

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

**POTENCIAL DA TÉCNICA DOS ISOTÓPOS ESTÁVEIS PARA  
CARACTERIZAÇÃO DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE  
BOVINOS DE CORTE EM CONDIÇÕES TROPICAIS**

**LUIZ CARLOS VIEIRA JÚNIOR**

Tese apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Zootecnia como parte das  
exigências para obtenção do título de  
Doutor.

BOTUCATU - SP

Agosto – 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

**POTENCIAL DA TÉCNICA DOS ISOTÓPOS ESTÁVEIS PARA  
CARACTERIZAÇÃO DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE  
BOVINOS DE CORTE EM CONDIÇÕES TROPICAIS**

**LUIZ CARLOS VIEIRA JÚNIOR**

**Zootecnista**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. MÁRIO DE  
BENI ARRIGONI**

**CO-ORIENTADORA: Prof. Dr. CYNTHIA  
LUDOVICO MARTINS**

Tese apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Zootecnia como parte das  
exigências para obtenção do título de  
Doutor.

BOTUCATU - SP

Agosto – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

V658p Vieira Júnior, Luiz Carlos, 1985-  
Potencial da técnica dos isótopos estáveis para caracterização de diferentes sistemas de produção de bovinos de corte em condições tropicais / Luiz Carlos Vieira Júnior.  
- Botucatu : [s.n.], 2013  
iv, 54 f. : tabs., grafs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013

Orientador: Mário De Beni Arrigoni  
Inclui bibliografia

1. Bovino de corte. 2. Produção animal. 3. Pastagens. 4. Carbono - Isótopos. 5. Nitrogênio - Isótopos. 6. Oxigênio - Isótopos. I. Arrigoni, Mário De Beni. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grato a Deus pela saúde, por me livrar dos acidentes nas estradas, por me dar forças e iluminar meus caminhos.

Agradeço minha mãe, Dalva. Foi a pessoa que mais me apoiou, que mais me deu garra pra concretizar mais esse ciclo de vida.

Agradeço a toda minha família...meu porto seguro!!!!

A todos os amigos do estado do Mato Grosso!!!

A todos os amigos do estado de São Paulo!!!

Especialmente, tenho que agradecer ao Marco Aurélio, Cristiano, João Paulo, Felipe Azevedo, Rafael Cunha...Esses foram os amigos mais próximos e mais presentes durante meus 3 anos em Botucatu! Obrigado a vocês!!!

Ao Prof. Mário De Beni Arrigoni pela oportunidade do Doutorado e também a minha Co-orientadora, Cyntia Ludovico Martins.

Ao Prof. Carlos Ducatti e o Centro de Isótopos Estáveis, pelas análises isotópicas.

Aos professores, André Mendes Jorge, Roberto Roça, Danilo Millen, Paulo Roberto Meirelles, Rodrigo Lauritano Pacheco e Ciniro Costa pelos ensinamentos...Sempre me trataram muito bem!

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Claudemir, Ney e Cido, funcionários do Confinamento Experimental, pela ajuda na condução do experimento.

Aos alunos de graduação, Felipe Pelicia, Marina César.

Aos colegas da Pós-Graduação, Caroline Franzói, Alexandre Perdigão, Robson, Luis Marcelo, Vitão, Thiago Martins, Adnan, Cauê, Nelsinho, Francieli, Marina. Vania, Cetona, João Ricardo, Fernando Parra, Janaína, Vivian, Daniella Amapô...obrigado!!!

Aos amigos, Edvar, Arleneo, Demarchi e Paulinha.

Débora Galhardo, muito obrigado!

A todos que contribuíram de alguma forma por mais essa etapa conquistada.

**A minha doce e querida mãe, Dalva Dias Vieira.**

**DEDICO.**

## SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1.....	01
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	02
Conceituação dos isótopos estáveis.....	03
Isótopos de Carbono.....	04
Isótopos de Nitrogênio.....	05
Isótopos de Oxigênio.....	06
Análises dos isótopos estáveis x discriminação de dietas.....	07
Análises dos isótopos estáveis x autenticação de produtos de origem animal.....	08
Isótopos estáveis x origem geográfica.....	09
Referências .....	11
 CAPÍTULO 2.....	 15
DIFERENCIAÇÃO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE PELA TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS: SANGUE E PLASMA .....	 16
Resumo.....	16
Abstract.....	17
Introdução.....	18
Material e Métodos.....	19
Discriminação dos animais e das fazendas de origem.....	19
Dieta, manejo e cuidados com os animais.....	20
Amostragem, procedimentos e análises isotópicas.....	22
Análises estatística.....	24
Resultados e Discussão.....	24
Conclusões.....	28
Referências.....	29
 CAPÍTULO 3.....	 30

DIFERENCIAÇÃO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE PELA TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS.....	31
Resumo.....	31
Abstract.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	34
Discriminação dos animais e das fazendas de origem.....	34
Dietas, manejo e cuidados com os animais.....	35
Amostragem das dietas e músculos.....	38
Procedimentos e análises isotópicas .....	38
Análises estatísticas.....	39
Resultados e Discussão.....	39
Conclusões.....	49
Referências.....	50
CAPÍTULO 4.....	53
IMPLICAÇÕES.....	54

## **CAPÍTULO 1**



## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A demanda de carne bovina de qualidade no mercado mundial é crescente. A possibilidade de que sejam atingidos novos e promissores mercados consumidores tornar-se viável à modernização dos sistemas de produção e certificação dos mesmos (FELÍCIO, 2001).

Diversidades climáticas, problemas sociais tais como questões salariais e avanços nos meios de transportes, favorecem de certa forma o intercambio comercial de alimentos (BONER e FORSTEL, 2004). Desta maneira, regiões tradicionalmente produtoras e com preços acessíveis ao mercado, se deslumbram com a possibilidade de incrementarem suas exportações. Entretanto, estas vantagens comerciais são neutralizadas por ocorrências, como o caso do mal da vaca louca e febre aftosa.

Nesta ocasião, tem sido relevante a pressão exercida por países tidos como desenvolvidos pela busca de informações claras sobre os fatores ligados aos sistemas produtivos de herbívoros, especialmente sobre os alimentos fornecidos aos animais. (PRACHE, 2009). Porém, barreiras sanitárias por vezes são inadequadamente utilizadas ou tem seu sentido maquiado, preconizando finalidades políticas-comerciais.

O Brasil na condição de maior produtor comercial de carne bovina do mundo deve ter como obrigação não mais ser “refém” de marcos regulatório, quando estes forem fundamentados basicamente em interesses econômicos..

Assim, entidades comerciais e órgãos de pesquisas têm procurado desenvolver metodologias confiáveis, a fim de avaliar e certificar produtos, considerando, além de aspectos sanitários e de bem estar animal, a origem alimentar dos animais.

Neste contexto, a técnica dos Isótopos Estáveis pode ser visualizada como uma ferramenta visando à autenticidade dos alimentos, particularmente onde metodologias analíticas convencionais não podem prever resultados totalmente seguros.

Os isótopos estáveis foram usados inicialmente em estudos geológicos e arqueológicos. Atualmente existem mais que 2500 diferentes isótopos conhecidos em 110 elementos químicos diferentes com 264 isótopos estáveis (CRISS, 1999). Na área biológica e disciplinas afins, os principais elementos químicos de interesse são os bioelementos CHON'S, os quais fazem parte da estrutura de carboidratos, lipídeos, proteínas, aminoácidos, ácidos nucléicos (DNA, RNA).

Nas últimas décadas, estão sendo aplicados de forma crescente e contínua em pesquisas agrícolas e ecológicas, bem como nos estudos de digestibilidade e metabolismo humano e animal. Estas investigações demonstraram que as composições isotópicas dos tecidos de animais dependem principalmente da alimentação, da água ingerida e dos gases inalados. Associado a isto, os efeitos dos isótopos estão ligados aos processos metabólicos (KENNEDY & KROUSE, 1990).

### Conceituação dos Isótopos Estáveis

O termo isótopo vem do grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato que são elementos que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. Os isótopos são átomos do mesmo elemento químico, que possuem o mesmo número de prótons e diferentes números de nêutrons, conseqüentemente apresentando diferentes massas. Por possuírem sua camada eletrônica igual, ou seja, com o mesmo número de elétrons, pode-se dizer que os isótopos 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 então, serem utilizados sem riscos a saúde e ao ambiente.

A nomenclatura isotópica se expressa por  ${}^A_ZX$ , na qual,  $X$  representa o elemento químico,  $A$  reflete o número de massa em unidades de massa atômica e  $Z$  o número de prótons, de modo que  $A = Z + N$ , onde  $N$  representa o número de nêutrons.

O elemento químico carbono, por exemplo, (Tabela 1), apresenta somente dois isótopos estáveis,  ${}^{12}_6C$  e  ${}^{13}_6C$ , sendo que o Carbono-12 é o mais leve e o mais abundante entre eles, e os dois diferem pela existência de um nêutron a mais no núcleo. As moléculas isotópicas  ${}^{12}CO_2$  e  ${}^{13}CO_2$  não são diferenciadas pelas membranas biológicas de origem vegetal ou animal, ou seja, a pequena sutileza escondida no núcleo (nêutron a mais) não é detectada, tornando o isótopo estável do Carbono-13 excelente traçador a nível de variação natural ou compostos enriquecidos, o que é extensivo para os demais bioelementos.

Atualmente existem mais que 2500 diferentes isótopos conhecidos em 110 elementos químicos diferentes com 264 isótopos estáveis (CRISS, 1999). Na área

biológica e disciplinas afins, os principais elementos químicos de interesse são os bioelementos CHON'S, os quais fazem parte da estrutura de carboidratos, lipídeos, proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos (DNA, RNA).

Os isótopos estáveis dos bioelementos são analisados na forma gasosa por espectrometria de massa de razão isotópica (IRMS), no qual a amostra é analisada contra um padrão internacional específico para cada elemento, com erro analítico da ordem de 0,2‰ (per mil), 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 e dividir a expressão por 1000, obtendo-se a terminologia em delta per mil (‰).

### **Isótopos de carbono**

Os valores isotópicos do carbono-13 são expressos em termos do padrão internacional, Peedee Belemnite (PDB). Segundo Friedman & O'Neill (1977), o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono. 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). No Centro de Isótopos Estáveis Ambientais da UNESP/Botucatu é utilizado como padrão de trabalho (sub-padrão), uma rocha carbonatada (mármore) com alta pureza em calcita. A notação utilizada é em delta per mil da razão isotópica do carbono-13 do produto em relação ao padrão internacional definido (DUCATTI et al., 1979).

A fonte primária do carbono para as plantas terrestres é o CO<sub>2</sub> atmosférico, o qual tem valor de  $\delta^{13}\text{C}$  de aproximadamente -7,7‰ (KENNEDY & KROUSE, 1990). Esse carbono sofre discriminação isotópica ao longo do processo de fotossíntese. O termo discriminação isotópica indica enriquecimento ou empobrecimento isotópico relativo do produto em relação à fonte precursora.

De acordo com o ciclo fotossintético, as plantas podem ser classificadas, na sua maioria, em dois grupos principais: plantas C<sub>3</sub> (arroz, leguminosas, trigo, cevada, hortaliças, beterraba, mandioca, algodão, alfafa, soja, feijão, frutíferas em geral,

gramíneas temperadas, entre outros) e C<sub>4</sub> (cana de açúcar, milho, gramíneas tropicais, entre outras).

Em plantas C<sub>3</sub> o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  varia de -22 a -34 ‰, e nas C<sub>4</sub> este valor encontra-se na faixa de -9 e -16 ‰ (VOGEL, 1993; BOUTTON, 1996). A diferença entre estes valores ocorre devido às distintas rotas bioquímicas na produção de carboidratos, pois, plantas C<sub>3</sub> desde o estágio inicial (estômatos) até a formação dos compostos de carbono incorporam mais <sup>12</sup>C do que <sup>13</sup>C. Esta preferência ou discriminação isotópica pelas moléculas <sup>12</sup>CO<sub>2</sub>, isótopo estável leve, é muito maior nas plantas C<sub>3</sub> do que nas plantas C<sub>4</sub>. Logo, plantas C<sub>3</sub> são em média – 14,4‰ mais leves do que plantas C<sub>4</sub>.

O contraste existente na relação isotópica de <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C das plantas de ciclo fotossintético C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> é que tem possibilitado estudos na área de nutrição e metabolismo animal, utilizando como marcador o <sup>13</sup>C e sua concentração natural nos alimentos (DUCATTI, 2007). Devido ao fato das plantas serem fonte de alimento aos animais, a “impressão digital isotópica” destas fontes será refletida nos tecidos específicos dos animais, após certo tempo de metabolismo (DENIRO & EPSTEIN, 1978; GANNES et al., 1998), possibilitando evidenciar as dietas a partir da análise isotópica nos tecidos (DUCATTI, 2007).

O principal elemento considerado na análise do diagnóstico alimentar é o carbono. Entretanto, a complexidade na interpretação dos valores isotópicos sobre as possíveis fontes alimentares sugere a necessidade de complementação com outros isótopos como o nitrogênio (FRY & SHERR, 1984).

### **Isótopos de nitrogênio**

Para os isótopos estáveis do nitrogênio, o padrão internacional é o nitrogênio do ar atmosférico, o qual é considerado mistura isotópica homogênea na superfície terrestre. Os valores isotópicos de nitrogênio-15 (<sup>15</sup>N) também são expressos, na notação delta per mil da razão isotópica <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N do produto em relação ao padrão internacional.

Diferentemente do carbono, a razão isotópica <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N nas plantas não depende do ciclo fotossintético realizado e sim, conforme o modo de fixação. Entretanto, mesmo

a atmosfera sendo abundante em  $N_2$ , somente as plantas que possuem bactéria fixadora de nitrogênio consegue fixá-lo do ar. As demais plantas o fixam através da incorporação de compostos nitrogenados do solo. Na maioria das leguminosas, por realizar simbiose com micorrizas, o valor de  $^{15}N$  varia ao redor de uma unidade, próximo ao padrão ( $^{15}N = 0,0 \pm 1,0\text{‰}$ ) (HANDLEY & RAVEN, 1992; WERNER & SCHIMIDT, 2002). O  $^{15}N$  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 (CHOI et al., 2002). Se absorvido da matéria orgânica decomposta, o valor do  $\delta^{15}N$  é mais significativo, ao redor de  $10\text{‰}$  (SHIBUYA et al., 2006). Contrariamente, valores negativos são observados em solos com baixa porcentagem de matéria orgânica em particular solos secos e arenosos, ou que são fertilizados com adubos industriais. Conforme Yoneyama (1996), adubos nitrogenados utilizados na agricultura possuem valores de enriquecimento relativo para  $^{15}N$  próximo a  $0\text{‰}$ , isto porque a fonte de nitrogênio utilizada pelas indústrias para a fabricação de adubo é o nitrogênio atmosférico.

### **Isótopos de oxigênio**

Para os isótopos estáveis de oxigênio, o padrão internacional podem ser o V-PDB ou V-SMOW (DUCATTI, 2007).

Avaliações dos isótopos de Oxigênio são aplicadas em estudos que visam determinar a caracterização da origem geográfica. Estudos já realizados reportaram que o conteúdo de  $^{18}O$  e  $^2H$  na água consumida pelos animais, exhibe estreita correlação com aqueles encontrados nos produtos animais, tais como leite, manteiga e queijo (MANCA et al., 2001). Esta transferência isotópica tem sido base para ecologistas na determinação do padrão migratório de pássaros (WASSENAAR & HOBSON, 2001).

Isto está relacionado ao fato de tais isótopos estarem sujeito a processos de fracionamento como evaporação, condensação e precipitação que estão, todavia atrelados à dependência da latitude. Pois, a evaporação das águas do oceano reduz a concentração dos isótopos pesados na água das nuvens comparadas com aquelas do mar. Como as nuvens se movem em direção ao continente e atingem latitude e altitude superiores, ocorre redução na temperatura que atrelada a novos eventos de evaporação,

condensação e precipitação, ocasionam a supressão dos valores isotópicos na água das chuvas (CRAIG, 1961).

Sendo assim, a água subterrânea reflete as mudanças no gradiente isotópico (DANSGAARD, 1964). Logo, a água ingerida pelos animais pode repercutir tal sinal isotópico. Ainda, a composição isotópica do hidrogênio nos tecidos vegetais, reflete não apenas a água absorvida, mas também é resultado dos efeitos resultantes da evaporação, difusão durante a transpiração e troca isotópica entre moléculas orgânicas e água da planta (BARBOUR et al. 2005).

### **Análise dos isótopos estáveis x Discriminação de dietas**

Os isótopos estáveis já vêm sendo utilizados há várias décadas em estudos com animais ruminantes. Isto se deve ao fato dos valores isotópicos determinados terem como base os alimentos assimilados e não apenas os alimentos ingeridos. Portanto, permite a obtenção de informações de dietas consumidas recentemente ou até mesmo aquelas que foram fornecidas no período inicial da vida dos animais (HOBSON & CLARK, 1992).

Ludlow et al. (1976) propuseram uma técnica para determinação das proporções de espécies de plantas  $C_3$  e  $C_4$  na dieta dos animais. A técnica baseou-se no fato de que no processo fotossintético, o  $^{13}C$  do  $CO_2$  atmosférico sofre discriminação isotópica em relação ao total de carbono, quando integrado aos tecidos das plantas. No caso de plantas que possuem a via fotossintética do ácido carboxílico ( $C_4$ ) a abundância isotópica do  $^{13}C$  chega aproximadamente -12 a -14 ‰ enquanto que em plantas do ciclo de Calvin ( $C_3$ ), os valores se situam próximos de -26 a -28 ‰. Posteriormente, Lourenço et al., 1984 estudaram o grau de seletividade da dieta em vacas leiteiras, mantidas em pastos de gramínea e leguminosa, através do  $\delta^{13}C$  determinado nas fezes, leite e sangue. Piasentier et al., (2003), analisou além do isótopos  $^{13}C$  o  $^{15}N$  e reportaram que os valores para o  $^{15}N$ , podem ter sofrido interferência em função do tipo de solo, possível presença de plantas leguminosas na dieta e ainda ser oriunda dos próprios fatores metabólicos do animal.

### **Análise dos isótopos estáveis x Autenticação de produtos de origem animal**

Bahar et al. (2005) com o intuito de testar a técnica dos isótopos no sistema de rastreabilidade para autenticação de produtos de origem animal, estudaram as alterações na composição dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio no músculo de bovinos. Concluíram que a composição desses isótopos no músculo estudado alterou consideravelmente, devido à substituição da silagem de capim (C<sub>3</sub>) pela silagem de milho (C<sub>4</sub>) na dieta de bovinos de corte. No entanto, o tecido muscular estudado mostrou não ser adequado para mudanças curtas e recentes de dietas, pois os autores verificaram que após 167 dias de experimento, o *turnover* do tecido não tinha sido completo, refletindo o  $\delta^{13}\text{C}$  da antiga dieta.

Knobbe et al. (2006) estudaram as razões isotópicas de carbono e nitrogênio no leite e urina de vacas sob diferentes regimes alimentares, e encontraram valores estáveis do  $\delta^{13}\text{C}$  do leite e da urina 10 dias após o início da mudança de dieta de C<sub>4</sub>/C<sub>3</sub> para C<sub>3</sub>. Após mudança da alimentação de C<sub>3</sub> para C<sub>4</sub>/C<sub>3</sub>, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  foram alcançados em 6 dias.

Estes estudos comprovam que a escolha do tecido ou órgão animal no estudo de para autenticação de produtos, influencia nas conclusões sobre a dieta, pois tecidos com rápido metabolismo indicam dietas recentes, enquanto aqueles com taxa de substituição lenta indicam alimentos ingeridos anteriormente.

A técnica dos isótopos também pode ser utilizada em processos de autenticação e certificação do leite, como um complemento para os processos de certificação já existentes.

Molkentin (2009) estudou a associação do isótopo de carbono e do ácido  $\alpha$ -Linolênico presentes na gordura do leite, para verificar sua aplicabilidade como indicadores na autenticação do leite orgânico na Alemanha. A princípio os valores para a identificação do leite orgânico alemão foram estabelecidos, para assim, delimitar quase todas as amostras de leite convencional. Pelos resultados obtidos, o autor conseguiu diferenciar o leite orgânico alemão do convencional. Haja vista, que o leite orgânico produzido na Alemanha é proveniente de animais cuja dieta é baseada em forrageiras do ciclo fotossintético C<sub>3</sub>. Assim, o fornecimento de milho (C<sub>4</sub>) foi o que possibilitou diferenciar o leite orgânico do convencional.

Porém, se esta mesma pesquisa fosse executada nas condições brasileiras, provavelmente não haveria diferença para o sinal isotópico do elemento Carbono, entre leite orgânico e convencional. Pois, a grande maioria das forrageiras cultivadas no Brasil, realiza a via  $C_4$  em seu ciclo fotossintético.

A análise da razão isotópica de apenas um elemento, pode não ser suficiente para fornecer informação inequívoca sobre atribuições ou características de determinado produto. Entretanto, análises combinadas, ou seja, utilizando mais de um elemento, podem incrementar ou até mesmo promover link entre informações, afim de promover melhor entendimento sobre o objeto em estudo.

### **Isótopos estáveis x Origem geográfica**

Se por um lado, as análises dos elementos estáveis carbono e nitrogênio têm permitido determinar a dieta dos animais, por outro, a análise conjunta com os isótopos de oxigênio e hidrogênio nos tecidos pode prover indicação da origem geográfica dos animais. Para estes últimos elementos, dados de estudos com bovinos evidenciaram que a variação na composição nos tecidos ocorreu de forma similar àquela encontrada na água consumida pelos animais.

Alguns pontos, por exemplo, tempos de turnover metabólico no tecido ou até mesmo a movimentação de animais antes do abate podem ser considerados (SCHWAGELE, 2005).

Contudo, há uma série de publicações (Tabela 2) específicas relativas a identificação de origem geográfica e regime de produção de carnes, utilizando a análise de isótopos de elementos múltiplos (KELLY et al., 2005).

Ainda, a análise dos isótopos foi utilizada por Schmidt et al. (2005) em pesquisa que possibilitou distinguir bovinos criados em países da Europa e América, produtos lácteos produzidos em diferentes regiões da Austrália (CRITENDEN et al., 2007) e a origem geográfica da carne distribuída no Japão (NAKASHITA et al., 2008).

A possibilidade de escolha de um produto, tendo como base sua identificação geográfica, animais de raças com características apreciadas ou sistemas de produção com tipo de alimentação peculiar, pode servir como interessante estratégia comercial.



Contudo, são poucos e incipientes os trabalhos nacionais avaliando a aplicação da metodologia dos isótopos estáveis com foco na nutrição animal. Ainda, os estudos existentes utilizaram animais não ruminantes (suínos e aves). Vale destacar que o Brasil tem liderança de maior produtor comercial e exportador de carne bovina no mundo.

Portanto, pesquisas direcionadas a Nutrição e Produção de Ruminantes assumem extrema relevância, afim de melhor compreender e proporcionar suporte de cunho científico ao sistema de rastreabilidade implantando no país. Além disto, avaliar a real contribuição da metodologia dos Isótopos Estáveis nas condições tropicais, a qual se insere o Brasil.

Para tanto, o CAPÍTULO 2, intitulado “Diferenciação de sistemas de produção por meio de sangue e plasma de bovinos de corte pela na análise dos isótopos estáveis” redigido conforme as normas exigidas pela Revista Journal Animal Science, teve como objetivo avaliar o potencial e viabilidade metodológica da análise de isótopos estáveis de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  no sangue e plasma de bovinos de corte criados em diferentes sistemas de produção no Brasil.

Ainda, no CAPÍTULO 3, intitulado “Diferenciação de sistemas de produção por meio de análise de músculos de bovinos de corte pela técnica dos isótopos estáveis” redigido conforme as normas exigidas pela Revista Journal Animal Science, teve como objetivo avaliar o potencial e viabilidade metodológica da análise de isótopos estáveis de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  no músculo de bovinos de corte criados em diferentes sistemas de produção no Brasil.

## REFERÊNCIAS

BARBOUR, M.M.; HUNT, J.E.; DUNGAN, R.J. et al. Variation in the degree of coupling between  $^{13}\text{C}$  of phloem sap and ecosystem respiration in two mature Nothofagus forests. **New Phytologist**, v.166, p.497-512, 2005.

BAHAR, B.; MONAHAN, F. J.; MOLONEY, A. P.; O'KIELY, P.; SCRIMGEOUR, C. M.; SCHMIDT, O. Alteration of the carbon and nitrogen stable isotope composition of beef by substitution of grass silage with maize silage. **Rapid Commun. Mass Spectrom.** 2005, 19, 1937–1942.

BONER, M; FÖRSTEL, H. Stable isotope variation as tool to trace the authenticity of beef. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.378, n.2, p.301-310, 2004.

BOUTTON, T.W. Stable carbon isotope ratios of soil organic matter and their use as indicators of vegetation and climate change. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S-I. (Eds.) **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996. p.47-82.

CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for massspectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.12,p.133-149, 1957.

CRAIG, H. Isotopic variations in meteoric water. **Science**, v.133, p.1702-1703, 1961.

CRISS, R.E. **Principles of stable isotope distribution**. New York: Oxford University Press, 1999. 254p.

CRITTENDEN, R.G.; ANDREW, A.S.; LEFOURNOUR, M. ET AL. Determining the geographic origin of milk in Australasia using multi-element stable isotope ratio analysis. **International Dairy Journal**, v.17, p.421-428, 2007.

DANSGAARD, W. Stable isotopes in precipitation. **Tellus**, v.16, p.436-468, 1964.

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

DUCATTI, C.; SALATI, E; MATSUI, E. Método de análises da razão  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  em matéria orgânica e das razões  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  em carbonatos. **An.Acad. Brasil. Ciênc.** v.51, p.275-86. 1979.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Curso de Pósgraduação. Disciplina: Aplicação de Isótopos Estáveis Ambientais. Programa de Pós-graduação em Zootecnia. FMVZ/ UNESP. 2007. 204p. [Apostila].

FELÍCIO, P. E. Rastreabilidade aplicada à carne bovina. In: MATTOS, W.R.S. et al. (Ed.). **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p.294-301.

FRY, B.; SHERR, E.B.  $\delta^{13}\text{C}$  measurements as indicators of carbon flow in marine and fresh water ecosystems. **Contribution in Marine Science**, v.27, p.13-47, 1984.

FRIEDMAN I, O`Neil JR. Compilation of stable isotope fractionation factors of geochemical interest. In Fleischer M. Editors. Data of Geochemistry 6<sup>a</sup> ed. **United States government printing office**, 1977. p. kk1-kk12.

GANNES, L.Z.; DEL-RIO, C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.119, p.725-737, 1998.

HANDLEY, L.L.; RAVEN, J.A. The use of natural abundance of nitrogen isotopes in plant physiology and ecology. **Plant Cell and Environment**, v.15, p.965-985, 1992.

HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of  $\delta^{13}\text{C}$  in tissues. **The Condor**, v.94, p.181- 188, 1992.

KELLY, S.D.; HEATON, K.; HOOGWERFF, J. Tracing the geographical origin of food: the application of multi-element and multi-isotope analysis. **Trends in Food Science and Technology**, v.16, p.555-567, 2005.

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

KNOBBE, N.; VOGL, J.; PRITZKOW, W. et al. C and N stable isotope variation in urine and milk of cattle depending on the diet. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.386, p.104- 108, 2006.

LUDLOW, M.M.; TROUGHTON, J.H.; JONES, R.J. A technique for determining the proportion of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> species in plant samples using stable natural isotopes of carbon. **Journal Agricultural Science**, v.87, p.625-632, 1976.

MANCA, G.; CAMIN, F.; COLORU, G.; DEL CARO, A.; DETENTORI, D.; FRANCO, M.A.; VERSINI, G. Characterisation of the geographical origin of Pecorino Sardo cheese by casein stable isotope (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C and <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N) ratios and free amino acid ratios. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.1404-1409, 2001.

MOLKENTIN, J. Authentication of organic milk using  $\delta^{13}\text{C}$  and the  $\alpha$ -linolenic acid content of milk fat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.785-790, 2009.

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

PRACHE, S. Diet authentication in sheep from the composition of animal tissues and products. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.38, p.362-370, 2009 (supl. Especial).

NAKASHITA, R.; SUZUKI, Y.; AKAMATSU, F. et al. Stable carbon, nitrogen, and oxygen isotope analysis as a potential tool for verifying geographical origin of beef. **Analytica Chimica Acta**, v.617, p.148-152, 2008.

ROSSMANN, A; HABERHAUER, G; HOLZL, S; HORN, P; PICHLMAYER, F; VOERKELIUS, S. The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. **European Food Research & Technology**, v.211, p.32-40, 2000.

SCHWAGELE, F. Traceability from an European perspective. **Meat Science**, v.71, p.164-173, 2005.

SHIBUYA, E.K.; SARKIS, J.E.S.; NETO, O.N. et al. Souring Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, v.160, p.35-43, 2006.

VOGEL, J.C. Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis. In: EHLERINGER, J.R.; HALL, A.E.; FARQUHAR, G.D. (Eds.). **Stable isotopes and plant carbon: water relations**. San Diego: Academic Press, 1993. p.29-46.

WASSENAAR, L.I.; HOBSON, K.A. A stable-isotope approach to delineate geographical catchment areas of avian migration monitoring stations in North America. **Environmental Science and Technology**, v.35, n.9, p.1845-1850, 2001.

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

YONEYAMA, T. Characterization of natural  $^{15}\text{N}$  abundances of soils. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S.I. (Eds.). **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996. p.205-224.

## **CAPÍTULO 2**

## DIFERENCIAÇÃO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE PELA TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS: SANGUE E PLASMA

### Resumo

Avaliou-se o potencial e viabilidade metodológica da análise de isótopos estáveis de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  no sangue e plasma de bovinos de corte criados em diferentes sistemas de produção no Brasil. Os tratamentos consistiram em três sistemas de alimentação de bovinos de corte, sendo: em pasto (PA), em sistema de confinamento de animais recriados (CAR) e confinamento de animais desmamados (CAD). Foram utilizados para análise do plasma 16 bovinos, sendo 6 do PA, 4 do CAR e 6 do CAD. Já para análise do sangue foram utilizados 14 bovinos, sendo 4 do PA, 5 do CAR e 5 do CAD. Para o sangue e também para o plasma, houve distinção para todos sistemas avaliados assumindo maior representatividade na separação o elemento Carbono. Para análise da diferenciação entre os sistemas avaliados, é fundamental a participação dos 3 elementos: Carbono, Nitrogênio e Oxigênio. Para análise isotópica visando a caracterização dos sistemas de produção, recomenda-se o sangue como tecido a ser utilizado.

**Palavras-chave:** Animais recriados, animais desmamados, pasto, carbono, nitrogênio, oxigênio

## **BEEF CATTLE PRODUCTION SYSTEMS DIFFERENTIATION BY STABLE ISOTOPES TECHNIQUE: BLOOD AND PLASMA**

### **Abstract**

It was evaluated the potential application of stable isotopes methodology of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  in blood and plasma of beef cattle raised under three different production systems in Brazil. Treatments consisted of production systems: pasture (PA), yearling feedlot (CAR), and fed calves feedlot (CAD). For plasma, it was utilized a total of 16 samples (6 of PA, 4 of CAR and 6 of CAD). In addition, for blood it was used 14 samples (4 of PA, 5 of CAR and 5 of CAD). In both types of tissue it was possible to observe production systems differentiation, assuming greater representatively separation of Carbon element. For differentiation of production systems it is highly recommended the inclusion of Carbon, Nitrogen and Oxygen in the analysis. Based on the results, it is recommended to analyze blood for production systems differentiation by stable isotope technique.

**Keywords:** Backgrounded animals, weaned animals, pasture, carbon, nitrogen, oxygen



## INTRODUÇÃO

Regiões tradicionalmente produtoras de carne bovina e com preços acessíveis ao mercado visam a possibilidade de incrementarem suas exportações. Simultaneamente, tem sido relevante a pressão exercida por informações claras sobre os fatores ligados aos sistemas produtivos de herbívoros, especialmente sobre os alimentos fornecidos aos animais. (PRACHE, 2009).

Neste contexto, a técnica dos Isótopos Estáveis pode ser concebida como uma ferramenta visando a rastreabilidade bovina, particularmente onde metodologias analíticas convencionais não podem prever resultados totalmente seguros (BAHAR et al., 2005). O termo isótopo vem do grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato que são elementos que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. Os isótopos são átomos do mesmo elemento químico, que possuem o mesmo número de prótons, mas que diferem em seu número de nêutrons, conseqüentemente apresentando diferentes massas (KENNEDY e KROUSE, 1990). Por possuírem sua camada eletrônica igual, ou seja, com o mesmo número de elétrons, os isótopos são elementos que apresentam as mesmas propriedades químicas e diferentes propriedades físicas, o que permite que sejam utilizados como traçadores naturais em pesquisas. A expressão *estável* significa que não emitem radiação. Ademais, os isótopos estáveis ocorrem naturalmente, podendo servir como marcadores internos em processos dietéticos.

Os isótopos estáveis do carbono, nitrogênio e oxigênio ocorrem naturalmente na biosfera. Cada elemento apresenta um isótopo estável leve dominante: carbono-12 ( $^{12}\text{C}$ ), oxigênio-16 ( $^{16}\text{O}$ ) e nitrogênio-14 ( $^{14}\text{N}$ ), e um ou dois isótopos estáveis pesados: carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ), oxigênio-17 ( $^{17}\text{O}$ ), oxigênio-18 ( $^{18}\text{O}$ ) e nitrogênio-15 ( $^{15}\text{N}$ ) (KENNEDY e KROUSE, 1990).

Devido ao fato das plantas serem fonte de alimento, a “impressão digital isotópica” destas fontes será refletida nos tecidos específicos dos animais, após certo tempo de metabolismo (DENIRO e EPSTEIN, 1978; GANNES et al., 1998), possibilitando caracterizar dietas a partir da análise isotópica nos tecidos.

O principal elemento considerado na análise do diagnóstico alimentar é o carbono, contudo a complexidade na interpretação dos valores isotópicos sobre as

possíveis fontes alimentares sugere a necessidade de complementação com outros isótopos como o nitrogênio (FRY e SHERR, 1984).

São poucos e incipientes os trabalhos realizados sob condições tropicais avaliando a aplicação da metodologia dos isótopos estáveis com foco na nutrição animal. Ainda, os estudos existentes utilizaram animais não ruminantes (suínos e aves).

Considerando que o Brasil tem liderança de maior produtor comercial e exportador de carne bovina no mundo, pesquisas direcionadas a bovinocultura são de extrema relevância. Além disto, avaliar a real contribuição da metodologia dos Isótopos Estáveis nas condições tropicais, a qual se insere o Brasil.

Com o presente estudo, objetiva-se avaliar o potencial e viabilidade metodológica da análise de isótopos estáveis de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  no sangue e plasma de bovinos de corte criados em diferentes sistemas de produção.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Descrição dos animais e das fazendas de origem

Os tratamentos consistiram em três sistemas de alimentação de bovinos de corte, sendo: em pasto (PA), em sistema de confinamento de animais recriados (CAR) e confinamento de animais desmamados (CAD).

Foram utilizados para análise do plasma 16 bovinos, sendo 6 do PA, 4 do CAR e 6 do CAD. Já para análise do sangue foram utilizados 14 bovinos, sendo 4 do PA, 5 do CAR e 5 do CAD.

Os animais provindos do sistema PA eram anelorados e não castrados. Foram mantidos durante toda a vida em pastagem formada pelo capim *Brachiaria brizantha*. As fontes de água que serviam de bebedouro aos animais eram rios que cortavam a fazenda, sendo que não havia nenhuma represa artificial. Com relação à forrageira, nunca houve qualquer tipo de fertilização. Os animais foram abatidos com média de 36 meses de idade e 500 kg de peso médio.

No sistema em CAR, os bovinos também eram anelorados e não castrados. A forrageira não recebia fertilização com adubos químicos a pelo menos três anos. Os animais ingeriam água diretamente de rios e também de represas artificiais existentes na

fazenda. Durante esta fase de recria os animais não receberam nenhum tipo de suplementação alimentar, sendo a dieta constituída exclusivamente pelo capim *Brachiaria decumbens* cv. basilisk. Os animais chegaram ao confinamento experimental com aproximadamente 360 quilos e 20 meses de idade. A fase de terminação ocorreu no Confinamento Experimental de Bovinos de Corte da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, localizada na cidade de Botucatu/SP. Este período foi de 04/08/2010 a 26/10/2010, totalizando 84 dias.

Para o sistema CAD, bezerros mestiços Limousin-nelore não castrados foram mantidos em pastagem de capim-Pangola (*Digitaria decumbens*), comumente conhecida como capim Pangola. Havia a prática de fertilização com adubos de origem industrial nas áreas cultivadas com a gramínea. Além de consumirem forragem, estes animais a partir dos 60 dias de idade, passaram a receber suplementação no creep-feeding. Os bovinos chegaram ao confinamento com aproximadamente 240 quilos de peso vivo e 8 meses de idade. O período de confinamento foi de 150 dias. A fase de terminação foi conduzida no mesmo local que foram confinados os animais do sistema em Confinamento.

Na Tabela 1, são descritas as coordenadas geográficas onde os animais dos sistemas de produção foram criados.

Tabela 1. Coordenadas geográficas das fazendas e do confinamento experimental

	CAR	PA	CAD	Confinamento Experimental
Município	Reginópolis/SP	Altamira/PA	Iguape/SP	Botucatu/SP
Altitude (m)	478	215	12	782
Longitude	21°53'41.70''	06°33'20,29''	24°45' 42.71''	22°51'05.40''
Latitude	49°07'44.71''	54°56'30.13''	47° 46',42''	48°25'26.19''

### **Dietas, manejo e cuidado com os animais**

Na Tabela 2 segue os valores isotópicos dos ingredientes que foram utilizados nas dietas experimentais.

Tabela 2. Valores isotópicos dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{18}\text{O}$
Bagaço-de-cana <i>in natura</i>	3,77	-14,12	6,22
Polpa cítrica	4,9	-28,03	22,54
Farelo de amendoim	1,05	-25,56	18,05
Farelo de arroz	7,01	-31,92	20,20
Milho seco moído	4,83	-15,02	25,20
Silagem de grão úmido de milho	3,85	-13,30	24,41
Torta de algodão	3,58	-27,33	24,66
Uréia	0,38	-44,10	21,51
Núcleo vitamínico-mineral <sup>1</sup>	1,54	-3,40	24,81
Núcleo vitamínico-mineral <sup>2</sup>	0,98	-24,37	19,02
Suplemento Creep <sup>3</sup>	0,64	-20,11	21,85
<i>Brachiaria decumbens</i> cv. basilisk	3,32	-14,24	24,15
<i>Digitaria decumbens</i>	5,47	-13,7	21,88
<i>Brachiaria brizantha</i> cv. marandu	6,6	-14,41	20,47
Feno de Coast cross	3,31	-15,3	11,89

<sup>1</sup>Núcleo vitamínico-mineral do CAR; <sup>2</sup>Núcleo vitamínico-mineral do CAD; <sup>3</sup>Suplemento ofertado para os animais do CAD na fase antes do desmame.

Durante todo o ciclo de vida dos animais do sistema PA, a forragem consumida foi *Brachiaria brizantha* cv. marandu. Este grupo de animais nunca recebeu qualquer outra fonte alimento, a não ser, suplemento vitamínico e mineral.

Nos animais do sistema CAR, a fase pré-experimental de terminação (processamento) foi de 15 dias, para vacinação e desvermifugação e adaptação à instalação do confinamento. Nesse período, os animais foram alimentados com feno de *Coast cross*, farelo de amendoim e núcleo mineral. A dieta de terminação foi composta por feno triturado de *Cynodon dactylon* cv. coast cross, bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, silagem de grãos úmidos de milho, polpa cítrica, farelo de amendoim, torta de algodão, uréia e suplemento vitamínico e mineral.

Na Tabela 3, estão descritas informações sobre as dietas dos três sistemas de produção.

Para os animais do sistema CAD, os cuidados na fase pré-experimental de terminação foram os mesmos do grupo anterior. Entretanto, o período de adaptação foi mais longo, 40 dias. Apesar de proporções diferentes, tanto a dieta de adaptação como a

de terminaco eram compostas pelos mesmos ingredientes, sendo: bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, milho gro inteiro, farelo de arroz, farelo de amendoim, polpa cítrica e núcleo mineral.

### **Amostragem, procedimentos e análises isotópicas**

Durante o regime de pastejo, para os três sistemas de alimentao, houve amostragem da forragem via simulao manual de pastejo. Além disso, no período de confinamento, as dietas foram amostradas semanalmente para posterior análise isotópica.

A coleta de sangue dos animais CAR e CAD foram realizadas no dia anterior em que os animais foram para o frigorífico. Já, para os animais do sistema PA em pasto, a coleta aconteceu na linha de sangria do frigorífico. As coletas de sangue foram efetuadas diretamente da veia jugular utilizando agulha acoplada a um vacutainer, contendo EDTA como anticoagulante. Em seguida, para retirada do plasma, o sangue passou pelo processo de centrifugao a 5000 rpm por 5 minutos.

Todas as amostras foram identificadas e refrigeradas a -18°C até posterior mensurao isotópica. Posteriormente, as amostras de sangue foram liofilizadas em aparelho Micromodulyo-115 (Edwardsvacuun®). Primeiramente as amostras foram congeladas em freezer -80°C, por 15 minutos, posteriormente ocorre descompresso por 15 minutos. Na liofilizao as amostras so secas á vácuo a -55°C e presso de em torno 30 µHg por 24 horas.

Para a realizao das análises isotópicas, o plasma e sangue liofilizado foram colocados em cápsulas de estanho (5mm x 3mm) e pesados (50-70 µg) em balança analítica de alta sensibilidade, com preciso de seis casas decimais.

Após a pesagem as cápsulas foram introduzidas, por meio de um amostrador automático no analisador elemental, *Flash 2000 Organic Elemental Analyzer EA for IRMS*. Os gases resultantes (H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e CO) formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massa de razes isotópicas (*Delta V Advantage Isotope Ratio MS, Thermo Scientific, Alemanha*).

Tabela 3. Composição e valores isotópicos das dietas de confinamento dos sistemas CAR e CAD e da dieta do sistema PA

Sistema de Produção	CAR		CAD		PA
	84 dias	40 dias	40 dias	110 dias	
Fase da Dieta	Terminação	Crescimento	Terminação	Terminação	
Ingredientes					
<i>Brachyaria brizantha</i> cv marandu <sup>1</sup>					100
<i>Brachyaria decumbens</i> cv basilisk <sup>2</sup>					
Bagaço-de-cana <i>in natura</i>	15	18	13		
Silagem de grão úmido de milho	43				
Polpa cítrica	18,5	23	23		
Torta de algodão	20				
Uréia	1				
Núcleo vitamínico-mineral <sup>3</sup>	2,5				
<i>Digitaria decumbens</i> <sup>4</sup>					
Farelo de amendoim		13	13		
Farelo de arroz		15	20		
Grão de milho seco		26,5	26,5		
Núcleo vitamínico-mineral <sup>5</sup>		4,5	4,5		
$\delta^{13}\text{C}$	-18,85	-22,18	-23,07		-14,41
$\delta^{15}\text{N}$	3,89	4,35	4,52		13,8
$\delta^{18}\text{O}$	21,36	19,21	19,91		20,47

<sup>1</sup>Capim-marandu; <sup>2</sup>Capim decumbens; <sup>3</sup>Núcleo vitamínico-mineral do CAR; <sup>4</sup>Capim-pangola; <sup>5</sup>Núcleo vitamínico-mineral do CAD.

Os valores foram expressos em  $\delta$  contra o padrão internacional (Vienna-Pee Dee Belemnite para  $\delta^{13}\text{C}$ , Ar atmosférico para  $\delta^{15}\text{N}$ , Vienna – Standar Mean Ocean Water para  $\delta^{18}\text{O}$ ).

### Análise estatística

Realizou-se análise multivariada de multi-elementos (carbono, nitrogênio e oxigênio) para avaliar a possibilidade de diferenciação dos sistemas de produção. Foi utilizado o programa estatístico Minitab, versão 16.0 (MINITAB®, 2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o plasma, é possível observar que todos os sistemas de produção foram distintos (Figura 1). A separação ocorreu principalmente pelo Fator 1, que explica 84% das variações no gráfico. Dentro de cada fator, a separação dos sistemas é mais influenciada pelo elemento que possui o maior coeficiente de escore. No que diz respeito ao Fator 1, o elemento dominante na separação foi o Carbono com escore de coeficiente de 1,447 e com menor representatividade (0,618) para o Oxigênio (Tabela 4). Já o Fator 2, apresenta pequena participação na separação dos sistemas.

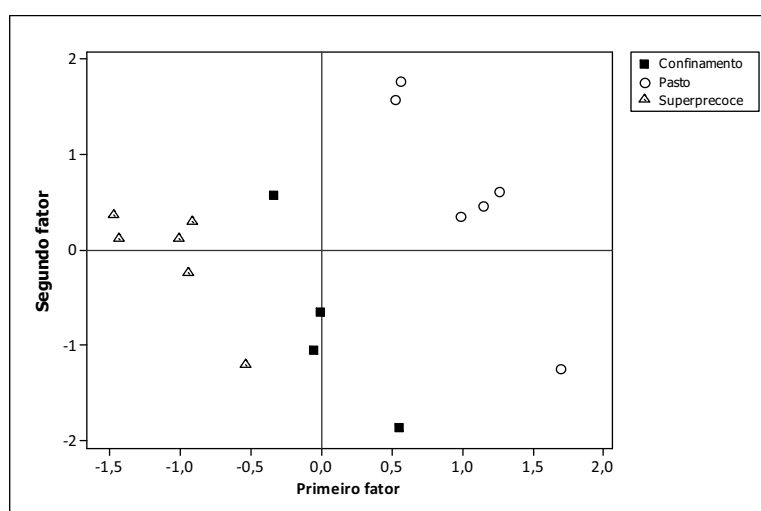


Figura 1. Análise discriminante para diferenciação dos sistemas de produção de bovinos de corte pelos isótopos estáveis de Carbono, Nitrogênio e Oxigênio no plasma.

Tabela 4. Coeficiente de escores da análise de fatores para o plasma de bovinos em diferentes sistemas de alimentação

Variável	Plasma	
	Fator 1	Fator 2
Carbono	1,447	0,250
Nitrogênio	0,078	0,468
Oxigênio	0,618	1,460
% Var	0,886	0,094

Para o sangue pode-se observar na Figura 2, que houve distinção para os sistemas avaliados. Considerando o Fator 1 (Tabela 5), verificou-se maiores valores de escores para o elemento Carbono. Para o Fator 2, o elemento mais representativo foi o Oxigênio. Contudo, o Fator 2 apresenta pequena participação dentro da variação explicada no gráfico.

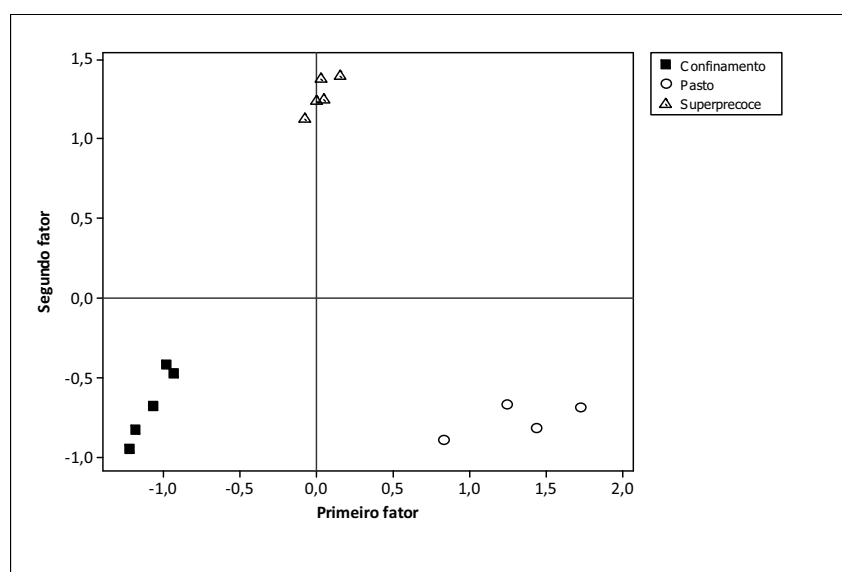


Figura 2. Análise discriminante para diferenciação dos sistemas de produção de bovinos de corte pelos isótopos estáveis de Carbono, Nitrogênio e Oxigênio no sangue.



Tabela 5. Coeficiente de escores da análise de fatores para o sangue de bovinos em diferentes sistemas de alimentação

Variável	Sangue	
	Fator 1	Fator 2
Carbono	1,384	0,271
Nitrogênio	0,431	0,723
Oxigênio	0,234	1,664
% Var	0,839	0,116

A explanação do elemento Carbono, tanto para o plasma como para o sangue, pode ser dada da seguinte maneira: no sistema de produção PA, os animais foram alimentados exclusivamente com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e suplemento vitamínico-mineral, entretanto, no sistema em CAR e CAD ocorreram mudanças nas dietas ofertadas aos animais.

No caso do sistema CAR, houve três dietas, cada uma com sinal isotópico específico. Na fase de recria ou até os 360 kg de peso vivo, os animais consumiram forragem com  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-14,24\%$ . Posteriormente, foram arraçoados com duas outras dietas, uma por 15 dias com  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-17,14\%$  e a outra com  $-18,85\%$  por 84 dias.

Para o sistema CAD, na fase que antecedeu o confinamento, ou seja, durante a fase de cria, os animais se alimentavam de forragem de capim *Digitaria decumbens* com  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-13,70\%$  e suplemento com sinal de  $-20,11\%$ . Além disso, os bezerros ingeriam leite, que apesar do sinal isotópico não ter sido mensurado, acredita-se que seja próximo ao valor da forragem. Ainda, no período de confinamento, para estes mesmos animais foram ofertadas duas dietas, sendo uma para atender as exigências na fase de crescimento com  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-22,18\%$  por 40 dias e outra de terminação, durante 110 dias com  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-23,07\%$  (Tabela 2).

Na Tabela 6 podem ser observados os valores médios para os elementos Carbono, nitrogênio e oxigênio no sangue e plasma.

Tabela 6. Valores médios e erro padrão da média de  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  para sangue e plasma de bovinos de corte criados em diferentes sistemas de produção

	Carbono	Nitrogênio	Oxigênio
Superprecoce			
Sangue	-19,57±0,11	6,12±0,05	11,02±0,08
Plasma	-18,14±0,20	6,99±0,12	10,52±0,21
Confinamento			
Sangue	-15,45±0,21	5,34±0,04	10,92±0,06
Plasma	-16,45±0,13	6,54±0,21	10,00±0,38
Pasto			
Sangue	-12,04±0,11	12,03±0,42	12,55±0,34
Plasma	-11,75±0,10	13,18±0,19	12,37±0,38

Em síntese, a diferenciação entre os sistemas de produção de bovinos de corte tanto para o plasma como para o sangue tendo como base o elemento Carbono, foi propiciada pela faixa considerável de distância entre os valores isotópicos das dietas e tempo de alimentação. Deve-se atentar ao fato que para o sistema de confinamento de animais desmamados permaneceram confinados 66 dias a mais que os animais confinados desde a recria. Ainda, além desse maior número de dias de confinamento, havia cerca de 4‰ de diferença entre as dietas finais para os animais destes sistemas. No mais, ressalta-se que o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  do capim do PA foi de -14,41, tendo diferença de 4,44 e 8,66‰ em relação a dieta do CAR e CAD.

Ademais, a soma de outros fatores inerentes a diferenças na composição bioquímica, digestibilidade dos ingredientes podem levar a uma preferencial assimilação por certos nutrientes. No mais, o tempo de turnover pode ter corroborado pela separação dos sistemas.

Para o elemento Nitrogênio, o sinal isotópico da forragem PA foi superior ao dos outros sistemas, decorrente da presença relevante de matéria orgânica da região onde esses animais foram criados, ver Tabela 1. No caso, a área específica da fazenda há poucos anos era constituída de mata fechada que foi desmatada para implantação do capim. Nunca houve adubação de origem industrial nessa área. O valor de  $\delta^{15}\text{N}$  dessa

forrageira foi de 13,8‰, valor distante do encontrado para CAR e CAD, de 3,89 e 4,52‰. Contudo deve ser bem entendido que os animais do PA eram criados na região do município de Altamira, estado do Pará. Bovinos criados também num PA, porém de outra região ou outro estado do Brasil, pode não apresentar os mesmos valores isotópicos para  $\delta^{15}\text{N}$ .

Já as áreas de pastagens onde os animais do sistema em Confinamento e Superprecoce estavam sendo mantidos, são consideradas pobres em matéria orgânica devido aos muitos anos sucessivos de cultivo e já foram submetidas à adubação nitrogenada industrial.

Os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  podem ter sofrido interferência em função do tipo de solo, intensidade de tratos culturais ou aplicação de fertilizantes industriais e presença de plantas leguminosas na dieta. Ainda, ser oriunda dos próprios fatores metabólicos do animal, pois, as condições ambientais e fisiológicas podem ocasionar variabilidade na composição do N isotópico dentro de uma mesma população (BAHAR et al. 2005), especialmente em ruminantes (TIESZEN, 1991).

Para análise da diferenciação entre os sistemas avaliados, é fundamental a participação dos 3 elementos: Carbono, Nitrogênio e Oxigênio.

Devido ao fato do plasma e sangue terem apresentado separação dos três sistemas, a escolha acaba sendo de ordem prática, de facilidade nos procedimentos de preparo das amostras.

## CONCLUSÕES

Para a diferenciação dos sistemas de produção de bovinos de corte utilizando a técnica dos isótopos estáveis, recomenda-se o sangue como tecido a ser avaliado.

Para análise da diferenciação entre os sistemas avaliados, é fundamental a participação dos 3 elementos: Carbono, Nitrogênio e Oxigênio.

## REFERÊNCIAS

- BAHAR B, MONAHAN FJ, MOLONEY AP, O'KIELY P, SCRIMGEOUR CM, SCHMIDT O. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2005; 19:1937.
- BARBOUR, M.M.; HUNT, J.E.; DUNGAN, R.J. et al. Variation in the degree of coupling between  $^{13}\text{C}$  of phloem sap and ecosystem respiration in two mature Nothofagus forests. New Phytologist, v.166, p.497-512, 2005.
- BARBOUR, M.M.; HUNT, J.E.; DUNGAN, R.J. et al. Variation in the degree of coupling between  $^{13}\text{C}$  of phloem sap and ecosystem respiration in two mature Nothofagus forests. New Phytologist, v.166, p.497-512, 2005.
- FRY, B.; SHERR, E.B.  $\delta^{13}\text{C}$  measurements as indicators of carbon flow in marine and fresh water ecosystems. Contribution in Marine Science, Texas, v.27, p.13-47, 1984.
- GANNES, L.Z.; DEL-RIO, C.M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. Comp. Biochem. Physiol, v.119, p.725-737. 1998.
- KENNEDY BV, KROUSE HR. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. Canadian Journal Physiology and Pharmacology, v.68, p.960- 972, 1990.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.
- PRACHE, S. Diet authentication in sheep from the composition of animal tissues and products. Revista Brasileira de Zootecnia., v.38, p.362-370, 2009 (supl. Especial).
- SCHWAGELE, F. Traceability from an European perspective. Meat Science, v.71, p.164-173, 2005.
- TIESZEN, L.L. Natural variations in the carbon isotope values of plants: implications for archaeology, ecology, and paleoecology. J Archaeol Sci 18:227–248, 1991

### **CAPÍTULO 3**

## DIFERENCIAÇÃO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS

### Resumo

Avaliou-se o potencial e viabilidade metodológica da análise de isótopos estáveis de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  no músculo de bovinos (*M. Trapezius cervicis*, *M. Longissimus dorsi* e *M. Semitendinosus*) de bovinos de corte (com e sem extração) criados em diferentes sistemas de produção no Brasil. Os tratamentos consistiram em três sistemas de alimentação de bovinos de corte, sendo: em pasto (PA), em sistema de confinamento de animais recriados (CAR) e confinamento de animais desmamados (CAD). Ao total, foram utilizados 45 bovinos, sendo que para cada sistema utilizou-se 15 bovinos machos. Para diferenciação dos sistemas de produção de bovinos de corte utilizando a técnica dos isótopos estáveis, recomenda-se o Contrafilé ou o Lagarto sem extração de lipídeos. Para análise isotópica com o objetivo de diferenciar os sistemas de produção, os três elementos devem ser analisados e considerados na análise dos dados. A diferenciação dos sistemas de produção de bovinos de corte pela técnica dos isótopos estáveis deve ser visualizada com cautela, em função do tempo de confinamento e também do sinal isotópico das dietas que podem ser diferentes de acordo com os alimentos utilizados.

**Palavras-chave:** pasto, bovinos recriados, bovinos desmamados, *M. Trapezius cervicis*, *M. Longissimus dorsi* e *M. Semitendinosus*

## BEEF CATTLE PRODUCTION SYSTEMS DIFFERENTIATION BY STABLE ISOTOPES TECHNIQUE

### Abstract

It was evaluated the potential application of stable isotopes methodology of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  on beef cattle muscles (*Trapezius cervicis*, *Longissimus* e *Semitendinosus*), with or without lipid extraction, raised under three different production systems in Brazil. Treatments consisted of production systems: pasture (PA), yearling feedlot (CAR), and fed calves feedlot (CAD). It was utilized 45 animals (15 per treatment). Based on the results, it is recommended the analysis of *Longissimus* muscle and *Semitendinosus* without lipid extraction. For better production systems differentiation, the three elements must be analyzed. The production systems differentiation based on stable isotopes technique is possible, however it must be more evaluated due to isotope signal problems caused by different days on feed and ingredients used in the diets.

**Keywords:** pasture, backgrounded cattle, weaned calves, *Trapezius cervicis*, *Longissimus* muscle, *Semitendinosus*.

## INTRODUÇÃO

A possibilidade de atingir novos e promissores mercados consumidores tornar-se-á viável tendo base à modernização dos sistemas de produção e certificação dos mesmos (FELÍCIO, 2001). Logo, especificação por meio de certificações de qualidade que garantam a credibilidade dos produtos se faz necessário. Nesta ocasião, a rastreabilidade trata-se de ferramenta chave, no processo de certificação de produtos de origem animal.

Entidades comerciais e órgãos de pesquisas tem procurado desenvolver metodologias confiáveis, a fim de avaliar e certificar produtos, considerando, além de aspectos sanitários e de bem estar animal, a origem alimentar dos animais.

A análise da variação natural da abundância dos isótopos estáveis foi empregada inicialmente em estudos geológicos e arqueológicos servindo como técnica para a reconstrução de dieta prévia de animais (DENIRO, 1987). Por atuarem como indicadores naturais possibilitam a investigação de fontes alimentares isotopicamente distintas (DENIRO e EPSTEIN, 1978).

Se por um lado, as análises dos elementos estáveis carbono e nitrogênio têm permitido determinar a dieta dos animais, por outro a análise conjunta com os isótopos de oxigênio nos tecidos pode prover indicação da origem geográfica dos animais. A razão isotópica de oxigênio é correlacionada com a localização geográfica e condições climáticas, sendo os efeitos de latitude e longitude, conhecidos por influenciar os valores isotópicos de águas subterrâneas.

Ainda, a escolha do tecido ou órgão animal no estudo de rastreabilidade para autenticação de produtos influencia as conclusões sobre a dieta, pois tecidos com rápido metabolismo indicam dietas consumidas recentemente, enquanto aqueles com lenta taxa de substituição sugerem dietas que foram fornecidas no período inicial da vida dos animais.

Com este estudo, objetiva-se avaliar o potencial da técnica dos isótopos estáveis de carbono, nitrogênio e oxigênio na carne de bovinos de corte criados em diferentes sistemas de alimentação.



## MATERIAL E MÉTODOS

### Descrição dos animais e das fazendas de origem

Os tratamentos consistiram em três sistemas de alimentação de bovinos de corte, sendo: em pasto (PA), em sistema de confinamento de animais recriados (CAR) e confinamento de animais desmamados (CAD). Ao total, foram utilizados 45 bovinos, sendo que para cada sistema utilizou-se 15 bovinos machos.

Os animais provindos do sistema PA eram anelorados e não castrados. Foram mantidos durante toda a vida em pastagem formada pelo capim *Brachiaria brizantha*. As fontes de água que serviam de bebedouro aos animais eram rios que cortavam a fazenda, sendo que não havia nenhuma represa artificial. Com relação à forrageira, nunca houve qualquer tipo de fertilização. Os animais foram abatidos com média de 36 meses de idade e 500 kg de peso médio.

No sistema em CAR, os bovinos também eram anelorados e não castrados. A forrageira não recebia fertilização com adubos químicos a pelo menos três anos. Os animais ingeriam água diretamente de rios e também de represas artificiais existentes na fazenda. Durante esta fase de recria os animais não receberam nenhum tipo de suplementação alimentar, sendo a dieta constituída exclusivamente pelo capim *Brachiaria decumbens* cv. basilisk. Os animais chegaram ao confinamento experimental com aproximadamente 360 quilos e 20 meses de idade. A fase de terminação ocorreu no Confinamento Experimental de Bovinos de Corte da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, localizada na cidade de Botucatu/SP. Este período foi de 04/08/2010 a 26/10/2010, totalizando 84 dias.

Para o sistema CAD, bezerros mestiços Limousin-nelore não castrados foram mantidos em pastagem de capim-Pangola (*Digitaria decumbens*), comumente conhecida como capim Pangola. Segundo informações do proprietário, havia a prática de fertilização com adubos de origem industrial nas áreas cultivadas com a gramínea. Além de consumirem forragem, estes animais a partir dos 60 dias de idade, passaram a receber suplementação no creep-feeding. Os bovinos chegaram ao confinamento com aproximadamente 240 quilos de peso vivo e 8 meses de idade. O período de

confinamento foi de 150 dias. A fase de terminação foi conduzida no mesmo local que foram confinados os animais do sistema em Confinamento.

Na Tabela 1, são descritas as coordenadas geográficas onde os animais dos sistemas de produção foram criados.

Tabela 1. Coordenadas geográficas das fazendas e do confinamento experimental

	CAR	PA	CAD	Confinamento Experimental
Município	Reginópolis/SP	Altamira/PA	Iguape/SP	Botucatu/SP
Altitude (m)	478	215	12	782
Longitude	21°53'41.70''	06°33'20,29''	24°45' 42.71''	22°51'05.40''
Latitude	49°07'44.71''	54°56'30.13''	47° 46',42''	48°25'26.19''

### Dietas, manejo e cuidado com os animais

Na Tabela 2 segue os valores isotópicos dos ingredientes que foram utilizados nas dietas experimentais.

Tabela 2. Valores isotópicos dos ingredientes utilizados nas dietas experimentais

	$\Delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{18}\text{O}$
Bagaço-de-cana <i>in natura</i>	3,77	-14,12	6,22
Polpa cítrica	4,9	-28,03	22,54
Farelo de amendoim	1,05	-25,56	18,05
Farelo de arroz	7,01	-31,92	20,20
Milho seco moído	4,83	-15,02	25,20
Silagem de grão úmido de milho	3,85	-13,30	24,41
Torta de algodão	3,58	-27,33	24,66
Uréia	0,38	-44,10	21,51
Núcleo vitamínico-mineral <sup>1</sup>	1,54	-3,40	24,81
Núcleo vitamínico-mineral <sup>2</sup>	0,98	-24,37	19,02
Suplemento Creep <sup>3</sup>	0,64	-20,11	21,85
<i>Brachiaria decumbens</i> cv. basilisk	3,32	-14,24	24,15
<i>Digitaria decumbens</i>	5,47	-13,7	21,88
<i>Brachiaria brizantha</i> cv. marandu	6,6	-14,41	20,47
Feno de Coast cross	3,31	-15,3	11,89

<sup>1</sup>Núcleo vitamínico-mineral do CAR; <sup>2</sup>Núcleo vitamínico-mineral do CAD; <sup>3</sup>Suplemento ofertado para os animais do CAD na fase antes do desmame

Durante todo o ciclo de vida dos animais do sistema PA, a forragem consumida foi *Brachiaria brizantha* cv. marandu. Este grupo de animais nunca recebeu qualquer outra fonte alimento, a não ser, suplemento vitamínico e mineral.

Nos animais do sistema CAR, a fase pré-experimental de terminação (processamento) foi de 15 dias, para vacinação e desvermifugação e adaptação à instalação do confinamento. Nesse período, os animais foram alimentados com feno de *Coast cross*, farelo de amendoim e núcleo mineral. A dieta de terminação foi composta por feno de *Cynodon dactylon* cv. coast cross, bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, silagem de grãos úmidos de milho, polpa cítrica, farelo de amendoim, torta de algodão, uréia e suplemento vitamínico e mineral.

Na Tabela 3, estão descritas informações sobre as dietas na fase final dos três sistemas de produção.

Para os animais do sistema CAD, os cuidados na fase pré-experimental de terminação foram os mesmos do grupo anterior. Entretanto, o período de adaptação foi mais longo, 40 dias. Apesar de proporções diferentes, tanto a dieta de adaptação como a de terminação eram compostas pelos mesmos ingredientes, sendo: bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, milho grão inteiro, farelo de arroz, farelo de amendoim, polpa cítrica e núcleo mineral.

Tabela 3. Composição e valores isotópicos das dietas de confinamento dos sistemas CAR e CAD e da dieta do sistema PA

Sistema de Produção	CAR		CAD		PA
	84 dias	40 dias	40 dias	110 dias	
Período de Fornecimento	Terminação	Crescimento	Terminação	Terminação	-----
Fase da Dieta					-----
Ingredientes					
<i>Brachyaria brizantha</i> cv marandu <sup>1</sup>					100
<i>Brachyaria decumbens</i> cv basilisk <sup>2</sup>	15	18	13		
Bagaço-de-cana <i>in natura</i>	43				
Silagem de grão úmido de milho	18,5	23	23		
Polpa cítrica	20				
Torta de algodão	1				
Uréia	2,5				
Núcleo vitamínico-mineral <sup>3</sup>					
<i>Digitaria decumbens</i> <sup>4</sup>					
Farelo de amendoim		13	13		
Farelo de arroz		15	20		
Grão de milho seco		26,5	26,5		
Núcleo vitamínico-mineral <sup>5</sup>		4,5	4,5		
$\delta^{13}\text{C}$	-18,85	-22,18	-23,07		-14,41
$\delta^{15}\text{N}$	3,89	4,35	4,52		13,8
$\delta^{18}\text{O}$	21,36	19,21	19,91		20,47

<sup>1</sup>Capim-marandu; <sup>2</sup>Capim decumbens; <sup>3</sup>Núcleo vitamínico-mineral do CAR; <sup>4</sup>Capim-pangola; <sup>5</sup>Núcleo vitamínico-mineral do CAD.

### **Amostragem das dietas e músculos**

Durante o regime de pastejo, para os três sistemas de alimentação, houve amostragem da forragem via simulação manual de pastejo. Além disso, no período de confinamento, as dietas foram amostradas semanalmente para posterior análise isotópica.

Os animais foram abatidos conforme a legislação vigente, em frigorífico comercial licenciado. Logo após o abate, com as carcaças ainda na câmara fria, retirou-se aproximadamente 300 gramas dos músculos *M. Trapezius cervicis*, *M. Longissimus dorsi* e *M. Semitendinosus*, correspondendo aos cortes cárneos de acém, contrafilé e lagarto, respectivamente.

Todas as amostras foram identificadas e refrigeradas a -18°C até posterior mensuração isotópica.

### **Procedimentos e análises isotópicas**

As amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada a 50°C, por um período de 48h. Para avaliar a influência da extração de gordura, parte das amostras após a secagem foram desengorduradas com éter etílico em aparelho de Soxhlet, à temperatura de 65°C, durante 4 horas. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa de ventilação forçada a 50°C durante meia hora, para que houvesse evaporação do éter.

Todas as amostras de alimentos e músculos foram moídas em moinho criogênico Spex Sample Prep, modelo Geno/Grinder 2010, à -196°C.

Após a pesagem as cápsulas foram introduzidas, por meio de um amostrador automático no analisador elemental, *Flash 2000 Organic Elemental Analyzer EA for IRMS*. Os gases resultantes (H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e CO) formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massa de razões isotópicas (*Delta V Advantage Isotope Ratio MS, Thermo Scientific, Alemanha*).

Os valores serão expressos em δ‰ contra o padrão internacional (Vienna-Pee Dee Belemnite para δ<sup>13</sup>C, Ar atmosférico para δ<sup>15</sup>N, Vienna – Standar Mean Ocean Water para δ<sup>18</sup>O).

### Análise estatística

O delineamento deste estudo foi inteiramente casualizado. Para avaliar o efeito da extração lipídica, realizou-se análise de variância entre os músculos dentro de cada sistema de produção ano nível de 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa estatístico Minitab, versão 16.0 (MINITAB®, 2010). Realizou-se análise multivariada de multi-elementos (carbono, nitrogênio e oxigênio) para avaliar a possibilidade de diferenciação dos sistemas de produção.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 4, 5 e 6 podem ser visualizados os valores médios para os músculos com e sem extração da fração lipídica.

Tabela 4. Valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  para músculos com e sem extração de lipídios para bovinos de corte criados em diferentes sistemas de produção

	Contrafilé	Acém	Lagarto
	Com extração de lipídeos		
Confinamento	-14,72 ±0,15	-14,86 ±0,15	-13,75 ±0,12
Pasto	-12,13±0,09	-12,01±0,08	-12,57±0,24
Superprecoce	-17,79±0,20	-17,86±0,07	-17,62±0,16
	Sem extração de lipídeos		
Confinamento	-15,72±0,16	-15,32±0,19	-14,43±0,18
Pasto	-13,19±0,14	-12,40±0,09	-12,18±0,09
Superprecoce	-17,99±0,11	-19,02±0,14	-17,76±0,09

**Tabela 5.** Valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$  para músculos com e sem extração de lipídios para bovinos de corte criados em diferentes sistemas de produção

	Contrafilé	Acém	Lagarto
	Com extração de lipídeos		
Confinamento	6,34±0,09	6,34±0,20	5,58±0,17
Pasto	12,67±0,15	12,05±0,17	11,72±0,15
Superprecoce	7,13±0,09	7,72±0,12	7,25±0,15
	Sem extração de lipídeos		
Confinamento	6,91±0,07	6,62±0,14	5,83±0,13
Pasto	12,70±0,14	11,99±0,16	11,48±0,14
Superprecoce	6,87±0,06	7,72±0,08	7,13±0,07

**Tabela 6.** Valores médios de  $\delta^{18}\text{O}$  para músculos com e sem extração de lipídios para bovinos de corte criados em diferentes sistemas de produção

	Contrafilé	Acém	Lagarto
	Com extração de lipídeos		
Confinamento	9,55±0,18	9,23±0,34	11,94±0,24
Pasto	10,66±0,17	11,42±0,35	11,10±0,16
Superprecoce	9,57±0,29	10,41±0,19	9,69±0,19
	Sem extração de lipídeos		
Confinamento	11,31±0,23	10,39±0,21	11,50±0,28
Pasto	12,74±0,15	12,66±0,22	11,12±0,17
Superprecoce	13,18±0,18	11,83±0,28	12,10±0,15

Houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para o efeito de extração lipídica entre os músculos dentro de cada sistema de produção.

Para os dados referentes ao Acém (músculo *Trapezius cervicis*), tanto com ou sem extração de lipídeos (Figura 1 e 2), houve distinção do sistema superprecoce para o de Pasto e Confinamento, entretanto, para os dois últimos não existiu diferença.

Considera-se que aproximadamente 74% das variações (Tabela 7) possíveis estão representadas no gráfico da Figura 1 e cerca de 92% para o gráfico da Figura 2.

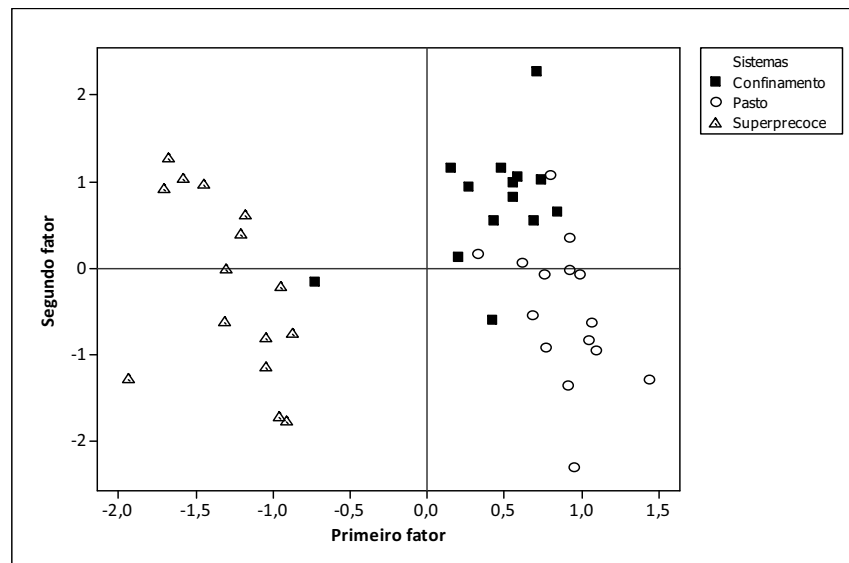


Figura 1. Dados isotópicos para o Acém (músculo *Trapezius cervicis*) sem extração

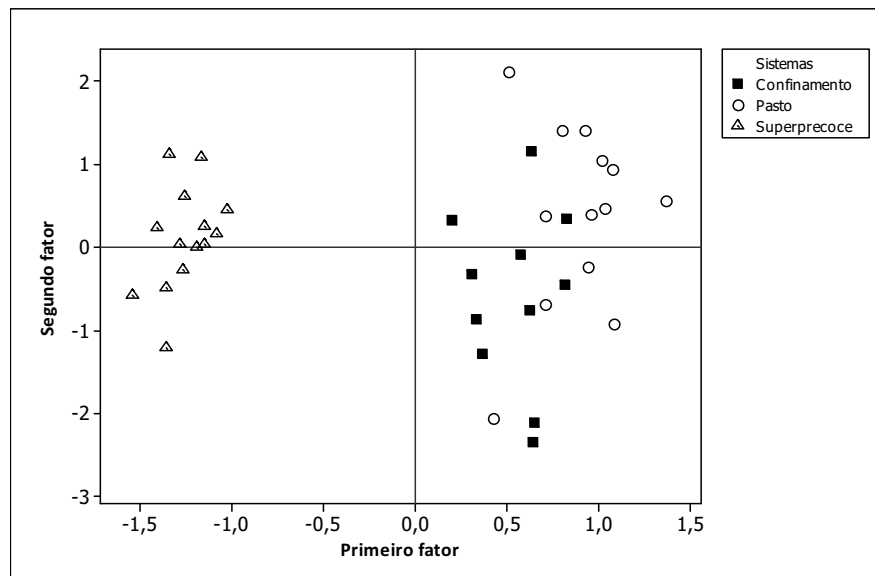


Figura 2. Dados isotópicos para o Acém (músculo *Trapezius cervicis*) com extração.

Dentro do fator a separação dos sistemas é mais influenciada pelo elemento que possui o maior coeficiente de escore. Para o Acém sem e com extração, os elementos que permitiram a separação dos sistemas de alimentação foram o Carbono e Nitrogênio no Fator 1, e Oxigênio e Nitrogênio no Fator 2 (Tabela 7) sendo os escores de coeficientes muito próximos. Um ponto a ser observado é o fato de que nas amostras



com extração dos lipídeos, o Fator 1 contribui com 74% do total das variações apresentadas no gráfico da Figura 2.

**Tabela 7.** Coeficiente de escores da análise de fatores para o acém (*Trapezius cervicis*) com e sem extração de gordura de bovinos em diferentes sistemas de alimentação em função dos elementos analisados

Variável	Sem extração		Com extração	
	Fator 1	Fator 2	Fator 1	Fator 2
Carbono	1,257	0,131	1,238	0,019
Nitrogênio	0,486	0,456	0,446	0,372
Oxigênio	0,134	1,229	0,022	1,178
% Var	0,371	0,367	0,685	0,238

Já foi destacado a importância do processo de extração de lipídios para análise dos valores isotópicos. Entretanto, pode-se afirmar que não existe a necessidade de tal processo, haja vista a similaridade dos gráficos para o comportamento dos pontos referentes a cada sistema de alimentação. Sendo assim, em termos de praticidade, não se recomenda o processo de extração para análise do Acém.

Para o Contrafilé (*Longissimus dorsi*) sem extração de gordura, os três sistemas se diferenciaram levando em conta o Fator 1 (Figura 3), sendo o Carbono com coeficiente de escore de 0,547 e o Nitrogênio de 0,498, os elementos responsáveis pela separação dos sistemas (Tabela 8).

Para os resultados das amostras com extração de lipídeos, apenas o sistema CAD ficou destacado dos demais (Figura 4). Porém, nesse caso, a separação dos sistemas pelo Fator 2, inerente ao plano vertical do gráfico, foram os elementos Carbono e Nitrogênio, que permitiram a diferenciação, com os coeficientes de 1,318 e 0,500, respectivamente (Tabela 8).

Par as amostras de Contrafilé sem extração, os três sistemas de alimentação ficaram destacados e quando a extração foi realizada, apenas o sistema CAD se destacou dos demais. Considerando este ponto de vista, não se recomenda a extração da fração lipídica para análise isotópica.

Aproximadamente 97% das variações possíveis estão representadas no gráfico da Figura 3 e cerca de 91% para o gráfico da Figura 4. Essa percentagem nada mais é do que a soma das variações referentes ao Fator 1 e Fator 2 (Tabela 8).

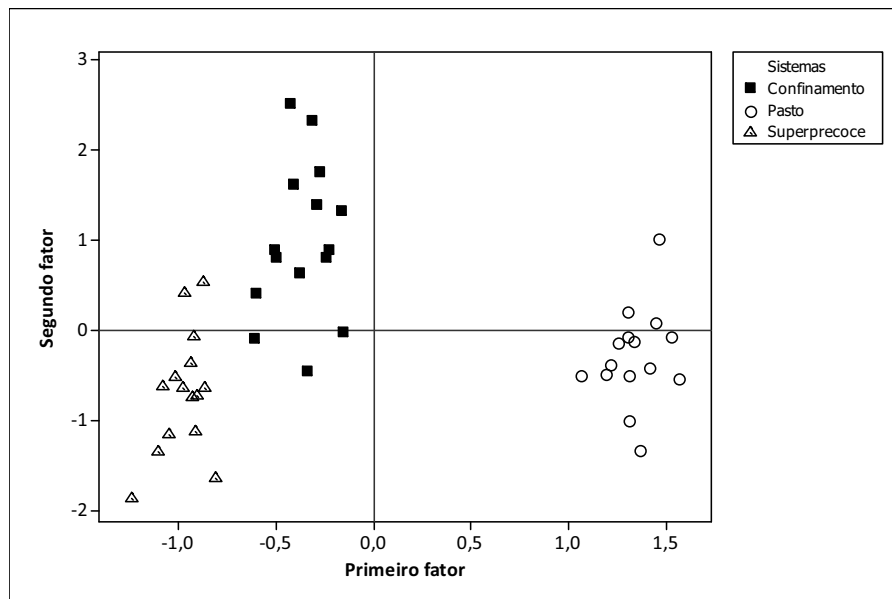


Figura 3. Dados isotópicos para o Contrafilé (*Longissimus dorsi*) sem extração.

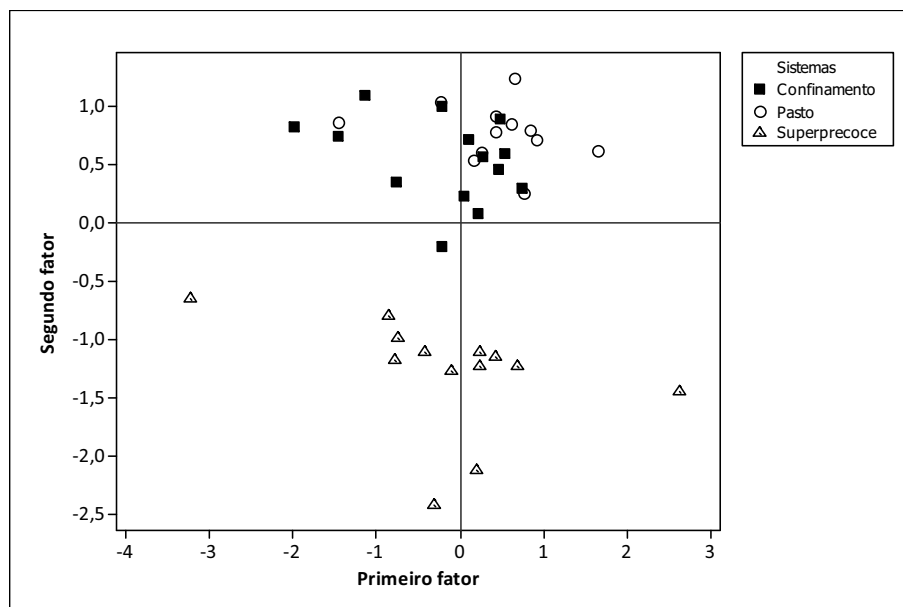


Figura 4. Dados isotópicos para o Contrafilé (*Longissimus dorsi*) com extração.

**Tabela 8.** Coeficiente de escores da análise de fatores para o contrafilé (*Longissimus dorsi*) sem e com extração de gordura de bovinos em diferentes sistemas de alimentação em função dos elementos analisados

Variável	Sem extração		Com extração	
	Fator 1	Fator 2	Fator 1	Fator 2
Carbono	0,547	0,099	0,094	1,318
Nitrogênio	0,498	0,105	0,257	0,500
Oxigênio	0,000	1,041	1,134	0,098
% Var	0,611	0,363	0,704	0,209

Para o Lagarto (*Semitendinosus*) sem a extração de lipídios, os três sistemas de alimentação destacados um dos outros (Figura 5). Os elementos dominantes na separação foram o Nitrogênio e Carbono com coeficientes de 1,253 e 0,470, respectivamente no Fator 1 e o Oxigênio no Fator 2 (Tabela 9)

Também para as amostras de Lagarto com extração da fração lipídica, os três sistemas foram distintos. No Fator 1 o principal elemento envolvido é o Nitrogênio, com coeficiente de 1,118 e no Fator 2 o Oxigênio com coeficiente de 1,247(Tabela 9).

Aproximadamente 91% das variações possíveis estão representadas no gráfico da Figura 1 e de 92% para o gráfico da Figura 6, sendo a soma das variações referentes ao Fator 1 e Fator 2 (Tabela 9).

Recomenda-se para o Lagarto a não extração da fração lipídica pra análise isotópica, assim, o processo de análise se torna mais rápido por eliminar a etapa de extração.

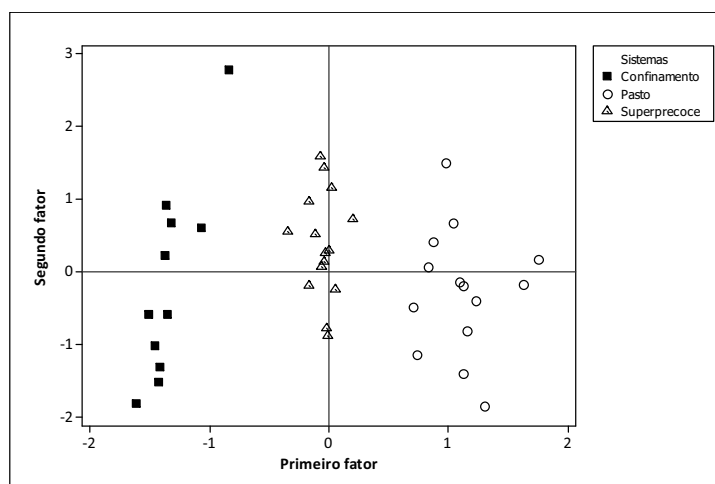


Figura 5. Dados isotópicos para o Músculo “Lagarto” (*Semitendinosus*) sem extração.

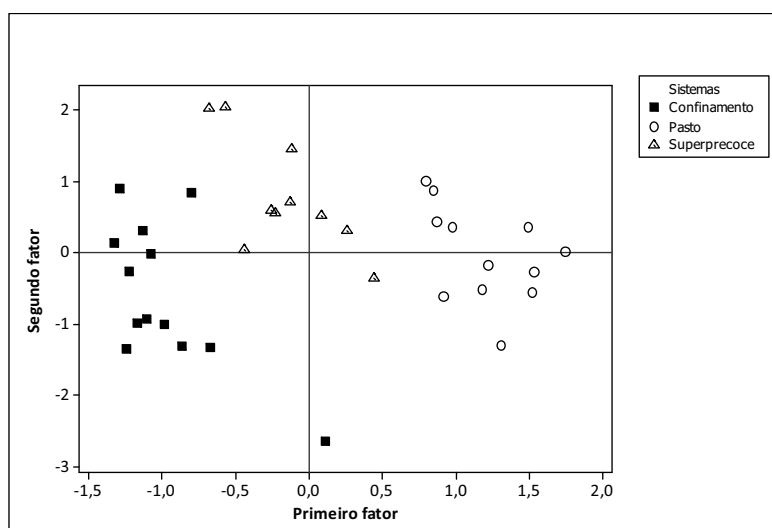


Figura 6. Dados isotópicos para o Músculo “Lagarto” (*Semitendinosus*) com extração.

**Tabela 9.** Coeficiente de escores da análise de fatores para o lagarto (*Semitendinosus*) sem e com extração de gordura de bovinos em diferentes sistemas de alimentação em função dos elementos analisados

Variável	Sem extração		Com extração	
	Fator 1	Fator 2	Fator 1	Fator 2
Carbono	0,470	0,291	0,305	0,471
Nitrogênio	1,253	0,020	1,118	0,239
Oxigênio	0,029	1,115	0,209	1,247
% Var	0,656	0,258	0,547	0,369

No sistema PA, os bovinos foram alimentados exclusivamente com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e suplemento vitamínico-mineral. A forragem apresentava valor isotópico para  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-14,41\text{‰}$  e se comparado com aqueles encontrados para os músculos tanto com ou sem extração, observa-se um fracionamento ao redor de  $2\text{‰}$ .

Para os animais do CAR, houve três dietas distintas. Na fase que antecedeu o confinamento ou até os 360 kg de peso vivo, consumiram forragem com  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-14,24\text{‰}$ . Posteriormente, foram arraçoados com duas outras dietas, uma por 15 dias com  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-17,14\text{‰}$  e a outra com  $-18,85\text{‰}$  por 84 dias.

Para o sistema CAD, na fase que antecedeu o confinamento, ou seja, durante a fase de cria, os animais se alimentavam de forragem de capim *Digitaria decumbens* com  $\delta^{13}\text{C}$  de  $-13,70\text{‰}$  e suplemento com sinal de  $-20,11\text{‰}$ . Além disso, os bezerros se

alimentavam do leite materno, que apesar do sinal isotópico não ter sido mensurado, acredita-se que apresentariam valor próximo ao da forragem.

Deve-se atentar ao fato que para o sistema de confinamento de animais desmamados permaneceram confinados 66 dias a mais que os animais confinados desde a recria. Ainda, além desse maior número de dias de confinamento, havia cerca de 4‰ de diferença entre as dietas finais para os animais destes sistemas. No mais, ressalta-se que o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  do capim do PA foi de -14,41, sendo diferente 4,44 e 8,66‰ em relação a dieta do CAR e CAD, respectivamente.

Para o elemento Nitrogênio, o sinal isotópico da forragem PA é superior ao dos outros sistemas, possivelmente em virtude da presença de matéria orgânica da região onde esses animais foram criados, ver Tabela 1. No caso, a área específica da fazenda há poucos anos era constituída de mata fechada que foi desmatada para implantação do capim. Nunca houve adubação de origem industrial nessa área. O valor de  $\delta^{15}\text{N}$  dessa forrageira foi de 13,8‰, valor distante do encontrado para CAR e CAD, de 3,89 e 4,52‰, respectivamente. Contudo deve ser bem entendido que os animais do PA eram criados na região do município de Altamira, estado do Pará. Bovinos criados também num SPP, porém de outra região ou outro estado do Brasil, pode não apresentar os mesmos valores isotópicos para  $\delta^{15}\text{N}$ .

Para análise isotópica com o objetivo de diferenciar os sistemas de produção, os três elementos devem ser analisados e considerados na análise dos dados.

Alguns apontamentos reportados por estudos já conduzidos sugerem que após a troca de dieta, a mudança na composição isotópica do tecido ou componente corporal depende de quão rápido estes constituintes são transferidos (TIESZEN et al., 1983). De modo geral, os tecidos mais ativos metabolicamente apresentam *turnover* mais rápido que os tecidos menos ativos metabolicamente.

Não foi possível traçar uma ideia coesa e direta de maneira a justificar as o comportamento distinto entre músculos. Entretanto, é possível discorrer sobre algumas hipóteses.

Quando se realizou a extração dos lipídios, os resultados entre os músculos possivelmente ocorreram devido à intensidade de movimentação de cada músculo. Deve atentar-se ao fato da disponibilidade de espaço, pois em baias de confinamento a movimentação é mínima. Músculos mais requisitados ao trabalho contrátil tendem a

uma maior rapidez de transferência isotópica. Isto faz sentido quando considera-se o PA como um sistema extensivo de criação. Já, o CAR e CAD são sistemas intensivos com projetos de instalações compactos.

Outro detalhe refere-se à predominância do tipo de fibras musculares. No acém, com aproximadamente 63%, predomina fibras oxidativas; Contrariamente, fibras glicolíticas constituem a maior porção nos músculos contrafilé e lagarto, com cerca de 43 e 50%, respectivamente (KIRCHOFER et al., 2002). Fibras oxidativas estão estreitamente ligadas a dependência de elevada troca de metabólitos e de oxigênio, portanto são ricamente vascularizadas e com grande número de mitocôndrias (MACARI et al., 1994). Por outro lado, fibras glicolíticas apresentam reduzida densidade de capilares sanguíneos, conseqüentemente com pequena troca de metabólitos e de oxigênio (BANKS, 1992). Logo, quanto maior a troca de metabólitos, mais rapidamente os músculos refletem o sinal da troca de dietas.

Para os músculos *in natura*, além das hipóteses citadas acima, cita-se uma provável interferência analítica. A presença de lipídios tendeu a superestimar os valores de  $\delta^{18}\text{O}$ , principalmente nos músculos com maior conteúdo lipídico. Em ordem decrescente, os músculos mais afetados foram o contrafilé, acém e lagarto.

Entretanto, no presente estudo, pelos resultados observados nos gráficos, o Lagarto com e sem extração e o Contrafilé sem extração permitiram diferenciação dos três sistemas. Por outro lado, o Acém com e sem extração e o Contrafilé com extração apenas possibilitaram a diferenciação do sistema CAD.

Diante disso, pode-se levantar a hipótese de que o Lagarto pode ter uma maior rapidez em refletir o sinal isotópico da dieta que passou a ser fornecida durante o período de confinamento. Ainda, a presença de lipídios também contribuiu para a melhor separação dos sistemas. Esse fato foi observado no Contrafilé sem extração, haja vista, que o Contrafilé com extração possibilitou a diferenciação de todos os sistemas.

Outra questão se baseia no fato da ausência de dados de digestibilidade das dietas. Portanto, não se sabe o quanto dos nutrientes ingeridos foi assimilado nos tecidos dos animais.

Contudo, os dias de permanência dos animais no confinamento podem interferir na separação dos sistemas. Se porventura, o número de dias dos animais em

confinamento não forem os mesmos avaliados neste estudo, há possibilidade dos resultados serem diferentes.

No mais, deve ser considerado que os tecidos ou materiais exógenos podem ser relativamente empobrecidos ou enriquecidos em  $\delta^{13}\text{C}$  em relação à dieta, devido ao fracionamento isotópico (JONES et al., 1979; GANNES et al., 1997).

Os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  podem ter tido interferência em função do tipo de solo, intensidade de tratos culturais ou aplicação de fertilizantes industriais e presença de plantas leguminosas na dieta.

Além disso, as condições ambientais e fisiológicas podem ocasionar variabilidade na composição do N isotópico nos animais dentro de uma mesma população (BAHAR et al. 2005), especialmente em ruminantes (TIESZEN, 1991). Alimentos ingeridos apresentam maior razão  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  do que fezes, evidenciando que o  $^{14}\text{N}$  é mais eliminado no processo digestivo de mamíferos (STEELE e DANIEL 1978; SUTOH et al. 1987). Logo, os tecidos dos consumidores tendem a ser enriquecidos em valores  $\delta^{15}\text{N}$  em relação à dieta (MINAGWA e WADA, 1984; AMBROSE 1993; MICHENER e SCHELL, 1994). De modo geral, há um enriquecimento médio de 3 a 4‰ para cada grau de nível trófico.

Como já relatado, as coordenadas geográficas das fazendas de origem dos animais dos três sistemas de produção eram distintas uma das outras (Tabela 1). Heaton et al. (2008) conduziram estudo avaliando a origem geográfica de bovinos de diversos países. Os resultados encontrados demonstram que regiões de latitudes menores e mais próximas a linha do Equador possuem maior valor para oxigênio.

No mesmo estudo, observou-se para animais provindos da Escócia, Nova Zelândia, Shetland e Inglaterra, valores menores de oxigênio em relação aos bovinos criados em regiões da África do Sul, Austrália, Brasil e Uruguai, países esses com latitudes mais baixas e de climas mais quentes.

Além dos fatores de fracionamento citados acima, os bovinos dos dois sistemas alocados no confinamento sofreram influência de fatores intrínsecos do próprio sistema de produção. Cita-se a movimentação dos animais de suas propriedades de origem até as instalações do confinamento, mudanças dos alimentos que estavam sendo ofertados e da água ingerida, cada qual com seus valores isotópicos.

O que também deve ser levado em conta é que se utilizou de alimentos regionais para compor as dietas dos animais no confinamento. Nessa ocasião, os resultados devem ser tratados com cautela, pois os mesmos sistemas de produção avaliados podem não apresentar as mesmas conclusões, caso outros tipos de alimentos sejam ofertados.

Vale a pena destacar que as culturas que deram origem aos ingredientes que compuseram as dietas foram cultivadas em regiões distintas, sendo parte no estado de Mato Grosso e outra parte em São Paulo.

## **CONCLUSÕES**

Para diferenciação dos sistemas de produção de bovinos de corte utilizando a técnica dos isótopos estáveis, recomenda-se o Contrafilé ou o Lagarto sem extração de lipídeos.

Para análise isotópica com o objetivo de diferenciar os sistemas de produção, os três elementos devem ser analisados e considerados na análise dos dados.

A diferenciação dos sistemas de produção de bovinos de corte pela técnica dos isótopos estáveis deve ser visualizada com cautela, em função do tempo de confinamento e também do sinal isotópico das dietas que podem ser diferentes de acordo com os alimentos utilizados.



## REFERÊNCIAS

- AMBROSE, S.H. 1993. Isotopic analysis of paleodiets: methodological and interpretive considerations. *In* Investigations of ancient human tissue. *Edited by* M.K. Sanford. Gordon and Breach, Langhorne, Pa. pp. 59–130.
- BANKS, W.J. *Histologia veterinária aplicada*. São Paulo: Manole, 1992. 629p.
- BARBOUR, M.M.; HUNT, J.E.; DUNGAN, R.J. et al. Variation in the degree of coupling between  $^{13}\text{C}$  of phloem sap and ecosystem respiration in two mature *Nothofagus* forests. *New Phytologist*, v.166, p.497-512, 2005.
- BAHAR, B.; MONAHAN, F. J.; MOLONEY, A. P.; O'KIELY, P.; SCRIMGEOUR, C. M.; SCHMIDT, O. Alteration of the carbon and nitrogen stable isotope composition of beef by substitution of grass silage with maize silage. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2005, 19, 1937–1942.
- CORMIE, A.P., AND SCHWARCZ, H.P. 1996. Effects of climate on deer bone  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$ : lack of precipitation effects on  $^{15}\text{N}$  for animals consuming low amounts of  $\text{C}_4$  plants. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 60: 4161–4166, 1996.
- CRAIG, H. Isotopic variations in meteoric water. *Science*, v.133, p.1702-1703, 1961.
- DANSGAARD, W. Stable isotopes in precipitation. *Tellus*, v.16, p.436-468, 1964.
- DENIRO, M.J. Stable isotopes and archaeology. *American Scientist*. v.75, p.182-191. 1987.
- DENIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v.42, p.495-506. 1978.
- FELÍCIO, P. E. Rastreabilidade aplicada à carne bovina. *In*: MATTOS, W.R.S. et al. (Ed.). *A produção animal na visão dos brasileiros*. Piracicaba: FEALQ, 2001. p.294-301.
- GANNES, L., O'BRIEN, D.M., AND MARTINEZ DEL RIO, C. 1997. Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology*, 78: 1271–
- HEATON, K.; KELLY, S. D.; HOOGEWERFF, J.; WOOLFE, M. Verifying the geographical origin of beef: the application of multi-element isotope and trace element analysis. *Food Chem.* 2008, 107, 506–515.
- HEATON, T.H.E., VOGEL, J.C., VON LA CHEVALLERIE, G., AND COLLETT, G. 1986. Climate influence on the isotopic composition of bone nitrogen. *Nature (Lond.)*, 322: 822–823.

- HEATON, T.H.E. 1987. The  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  ratios of plants in South Africa and Namibia: relationship to climate and coastal/saline environments. *Oecologia*, 74: 236–246.
- JONES, R.; LUDLOW, M.; TROUGHTON, J. Estimation of the proportion of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plant species in diet of animals from the ratio of natural  $^{12}\text{C}$  and  $^{13}\text{C}$  isotopes in the faeces.. *Journal of Agricultural Science*, v.18, p.91-100, 1979.
- KIRCHOFER, K. S., CALKINS, C. R., GWARTNEY, B. L. (2002): Fiber-Type Composition of Muscles of the Beef Chuck and Round. *Journal of Animal Science*, 80: 2872-2878.
- MACARI, M. FURLAN, R.L; GONZALES, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP, p.313-323, 1994.
- MAPA Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 17, de 13 de Julho de 2006. Estabelece a Norma Operacional do Serviço de Rastreabilidade da Cadeia Produtiva de Bovinos e Bubalinos (SISBOV). Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta>. Acesso em: 19 mar. 2008.
- MICHENER RH, SCHELL DM (1994) Stable isotope tracers in marine aquatic food webs. In: Lajtha K, Michener RH (eds) Stable isotopes in ecology and environmental science. Blackwell, London
- MINAGAWA, M., AND WADA, E. 1984. Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48: 1135– 1140.
- MINITAB Statistical Software [computer program], version 16. State College: Minitab, 2010.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.
- PETERSON, B.J., AND FRY, B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 293–320.
- SEALY, J.C., VAN DER MERWE, N.J., LEE THORP, J.A., AND LANHAM, J.L. 1987. Nitrogen isotopic ecology in southern Africa: implications for environmental and dietary tracing. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 51: 2707–2717.
- SHEARER, G., KOHL, D.H., AND VIRGINIA, R.A. 1983. Estimates of  $\text{N}_2$ - fixation from variation in the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in Sonoran Desert plants. *Oecologia*, 56: 365–373.
- STEELE, K.W., AND DANIEL, R.M. 1978. Fractionation of nitrogen isotopes by animals: a further complication to the use of variations in the natural abundance of  $^{15}\text{N}$  for tracer studies. *J. Agric. Sci.* 90: 7–9.

SUTOH, M., KOYAMA, T., AND YONYEYAMA, T. 1987. Variations of natural  $^{15}\text{N}$  abundances in the tissues and digesta of domestic animals. *Radioisotopes*, 36: 74–77.

TIESZEN, L.L.; BOUTTON, T.W.; TESDAHL, K.G. et al. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for  $^{13}\text{C}$  analysis of diet. *Oecologia*, v.57, p.32-37, 1983.

TIESZEN, L. T. Natural variations in the carbon isotope values of plants: implications for archaeology, ecology, and paleoecology. *J Archaeol Sci* 18:227–248, 1991.

## **CAPÍTULO 4**

## IMPLICAÇÕES

Este trabalho é pioneiro no Brasil em avaliar o potencial de utilização da técnica dos isótopos estáveis em estudos envolvendo bovinos.

A partir dos resultados obtidos, foi possível distinguir os três sistemas de produção de bovinos de corte avaliados.

Por permitir diagnosticar a origem alimentar dos animais, o presente estudo apresenta impacto significativo na comercialização da carne bovina. Além disso, atende parte da demanda por informações sobre o alimento consumido. Também viabiliza o processo de agregação de valor aos bovinos produzidos dentro de cada sistema.

Contudo, alguns pontos no estudo foram evidenciados e precisam ser mais bem conhecidos a partir de novas pesquisas. Por exemplo, elucidar os possíveis mecanismos de fracionamento associados à microbiota ruminal, pois podem ter contribuição significativa nos valores isotópicos transferidos aos tecidos. Além disso, avaliar o efeito da digestibilidade das dietas nos valores isotópicos.

Os resultados encontrados no presente estudo foram obtidos dentro de condições específicas de dietas, tempos de confinamento e de local de criação dos bovinos.

Amostragem das águas ingeridas pelos animais poderia prover informações adicionais importantes.

Diante das informações adquiridas e das implicações expostas, fica claro que esta pesquisa representa apenas o início e abre uma nova linha de estudos.