C por 24 horas, moagem e pesadas em capsulas de estanho. Todas as amostras foram coletada nos intervalos de 15 dias, até o momento de abate dos animais, com 30 kg de peso vivo.

2.4 Análises bromatológicas e isotópicas

Análise bromatológica dos alimentos, foi realizada para a identificação dos nutrientes ofertados na dieta. A determinação teores de Matéria parcialmente seca (MPS), realizada a 65°C por 12 horas, após foi determinada a Matéria Seca (MS) realizada através de secagem dos alimentos em estufa a 105°C durante 12 horas e o conteúdo de matéria mineral (MM) determinado pela combustão a 600°C durante 4 horas (AOAC, 1995). A proteína bruta (PB) avaliada pelo método Kjeldhal (AOAC, 1995). A determinação dos teores de extrato etéreo (EE) realizado de acordo com Silva e Queiroz (2002). Para determinação da concentração da fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram acondicionadas em saquinhos de poliéster (KOMAREK, 1993) sob solução de detergente neutro em autoclave a 110°C por 40 minutos (SENGER et al., 2008), para as amostras de concentrados foi incluída a α -amilase (MERTENS, 2002). As concentrações de fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com AOAC (1997). A determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi realizada pelo método de Tylley e Terry (1963).

As amostras de azevém, feno de tifton, e milho, foram secas em estufa de ventilação forçada a 56°C por período de 48 horas, foram moídas para obter partículas com granulometria

menor que 60 μm (DUCATTI, 2004). Após moagem, foram pesadas entre 50-60 μg das amostras para análise de carbono e 500-600 μg para nitrogênio e acondicionadas em cápsulas de estanho para análise isotópica.

Tabela 1 – Composição bromatológica e isotópica das dietas

ITEM (%)	PASTAGEM DE AZEVÉM	FENO DE TIFTON	GRÃO DE MILHO
MS	19,67	88,86	88,93
PB	18,91	9,12	8,99
EE	3,54	1,53	4,51
MM	9,81	7,51	1,29
FB	27,50	34,65	2,42
FDN	51,91	77,56	11,16
FDA	25,89	46,04	3,37
NDT	64,63	57,62	83,18
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-28,568	-13,268	-11,377
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	6,797	1,831	2,736

*MS= Matéria Seca; PB= Proteína Bruta; EE= Extrato Etéreo; MM= Matéria Mineral; FB= Fibra Bruta; FDN= Fibra em detergente neutro; FDA= Fibra em detergente ácido; NDT= Nutrientes digestíveis totais; $\delta^{13}\text{C}$ (‰) = Carbono 13, expresso em per mil; $\delta^{15}\text{N}$ (‰) = Nitrogênio 15, expresso em per mil.

Para as análises isotópicas, todas as amostras de lã, sangue e fezes, após moagem, foram pesadas entre 50-60 μg para análise de carbono e 500-600 μg para nitrogênio e acondicionadas em cápsulas de estanho para análise no espectrômetro de massas de razão isotópica, realizadas no laboratório de biotransformações de carbono e nitrogênio (LABCEN) da UFSM.

Para determinação da composição isotópica das amostras foi utilizado o espectrômetro de massas DELTA-S (Finnigan Mat) acoplado ao Analisador Elementar EA 1108 CHN.

Os resultados foram expressos em notação $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em relação ao padrão *Peedee Belemnite* (PDB) e ar atmosférico, com erro de análise da ordem de 0,2‰ e calculado pela equação:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{amostra, padrão}) = [(\text{Ramostra}/\text{Rpadrão}) - 1] \times 10^3$$

onde:

$\delta^{13}\text{C}$ = enriquecimento relativo da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação ao padrão PDB.

R = razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e do padrão.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo método dos modelos mistos, considerando o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial,

com oito tratamentos (dois sistemas produtivos, determinados pelo C3-Pastagem de azevém e C4-Confinamento feno de tifton e milho, com 4 intervalos de coleta de dados) com 8 repetições, representado pelos animais, para as amostras de fezes e lã. Para as amostras de sangue um esquema fatorial, com 12 tratamentos (dois sistemas alimentares com 6 intervalos de coleta de dados) com 8 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

3 Resultados e discussão

Os resultados serão apresentados e discutidos separadamente por cada amostra analisada quanto ao $\delta^{13}\text{C}$ e ao $\delta^{15}\text{N}$ para a traçabilidade da dieta, assim como suas significância quanto a dieta, o intervalo entre coletas e sua interação estatística.

3.1 Carbono na lã

A escolha do tecido lã, tem por objetivo buscar a traçabilidade desde a origem, e é observado que a resposta na lã é de lenta metabolização. As pesquisas normalmente buscam tecidos com rápida taxa de troca de C para a identificação e alterações nas trocas de dietas. A lã, pode ser um traçador de dietas por ^{13}C ao longo da vida, pois mesmo a dieta atual identificada, o $\delta^{13}\text{C}$ apresenta uma tendência para o empobrecimento de carbono, sinalizando que houve trocas de alimentos entre as classificações C3 e C4.

O *turnover* de ^{13}C nas amostras de lã apresentam-se na tabela 2, com enriquecimento de $\delta^{13}\text{C}$ para os cordeiros da dieta C4 e empobrecimento relativo aos animais da dieta C3. Verificando-se a diferença ($P < 0,0001$) entre as dietas através da lã.

O valor de $\delta^{13}\text{C}$ nas amostras e nos tecidos dos animais é influenciado principalmente pela proporção de alimentos das plantas C3 e C4 (James et al., 2003). Além da influência direta da alimentação na traçabilidade da dieta, as amostras de lã indicam a taxa de substituição lenta para alimentos ingeridos.

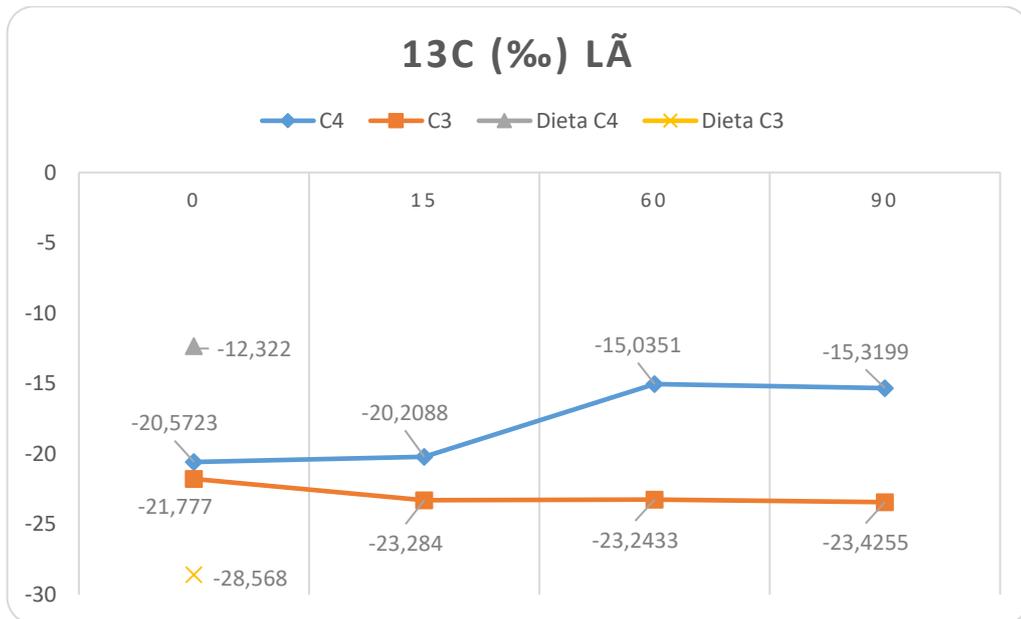
Tabela 2 – Médias e valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de lã dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas

$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Tratamentos			<i>P</i> < <i>F</i>	
	Pastagem Azevém C3	Confinamento Tifton+Milho C4	Sistema Alimentar	Coletas	Sistema x Coletas
<i>0</i>	-21,77±1,15 ^b	-20,57±1,05 ^b	<,0001	0,0171	0,0012
<i>15</i>	-23,28±0,91 ^b	-20,20±0,91 ^b			
<i>60</i>	-23,24±0,91 ^b	-15,03±0,91 ^a			
<i>90</i>	-23,42±0,91 ^b	-15,31±0,91 ^a			
Média	-22,93±0,48	-17,78±0,47			

*0= dia do nascimento; 15 dias de vida; 60 dias e 90 dias. Letras diferentes na mesma linha e coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey-Kramer a 5% na interação entre sistema alimentar e intervalos de coletas.

O tempo 0, caracteriza um marco na incorporação da deita no período experimental, definindo o dia do nascimento e o seu comportamento até o momento de abate, podendo traçar a dieta inicial da vida dos cordeiros. Na figura 1 são ilustrados os valores de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras coletadas no dia 0, onde observa-se que o valor encontrado na lã entre os cordeiros das duas dietas não diferem. Estes resultados demonstram que as mobilizações de nutrientes da ovelha é passado ao cordeiro, conforme for a dieta da matriz, assim como acontece até ao 15º dia de vida, os cordeiros ingerem apenas o leite materno, sendo a única e mais importante fonte alimentar. O leite materno reflete a alimentação das ovelhas (matrizes), alimentadas com dieta C3, (pastagem de azevém) nos últimos 45 dias de gestação.

Figura 1 – Dispersão dos valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de lã dos animais em diferentes intervalos de coletas



A distribuição do conjunto ovelha + cordeiro se deu a partir do dia 0 (nascimento) onde aleatoriamente, alguns animais (n=8) permaneceram na dieta C3 e as demais (n=8) distribuídos para o tratamento C4 (confinamento) sendo os cordeiros o objeto de pesquisa. O valor do $\delta^{13}\text{C}$ na lã dos cordeiros em dieta C3 mantém-se inalterado estatisticamente independente dos intervalos de coletas, não havendo variação significativa entre os tempos de coleta, demonstrando *turnover* de $\delta^{13}\text{C}$ estável no tecido.

Na dieta C4 não observou-se variação significativa até os 15 dias de vida, começando a refletir a dieta C4 nos cordeiros a partir dos 60 dias, passando assim a aproximar-se o valor isotópico do ^{13}C da amostra com a dieta até o final. Verifica-se também que o valor médio do $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de lã da dieta C4, mantém-se empobrecido em relação ao valor médio das fezes, demonstrando que a lã reflete o sinal da dieta inicial, sinalizando que a dieta anterior, permanece por mais tempo no tecido.

Pode-se dizer que a lã é um ótimo tecido para a identificação de dietas a longo prazo, ou dietas fornecidas no início da vida. Sun et al., (2016) detectaram na lã de cordeiros as variações entre dietas C3, C4 e suas misturas, descrevendo que estes resultados mostraram que o valor de $\delta^{13}\text{C}$ dos tecidos de cordeiro reflete o regime de alimentação do animal, entre pastagens e confinamentos. Concluindo-se que a observação da troca alimentar através da lã é observada com 60 dias da nova dieta.

3.2 Nitrogênio na lã

Os resultados demonstram que o $\delta^{15}\text{N}$ encontrado entre as dietas e o tempo de coleta não diferem significativamente entre as amostras de lã (Tabela 3).

Não foram observadas variações no *turnover* de $\delta^{15}\text{N}$ entre coletas, e ao longo do tempo. Sabe-se que o enriquecimento de $\delta^{15}\text{N}$ no tecido animal é dependente da eficiência dos animais em assimilar o nitrogênio dietético. Quanto mais próximos estão os valores de $\delta^{15}\text{N}$ do tecido animal à dieta, maior a eficiência de assimilação (CANTALAPIEDRA-HIJAR et al., 2015). A ação microbiana ruminal deve ser mais discriminativa na assimilação de ^{15}N , o que também pode ocorrer no metabolismo animal. Esse fato demonstra que o metabolismo animal influi decisivamente na “assinatura” do N, que “perde” sua eficiência discriminatória.

Porém, quando analisado na lã, independente do metabolismo ruminal, este comportamento não se comprova, apresentando valores mais elevados em relação a dieta. Acredita-se que o enriquecido em ^{15}N na lã é resultante do aproveitamento metabólico de N no processo de formação tecidual.

Tabela 3 – Médias e valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de lã dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas

$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Tratamentos			<i>P</i> < <i>F</i>	
	Pastagem	Confinamento	Sistema Alimentar	Coletas	Sistema x Coletas
Coletas (dias)	Azevém C3	Tifton+Milho C4			
0	10,68±1,21 ^a	10,03±1,10 ^a	0,0526	0,0526	0,5982
15	12,85±0,95 ^a	9,70±0,95 ^a			
60	10,68±0,95 ^a	9,42±0,95 ^a			
90	10,58±0,95 ^a	9,59±0,95 ^a			
Média	11,20±0,51	9,68±0,95			

Letras diferentes na mesma linha e coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey-Kramer a 5% na interação entre sistema alimentar e intervalos de coletas.

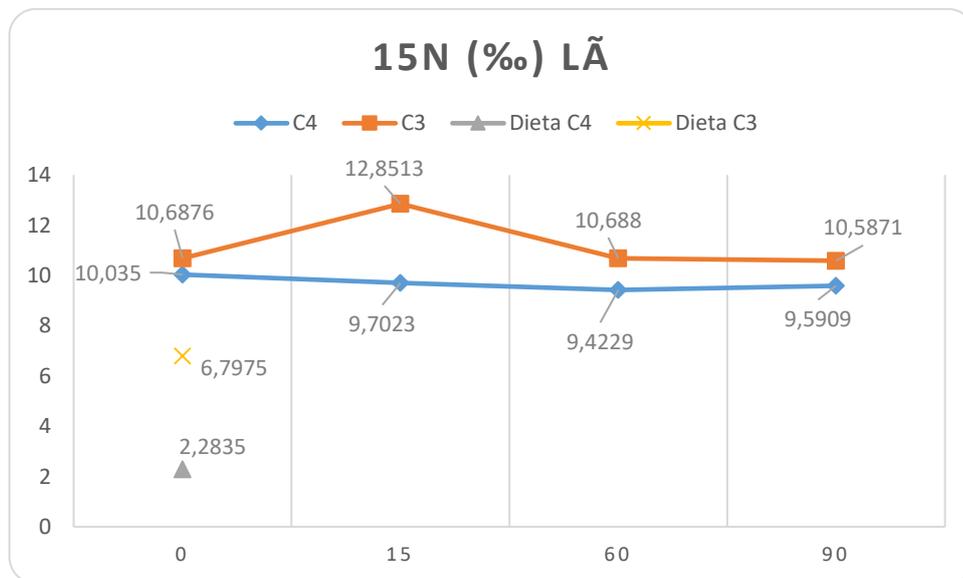
No entanto, os fatores que influenciam a assimilação na lã ainda não são bem elucidados na literatura. Pois foram encontrados valores elevados nas amostras dos animais confinados, o que se distanciou do valor apresentado na dieta. E neste caso, não houve variações para a interação ente sistemas e intervalos de coleta.

Na figura 2 são ilustrados os valores para $\delta^{15}\text{N}$ (‰) no tecido lã, porém devido à complexidade das vias metabólicas que lhe deram origem, variações nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ não

podem ser interpretados isoladamente. A lã apresenta um comportamento inverso a resposta apresentada pelas fezes.

Desta forma sabe-se que o fluxo do nitrogênio no rúmen é grandemente afetado pela composição da dieta e nível de consumo. Mas, é visto que a abundância natural do $\delta^{15}\text{N}$ em proteínas animais é maior do que na dieta consumida e em relação ao N^2 atmosférico. (DENIRO; EPSTEIN, 1981).

Figura 2 – Dispersão dos valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de lã dos animais em diferentes intervalos de coletas



3.3 Carbono no sangue

Os valores médios da razão isotópica para $\delta^{13}\text{C}$ no sangue apresentam diferenças significativas entre os animais recebendo dietas C3 e C4 (Tabela 4).

Ao observar os intervalos de coletas, não encontramos variações significativas no período de 90 dias para as amostras de sangue dos cordeiros em dieta C3 (pastagem de azevém). As variações encontradas são apenas para os animais em dieta C4, compreende os intervalos de coleta de 15 dias de vida e em 30 dias, a partir dos 30 dias há estabilidade nos valores de ^{13}C .

A formação das células sanguíneas é dependente da manipulação da dieta. Inúmeros estudos demonstraram que diferenças na formação, função e resultados através das células sanguíneas podem ser indicativos da alimentação, além de tudo as avaliações nas células sanguíneas devem estar num período de até 120 dias, pois é o seu tempo de vida útil. (DUKES, 2006).

As interações entre dietas e intervalo de coletas, no entanto é dependente dos componentes alimentares principalmente, as amostras de sangue apresentam a composição isotópica do que foi assimilados no organismo e não apenas do que é ingerido, apresentando uma assinatura isotópica existente no sangue pelo carbono dietético recém-assimilado. Portanto, quando comparados às fezes, o sangue apresentou o mesmo tempo, 30 dias, para a verificação da alimentação fornecida, e mais rapidamente quando comparados a lã (60 dias).

Tabela 4 – Médias e valores do $\delta^{13}C$ (‰) nas amostras de sangue dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas

$\delta^{13}C$ (‰)	Tratamentos		Sistema Alimentar	P<F	
	Pastagem	Confinamento		Coletas	Sistema x Coletas
Coletas (dias)	Azevém C3	Tifton+Milho C4			
0	-21,44±1,37 ^{bc}	-21,28±0,97 ^{bc}	<.0001	0,0023	<.0001
15	-23,53±0,84 ^c	-19,32±0,84 ^b			
30	-24,87±0,84 ^c	-13,46±0,84 ^a			
60	-23,86±0,84 ^c	-12,55±0,84 ^a			
70	-23,67±1,37 ^{bc}	-13,13±0,97 ^a			
90	-25,88±2,37 ^c	-11,48±1,68 ^a			
Média	-23,88±0,56	-15,20±0,43			

Letras diferentes na mesma linha e coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey-Kramer a 5% na interação entre sistema alimentar e intervalos de coletas.

As coletas determinadas com tempo 0, dia do nascimento, serve como um marco no início da vida, para análise do valor isotópico inicial de cada animal. Até o momento do nascimento, a placenta assegura uma ótima nutrição para o desenvolvimento fetal (GUDMUNDSSON; DUBIEL; SLADKEVICIUS, 2009; RIQUELME, 2009). Isto envolve a transmissão de nutrientes, gases e água para o feto (BRÓLIO et al.; 2010). Portanto inicialmente, não há distinção da dieta, as matrizes permaneceram em alimentação C3 durante a fase final de gestação. Assim reflete a alimentação das ovelhas no sangue coletados dos cordeiros.

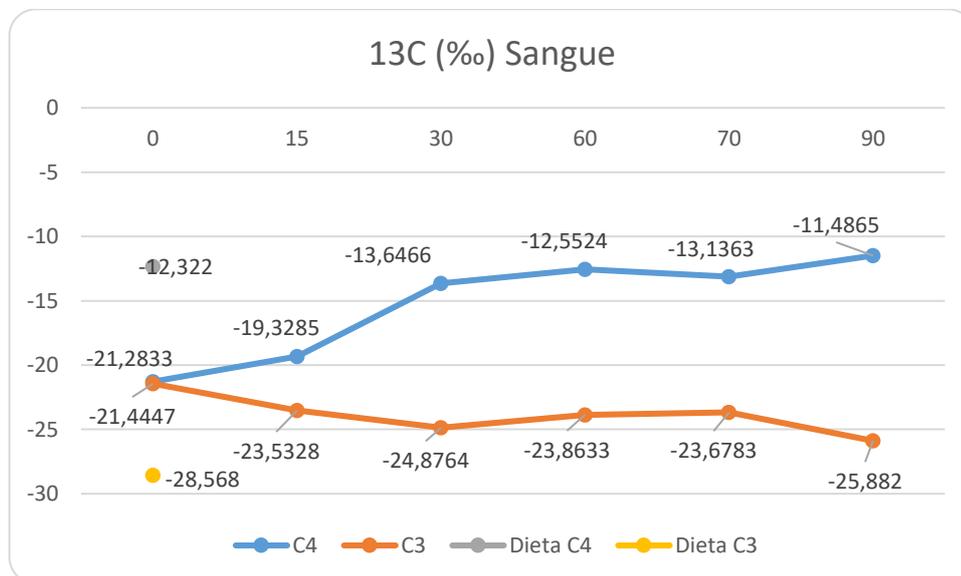
A alimentação inicial dos cordeiros do confinamento, dieta C4, foi apenas o leite materno, por aproximadamente 15 a 20 dias e como já citado, as ovelhas estiveram em pastagem de azevém, dieta C3, logo é refletido nas amostras de sangue, nos primeiros 15 dias o valor isotópico do carbono 13, com reflexo da dieta C3. Desta forma, ocorre o enriquecimento de carbono somente a partir dos 30 dias e assim diferencia-se as dietas dos animais. Para os cordeiros e ovelhas que permaneceram sempre na pastagem C3 os resultados observados foram constantes e iguais isotopicamente, desde a primeira até a última coleta.

Distinções de sistemas alimentares foram verificadas por Vieira Júnior (2013) que diferenciou sistemas de produção de bovinos de corte pela técnica da análise dos isótopos estáveis. Animais provenientes de confinamento, pasto foram diferenciados pela diferença isotópica do $\delta^{13}\text{C}$ no sangue.

As coletados de sangue no início da fase experimental, 15 dias, nos diz que os cordeiros, estavam dependentes do leite materno. Como já citado, ao nascer o conjunto cordeiro + ovelha foram distribuídos em C3 e C4, porém o reflexo no sangue ainda é de origem alimentar C3, oriundo das ovelhas, sendo a dieta assimilada no seu metabolismo, e agora transferido via leite aos cordeiros. Com isto, podemos observar que como 15 dias a nova dieta, C4, para as ovelhas ainda não apresenta marcação isotópica C4, pois ainda não refletiu no sangue dos cordeiros (Figura 3).

Pode-se dizer que os valores finais próximos aos valores isotópicos da dieta e que a mudança nos valores do $\delta^{13}\text{C}$ no sangue ao longo do tempo ocorre gradativamente, enquanto que a mudança nos valores do $\delta^{13}\text{C}$ nas fezes ocorreu rapidamente, pelas questões já mencionadas de metabolização.

Figura 3 – Dispersão dos valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de sangue dos animais em diferentes intervalos de coletas



A amamentação aliada ao pastejo de forrageiras de alta qualidade garante o desenvolvimento dos cordeiros, pois as ovelhas produzem um leite de boa qualidade, apresentam-se altamente produtivas no pico de lactação, suprindo as exigências dos cordeiros, assim os condiciona ao consumo mais tardio (a partir dos 40-45 dias). Já cordeiros confinados sem acesso à pastagem procuram por alimentos sólidos mais precocemente (a partir de 30-35

dias de vida), pois nessas condições exigem mais do que a produção de leite das ovelhas e sentem a necessidade de buscar alimentos (SILVA et al., 2010).

Nesta pesquisa observa-se que a partir da coleta aos 30 dias já é possível a diferenciação total da dieta, pois o *turnover* de ^{13}C encontrado no sangue dos cordeiros, representa o *turnover* de ^{13}C da dieta de cada sistema.

A partir da coleta de 60 dias nota-se igualdade estatística nos valores de ^{13}C no sangue. Porém sabe-se que os animais da dieta C4, não atingirão os valor isotópico exato da dieta, havendo a marcação da dieta inicial, e pelo fato de que e no sangue ocorre a total metabolização de nutrientes, provindos do leite materno, das ovelhas que estiveram na dieta C3.

3.4 Nitrogênio no sangue

De forma geral, os principais fatores responsáveis pelo ^{15}N e suas variações, bem como a integração do sistema ^{15}N no sangue, ainda são mal compreendidos. Isso ressalta questões importantes sobre quais processos metabólicos estão realmente ligados, como ocorre as diferenças do ^{15}N entre os tecidos, quais as relações existentes entre as variações nos fluxos metabólicos e os valores reais do ^{15}N (MARTINEZ DEL RIO, 2005, 2009), através da complexidade das vias metabólicas.

A diferenciação isotópicas no sangue pelo ^{15}N começa a partir dos 60 dias na alimentação C4, porém o comportamento visto no sangue é semelhante ao ocorrido na lã, e totalmente contrário ao observado nas fezes, apresentando valores de ^{15}N muito distantes dos valores da dieta, para as plantas C4. Devido as vias metabólicas das forrageira em relação ao nitrogênio e logo sua fixação nas amostras de sangue.

Os resultados apresentam variações nos valores de ^{15}N entre as dietas, pois o sangue e a lã são resultantes de processos fermentativos, digestivos, absorptivos e metabólicos, onde ocorrem “seleções” elementares para a formação das moléculas orgânicas. Já para as amostras dos animais em dieta C3, os valores encontrado sugerem a assinatura isotópicas das pastagem, como ocorre normalmente e se mantes isotopicamente iguais, independente dos intervalos de coletas.

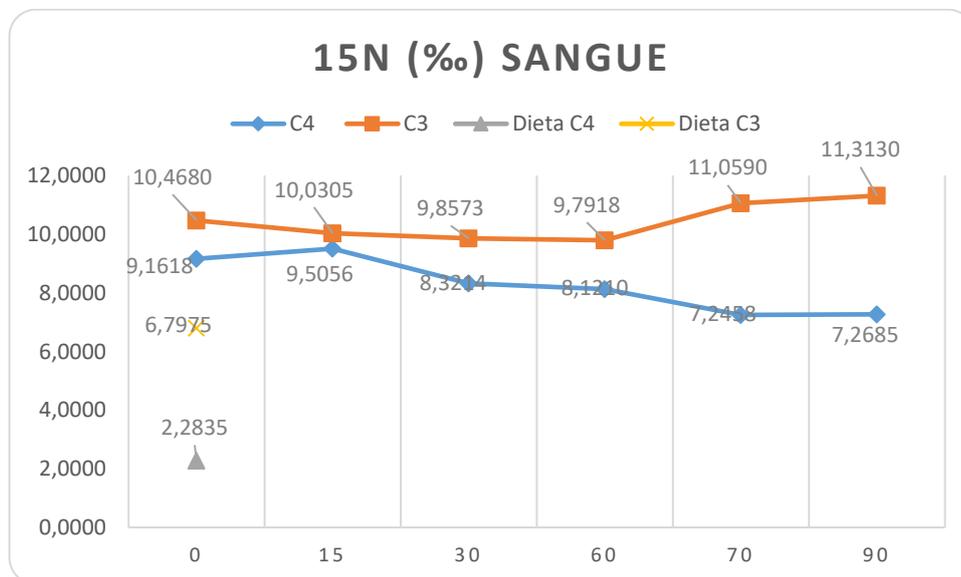
Tabela 5 – Médias e valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de sangue dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas

$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Tratamentos		Sistema Alimentar	$P < F$	Sistema x Coletas
	Pastagem	Confinamento			
Coletas (dias)	Azevém C3	Tifton+Milho C4		Coletas	
0	10,46±0,45 ^a	9,16±0,32 ^{abc}	<,0001	0,0358	0,0003
15	10,03±0,28 ^a	9,50±0,28 ^{ab}			
30	9,85±0,28 ^a	8,32±0,28 ^{bc}			
60	9,79±0,28 ^a	8,12±0,28 ^c			
70	11,05±0,45 ^a	7,24±0,32 ^c			
90	11,31±0,79 ^a	7,26±0,56 ^c			
Média	10,41±0,18	8,27±0,14			

Letras diferentes na mesma linha e coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey-Kramer a 5% na interação entre sistema alimentar e intervalos de coletas.

Na Figura 4 estão expressos os valores do comportamento do ^{15}N nas amostras de sangue, que apresentam sinal isotópico referente a metabolização do N para formação tecidual e portanto distintos do valor encontrado pela dieta.

Figura 4 – Dispersão dos valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de sangue dos animais em diferentes intervalos de coletas



3.5 Carbono nas fezes

Verifica-se o enriquecimento de $\delta^{13}\text{C}$ nas fezes dos cordeiros alimentados com forrageiras de ciclo C4 e conseqüentemente o empobrecimento de $\delta^{13}\text{C}$ nas fezes dos animais

alimentados com plantas C3 (Tabela 8), devido a fixação natural do carbono via ciclo fotossintético das espécies forrageiras. Observando-se a diferenças entre as dietas ($P < 0,0001$).

A diferenciação significativa entre as coletas demonstra que os cordeiros em dieta C4, ocorre apenas entre a coleta dos 30 dias de vida para 60 dias, não havendo diferenciações para as demais coletas, o que é esperado, pois não houve troca de alimentos.

Assim, neste estudo em 30 dias, foi observado que os cordeiros avaliados, pertencentes da dieta C4, já apresentam a definição do alimento C4, com 60 dias, apresentam as fezes com valor isotópico cada vez mais próximo da razão isotópica da dieta ($\pm \delta 12,32\%$) e permanecem com os valores isotópicos constantes, porém distintos da dieta C3.

Os resultados demonstram que a concentração isotópica das dietas reflete-se claramente sobre a concentração dos elementos isotópicos excretados, independente da fase de vida do animal.

Na coleta dos 30 dias de vida, observa-se o reflexo do perfil isotópicos do aleitamento, uma vez que as matrizes eram mantidas em pastagem C3 antes da parição.

Com certeza, nas fezes o enriquecimento do $\delta^{13}\text{C}$ é alterada facilmente, pois permite a troca de carbonos no corpo de forma mais rápida, pois não há metabolização, só é excretada parte da dieta consumida. Conforme foi o consumo da dieta C4, as fezes dos cordeiros começam a apresentar-se mais enriquecidas de $\delta^{13}\text{C}$, até atingirem estabilidade próximas ao valor da dieta.

Podemos dizer que ao analisar as fezes, em 30 dias após uma determinada alimentação, é um tempo considerado grande, devendo ser analisada as amostras de fezes com menores intervalos de coletas, para ser perceptível o exato dia da troca de alimentos. Segundo Martins et al. (2012), o tempo de observação de trocas de carbono pelas fezes é bem menor, pois observaram que o tempo de substituição do $\delta^{13}\text{C}$ das fezes de ovinos de 1,2 dias e 1 dia para as dietas C3 e C4, respectivamente. Esse valor reflete a rapidez com que as fezes refletem a nova dieta, fato este associado a taxa de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal.

Conforme a literatura consultada Ducatti et al., (2011) que descrevem os valores isotópicos do $\delta^{13}\text{C}$ em que as plantas do ciclo fotossintético C3 devem apresentar um valor médio do enriquecimento isotópico relativo do carbono-13 de $\delta^{13}\text{C} = -28\%$ (-22 a -34 ‰), e as plantas do ciclo fotossintético C4 com valor médio de $\delta^{13}\text{C} = -12\%$ (-9 e -16 ‰), estes dados confirmam os valores encontrados no presente estudo na dieta e nos resultados encontrados nas fezes, $\delta^{13}\text{C} = -28,56$ para dieta C3 e $\delta^{13}\text{C} = -12,32$ para C4. Assim como a médias das fezes dos animais da dieta C3 foi de $\delta^{13}\text{C} = -27,71$ e $\delta^{13}\text{C} = -12,52$ para fezes da dieta C4.

Os cordeiros em pastagem de azevém, dieta C3, mantem-se estabilizados quanto a razão isotópica do carbono nas fezes, independe do intervalo, estes não sofreram alterações na dieta consumida durante a fase experimental.

Tabela 6 – Médias e valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de fezes dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas

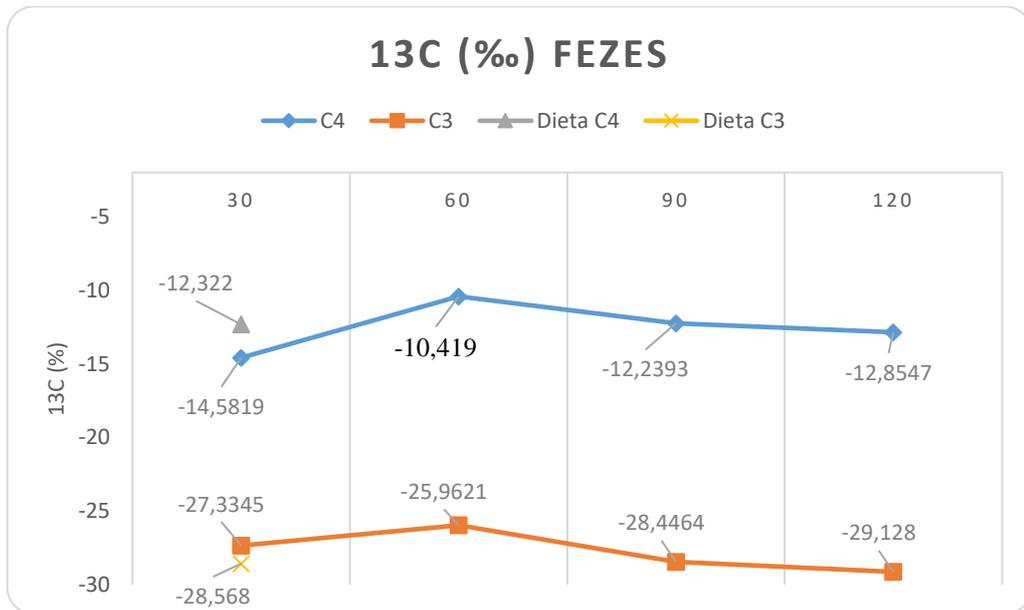
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Tratamentos			<i>P</i> < <i>F</i>	
	Pastagem	Confinamento	Sistema alimentar	Coletas	Sistema x Coletas
Coletas (dias)	Azevém C3	Tifton+Milho C4			
30	-27,33±0,66 ^c	-14,58±0,66 ^b	<,0001	0,0006	0,0507
60	-25,96±0,66 ^c	-10,42±0,66 ^a			
90	-28,44±0,70 ^c	-12,24±0,70 ^{ab}			
120	-29,13±0,93 ^c	-12,85±0,76 ^{ab}			
Média	-27,71±0,37	-12,52±0,35			

Letras diferentes na mesma linha e coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey-Kramer a 5% na interação entre sistema alimentar e intervalos de coletas.

As amostras com variações entre 0,2 a 3 unidades (‰) distantes do valor isotópico da dieta ficam explicadas por possível descamação de células do intestino, com valores de $\delta^{13}\text{C}$ inferiores. Jones, Ludlow e Troughton (1979), trabalhando com ovinos, encontraram valores de ‰ $\delta^{13}\text{C}$ das fezes dos animais mais negativos em relação aos alimentos, correspondentes em 0,4 a 2,0 unidades.

As fezes são indicativos imediatos de os alimentos consumidos, que apesar da alta sensibilidade detectiva, reflete apenas as alterações dietéticas de curto prazo, conforme a ilustração da figura 5. Por este motivo, não devem ser usadas para fins decisivos de traçabilidade do animal.

Figura 5 – Dispersão dos valores do $\delta^{13}\text{C}$ (‰) nas amostras de fezes dos animais em diferentes intervalos de coletas



3.6 Nitrogênio nas fezes

O valor isotópico do $\delta^{15}\text{N}$ tem influência dos compostos nitrogenados presentes no solo e da capacidade absorptiva das plantas fixarem o nitrogênio do ar atmosférico. Na maioria das leguminosas, o valor de $\delta^{15}\text{N}$ varia ao redor de uma unidade próximo ao padrão ($^{15}\text{N} = 0,0 \pm 1,0\%$). Nas plantas que não conseguem fixar o nitrogênio atmosférico a concentração de ^{15}N é dependente da abundância isotópica do solo e da variação causada pela adubação química, sendo o valor do $\delta^{15}\text{N}$ ao redor de 10‰ (SHIBUYA et al., 2006; WERNER; SCHIMIDT, 2002).

Os valores encontrados de $\delta^{15}\text{N}$ na dieta pastagem de azevém, C3 (tabela 8), caracteriza a dieta por gramíneas, evidenciada pelo valor médio de 9,03‰ de $\delta^{15}\text{N}$.

A dieta do confinamento de tifton + milho (C4) apresenta-se empobrecida de $\delta^{15}\text{N}$, (valor médio de 4,77‰), o milho, apresenta um comportamento semelhante as forrageiras leguminosas, que realizam a fixação biológica de nitrogênio, pela adição de bactérias capazes de captar o nitrogênio da atmosfera e transformá-lo em nitrogênio assimilável pelas plantas, a chamada *Azospirillum brasilense* (FUKAMI et al., 2016), dispensando, a adubação nitrogenada. Neste contexto a presença do isótopo $\delta^{15}\text{N}$ em confinamento é empobrecida, mais próximo ao padrão ($^{15}\text{N} = 0,0 \pm 1,0\%$).

Tabela 7 – Médias e valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de fezes dos animais em dois sistemas alimentares e diferentes intervalos de coletas

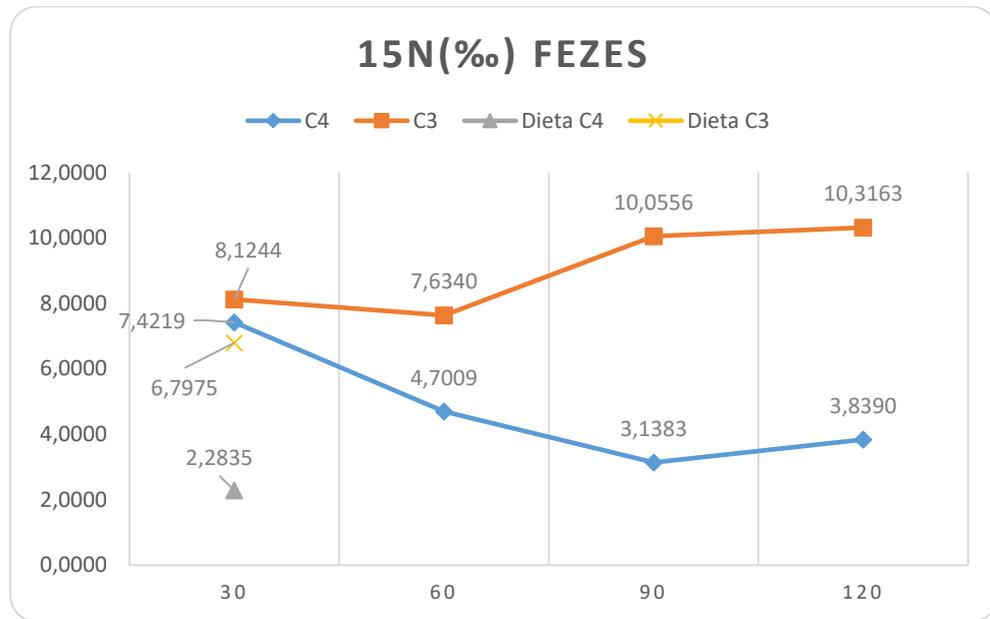
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Tratamentos		Sistema Alimentar	P<F	Sistema x Coletas
	Pastagem	Confinamento			
Coletas (dias)	Azevém C3	Tifton+Milho C4		Coletas	
30	8,12±0,46 ^a	7,42±0,46 ^b	<,0001	0,0106	<,0001
60	7,63±0,46 ^b	4,70±0,46 ^c			
90	10,05±0,49 ^a	3,13±0,49 ^c			
120	10,31±0,65 ^a	3,84±0,53 ^c			
Média	9,03±0,26	4,77±0,24			

Letras diferentes na mesma linha e coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey-Kramer a 5% na interação entre sistemas alimentares e intervalos de coletas.

O enriquecimento de $\delta^{15}\text{N}$ nas fezes do animal também é dependente da eficiência dos animais em assimilar o nitrogênio dietético após metabolização. Quanto mais próximos estão os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das amostras estudadas do animal à dieta, maior a eficiência de assimilação (CANTALAPIEDRA-HIJAR et al., 2015). Desta forma, as fezes dos animais da dieta C3, estão mais próximas do valor de $\delta^{15}\text{N}$ da dieta, demonstrando que estes animais tiveram uma maior eficiência na assimilação e metabolização de N, que coincidentemente, foram os animais que apresentaram desenvolvimento e maior ganho de peso em menos tempo em relação aos animais em dieta C4, que conseqüentemente tiveram menor metabolização do N (Figura 6).

Outra possível explicação para os valores elevados de $\delta^{15}\text{N}$ nas fezes é o aproveitamento de nitrogênio via salivacão. Considerando que o processo de ruminação é maior em dieta em que os animais necessitam pastejar, pode-se inferir que há maior síntese proteica das bactérias celulolíticas, que resultam em pH ruminal mais alto (SOEST, 1994).

Figura 6 – Dispersão dos valores do $\delta^{15}\text{N}$ (‰) nas amostras de fezes dos animais em diferentes intervalos de coletas



4 Conclusão

As análises dos isótopos estáveis permite a identificação de dietas entre as forrageiras da classificação C3 e C4, pelas razões isotópicas do ^{13}C .

As amostras de lã e sangue permitem visualizar a incorporação dos isótopos estáveis ^{13}C e ^{15}N provenientes da alimentação. O sangue utilizou o mesmo tempo que as fezes para sinalizar a traçabilidade da dietas.

A lã é o tecidos que refletem o sinal isotópico de forma mais lenta. Mas permite visualizar dietas antigas, devido à “baixa velocidade” de trocas.

As fezes representam o melhor indicador de $\delta^{13}\text{C}$ $\delta^{15}\text{N}$ da dieta para verificação dos sistemas, apresentando valores próximos aos da dieta. Necessitam um menor tempo para a marcação isotópica considerada uma amostra de “alta velocidade”. Porém não deve ser usado como amostra decisiva pra a traçabilidade, devendo sempre ter outros tecidos avaliados.

Conforme os dados apresentados a análise de isótopos estáveis é uma ferramenta eficaz para traçar dietas e sistemas produtivos.

Referências bibliográficas

BROLIO, M. P. *et al.* A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 34, n. 4, p. 222-232, out./dez. 2010.

CANTALAPIEDRA-HIJAR G. et al. Relationship between efficiency of nitrogen utilization and isotopic nitrogen fractionation in dairy cows: contribution of digestion v. metabolism. **Animal**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 221-229, 2015.

DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, [s.l.], v. 42, n. 5, p. 495-506, 1978.

DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, [s.l.], v.45, n. 3, p. 341-351, 1981.

DUCATTI, C. *et al.* Modelo teórico e experimental da reciclagem do ¹³C em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 29-33, 2002.

DUCATTI, C. *et al.* Utilização de isótopos estáveis em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 68-75, 2011. (Suplemento especial).

DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. Editorial de William O. Reece, revisão técnica Newton da Cruz Rocha, tradução Cid Figueiredo, Idilia Ribeiro Vanzellotti, Ronaldo Frias Zanon. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

FACTORI, M. A. **Potencial dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio como método de rastreabilidade de bovinos Nelore a pasto**. [S.l.]: FAPESP, 2014. (Projeto de Pós-Doutorado vinculado ao Projeto Temático Isótopos Estáveis Ambientais em Zootecnia da FAPESP processo 8/57411-4).

GUDMUNDSSON, S.; DUBIEL, M.; SLADKEVICIUS, P. Placental morphologic and functional imaging in high-risk pregnancies. **Semin Perinatol**, [s.l.], v. 33, n. 4, p. 270-280, 2009.

JAMES, H. *et al.* Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. **Oikos**, [s.l.], v. 102, n. 2, p. 378-390, 2003.

JONES, R.; LUDLOW, M.; TROUGHTON, J. Estimation of the proportion of C₃ and C₄ plant species in diet of animals from the ratio of natural ¹²C and ¹³C isotopes in the faeces. **Journal of Agricultural Science**, v. 92, n. 1, p. 91-100, 1979.

LIMA, V. L. F. **Isótopos estáveis de carbono e nitrogênio para identificação de cama de aviário na alimentação de bovinos**. 2018. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

MARTINEZ DEL RIO, C. *et al.* Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. **Biological Reviews**, v. 84, n. 1, p. 91-111, 2009.

MARTINEZ DEL RIO, C.; WOLF, B. O. Mass-balance models for animal isotopic ecology. In: STARCK, J.M.; WANG, T. (Ed.). **Physiological and ecological adaptations to feeding in vertebrates**. [S.l.]: Science Publishers, Inc. 2005. p. 141-174.

RIQUELME, G. Placental chloride channels: a review. **Placenta**, [s.l.], v. 30, n. 8, p. 659-669, 2009.

SILVA, J. J. *et al.* Determinação da fase lactente-ruminante de cordeiros pela técnica do $\delta^{13}\text{C}$. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 254-270, abr./jun. 2010.

SHIBUYA, E. K. *et al.* Souring Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, Lausanne, v. 160, p. 35-43, 2006.

SUN, S.; GUO, B.; WEI, Y. Origin assignment by multi-elements stable isotopes of lamb tissues. **Food Chemistry**, [*s.l.*], v. 213, p. 675-681, 2016.

SOEST, P. J. van. **Nutrition ecology of ruminants**. Ithaca, NY, USA: Cornell University Press, 1994.

WERNER, R. A.; SCHIMIDT, H. L. The in vivo nitrogen isotope discrimination among organic plant compounds. **Phytochemistry**, [*s.l.*], v. 61, n. 5, p. 465-784, 2002.

4 ARTIGO 2 – TRAÇABILIDADE DE DIETAS EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE CORDEIROS PELAS RAZÕES ISOTÓPICAS DA CARNE

TRAÇABILIDADE DE DIETAS EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE CORDEIROS PELAS RAZÕES ISOTÓPICAS DA CARNE

Resumo: O objetivo do estudo foi analisar a presença dos isótopos estáveis de Carbono e Nitrogênio na carne de cordeiros como “assinatura isotópica” para cada dieta e cada sistema descrito pelos valores encontrado de ^{13}C e ^{15}N . Utilizou-se 32 cordeiros machos não castrados distribuídos aleatoriamente em 2 sistemas de terminação, com 4 dietas distintas, com oito repetições em cada: Pastagem de azevém (*Lolium multiflorum*), caracterizando a dieta C3; Confinamento de Feno de Tifton (*Cynodon spp.*) + milho (*Zea mays*), para animais exclusivamente na dieta C4; confinamento de Aveia em grãos (*Avena sativa*) com farelo de soja (*Glycine Max*) e confinamento de Feno de Alfafa (*Medicago sativa*), ad libitum, ambos com dietas exclusivas C3. Os animais mantiveram-se confinado até a obtenção de 30 kg de peso vivo. Foram coletados 32 amostras de músculo *Longissimus dorsi* (lombo), 8 amostras de cada sistema de produção de cordeiros. Após coletas, as amostras foram feitas as mensurações de isótopos estáveis de C e N. Através do conjunto dos isótopos ^{13}C e ^{15}N possibilitou a diferenciação das dietas, C3 e C4. Entre as dietas, de classificação C3, houve diferenciação isotópica do ^{13}C das forrageiras verdes em relação a dieta de grãos. A variação do ^{13}C determina alimentos enriquecidos ou empobrecidos de Carbono 13 entre os tratamentos utilizados. As espécies C4, apresentam um enriquecimento relativo de ^{13}C , diferindo significativamente dos tratamentos, exclusivos com dietas C3. A análise do elemento ^{15}N permitiu distinguir o valor isotópico característicos das espécies dos sistemas, entre pastagem e confinamentos, desta forma o sistema composto por pastagem de Azevém apresenta maior concentração de ^{15}N . Contudo, a razão isotópica dos elementos C e N permite diferenciar e certificar as dietas e os sistemas de produção ovina de forma eficaz, através de análises da carne.

Palavras-chave: Carbono. Confinamento. Nitrogênio. Ovinos. Pastagem. *Turnover*.

TRACEABILITY OF DIETS IN LAMB PRODUCTION SYSTEMS FOR ISOTOPE REASONS FOR MEAT

Abstract: The objective of this study was to analyze the presence of stable isotopes of Carbon and Nitrogen in lamb meat as "isotopic signature" for each diet and each system described by the ^{13}C and ^{15}N values found. Twenty-two uncastrated male lambs were randomly distributed in 2 finishing systems, with 4 distinct diets, with eight replicates in each: Rapegrass (*Lolium multiflorum*), characterizing the diet C3; Confinement of Tifton Hay (*Cynodon spp.*) + Maize (*Zea mays*), exclusively for the C4 diet; (*Avena sativa*) confinement with soybean meal (*Glycine Max*) and confinement of Alfalfa Hay (*Medicago sativa*), ad libitum, both with exclusive diets C3. The animals were kept confined until they obtained 30 kg of live weight. Thirty - two samples of *Longissimus dorsi* muscle (loin) were collected, 8 samples from each lamb production system. After collection, the samples were measured with stable isotopes of C and N. Through the ^{13}C and ^{15}N isotopes, it was possible to differentiate the diets, C3 and C4 and the pasture and confinement feeding systems. Among the diets, classified as C3, there was ^{13}C isotopic differentiation of green forages in relation to the grain diet. The ^{13}C variation determines enriched or depleted foods of Carbon 13 among the treatments used. The C4 species present a relative enrichment of ^{13}C , differing significantly from the treatments, exclusive with

C3 diets. The analysis of the ^{15}N element allowed to distinguish the separation of the systems, between pasture and confinement, in this way the system composed by pasture of Azevém presents a higher concentration of ^{15}N . However, the isotopic ratio of the C and N elements makes it possible to differentiate and certify diets and sheep production systems efficiently through meat analysis.

Keywords: Carbon. Confinement. Nitrogen. Sheep. Pasture. *Turnover*.

1 Introdução

Garantir a identificação de origem, a segurança alimentar, bem estar animal, assim como a imagem “verde” de produtos de origem animal (PRACHE et al., 2005) é de interesse de produtores nos moldes atuais, bem como dos consumidores, que buscam a sustentabilidade. Diante disto, na Europa, por exemplo, há muitos anos tem se estabelecidos rótulos com as indicações geográficas específicas, para valorização dos produtos locais e que utilizam o método de produção oficialmente protegido (Denominação de origem protegida = DOP), assim garantem qualidade aos produtos ofertados ao mercado, que de forma crescente, em 2016 já contavam com 1328 produtos registrados (CAMIN et al., 2017).

A descrição em rótulos, sobre o sistema produtivo e o local de produção, torna-se inovador e importante para uma mercado exigente, necessitando de técnicas capazes de distinguir dietas e origem geográfica, caracterizando autenticidade do produto. Através de indicadores naturais nos tecidos dos animais, é possível a investigação de fontes alimentares isotopicamente distintas (DENIRO; EPSTEIN, 1978), que demonstram quais elementos foram efetivamente incorporados pelos tecidos e quais suas possíveis fontes alimentares (MONAHAN et al., 2012; VINCI et al., 2013).

A técnica dos isótopos estáveis vem sendo utilizada em processos de autenticação de produtos alimentares como queijo, manteiga (MANCA et al., 2001), leite (RENOU et al., 2004), certificação de origem geográfica da carne bovina (BAHAR et al., 2008), dieta de bovinos (GUO et al., 2010), caracterização e diferenciação de regime dietético de suínos ibéricos (GONZALES MARTIN et al., 1999), dietas de ovinos (PIASSENTIER et al., 2003), adulteração do mel (SOUZA-KRULISKI et al., 2010), percentual de malte em cervejas (SLEIMAN et al., 2008), autenticidade e rastreabilidade de produtos agrícolas (ZHAO et al., 2014) entre outros.

O principal elemento considerado na análise alimentar é o carbono, que durante o processo fotossintético das plantas C_3 e C_4 , possui um fracionamento isotópico contrastante na razão isotópica de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ definindo a identidade natural dos alimentos (DUCATTI, 2007). Já

a variação isotópica de N ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) é dependente do modo de fixação biológica das plantas e das condições do solo.

Neste contexto o objetivo do estudo foi analisar a presença de assinatura isotópica de ^{13}C e ^{15}N na carne de cordeiros para a traçabilidade da dieta e a diferenciação entre os sistemas de produção.

2 Material e métodos

2.1 Animais e sistema de produção

A realização da fase experimental foi aprovada conforme as normas do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM), protocolada sob o CEUA nº 7118230616. Realizado na Universidade Federal de Santa Maria, na região central do estado do Rio Grande do Sul, no setor de Ovinocultura, no período de Agosto de 2015 a Janeiro de 2016. Utilizou-se 32 cordeiros machos não castrados distribuídos aleatoriamente em dois sistemas de terminação, com quatro dietas distintas, com oito repetições em cada: Pastagem de azevém (*Lolium multiflorum*), caracterizando a dieta C3; Confinamento de Feno de Tifton (*Cynodon spp.*) + milho (*Zea mays*), para animais exclusivamente na dieta C4; confinamento de Aveia em grãos (*Avena sativa*) com farelo de soja (*Glycine Max*), para elevar a de proteína bruta da dieta e aumentar a palatabilidade dos animais, conforme o NRC (2007) e confinamento de Feno de Alfafa (*Medicago sativa*), *ad libitum*, ambos com dietas exclusivas C3. Os animais mantiveram-se confinado até a obtenção de 30 kg de peso vivo.

2.2 Colheita, preparação das amostras

Foram coletados, após ao abate dos animais, 32 amostras de músculo *Longissimus dorsi* (lombo), sendo 8 amostras provindas dos cordeiros mantidos em cada dieta experimental. As coletas foram realizadas nos dias de abate, após todos os procedimentos padrões, conforme os animais atingiam 30 kg/PV. As amostras foram mantidas em freezer à -18°C até a realização das mensurações de isótopos estáveis de C e N, para as análises de razão isotópica as amostras foram liofilizadas, a -40°C por um período de 96 horas e moída para obtenção do material homogêneo. As amostras de azevém, feno de tifton, milho, aveia, soja e feno de alfafa, foram

secas em estufa de ventilação forçada a 56°C por período de 48 horas, foram moídas para obter partículas com granulometria menor que 60 µm (DUCATTI, 2004).

2.3 Análises Isotópicas

As amostras da dieta foram pesadas entre 50-60 µg para análise de carbono e 500-600 µg para nitrogênio e logo acondicionadas em cápsulas de estanho. As amostras de músculo, liofilizadas, foram pesadas entre 40-45 µg para carbono e 400-450 µg em nitrogênio em capsula de estanho (5mm x 3mm), após a pesagem, as capsulas foram introduzidas por meio de um amostrador automático no analisador elementar (Flash HT 2000 Organic Elemental Analyzer EA for IRMS). Os gases resultantes (CO₂ e N₂) formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massa de razão isotópica (*Delta V Advantage Isotope Ratio MS, Thermo Scientific, Alemanha*), no Laboratório de Biotransformações de Carbono e Nitrogênio (LABCEN) da UFSM. Os resultados foram expressos em relação ao padrão internacional Vienna-Pee Dee Belemnite (PDB) para o ¹³C e ar atmosférico para o ¹⁵N, calculados pela equação:

$$\delta\%(\text{amostra, padrão}) = [(R \text{ amostra} - R \text{ padrão})/R \text{ padrão}] \times 1000$$

δ = enriquecimento relativo da amostra em relação ao padrão.

R = razão isotópica da amostra e do padrão.

Na Tabela 1 segue os valores isotópicos dos ingredientes que foram utilizados nas dietas experimentais. Na Tabela 2 a assinatura isotópica, resultante da dieta, no músculos *Longissimus dorsi*.

2.4 Análise Estatística

Os elementos foram avaliados utilizando a ANOVA, para verificar as diferenças significativas de enriquecimento do ¹³C e ¹⁵N entre as dietas e os sistemas de produção. E as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05). Foi gerado um gráfico de dispersão e variabilidade dos dados de δ¹³C e δ¹⁵N da carne para visualização dos sistemas e dietas.

3 Resultados

O valor isotópico das dietas ofertadas aos cordeiros estão presentes na Tabela 1, onde é observado a assinatura isotópica de cada alimento.

Tabela 1 – Valor isotópico das dietas para cordeiros em diferentes sistemas alimentares

δ , ‰*	Pastagem de Azevém	Conf. Feno Tifton + milho	Conf. Aveia + soja	Conf. Feno Alfafa
	C3	C4	C3	C3
^{13}C	-28,56	-12,32	-26,49	-29,39
^{15}N	6,79	2,28	1,04	1,39

A dieta composta por Feno de Tifton + milho, apresenta-se enriquecida naturalmente de ^{13}C . Enquanto a dieta de pastagem de azevém, é enriquecida de ^{15}N , em relação as demais.

A avaliação do isótopo ^{13}C no músculo de cordeiros possibilitou a diferenciação das dietas entre a alimentação caracterizada com plantas C3 e C4. As amostras de alimento da dieta de classificação C4 (confinamento de Feno de tifton + milho), apresentam enriquecimento superior natural do ^{13}C , em relação as dietas C3 ($P < 0,0001$).

A presença de ^{13}C nas amostras de músculo dos animais foi determinado pela dieta fornecida, devido a fixação de carbonos resultantes da via fotossintética diferente entre as espécies C3 e C4 e assim as espécies apresentam-se naturalmente distintas isotopicamente.

Entre as dietas de classificação C3, a pastagem de azevém e feno de alfafa, não apresentam diferenças significativas de ^{13}C , são consideradas isotopicamente iguais, ambas as dietas são exclusivamente volumosas, mas diferem da alimentação concentrada, composta de aveia + grãos de soja. Podendo-se dizer que entre dietas, utilizando alimentos concentrados e dietas exclusivamente volumosas há diferença naturais da marcação isotópicas do ^{13}C , conforme a Tabela 2.

Tabela 2 – Médias e erros médios padrões do enriquecimento isotópico dos elementos C e N nas amostras do músculo *Longissimus dorsi*, nos diferentes sistemas de terminação de cordeiros

Tratamentos					
δ , ‰*	Pastagem de Azevém	Conf. Feno Tifton + milho	Conf. Aveia + soja	Conf. Feno Alfafa	P>F
	C3	C4	C3	C3	
^{13}C	-25,80±0,19 ^c	-12,48±0,19 ^a	-24,68±0,19 ^b	-26,29±0,20 ^c	<,0001
^{15}N	9,85±0,19 ^a	6,67±0,19 ^b	6,32±0,19 ^{bc}	5,85±0,20 ^c	<,0001

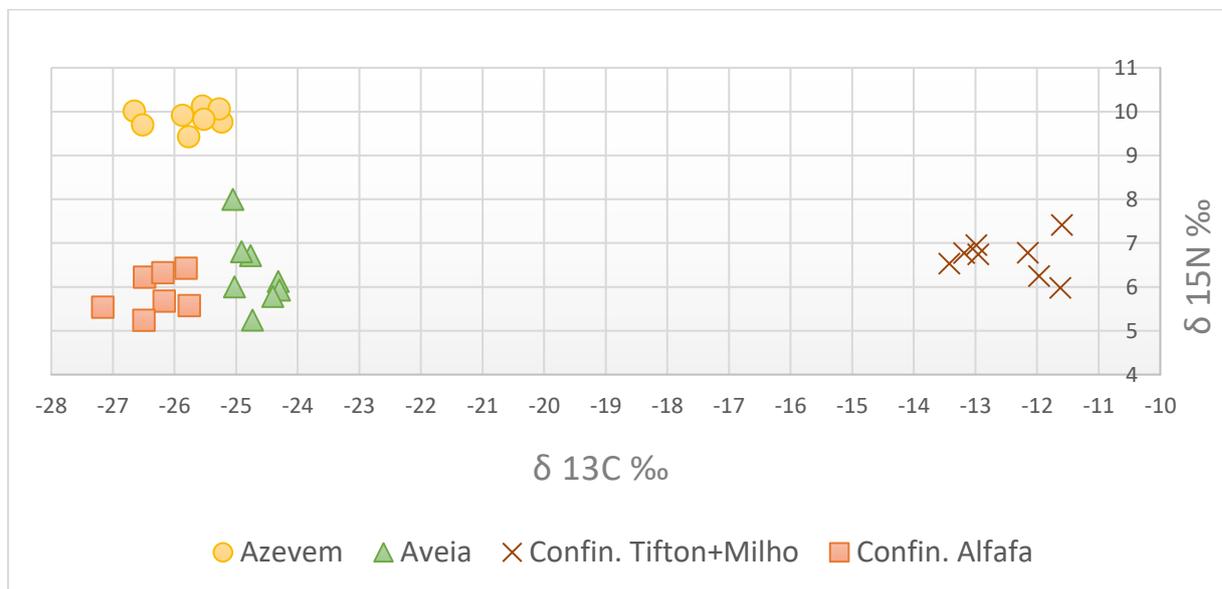
* Médias com letras diferentes na mesma linha, são significativamente diferentes, de acordo com teste Tukey; $P < 0,05$.

Na avaliação do ^{15}N foi observado a diferença entre os sistemas alimentares (confinamento e pastagem), com variação significativa ($P < 0,0001$). A pastagem de Azevém foi significativamente superior no enriquecimento de ^{15}N , assim como houve enriquecimento do ^{15}N no músculo dos animais alimentados em pastagem. Desta forma, diferencia-se as amostras de carne dos animais à pasto dos animais confinados.

Para as amostras de músculo dos animais em confinamento (feno de tifton + milho, conf. aveia + soja e conf. feno de alfafa) foi observado que não há diferença isotópica do ^{15}N , devido ao valor isotópico encontrado na alimentação fornecida, como o esperado. Desta forma o ^{13}C propicia a diferenciação de fontes alimentares e o ^{15}N vai promover a diferenciação de sistemas produtivos (confinamento vs. pastagem).

Portanto é possível a determinação de sistemas alimentares, via assinatura isotópica do ^{15}N , para terminação entre a produção de animais em pastagem de gramíneas com ou sem a presença de leguminosas, bem como pastagem vs. confinamento (Figura 1), bem como a diferenciação no valor de ^{13}C entre as dietas.

Figura 1 – Gráfico de dispersão das razões isotópicas de Carbono-13 e Nitrogênio-15 marcados no músculo *Longissimus dorsi* de cordeiros terminados em diferentes dietas e sistemas de terminação



4 Discussão

Nesta pesquisa, os animais foram alimentados com dietas exclusivas na classificação C3 e C4 para a confirmação das diferenças de razão isotópica entre as fontes alimentares. Conforme James et al. (2003), o valor de ^{13}C nos tecidos dos animais, é influenciado pela fonte

alimentar, (plantas C3 ou C4). Sun, Guo e Wei (2016), observaram cordeiros que alimentados com dietas exclusivas e misturas entre C3 e C4, variaram de -31,71% a -24,25% (n = 13) para dietas a base de C3 e foram consideravelmente empobrecidas de ^{13}C em relação as forragens C4 (-14,38% a -12,92%, n = 12), confirmado assim a autenticidade da dieta, através das análises no músculo dos animais, conforme também publicado nas pesquisas de Sun, Guo, Wei e Fan, (2010).

Em relação as misturas de dietas, ao analisar dados de ruminantes em diferentes dietas alimentares, pasto C4, confinamento C3 e semi-confinamento C3 e C4, a consorciação de plantas na composição da dieta, principalmente do semi-confinamento, também é de possível determinação, pois foi identificado o percentual das plantas, refletida no músculo dos animais, quanto a marcação isotópicas, pelo cálculo de diluição isotópica de Ducatti (2007), assim foi verificado o consumo pelo animal. A referida equação, comprova os dados apresentados por Perdigão (2017), em que estimou-se que 53% da dieta era composta por plantas C3 e 47% por capim, C4, demonstrando que é possível autenticar dietas exclusivas ou consorciadas.

Por sua vez, é possível determinar a preferência alimentar dos herbívoros, Martins (2010) ao estudar a preferência alimentar de ovelhas, após ter o valor isotópico das plantas, obteve o cálculo preciso da proporção ingerida de plantas C3 (feno de alfafa) e plantas C4 (silagem de milho), assim ovinos alimentados com plantas C3 e C4 apresentaram tecidos com valores de ^{13}C proporcional a quantidade de plantas C3 e C4 consumidas. No referido estudo Martins (2010) também utilizou as fezes, uma vez que estas apresentam *turnover* mais rápido quando comparado ao músculo ou sangue, para melhores conclusões.

A técnica de verificação da dieta por isótopos se torna vantajosa, uma vez que o estágio de maturidade das plantas não é alterado isotopicamente, apresentando valores de $\delta^{13}\text{C}$ muito próximos desde suas raízes até as sementes, não interferindo nos valores fixados após a fotossíntese, sendo assim este marcador natural das plantas não sofre modificações ou alterações no tecido animal, seguindo a premissa de que “o animal é o que ele come” (DENIRO; EPSTEIN, 1978; SMITH, 1971).

E em um segundo momento buscou-se visualizar dentro das três dietas de classificação C3, pastagem de azevém, feno de alfafa e aveia + soja, as diferenças na assinatura isotópica. No entanto os valores de ^{13}C apresentam-se isotopicamente iguais entre as dietas com alimentos volumosos, pastagem de azevém e feno de alfafa, e com valores de ^{13}C distinto da dieta de grãos, aveia e soja. Os valores encontrados para as plantas do ciclo fotossintético C3 estão dentro do padrões já descritos, valor médio do enriquecimento isotópico relativo $\delta^{13}\text{C} = -28\%$

(-22 a -34 ‰) (BOUTTON, 1996; DUCATTI et al., 2011), apesar de haver diferenças entre grãos e forragens.

A maior concentração encontrada de $\delta^{15}\text{N}$ no músculo de animais foi para os que estavam em pastagem de azevém. A eficiência do animal em assimilar N permite demonstrar que quanto mais próximos os valores entre dieta e tecido analisado, sugere que estes são eficientes na assimilação do nitrogênio dietético (POUPIN et al., 2014).

O ^{15}N no músculo dos animais nos confinamentos de aveia + soja e feno de alfafa, apresentaram-se menores em relação a pastagem de azevém. Sugere-se que a presença das plantas leguminosas, que realizam a fixação biológica do N no ar atmosférico, fixam mais ^{14}N , logo o N do ar atmosférico é composto de 99,6% de átomos de ^{14}N e na captura via fixação, fazem com que a composição isotópica das leguminosas sejam ricas em ^{14}N , assim destacam-se pelo N de maior abundância natural e pobres em ^{15}N (DEVINCENZI et al.; 2014).

No confinamento de feno de tifton + milho a presença do N é muito semelhante aos sistemas que utilizam leguminosas, essa igualdade isotópica é devido a ação de bactérias fixadoras de N, (*azospirillum brasilense*), capazes de captar o nitrogênio da atmosfera e transformá-lo em nitrogênio assimilável pelas plantas, e portanto não diferenciam-se das leguminosas. Diversos autores que discutem a produção do milho, principalmente pela eficiência nutricional proposta a alimentação animal, destacam a técnica do uso de bactérias fixadoras um recurso capaz de possibilitar a economia de fertilizantes nitrogenados (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016; FUKAMI et al., 2016).

Mas pode-se afirmar que o elevado valor de ^{15}N nas forrageiras está associado principalmente as condições do solo, logo refletirá nos tecidos dos animais, após metabolização. Assim como outros fatores ruminais e metabólicos, que podem explicar a variação do N, como o stress hídrico, pode alterar a concentração isotópica nos vegetais.

A questão do N também contribui para a identificação de sistemas produtivos convencionais ou orgânicos (INÁCIO, 2015) observa na cultura de vegetais o tipo de adubação utilizada, servindo este para estudos de “carne orgânica”.

Na produção de carne, principalmente bovina, mas extensiva aos ovinos, quando há exportação de produto cárneo, há uma pressão de países desenvolvidos em relação as informações sobre os sistemas produtivos, em especial a dieta fornecida aos herbívoros (PRACHE et al., 2009). Por isto cada vez mais é importante desenvolver técnicas confiáveis, afim de avaliar e certificar a origem alimentar dos animais e dos produtos industrializados.

5 Conclusão

A razão isotópica do elementos C e N permite diferenciar e certificar as dietas para produção ovina, de forma eficaz, através de análises da carne.

Referências bibliográficas

- BAHAR, B. *et al.* Alteration of the carbon and nitrogen stable isotope composition of beef by substitution of grass silage with maize silage. **Rapid Communications Mass Spectrometry**, [s.l.], v. 19, n. 14, p. 1937-1942, 2008.
- CAMIN, F. *et al.* Stable isotope techniques for verifying the declared geographical origin of food in legal cases. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 61, p. 176-187, 2017.
- CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA, M. Azospirillum sp. In current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology & Biochemistry**, [s.l.], v. 103, p. 117-130, 2016.
- DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, [s.l.], v. 42, n. 5, p. 495-506, 1978.
- DEVINCENZI, T. *et al.* Dose-dependent response of nitrogen stable isotope ratio to proportion of legumes in diet to authenticate lamb meat produced from legume-rich diets. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 152, p. 456-461, 2014.
- DUCATTI, C. **Isótopos Estáveis Ambientais**. Botucatu: Unesp, 2007. 204p. (Apostila).
- DUCATTI, C. *et al.* Utilização de isótopos estáveis em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 68-75, 2011. (Suplemento especial).
- FUKAMI, J. *et al.* Accessing inoculation methods of maize and wheat with Azospirillum brasilense. **AMB Express**, [s.l.], v. 6, n. 3, p. 1-13, 2016.
- GONZÁLES MARTIN, I. *et al.* Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine. **Meat Science**, [s.l.], v. 52, n. 4, p. 437-441, 1999.
- JAMES, H. *et al.* Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. **Oikos**, [s.l.], v. 102, n. 2, p. 378-390, 2003.
- GUO, B. L. *et al.* Stable C and N isotope ratio analysis for regional geographical traceability of cattle in China. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 118, n. 4, p. 915-920, 2010.
- INÁCIO, C. de T. **Uso da abundância natural de ^{15}N em estudos com fertilizantes orgânicos**. 2015. 118p. Tese (Doutorado em Agronomia Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

- MANCA, G. *et al.* Characterization of the geographical origin of Pecorino Sardo cheese by casein stable isotope ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) ratios and free amino acid ratios. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 49, n. 3, p. 1404-1409, 2001.
- MARTINS, M. B. **Turnover de carbono e a preferência alimentar de ovelhas por isótopos estáveis**. 2010. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- PRACHE, S. *et al.* Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants. **Small Ruminant Research**, [s.l.], v. 59, n. 2-3, p.157-168, 2005.
- PRACHE, S. *et al.* Discrimination of pasture-fed from lambs fed dehydrated alfalfa indoors using different compounds measured in the fat, meat and plasma. **Animal**, [s.l.], v. 3, n. 4, p. 598-605, 2009.
- PERDIGÃO, A. **Rastreabilidade de sistemas produtivos de bovinos pela análise de isótopos estáveis**. 2017. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.
- PIASSENTIER, E. *et al.* Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. **Meat Science**, [s.l.], v. 64, n. 3, p. 239-247, 2003.
- POUPIN, N. *et al.* Natural isotopic signatures of variations in body nitrogen fluxes: a compartmental model analysis. **PLOS Computation Biology**, [s.l.], v. 10, n. 10, p. 1-16, 2014.
- RENOU, J. P. *et al.* Characterization of animal products according to geographic origin and feeding diet using nuclear magnetic resonance and isotope ratio mass spectrometry: cow milk. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 85, p. 63-66, 2004
- SMITH, B.N.; EPSTEIN, S. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of higher plants. **Plant Physiology**, [s.l.], v. 47, p. 380-384, 1971.
- SOUZA-KRULISKI, C. R. *et al.* Estudo de adulteração em méis brasileiros através de razão isotópica do carbono. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 2, p.434-439, 2010.
- SLEIMAN M., *et al.* Utilização de Isótopos estáveis de carbono e do nitrogênio para determinar o percentual de malte em cervejas tipo Pilsen. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 95-102, 2008.
- SUN, S.; GUO, B.; WEI, Y. Origin assignment by multi-elements stable isotopes of lamb tissues. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 213, p. 675-681, 2016.
- VINCI, G. *et al.* Authenticity and quality of animal origin food investigated by stable-isotope ratio analysis. **Journal of Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 93, n. 3, p. 439-448, 2013.
- ZHAO, Y. *et al.* Recent developments in application o stable isotope analysis on agro-product authenticity and traceability. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 145, p. 300-305, 2014.

5 ARTIGO 3 – CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E SENSORIAIS DA CARNE DE CORDEIROS SUBMETIDOS A SISTEMAS DE TERMINAÇÃO À BASE DE GRÃOS, FORRAGEM VERDES OU CONSERVADAS

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E SENSORIAIS DA CARNE DE CORDEIROS SUBMETIDOS A SISTEMAS DE TERMINAÇÃO À BASE DE GRÃOS, FORRAGEM VERDES OU CONSERVADAS

Resumo: A qualidade da carne está ligada a parâmetros subjetivos (aroma, textura, sabor, cor) que englobam a análise sensorial, assim como a autenticidade do produto, e estes são determinados pelo consumidor, que preocupa-se com a garantia da qualidade. Objetivou-se, neste trabalho, avaliar o efeito de diferentes dietas sobre a qualidade e atributos da carne de cordeiros. Utilizando-se 32 cordeiros machos não castrados, distribuídos em 4 tratamentos com oito repetições: CONF AVEIA: Aveia em grãos (*Avena sativa*) + farelo de soja (*Glycine Max*) CONF ALFAFA: Feno de Alfafa (*Medicago sativa*); PAS: Pastagem de azevém (*Lolium multiflorum*); CONF TIF + M: Confinamento de Feno de Tifton (*Cynodon spp.*) + milho (*Zea mays*). A distribuição dos animais ocorreu de forma aleatória do conjunto mãe e cordeiro, em pastagem cultivada para o grupo denominado PAS e para o grupo do CONF TIF + M, onde receberão a alimentação até o momento em que os cordeiros atinjam em média 30 kg de peso vivo. Os animais distribuídos nos tratamentos CONF AVEIA e CONF ALFAFA foram desmamados aos 45 dias de idades e entraram em período de adaptação nas dietas. Os cordeiros foram pesados no momento do nascimento e após constituir o grupo experimental, as pesagens foram realizadas a cada 14 dias, para um melhor acompanhamento dos mesmos. Ao atingir 30 kg de peso vivo, os cordeiros foram abatidos. A análise química da carne foi realizada na região do lombo, que compreende a 6^a até a 10^a vértebra dorsal, foram retiradas amostras para determinação da umidade, cinzas, proteínas e lipídios. Para análises sensoriais foram utilizados 32 amostras, 8 por tratamento, amostras do corte do *longissimus dorsi*. As avaliações foram realizadas por um grupo formado por 11 pessoas treinadas, estes foram instruídos a descrever os atributos percebidos. A qualidade da carne dos animais em pastagem de azevém destaca-se por apresentar o menor teor de lipídios e teor de proteína satisfatório. Os atributos sensoriais da carne sofreram influência direta dos sistemas de terminação. A aceitabilidade dos julgadores, comprova a preferência do consumo de carne a pasto. O odor característico mais intenso está presente na carne dos animais alimentados em pastagem de azevém, enquanto que a carne dos animais confinamos com milho tem maior maciez.

Palavras chave: Alfafa. Aveia. Azevém. Confinamento. Ovinos. Pastagem. Tifton.

CHEMICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF THE MEAT OF LAMBS SUBMITTED TO GRAIN-BASED TERMINATION SYSTEMS, GREEN OR PRESERVED FORAGE

Abstract: The quality of the meat is linked to subjective parameters (aroma, texture, flavor, color) that encompass sensory analysis, as well as the authenticity of the product, and these are determined by the consumer, who is concerned with quality assurance. The objective of this study was to evaluate the effect of different diets on the quality and attributes of lamb meat. Using 32 non-castrated male lambs, distributed in 4 treatments with eight replicates: CONF. OATS: Oat grains (*Avena sativa*) + soybean meal (*Glycine Max*) ALFAFA CONF: Alfalfa hay

(*Medicago sativa*); Pasture of ryegrass (*Lolium multiflorum*); CONF TIF + M: Confinement of Tifton Hay (*Cynodon spp.*) + Corn (*Zea mays*). The distribution of the animals occurred in a random way from the mother and lamb set in pasture grown for the group called PAS and for the CONF TIF + M group, where they will receive the feed until the lambs reach an average weight of 30 kg. The animals distributed in the treatments CONF AVEIA and CONF ALFAFA were weaned at 45 days of age and entered adaptation period in the diets. The lambs were weighed at birth and after constituting the experimental group, the weighings were performed every 14 days for a better follow-up. When they reached 30 kg of live weight, the lambs were slaughtered. The chemical analysis of the meat was performed in the loin region, which includes the 6th to the 10th dorsal vertebra, samples were taken for determination of moisture, ashes, proteins and lipids. For sensorial analysis 32 samples were used, 8 per treatment, samples from the cut of longissimus dorsi. The evaluations were carried out by a group of 11 trained people, who were instructed to describe the perceived attributes. The quality of the animal's meat in ryegrass pasture stands out for presenting the lowest lipid content and satisfactory protein content. The sensory attributes of the flesh were influenced directly by the termination systems. The acceptability of the judges, proves the preference of meat consumption to pasture. The most characteristic odor is present in the meat of animals fed on ryegrass pasture, while the meat of the animals confined with maize has more softness.

Key words: Alfalfa. Oats. Ryegrass. Feedlot. Sheep. Pasture. Tifton.

1 Introdução

Um dos principais elos do agronegócio brasileiro é a cadeia produtiva da carne, a qual pode ser fortalecida através de resultados de pesquisas que relacionem o manejo, a nutrição e a sanidade com a qualidade do produto final.

A análise sensorial da carne, bem como dos seus subprodutos definem características que proporcionam aceitação. Para que haja maior valorização da carne ovina, necessita-se adequar a produção a sistemas eficientes, baseados em baixo custo. Neste aspecto e tendo por base a premissa do bem estar animal, a intensificação da produção com ênfase no uso de pastagens cultivadas mesmo em confinamento, tem sido prática rotineira de manejo.

A alimentação fornecida aos animais pode contribuir ou alterar a qualidade da carne, principalmente nos aspectos sensoriais. Cañeque et al. (1989) consideraram que qualquer tipo de alimentação pode causar efeito sobre o rendimento, sabor, suculência, coloração e maciez da carne. Outros fatores como a idade dos animais, sexo, raça e manejo *post mortem*, também podem determinar alterações importantes nos aspectos sensoriais da carne (BONACINA et al., 2011; OSÓRIO et al., 2009). Ainda, a influência de fatores ambientais, nutricionais e do próprio animal, resulta na existência de sistemas de produção com atributos específicos e diferenciados, resultantes em carnes com características únicas (FARIA et al., 2012).

A qualidade da carne está ligada a parâmetros subjetivos (aroma, textura, sabor, cor) que englobam a análise sensorial, assim como a autenticidade do produto, e estes são determinados pelo consumidor. Objetivou-se, neste trabalho, avaliar o efeito de diferentes dietas sobre a qualidade da carne de cordeiros terminados à base de grãos, forragem verdes ou conservadas.

2 Material e métodos

2.1 Animais e Localização

O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal de Santa Maria, estado do Rio Grande do Sul, Brasil no período de Agosto de 2015 a Janeiro de 2016, utilizando-se 32 cordeiros machos não castrados. Os animais foram alocados em baias coletivas de um aprisco coberto providos de cochos e bebedouros.

Todo o procedimento experimental foi realizado conforme as normas do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM), protocolada sob o CEUA nº 7118230616.

2.2 Sistemas de Produção

Os animais foram distribuídos em 4 tratamentos com oito repetições: CONF AVEIA: Aveia em grãos (*Avena sativa*) + farelo de soja (*Glycine Max*) CONF ALFAFA: Feno de Alfafa (*Medicago sativa*); PAS: Pastagem de azevém (*Lolium multiflorum*); CONF TIF + M: Confinamento de Feno de Tifton (*Cynodon spp.*) + milho (*Zea mays*).

A adição de farelo de soja a dieta do tratamento CONF AVEIA foi para atender as exigências proteicas dos cordeiros segundo o NRC 2007.

A suplementação mineral, feita em cocho separado e à vontade. A distribuição dos animais ocorreu de forma aleatória do conjunto mãe e cordeiro, em pastagem cultivada para o grupo denominado PAS e para o grupo do CONF TIF + M, onde receberam alimentação até o momento em que os cordeiros apresentaram média 30 kg de peso vivo.

Os animais distribuídos nos tratamentos CONF AVEIA e CONF ALFAFA foram desmamados aos 45 dias de idades e entraram em período de adaptação nas dietas.

2.3 Preparação e Análises das amostras

A análise bromatológica realizada nos alimentos foi para determinação teores de Matéria seca (MS) através de secagem em estufa a 105°C durante 12 horas e o conteúdo de matéria mineral (MM) determinado pela combustão a 600°C durante 4 horas (AOAC, 1995). A proteína bruta (PB) avaliada pelo método Kjeldhal (AOAC, 1995). A determinação dos teores de extrato etéreo (EE) realizado de acordo com Silva e Queiroz (2002). Para determinação da concentração da fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram acondicionadas em saquinhos de poliéster (KOMAREK, 1993) sob solução de detergente neutro em autoclave a 110°C por 40 minutos (SENGER et al., 2008), para as amostras de concentrados foi incluída a α -amilase (MERTENS, 2002). As concentrações de fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com AOAC (1997). A determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria seca pelo método de Tylley e Terry, (1963), utilizada para a estimativa do NDT da dieta.

Tabela 1 – Valores da composição bromatológica dos alimentos utilizados nos sistemas de terminação

Variáveis (%)	Pastagem de Azevém	Feno de Tifton	Feno de Alfafa	Grão de Milho	Farelo de Soja	Grão de Aveia	Sal
MS	19,67	88,86	88,71	88,93	88,62	87,66	100
PB	18,91	9,12	19,63	8,99	48,82	15,19	-
EE	3,54	1,53	2,31	4,51	1,96	4,13	-
MM	9,81	7,51	9,36	1,29	6,50	1,36	100
FB	27,50	34,65	28,86	2,42	5,96	8,94	-
FDN	51,91	77,56	47,60	11,16	14,55	28,41	-
FDA	25,89	46,04	38,93	3,37	9,09	23,60	-
NDT	64,63	57,62	57,95	83,18	81,19	75,24	-

MS: matéria seca; PB: Proteína Bruta; EE: Extrato etéreo; MM: Matéria mineral; FB: Fibra bruta; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; NDT: Nutrientes digestíveis totais

A análise bromatológica da carne foi realizada na região do lombo, que compreende da 6ª até a 10ª vértebra dorsal, foram retiradas amostras para determinação da umidade, cinzas, proteínas e lipídios conforme Carvalho e Jong (2002); Saldanha et al. (2004).

2.4 Análises Sensoriais

Para análises sensoriais foram utilizados 32 amostras, 8 por tratamento, amostras do corte do *longissimus dorsi*. As análises foram realizadas no Laboratório de Carnes do Departamento de Zootecnia da UFSM.

Foram realizadas três sessões com 11 assessores treinados, os quais avaliaram oito repetições de cada um dos quatro tratamentos.

O músculo *longissimus dorsi*, retirado da meia carcaça esquerda foram descongelados, sob refrigeração a 4°C, durante 24 horas, enrolados em papel alumínio e grelhados em Grill (George Foreman, até 180°C) pré-aquecido, até atingir a temperatura interna de 72°C. Após foram cortados paralelamente às fibras musculares em cubos de 1,5 cm, evitando-se as porções periféricas e tecido colagenoso, também embaladas em papel alumínio e codificados com números de três dígitos e servidos à temperatura de 60°C. As amostras foram analisadas em cabines individuais e avaliadas segundo os seguintes atributos: intensidade de cor, odor característico, sabor característico, sabor estranho, sabor à gordura, sabor residual, maciez, suculência e aceitabilidade global utilizando uma escala estruturada de nove centímetros, ancorada nos extremos à esquerda pelo termo “fraco” e à direita pelo termo “forte” (STONE; SIDEL, 1998). O delineamento para análise estatística foi de blocos completos casualizados em um esquema fatorial de 4 tratamentos x 11 assessores x 8 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA-GLM).

Foi realizada a seleção de um grupo de painelistas, através de testes discriminativos: triangular, pareado e ordenação (QUEIROZ; TREPTOW, 2006), utilizando as amostras de carne. Após a seleção dos julgadores foi realizado um painel aberto, segundo Meilgaard, Civille, e Carr (1999), para obtenção de terminologia para carnes. Os julgadores foram instruídos a descrever os atributos odor, sabor e textura percebidos nas amostras servidas.

3 Resultados e discussões

Os sistemas de terminação não alteraram ($P>0,05$) o percentual de umidade e cinzas da carne avaliada (Tabela 2). A umidade remete ao tempo de estabilidade, estocagem, processamento, suculência e textura (CRUZ et al. 2016). Da mesma forma, Zeola et al., (2004), estudando diferentes níveis de concentrado na dieta, observaram que as diferentes fontes utilizadas na alimentação não influenciaram ($P>0,05$) o teor de matéria mineral no músculo, com valores de 1,12; 1,10 e 1,12%, respectivamente, concordando com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Tabela 2 – Composição química da carne de cordeiros terminados em diferentes sistemas alimentares

Variáveis (%)	Sistemas de Terminação				CV%
	CONF AVEIA	CONF ALFAFA	PAS (Azevém)	CONF TIF + M	
Umidade	72,57 ^a	72,79 ^a	74,36 ^a	72,71 ^a	3,27
Cinzas	1,78 ^a	1,76 ^a	1,77 ^a	1,78 ^a	2,77
Proteínas	18,07 ^{ab}	18,24 ^{ab}	18,54 ^a	16,70 ^b	9,54
Lipídeos	6,31 ^b	5,73 ^b	1,57 ^c	9,78 ^a	29,22

Letra diferente na mesma linha indica diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% na comparação entre sistemas de terminação.

Para os consumidores, a função nutricional da carne tem sido um dos pontos mais importantes, pois a carne não deve trazer prejuízos à saúde, devendo ter um nível equilibrado de proteína e lipídios. De acordo com Prache et al., (2011); Guerrero et al., (2013), o músculo deve apresentar cerca de 18 a 22% de proteína. Tendo por base estes pesquisadores, apenas o teor proteico da carne dos cordeiros do tratamento CONF TIF + M está aquém, devido ao baixo valor nutricional da dieta, comparado aos outros tratamentos especialmente o valor proteico.

Nas dietas com milho ficou evidenciado menores teores de proteína, e aporte maior nos lipídios da carne. Essa dieta disponibiliza maior aporte energético promovendo maior deposição em tecidos de reserva.

O nível proteico da ração influencia diretamente a qualidade e composição da carne e da carcaça dos animais, à medida que aumenta o nível de proteína na dieta há aumento nos valores de cinzas, lipídios e maciez da carne (ORTIZ et al., 2005). Neste caso evidencia-se a elevação da lipídios no tratamento 1, CONF AVEIA, quando comparado com os tratamentos com dieta volumosa, seja com forragem conservada ou verde, pois foi utilizado o grão de soja com a intenção de ofertar um aporte proteico para os cordeiros, devido suas exigências nutricionais.

A carne com menor teor lipídico é proveniente de animais em pastagem cultivada de azevém, sendo este um sistema alimentar que garante uma carne mais saudável e tão logo de melhor aceitabilidade por questões regionais. Acredita-se que o menor teor lipídico, se dá pelo fato da maior atividade física dos animais em pastagem.

Avaliando a composição química do músculo *Longissimus dorsi* de cordeiros mestiços, criados em regime de pasto Poli et al. (2008) encontraram valores próximos aos deste experimento para umidade (73,8%) e cinzas (1,0%), entretanto, para os teores de proteína (22,0%) identificaram-se superiores e para gordura (3,2%), superior aos animais do pasto, mas inferior aos confinados, deste trabalho. O valor da proteína foi atribuída ao pasto utilizado e a

gordura superior em relação a raça do cruzamento ser Corriedale, porém quando confinados, a raça não é o critério mais importante.

O efeito de diferentes dietas na terminação de cordeiros, sob a qualidade da carne alterou significativamente ($P>0,05$) a maioria dos parâmetros sensoriais, como é mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 – Médias dos atributos sensoriais avaliados pelos julgadores na carne de cordeiros submetidos a sistemas de terminação à base de grãos, forragem verdes ou conservadas

<i>Atributos</i>	<i>Sistemas de Terminação</i>				P>F
	CONF AVEIA	CONF ALFAFA	PASTAGEM (Azevém)	CONF TIF + M	
Cor	3,87±0,16 ^c	4,27±0,16 ^{bc}	5,16±0,13 ^a	4,46±0,14 ^b	**
Odor característico	4,16±0,22 ^b	4,44±0,21 ^{ab}	5,08±0,20 ^a	4,50±0,22 ^{ab}	**
Sabor característico	4,73±0,22	4,96±0,19	5,39±0,20	4,98±0,23	NS
Sabor estranho	2,14±0,29 ^b	2,46±0,29 ^b	2,19±0,29 ^b	4,89±0,29 ^a	**
Sabor à gordura	2,43±0,24 ^b	2,77±0,24 ^{ab}	2,46±0,24 ^b	3,53±0,24 ^a	**
Sabor residual	3,74±0,23 ^b	4,15±0,23 ^b	4,08±0,23 ^b	5,23±0,24 ^a	**
Dureza	3,84±0,23 ^b	4,73±0,23 ^a	4,43±0,23 ^{ab}	3,73±0,23 ^b	**
Suculência	4,27±0,18	4,23±0,19	4,25±0,18	4,19±0,18	NS
Avaliação global	5,01±0,22 ^a	4,68±0,22 ^a	5,19±0,22 ^a	3,31±0,22 ^b	**

**Variação significativa ($P<0,05$). NS = não significativo

Escala não-estruturada de 9 cm (1= menor intensidade; 9= maior intensidade)

Avaliação global: (Soma dos fatores de qualidade que contribuirão na determinação do grau de aceitação do produto). Odor e sabor característicos: característicos à carne ovina.

A cor da carne, apresentou-se mais intensa ($P<0,05$) para os animais em pastagem de azevém. Segundo Font i Furnols et al. (2011) há inúmeras diferenças na coloração da carne de cordeiros entre sistemas de produção, contrastando pastagens exclusivas, suplementação de grãos em pastagem e alimentação exclusiva de grãos, devido a constituição dos alimentos e a presença de carotenoides. Outro fator importante na alteração da coloração da carne deve-se ao fato do exercício realizado pelos animais em pastagem, enquanto os demais permaneceram confinados, não apresentando variações estatísticas. Lawrie (2005) e Gao et al., (2014) descreveram que animais que movimentam-se mais apresentam maiores conteúdos de mioglobina e a hemoglobina, para oxigenação muscular, resultando na alteração da coloração da carne ou de colágeno no músculo, que logo também determinaria a variação da textura da carne, influenciada por exercícios prolongados, alimentação, pH e gordura intramuscular (SAÑUDO; MUELA; CAMPO, 2013).

Em relação ao odor e sabor característico à carne ovina, houve diferença ($P<0,05$) entre tratamentos somente para o odor característico. Estes atributos que denominam “sabor típico

da carne de ovinos'' e que normalmente são de preferências regionais, e são percebidos durante a degustação da carne, estão relacionados a fatores como: idade, processo de castração e composição de ácidos graxos de cadeia ramificada presente no tecido adiposo dos animais (COSTA et al., 2008; RESCONI et al., 2010).

O sistema produtivo no qual os animais são mantidos pode alterar o *flavour* (conjunto de sabores e os odores, este presentes durante o preparo e consumo da carne atuam sobre a percepção sensorial dos consumidores, relacionadas com o grau de aceitabilidade da carne) é percebido de forma mais intensa na carne dos animais mantidos em pastagem de azevém. Schreurs et al. (2008), observaram que o pastejo de forrageiras com elevado teor de proteína também pode alterar a qualidade sensorial da carne de ovinos e a elevada relação entre proteína/carboidratos não fibrosos presente em pastagens frescas estimula a deaminação proteica pelos microrganismos ruminais, resultando na formação de ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada e 3-metilindol (escatol) pela fermentação microbiana no rúmen. Desta forma, os resultados para o odor característico, estão diretamente ligado a dieta de terminação, pois a alimentação com maior intensidade de fibras, oriunda dos fenos, apresenta menor intensidade de odor nas avaliações sensoriais, enquanto o uso de forragens verdes, com menor percentagem de fibras e elevado teor proteico degradável, sugere um atributo de odor mais intenso na avaliação sensorial. Pois as bactérias do rúmen ao degradarem as proteínas, disponibilizam uma maior concentração do amino-ácido triptofano, precursor do escatol (composto volátil, lipossolúvel, produzido na metabolização bacteriana no rúmen) associado à aromas característicos (SCHREURS et al., 2008; YOUNG et al., 2003). Gramíneas como o azevém em fase vegetativa são ricas em proteínas solúveis e são fontes ricas de triptofano, destinado a formação do escatol (SCHREURS et al., 2007).

Os resultados referente aos atributos sabor estranho, sabor à gordura e sabor residual, atributos os quais têm grande relevância na aceitação da carne, foram mais elevados ($P < 0,05$) para a carne dos animais confinados ao pé da mãe e alimentados no CONF TIF + M. Essa distinção entre sabores pode ser explicada pela diferença nas dietas fornecidas aos animais, seja à base de grãos, forragem verdes ou conservadas, que promove diferenciação na produção dos ácidos graxos voláteis pelos microrganismos ruminais e, conseqüentemente, deposição no tecido muscular (COSTA et al., 2008). Os ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR), que salientam o sabor estranho à carne, são provenientes do excesso de propionato no rúmen, que se deposita quando extrapola a metabolização feita pelo fígado (SCHREURS et al., 2008), que em ovinos ocorre diferente dos bovinos (WONG; JOHNSON; NIXON, 1975) e é oriundo das dietas ricas em concentrado e grãos, que neste estudo está representado pelo milho.

O sabor à gordura e gordura residual, apresentados neste trabalho reafirmam os dados da literatura, que animais terminados em pastagem ao pé da mãe apresentam menores teores de gordura (BONACINA et al., 2011; FISHER et al., 2000; MADRUGA et al., 2005; OSÓRIO; OSÓRIO; SANUDO, 2009; SAÑUDO; ENSER; CAMPO, 2000). Animais confinados apresentam diferenças sensoriais percebidas pelos julgadores treinados, em grande parte, resultado da variação do teor de gordura presente na carne. Porém, é na carne com maior conteúdo de gordura que encontra-se a maior maciez e suculência. Carnes macias e com maior intensidade de sabor podem ocorrer em decorrência dos maiores escores de gordura. Portanto, a gordura tende a diluir o tecido conjuntivo dos elementos da fibra muscular na qual está depositada, proporcionando maior maciez (LAWRIE, 2005).

Entre os sistemas de terminação observou-se pequenas diferenças quanto a resistência à mastigação, identificadas pelos julgadores como dureza, esta foi superior para os animais alimentados com forragem conservada de feno de alfafa, seguida pelo pastagem de azevém. Este resultado é confirmado pela espessura de gordura encontrada nas carcaças, onde mediu-se 0,96 mm para os animais alimentados no CONF ALFAFA, seguido de 1,0 mm para os animais em PAS AZEVÉM e 1,5 mm para os animais do CONF TIF+M (dados de outra parte do experimento). De acordo com Bonagurio et al. (2003), os cordeiros em pastejo, apresentam menor quantidade de gordura na carne em comparação, aos confinados, normalmente apresentam constituição muscular mais densa, o que resulta em carne menos macia.

A suculência da carne segue a mesma tendência da maciez, porém os resultados obtidos não foram significativos ($P > 0,05$) entre os distintos tratamentos. A maior suculência está ligado ao maior conteúdo de gordura encontrado na carne. A gordura tem efeito estimulante sobre a salivação, prolongando a sensação de suculência (FISCHER et al., 2000).

Avaliação global é determinada pela aceitabilidade do produto pelos consumidores (KHAN et al., 2015) e é influenciada por fatores como: a espécie, raça, sexo, peso corporal, dieta, tempo de maturação, bem como os compostos aromáticos formados que distinguem o aroma, odor e sabor (*flavour*) são percebidos de forma diferente entre países e culturas, sendo que a percepção ou a aceitabilidade de sabor e odor na carne variam conforme as tradições e costumes das populações (OLIVER et al., 2006; RUBINO et al., 1999; SANUDO et al., 2007).

Embora existam relatos que, a carne produzida em sistemas intensivos seja mais saborosa e suculenta, a preferência por cordeiros criados a pasto, como observado neste trabalho também é relatado por outros pesquisadores (OLIVER et al., 2006; REALINI et al., 2013). Embora alguns trabalhos demonstrem que os sistemas intensivos proporcionem carnes macias e suculentas, deve-se ressaltar que as preferências dos consumidores são definidas por hábitos

regionais. Na Austrália, por exemplo, estudos demonstraram que consumidores estão habituados à carne ovina de animais criados em pastagem (PETHICK et al., 2005), ao contrário da Espanha e França, que o consumidor está habituado as carnes de animais confinados. E portanto é necessário produzir carne para os diferentes mercados.

Contudo, o sistema alimentar em pastagem de azevém configura-se como um sistema de fornecimento de carne de qualidade ao mercado consumidor, devido as boas condições proporcionadas a terminação dos animais bem como pelas características sensoriais e de sustentabilidade. Neste sistema de pastagem de azevém encontrou-se a melhor relação da análise química versus a sensorial, com menor teor lipídico, bom índice proteico, preconizados em carne ovina, coloração vermelha intensa, bem como a carne de maior aceitação, itens decisivo, no mercado consumidor.

4 Conclusão

A carne dos animais em pastagem de azevém destaca-se por apresentar o menor teor de lipídios e ideal teor de proteína para carne ovina.

O odor característico mais intenso está presente na carne dos animais alimentados em pastagem de azevém, enquanto que a carne dos animais confinados com milho tem maior maciez.

A aceitabilidade dos julgadores, comprova a preferência do consumo de carne a pasto.

Referências bibliográficas

BONACINA, M. S. *et al.* Avaliação sensorial da carne de cordeiros machos e fêmeas Texel x Corriedale terminados em diferentes sistemas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 40, n. 8, p. 1758-1766, 2011.

BONAGURIO, S. *et al.* Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês puros e mestiços com Texel abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 32, n. 6, p. 1981-1991, 2003.

CAÑEQUE, V. *et al.* La canal de cordero. *In: PRODUCCIÓN DE CARNE DE CORDERO*, 1989, México. **Anais** [...]. México: Ministério de Agricultura, pesca y Alimentación, 1989. p. 367-436.

COSTA, R. G. *et al.* Carne caprina e ovina: composição lipídica e características sensoriais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, [Salvador], v. 9, n. 3, p. 497-506, 2008.

CRUZ, B. C. C. *et al.* Avaliação e composição centesimal e as características físico-químicas da carne de ovinos. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 147-162, fev. 2016.

FARIA, P. B. *et al.* Meat quality and lipid profiles in crossbred lambs finished on clover-rich pastures. **Meat Science**, [s.l.], v. 90, n. 3, p. 733-738, 2012.

FISHER, A. V. *et al.* Fatty acid composition and eating quality of lamb types derived from four diverse breed x production systems. **Meat Science**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 141-147, jun. 2000.

FONT I FURNOLS, M. *et al.* Consumer's purchasing intention for lamb meat affected by country of origin, feeding system and meat price: a conjoint study in Spain, France and United Kingdom. **Food Quality and Preference**, [s.l.], v. 22, n. 5, p. 443-451, 2011.

GAO, X. *et al.* Influence of different production strategies on the stability of color, oxygen consumption and metmyoglobin reducing activity of meat from Ningxia Tan sheep. **Meat Science**, [s.l.], v. 96, n. 2, p. 769-774, 2014.

GUERRERO, A. *et al.* Some factors that affect ruminant meat quality: from the farm to the fork. Review. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 35, n. 4, p. 335-347, 2013.

JÚAREZ M. *et al.* Estimation of factors influencing fatty acid profiles in light lambs. **Meat Science**, Oxford, v. 79, p. 203-210, 2008.

LAWIRE, R. A. **Ciência da Carne**. Trad. Jane Maria Rubensam. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384p.

MADRUGA, M.S. *et al.* Qualidade das carne de cordeiros Santa Inês terminados com diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 34, n. 1, p. 309-315, 2005.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 1999. 416p.

NRC. National Research Council. **Nutrient requeriments of small ruminants**. 7th ed. Washington: National Academic Press, 2007.

OLIVER, M. A. *et al.* Eating quality of beef, from different production systems, assessed by German, Spanish and British consumers. **Meat Science**, Oxford, v.74, p. 435-442, 2006.

ORTIZ, J. S. *et al.* Medidas objetivas das carcaças e composição química do lombo de cordeiros alimentados e terminados com três níveis de proteína bruta em creep feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 34, n. 6, p. 2382-2389, 2005.

OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; SANUDO, C. A Características sensoriais da carne ovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 292-300, 2009. (supl. Especial).

POLI, C. H. E. C. *et al.* Produção de ovinos de corte em quatro sistemas de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 4, p. 666-673, 2008.

PRACHE, S. *et al.* Comparison of meat and carcass quality in organically reared and conventionally reared pasture-fed lambs. **Animal**, [s.l.], v. 5, n. 12, p. 2001-2009, 2011.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise sensorial para avaliação da qualidade dos alimentos**. 1. ed. Rio Grande: Editora FURG, 2006. 268 p.

REALINI, C. E. *et al.* Spanish, French and British consumers' acceptability of Uruguayan beef, and consumers' beef choice associated with country of origin, finishing diet and meat price. **Meat Science**, [s.l.], v. 95, n. 1, p. 14-21, 2013.

RESCONI, V. C. *et al.* Relationship between odour-active compounds and flavour perception in meat from lambs fed different diets. **Meat Science**, [s.l.], v. 85, n. 4, p. 700-706, 2010.

SAÑUDO, C.; MUELA, E.; CAMPO, M. M. Key factors involved in lamb quality from farm to fork in Europe. **Journal of Integrative Agriculture**, [s.l.], v. 12, n. 11, p. 1919-1930, 2013.

SAÑUDO, C.; ENSER, M. E.; CAMPO, M. M. Fatty acid composition and sensory characteristic of lamb carcasses from Britain and Spain. **Meat Science**, [s.l.], v. 54, n. 4, p. 339-346, 2000.

SCHREURS, N. M. *et al.* Concentration of indoles and other rumen metabolites in sheep after a meal of fresh white clover, perennial ryegrass or Lotus corniculatus and the appearance of 69 indoles in the blood. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 87, p. 1042-1051, 2007.

SCHREURS, N. M. *et al.* Pastoral flavour in meat products from ruminants fed fresh forages and its amelioration by forage condensed tannins. **Animal Feed Science Technology**, [s.l.], v. 146, p. 193-221, 2008.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Quantitative descriptive analysis: developments, applications, and the future. **Food Technology**, [s.l.], v. 52, n. 8, p. 48-52, 1998.

WONG, E.; JOHNSON, C. B.; NIXON, L. N. The contribution of 4-methyloctanoic (hircinic) acid to mutton and goat meat flavor. **New Zealand Journal Agricultural Research**, Wellington, v. 18, n. 3 p. 261-266, 1975.

YOUNG, O. A. *et al.* Pastoral and species flavor in lamb raised on pasture, Lucerne or maize. **Journal of the Science Food and agriculture**, Easton, v. 38, p. 93-104, 2003.

ZEOLA, N. M. B. L. *et al.* Composição centesimal da carne de cordeiros submetidos a dietas com diferentes teores de concentrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 253-257, jan./fev. 2004.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As diferentes fontes alimentares são detectadas nos tecidos analisados, coletados de cordeiros e a partir dos resultados encontrados ficou claro a viabilidade da análise de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio. A busca por alimentação saudável, garantias de origem, aumentam a demanda por ferramentas como os isótopos estáveis, que destacam-se nas pesquisas de rastreabilidade e certificação de alimentos, auxiliando na garantia da qualidade.

Estas análises podem ser utilizadas para complementar os programas de rastreabilidade animal, proporcionam suporte científico, geram respostas seguras, pois os diversos tecidos completam os diferentes tempos de respostas.

Este estudo de *turnover* utilizou as variações naturais do ^{13}C e ^{15}N dos alimentos demonstrando a velocidade de troca do carbono e nitrogênio tecidual a partir da ingestão de alimentos com razões isotópicas distintas.

A análise dos isótopos estáveis está sendo utilizada em pesquisas de diversas áreas. No entanto, sua utilização como ferramenta aplicada em estudos com animais ruminantes é recente e, por este motivo, outros estudos são necessários para contribuir com o desenvolvimento desta técnica. Contudo à utilização da técnica dos isótopos como ferramenta para auxiliar no processo de rastreabilidade e certificação de produtos de origem animal, o presente estudo apresentou resultados satisfatórios.

A qualidade da carne dos animais em resposta ao uso de plantas C3 e C4, evidencia que a pastagem de azevém destaca-se por apresentar o menor teor de lipídios e teor de proteína preconizado para o consumo de carne ovina. Sendo a carne produzida a pasto o destaque na aceitação de consumidores, o que leva a crer que o consumo está ligado as tradições culturais do sul do Brasil e atende ao mercado exigente, que busca produtos saudáveis e sustentáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAHAR, B. et al. Alteration of the carbon and nitrogen stable isotope composition of beef by substitution of grass silage with maize silage. **Rapid Communications Mass Spectrometry**, v. 19, p. 1937-1942, 2008.
- BOUTTON, T. W. Stable carbon isotope ratios of soil organic matter and their use as indicators of vegetation and climate change. In: BOOTTON, T. W.; YAMASAKI, S. I. (Ed.). **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, p. 47-82, 1996.
- CAÑEQUE, V. et al. **Producción de carne de cordero**. Madrid: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentacion, 1989. 520p.
- CARVALHO, M. A. F. et al. **Arroz C4: desafios e perspectivas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012.
- CHEN, T. et al. Recent developments in the application of technology in agrofood quality and safety control in China. **Food Control**, v. 72, p. 306-312, 2017.
- COATES, D. B.; SCHACHENMANNAND, P.; JONES, R. J. Reliability of extrusa samples collected from steers fistulated at the oesophagus to estimate the diet of resident animals in grazing experiments. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 27, n. 6, p. 739-745, 1987.
- CRAIG, H. Isotopic variations in meteoric water. *Science*, v. 133, n. 3465, p. 1702-1703, 1961.
- CRISS, R. E. **Principles of stable isotope distribution**. New York: Oxford University Press, 1999. 254p.
- DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Disciplina: Aplicação de Isótopos Estáveis Ambientais. [S.l.]: Programa de Pós-graduação em Zootecnia, FMVZ/UNESP, 2007. 204p. (Apostila).
- DUCATTI, C. et al. Utilização de isótopos estáveis em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 68-75, 2011. (Suplemento especial).
- ERASMUS, S. W. et al. Stable isotope ratio analysis: a potencial analytical tool for authentication of South African lamb meat. **Food Chemistry**, v. 192, p. 997-1005, 2016.
- FRY, B. et al. Grasshopper food web analysis: use of carbon isotope ratios to examine feeding relationships among terrestrial herbivores. **Ecology**, New York, v. 59, n. 3, p. 498-506, 1978.
- GONZÁLEZ MARTIN, I. et al. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine. **Meat Science**, v. 52, n. 4, p. 437-441, 1999.
- GUO, B. L. et al. Stable C and N isotope ratio analysis for regional geographical traceability of cattle in China. **Food Chemistry**, v. 118, n. 4, p. 915-920, 2010.

KENNEDY, B. V.; KROUSE, H. R. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. **Canadian Journal Physiology and Pharmacology**, v. 68, n. 7, p. 960-972, 1990.

LAJTHA, K.; MARSHALL, J. D. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: LAJTHA, K.; MICHENER R. H. **Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science**. London: Blackwell Scientific Publications, 1994. p. 1-21.

LUDLOW, M. M.; TROUGHTON, J. H.; JONES, R. J. A technique for determining the proportion of C3 and C4 species in plant samples using stable natural isotopes of carbon. **Journal Agricultural Science**, v. 87, n. 3, p. 625-632, 1976.

MACIEL, M. V. et al. Métodos avaliativos das características qualitativas e organolépticas da carne de ruminantes. **Revista Verde**, v. 6, p. 17-24, 2011.

MANCA, G. et al. Characterization of the geographical origin of Pecorino Sardo cheese by casein stable isotope ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) ratios and free amino acid ratios. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1404-1409, 2001.

MARTINS, M. B. **Turnover de carbono e a preferência alimentar de ovelhas por isótopos estáveis**. 2010. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

MARTINS, C. A. **Efeito do pH final sobre a qualidade da carne de bovinos da raça Nelore**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica – Produção Animal) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

MARTINS, M. B. **Isótopos estáveis de carbono em estudo com bovinos de corte em pastejo, suplementados no período da seca**. 2014. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

NERES, M. A. et al. Forma física da ração e pesos de abate nas características da carcaça de cordeiros em creep feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 948-954, 2001.

NORMAN, H. C. et al. Stable carbon isotopes accurately predict diet selection by sheep fed mixtures of C3 annual pastures and saltbush or C4 perennial grasses. **Livestock Science**, v. 121, p. 162-172, 2009.

OSÓRIO, J. C. S. et al. **Qualidade, morfologia e avaliação de carcaça**. Pelotas: UFPEL, 2002. 194p.

PAL, D.; SACHDEVA, S. SINGH, S. Methods for determination of sensory quality of foods: a Critical. **Journal of Food Science Technology**, v. 32, n. 5, p. 357-367, 1995.

PERDIGÃO, A. **Rastreabilidade de sistemas produtivos de bovinos pela análise de isótopos estáveis**. 2017. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

PIASSENTIER, E. et al. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. **Meat Science**, v. 64, p. 239-247, 2003.

PINHEIRO, R. S. B. et al. Características sensoriais da carne de ovinos de diferentes categorias. In: REUNIÃO NACIONAL DE ENSINO DE ZOOTECNIA, 12., 2006, Pernambuco. **Anais...** Pernambuco: Zootec, 2006.

PINHEIRO, R. S. B. et al. Características sensoriais da carne de cordeiros não castrados, ovelhas e capões. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, p. 787-789, 112008.

PIRES, C. C.; SILVA, L. F.; SANCHEZ, L. M. B. Composição corporal e exigências nutricionais de energia e proteína para cordeiros em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 853-860, 2000.

PRACHE, S. et al. Discrimination of pasture-fed from lambs fed dehydrated alfalfa indoors using different compounds measured in the fat, meat and plasma. **Animal**, v. 3, n. 4, p. 598-605, 2009.

RENOU, J. P. et al. Characterization of animal products according to geographic origin and feeding diet using nuclear magnetic resonance and isotope ratio mass spectrometry: cow milk. **Food Chemistry**, v. 85, p. 63-66, 2004.

RIPOLL, G.; ALBERTÍ, P.; JOY, M. Influence of alfalfa grazing-based feeding systems on carcass fat colour and meat quality of light lambs. **Meat Science**, v. 90, p. 457-464, 2012.

SALES, R. O. et al. Concentration of α -Tocopherol in the Lamb Meat Fed Diets Containing Sunflower Seeds and Vitamin E. **Journal of Animal Production Advances**, v. 2, n. 5, p. 239-246, 2012.

SHIBUYA, E. K. et al. Souring Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, Lausanne, v. 160, p. 35-43, 2006.

SOUZA-KRULISKI, C. R. et al. Estudo de adulteração em méis brasileiros através de razão isotópica do carbono. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 434-439, 2010.

SPONHEIMER, M. et al. An experimental study of carbon-isotope fractionation between diet, hair and feces of mammalian herbivores. **Canadian Journal of Zoology**, Toronto, v. 81, n. 5, p. 871-876, 2003.

ZHAO, Y. et al. Recent developments in application of stable isotope analysis on agro-product authenticity and traceability. **Food Chemistry**, v. 145, p. 300-305, 2014.

WERNER, R. A.; SCHIMIDT, H. L. The in vivo nitrogen isotope discrimination among organic plant compounds. **Phytochemistry**, v. 61, p. 465-784, 2002.

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DA UFSM



Comissão de Ética no Uso de Animais

da

Universidade Federal de Santa Maria

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Isótopos Estáveis para Traçabilidade e Qualidade da carne de cordeiros", protocolada sob o CEUA nº 7118230616, sob a responsabilidade de **Cleber Cassol Pires e equipe; Ana Maria Osorio Dias** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM) na reunião de 13/10/2016.

We certify that the proposal "Stable Isotope for Traceability and Quality of lamb meat", utilizing 32 Ovines (32 males), protocol number CEUA 7118230616, under the responsibility of **Cleber Cassol Pires and team; Ana Maria Osorio Dias** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM) in the meeting of 10/13/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2016** a **12/2016**

Área: **Zootecnia**

Origem: **Não aplicável biotério**

Espécie: **Ovinos**

sexo: **Machos**

idade: **1 a 150 dias**

N: **32**

Linhagem **Texel x Ile de France**

Peso: **4 a 30 kg**

Resumo: Este projeto tem como objetivo identificar o tipo de dietas fornecidas aos cordeiros através de técnicas de isótopos estáveis, in vivo e pós morte e as relações sobre a qualidade da carne. O experimento será realizado nas dependências do Laboratório de Ovinocultura da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Serão utilizados 32 cordeiros distribuídos em 2 experimentos. No experimento 1 serão utilizados dezesseis cordeiros machos, não-castrados ao pé da mãe, distribuídos em dois tratamentos com oito repetições: PAS- pastagem cultivada de inverno (azevém - *Lolium multiflorum*), caracterizando a alimentação do tipo C3 e CONF- Animais confinados recebendo Feno de Tifton (*Cynodon spp.*) à vontade e mais concentrado de milho (*Zea mays*), como alimentação C4, na proporção de 1,5% do peso vivo para as ovelhas e à vontade para os cordeiros. No experimento 2 serão utilizados 16 cordeiros machos, não-castrados, desmamados aos 45 dias de idade, com média de 18 kg, distribuídos em dois tratamentos com oito repetições: AVEIA- concentrado de Aveia (*Avena sativa*) e ALFAFA- volumoso de feno de alfafa (*Medicago sativa*), ambos alimentos de ciclo C3. Os animais serão alocados em 4 baias coletivas de um aprisco coberto, com piso de madeira ripada e providas de fenil, comedouros e bebedouros. O fornecimento do feno e concentrado serão à vontade, para os cordeiros e serão abatidos ao atingir em média 30 kg de peso vivo. A identificação das dietas pela técnica de isótopos estáveis de carbono (^{13}C) serão determinados através das análises das fezes, lã, sangue a cada 14 dias de coletas. Após os abates será realizada as análises quantitativas e qualitativas da carcaça, que compreende pH, conformação, estado de engorduramento, medidas da carcaça, área de olho de lombo, textura, marmoreio e cor, assim como na carne que será realizado as análises físico-químicas, perfil de

ácidos graxos e análise sensorial de consumidores da carne ovina. O delineamento experimental utilizado será o inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo.

Local do experimento: Laboratório de Ovinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria

Santa Maria, 25 de outubro de 2016



Profa. Dra. Daniela Bitencourt Rosa Leal
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria



Prof. Dr. Denis Broock Rosemberg
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria