

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

**RASTREABILIDADE DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES EM
CODORNAS SUBMETIDAS A LONGO PERÍODO DE CRIAÇÃO
UTILIZANDO A TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS ($\delta^{13}\text{C}$; $\delta^{15}\text{N}$)**

ERICA REGINA SERNAGIOTTO

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre.

Botucatu - SP
Março de 2009

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

**RASTREABILIDADE DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES EM
CODORNAS SUBMETIDAS A LONGO PERÍODO DE CRIAÇÃO
UTILIZANDO A TÉCNICA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS ($\delta^{13}\text{C}$; $\delta^{15}\text{N}$)**

ERICA REGINA SERNAGIOTTO

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre.

Botucatu – SP

Março de 2009

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

S486r Sernagiotto, Erica Regina, 1983-
Rastreabilidade da farinha de vísceras de aves em cordornas submetidas a longo período de criação utilizando a técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$; $\delta^{15}\text{N}$) / Erica Regina Sernagiotto. - Botucatu : [s.n.], 2009.
viii, 63 f. : gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2009
Orientador: Antonio Celso Pezzato
Inclui bibliografia.

1. Carbono - Isótopos. 2. Nitrogenio - Isótopos. 3. Codorna - Criação. 4. Codorna - Alimentação e Nutrição. I. Pezzato, Antonio Celso. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Marco Polo Sernagiotto e Aparecida Victor Sernagiotto pelo amor, carinho, compreensão e incentivo durante toda minha vida.

Aos meus irmãos Marco Aurélio Sernagiotto e Soraia Cristina Sernagiotto Barbosa pelo apoio e companheirismo durante todos os momentos.

As minhas sobrinhas Rafaela e Júlia pela espontaneidade, veracidade e pureza de seus gestos, que muito me alegram.

Aos demais familiares pelo apoio sempre prestado.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo maravilhoso dom da vida.

Ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ, Botucatu – SP, pelo apoio durante a realização da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Antonio Celso Pezzato, pela confiança e compreensão.

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti pela atenção e dedicação, na realização das análises isotópicas e discussão dos resultados;

Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, pela colaboração na realização do experimento;

À granja Fujikura (Suzano - SP) pela doação das codornas, fundamentais para a execução do experimento.

Ao abatedouro Frangoeste pelo fornecimento da farinha de vísceras de aves.

Às colegas Juliana Célia Denadai, Rosana Gottmann, Cleusa Móri, Mariela Akie Okino Mituo, Valquíria Cação da Cruz pela paciência e ajuda, fundamentais para realização deste trabalho;

Aos amigos Vítor, João, Fernando, Marcos, Cleise, pela amizade, atenção e carinho;

Aos amigos Fabyola, Priscila, Kelen, Ana Cristina, Celina, João Guilherme, Vanessa, pela amizade, ajuda durante o experimento, convivência, pelos momentos de descontração e boas risadas;

Ao Sr. Arlindo, funcionário do Laboratório de Nutrição de Aves, pela dedicação e auxílios prestados;

Aos funcionários do Centro de isótopos Estáveis Ambientais: Cíbele, Evandro e Silvia, pela convivência e auxílio nas análises isotópicas;

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Seila e Danilo pela atenção e auxílios prestados;

E a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1.....	9
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	9
1. Introdução.....	10
2. Rastreabilidade e certificação da qualidade de produtos agroindustriais.....	12
3. Isótopos estáveis.....	14
4. Justificativas e objetivo.....	17
5. Referências.....	19
CAPÍTULO 2.....	26
ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE CARBONO E NITROGÊNIO NA DETECÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES EM CODORNAS DE CORTE CRIADAS POR LONGO PERÍODO.....	26
RESUMO.....	27
ABSTRACT.....	28
1. Introdução.....	29
2. Material e Métodos.....	30
3. Resultados e Discussão.....	34
4. Conclusões.....	38
5. Referências.....	39
CAPÍTULO 3.....	42
DIFERENTES TECIDOS NA RASTREABILIDADE DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES NA ALIMENTAÇÃO DE CODORNAS DE CORTE CRIADAS POR LONGO PERÍODO.....	42
RESUMO.....	43
ABSTRACT.....	44
1. Introdução.....	45
2. Material e Métodos.....	46
3. Resultados e Discussão.....	50
4. Conclusões.....	57
5. Referências	58
CAPÍTULO 4.....	62
IMPLICAÇÕES.....	62

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1	Página
Tabela 1. Abundância natural dos isótopos estáveis em átomos %.....	15
CAPÍTULO 2	
Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes, níveis nutricionais calculados e valores isotópicos das dietas experimentais: inicial (1 - 21 dias) e crescimento (22 – 126 dias).....	32
Tabela 2. Valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ com respectivos desvios- padrão do músculo peitoral (n = 4) de codornas de corte.....	35
CAPÍTULO 3	
Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes, níveis nutricionais calculados e valores isotópicos das dietas experimentais: inicial (1 – 21 dias) e crescimento (22 – 126 dias).....	48
Tabela 2. Valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ com respectivos desvios- padrão do músculo peitoral (n=4) de codornas de corte.....	52
Tabela 3. Valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ com respectivos desvios- padrão do osso tibiotarso (n=4) de codornas de corte.....	53

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Página

- Figura 1.** Regiões de confiança para os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do músculo peitoral, de codornas de corte nos diferentes dias de abate em cada tratamento quando comparados ao T1 (vegetal)..... 36

CAPÍTULO 3

- Figura 1.** Regiões de confiança para os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do músculo peitoral, de codornas de corte nos diferentes dias de abate em cada tratamento quando comparados ao T1 (vegetal)..... 54
- Figura 2.** Regiões de confiança para os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do osso tibiotarso, de codornas de corte nos diferentes dias de abate em cada tratamento quando comparados ao T1 (vegetal)..... 55

CAPÍTULO 1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

Durante muitos anos a coturnicultura foi considerada como atividade alternativa para pequenos produtores. Entretanto, em função do potencial dessas aves para produção de ovos e carne e da possibilidade de diversificação para comercialização desses produtos, a exploração comercial de codornas cresceu e encontra-se em expansão, consolidando-se como importante segmento da avicultura nacional.

O grande interesse pela criação de codornas deveu-se, principalmente, à qualidade excepcional de sua carne, ao alto valor nutritivo e agradável sabor de seu ovo, que tem resultado em grande aceitação pelo mercado consumidor. Além disso, as codornas apresentam rápido crescimento, alta taxa de postura, ciclo reprodutivo curto, maturidade sexual precoce, baixo consumo de ração e exigem espaço de criação consideravelmente reduzido (Murakami & Ariki, 1998). Todos esses fatores contribuem para que esta atividade requeira baixo investimento inicial e rápido retorno do capital empregado (Murakami & Furlan, 2002).

Dados do IBGE (2008) mostram que o plantel de codornas no Brasil no ano de 2006 correspondeu a 7.207.830 milhões de aves, representando aumento de aproximadamente 6% em relação ao ano de 2005, sendo considerado expressivo para cultura, visto que outros rebanhos não obtiveram o mesmo crescimento no período.

No exterior há grande aceitabilidade da carne e ovos de codornas pelos consumidores (Jones et al., 1979; Yannapoulos & Tserveni-Gousi, 1986; Panda & Singh, 1990; Gushin et al., 1992; Baumgartner, 1994) logo, empresas do setor privado passaram a investir no aumento e melhoria de seus plantéis.

A primeira importação oficial de matrizes de codornas aptas para produção de carne foi feita em 1996 pela agroindústria Perdigão®. Até então os animais destinados ao abate eram advindos do descarte de matrizes de postura em final de produção ou de machos classificados erroneamente durante o processo de sexagem, ou seja, animais não especializados para produção de carne (Almeida, 2001).

O volume entregue pela Perdigão® da sua linha de carne *in natura* denominada *Avis Rara*, que engloba carne de perdizes e codornas, tem crescido de forma expressiva nos últimos anos. Apesar da demanda ainda ser baixa se comparada às carnes de frango e peru, sua alta rentabilidade faz com que a empresa mantenha o empenho na

continuidade da produção, garantia de que a linha é comercializada com compensação diferenciada e superior aos produtos avícolas tradicionais (Moreira, 2005).

Vários episódios mundiais aterrorizaram e inibiram o consumo de produtos alimentícios de origem animal, levando a necessidade da implantação do programa de rastreabilidade e certificação de produtos na indústria avícola.

Mais conhecida como *mal da vaca louca*, a crise da Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), ocorrida principalmente em países da Comunidade Européia, Japão e Canadá, tornou-se um dos principais aspectos relacionados ao controle da produção de produtos de origem animal e à certificação de sua origem (Hargin, 1996). A EEB surgiu por volta de 1985 na Inglaterra, quando pecuaristas visando aumento da produtividade começaram a utilizar resíduos de carcaças do próprio gado a fim de elevar o teor protéico das rações.

A EEB é uma doença neurodegenerativa que afeta o bovino doméstico e tem como característica ser causada por um tipo de proteína alterada, chamada príon (*proteinaceous infectious particles*), que adquire característica de agente infeccioso transmissível (Prusiner et al., 1984). Esta faz parte do grupo de doenças priônicas que acometem ovinos, caprinos, ratos, gato doméstico, puma, guepardo, antílope, homem e avestruz (Hart, 1995; Moreno Chan & Valdes, 1996).

A inexistência aparente de casos em suínos, aves e outros animais utilizados na alimentação humana podem ser em decorrência apenas do abate precoce ou da subnotificação de doenças nesses animais, o que piora o quadro, porque os animais mortos antes do período de abate podem ser reciclados como ingrediente para ração, criando retroalimentação positiva e levar a infecção maciça desses animais (Lupi, 2003).

Outros episódios importantes como a crise da dioxina na Bélgica (1999) e Alemanha (2000/2001) e recentemente, o surgimento de focos de febre aftosa no Brasil e a disseminação do vírus da Influenza Aviária pelo mundo também deixam evidente a grande importância de programas efetivos para questões de segurança alimentar e sanidade dos animais.

Esses episódios passaram a exigir mais controle, definições claras de pontos críticos de controle, responsabilidade técnica e rastreabilidade na cadeia produtiva e na comercialização (Cerutti, 2002).

Influências culturais e religiosas, assim como ações governamentais e não-governamentais também influenciam a tendência de produção e consumo de produtos como: frango verde, orgânico, Halal, entre outros.

A garantia com relação à autenticidade de produtos cárneos se mostra fundamental para a confiabilidade na segurança alimentar, qualidade e bem-estar animal (Verbeke & Viaene, 1999).

Diante disso, medidas emergenciais foram tomadas, como por exemplo, a mudança na legislação europeia em seu regulamento CE nº 1774/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho da União Europeia, Texto Consolidado (CONSLEG, 2004), capítulo 1, artigo 22º, afirmando que fica proibida a alimentação de uma espécie animal com proteínas de animais transformadas, derivadas dos corpos, ou partes de corpos, de animais da mesma espécie.

No Brasil, com o intuito de utilizar essas fontes protéicas de modo mais seguro, os estabelecimentos que processam resíduos de animais para a produção de farinhas e gorduras destinadas à alimentação animal estão sob uma série de exigências previstas na Instrução Normativa nº 1 de 29 de outubro de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a fim de estabelecer padrões para condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação (BPF).

2. Rastreabilidade e certificação da qualidade de produtos agroindustriais

A inquietude e a incerteza relacionada à procedência dos alimentos, a neofobia, as frequentes crises alimentares, como a amplamente discutida *crise da vaca louca*, e a introdução dos polêmicos alimentos geneticamente alterados no mercado são alguns fatores que levam o consumidor atual a buscar produtos cuja qualidade e procedência possam ser garantidas de alguma forma. O grande número de publicações de massa disponível responde à crescente preocupação do consumidor em relação ao tema (Krücken-Pereira, 2001).

Para Caldas et al. (2005), a rastreabilidade alimentar é uma das principais reivindicações do consumo mundial. Trata-se de uma ferramenta de gestão de risco para

ser usada na resolução do problema de segurança alimentar, permitindo que se possa seguir e localizar os produtos, desde sua produção.

O Codex Alimentarius (1999) define rastreabilidade como a habilidade de traçar o histórico, aplicação ou localização de um item por meio de informações previamente registradas. Apresenta-se como mecanismo que permite identificar a origem do produto e sua trajetória, desde o campo até o consumidor, podendo ter sido ou não, transformado ou processado. É um conjunto de medidas que possibilitam controlar ou monitorar todo o processo de produção, objetivando a qualidade com origem garantida (Iba et al., 2003).

As indústrias alimentares que não aplicam algum tipo de sistema de rastreabilidade terão dificuldades em manter-se no ramo por pressões de consumidores e agências governamentais reguladoras (Smith et al., 2005).

Criado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2002) como resposta às pressões da União Européia que exigia um programa oficial de rastreabilidade para a cadeia de bovinos, o SISBOV (Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem Bovina e Bubalina) é o único sistema de rastreabilidade oficialmente implantado no Brasil.

No caso da avicultura ainda não há um sistema de identificação oficial, porém já utiliza diversas ferramentas como o HACCP (Análise de Risco e Controle de Pontos Críticos) ou o BPF (Boas Práticas de Fabricação), além de atuar no sentido de definir normas para outros pontos da cadeia produtiva (Cerutti, 2002).

Algumas tecnologias podem ser utilizadas para fazer inferências a respeito da origem ou históricos dos alimentos destacando-se DNA-PCR, espectroscopia infravermelha e os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

Através da análise da razão isotópica para o elemento químico carbono - ^{13}C - testam-se com sucesso, a autenticidade, a qualidade e a origem geográfica de vários produtos tais como sucos de frutas (Bricout & Koziat, 1987), méis (Brookes et al., 1991; White et al., 1998), vinhos (Martin et al., 1988), produtos lácteos (Rossmann et al., 2000; Manca et al., 2001), óleos vegetais (Kelly et al., 1997) a certificação de origem e de qualidade de produtos de origem animal (Hargin, 1996; Monin, 1998; González - Martin et al., 2001). Associado a razão isotópica do nitrogênio, a técnica permitiu a detecção da inclusão de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte

no produto final, ou seja, no músculo peitoral (Oliveira, 2005; Carrijo et al., 2006) e detectar a inclusão de farinha de vísceras de aves no músculo peitoral, quilha e tibiotarso de codornas de corte (Móri et al., 2007).

O controle da autenticidade dos alimentos de origem animal não pode ser conseguido sem informações adicionais, tais como, composição nutricional da dieta, manejo alimentar, região ou local de origem, linhagem e idade ao abate, dentre outras. Com essas informações disponíveis, os isótopos podem representar uma ferramenta potente para confirmar ou negar as informações declaradas em registros e/ou rótulos (Oliveira, 2005).

3. Isótopos Estáveis

A técnica de isótopos estáveis foi usada inicialmente em estudos geológicos e arqueológicos. Ultimamente tem sido aplicada de forma crescente em pesquisas agrícolas, ecológicas e fisiológicas, apresentando-se como alternativa promissora para estudos de processos relacionados à digestão, absorção e metabolismo de nutrientes em humanos e animais, assim como, em estudos para identificar a procedência e qualidade de produtos de origem animal e vegetal (Gannes et al., 1998).

O termo isótopo vem do grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato de 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.

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 e diferentes propriedades físicas, o que permite que eles sejam utilizados como traçadores naturais em pesquisas. A expressão *estável* significa que não emitem radiação.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 1, há naturalmente a ocorrência de dois isótopos estáveis de carbono (^{12}C e ^{13}C), com abundâncias naturais de aproximadamente 98,89 e 1,11 átomos %, respectivamente (Kennedy & Krouse, 1990).

O nitrogênio possui dois isótopos estáveis, ^{14}N e ^{15}N cujas abundâncias naturais são 99,63 e 0,37 átomos %, respectivamente (Ducatti, 2004).

Tabela 1. Abundância natural dos isótopos estáveis em átomos %.

Isótopo leve		Isótopo pesado		Gás analisado
^{12}C	98,892	^{13}C	1,108	CO_2^*
^1H	99,985	^2H	0,015	H_2^{**}
^{16}O	99,759	^{17}O	0,037	CO_2
		^{18}O	0,203	CO_2
^{14}N	99,633	^{15}N	0,366	N_2^{***}

Adaptado de Ducatti (2004). *dióxido de carbono; ** hidrogênio; ***nitrogênio.

As plantas podem ser classificadas de acordo com seu ciclo fotossintético em dois grupos principais: plantas C_3 e C_4 . As primeiras são denominadas plantas do ciclo C_3 porque em sua rota bioquímica o primeiro composto orgânico sintetizado contém três átomos de carbono. Por outro lado, as plantas onde o primeiro composto orgânico formado possui quatro átomos de carbono são denominadas plantas do ciclo C_4 (Ducatti, 2004).

Durante a assimilação fotossintética, as plantas do ciclo fotossintético C_3 fixam o CO_2 atmosférico através do ciclo de *Calvin-Benson* e apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -22 e -34‰. As plantas C_4 fixam o CO_2 através do ciclo de *Hatch-Slack* e apresentam valores entre -9 e -16‰. O sinal negativo indica que as plantas apresentam menor concentração de ^{13}C que o padrão internacional. Portanto, as plantas C_3 e C_4 possuem assinaturas isotópicas distintas ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), devido ao fracionamento que ocorre durante a fixação fotossintética do carbono (Smith & Epstein, 1971; O' Leary, 1981; Kennedy & Krouse, 1990; Vogel, 1993; Ducatti, 2004).

As diferenças naturais na razão isotópica de carbono entre espécies de plantas possibilitam a utilização de partes dessas plantas como traçadores em animais, não havendo a necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados, evitando-se assim, riscos relativos à saúde humana e ao meio ambiente como no caso da utilização de isótopos radioativos (Tyrrel et al., 1984).

As composições isotópicas dos tecidos de animais geralmente assemelham-se às suas dietas (Minson & Ludlow, 1975; DeNiro & Epstein, 1976, 1978; Hobson & Clark, 1992a, 1992b) e esses traçadores vêm sendo utilizados com eficácia em estudos com aves de postura (Carrijo et al., 2000; Denadai et al., 2006), frangos de corte (Cruz et al., 2004; Carrijo et al., 2006), peixes (Zuanon, et al. 2007), ovinos (Silva, 2003) e outras espécies animais.

Os valores do delta do carbono-13 ($\delta^{13}\text{C}$) são expressos na terminologia dos isótopos estáveis, em delta per mil da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\delta\text{‰}^{13}\text{C}$) do produto em relação a um padrão internacional definido, *PeeDee Belemnite* (PDB). Segundo Friedman e O'Neill (1977), citados por Ducatti et al. (1979), o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono. Trata-se de um fóssil carbonatado sólido da era *cretáceos*, denominado *Belemnitella americana*, da formação *PeeDee* da Carolina do Sul, Estados Unidos, o qual foi empregado inicialmente como padrão por Craig (1957). O padrão internacional PDB exauriu-se com o tempo e, atualmente é utilizado como padrão de trabalho, uma rocha carbonatada (mármore) com alta pureza em calcita, que é calibrado periodicamente entre os laboratórios (Ducatti et al., 1979).

Em relação ao nitrogênio, o padrão internacional aceito é o nitrogênio atmosférico, que é considerado uma mistura isotópica homogênea na superfície terrestre. Os valores do delta do nitrogênio-15 ($\delta^{15}\text{N}$) são expressos, na terminologia dos isótopos estáveis, em *delta per mil da razão isotópica* $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ da amostra em relação ao padrão internacional (Ducatti, 2004).

Diferentemente do carbono, a razão isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ nas plantas não depende do ciclo fotossintético realizado. No caso das leguminosas que utilizam o ar atmosférico como fonte para fixação do nitrogênio, esta razão isotópica aproxima-se do padrão internacional (N_2 atm); e no caso de outras plantas, como por exemplo, as gramíneas, esta razão varia em função da razão isotópica da fonte de nitrogênio específica de cada solo, além de depender de inúmeros fatores como clima e adubação. Assim como o carbono, a abundância natural de ^{15}N pode ser utilizada como traçador em estudos de nutrição animal.

A medida da relação entre isótopos estáveis é realizada por espectrometria de massas, que detecta a concentração dos diferentes isótopos do elemento. Esta razão isotópica é obtida pela expressão:

$$\delta X_{(amostra, padrão)} = [(R_{amostra} / R_{padrão}) - 1] \times 10^3$$

onde:

δX = enriquecimento do isótopo mais pesado do elemento químico X da amostra em relação ao respectivo padrão internacional.

R = razão isotópica entre o isótopo menos e o mais abundante ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$; $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$).

A terminologia δ (amostra, padrão) reflete o enriquecimento relativo da razão isotópica da amostra, comparativamente a razão isotópica do padrão internacional, e é indicada na análise de mensuração das variações isotópicas naturais.

Segundo DeNiro & Epstein (1978) a integração da composição isotópica do carbono incorporado no corpo do animal e o que foi perdido na respiração e excreção deve ser igual à composição isotópica de carbono da dieta, esta afirmação se tornou a base da maioria dos pressupostos dos experimentos que utilizam os isótopos estáveis do carbono.

A razão isotópica do carbono em associação à razão isotópica do nitrogênio permitiu rastrear no produto final a farinha de carne e ossos bovinos na alimentação de frangos de corte (Carrijo et al., 2006), farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte e codornas (Oliveira, 2005; Móri et al., 2007), farinha de vísceras de aves, juntamente com levedura e farelo de trigo, na alimentação de frangos de corte (Gottmann et al., 2008) e farinha de carne e ossos bovinos na alimentação de poedeiras (Denadai et al., 2008).

4. Justificativas e Objetivo

Pesquisas utilizando a técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio tem sido desenvolvidas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais (CIEA) do Instituto de Biociências (IB) em parceria com os Departamentos de Melhoramento e Nutrição Animal e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), ambos da UNESP – Botucatu/São Paulo, na tentativa de identificar e quantificar a

utilização de subprodutos de origem animal na alimentação de aves. Estes estudos ocorrem visto a necessidade de se produzir alimento dentro dos padrões exigidos pelo mercado externo, quanto à utilização, ou não, destes subprodutos na alimentação animal.

A técnica ainda não foi aplicada em animais com ciclos longos de criação, como por exemplo, perus e aves raras, pois são animais de alto custo de produção e alta complexidade de criação. Assim, para avaliar essa metodologia em animais de ciclos longos, utilizou-se neste estudo codornas de corte, por terem pequeno porte, baixo consumo de alimento e conseqüentemente, menor custo de produção.

O Capítulo 2, denominado **“Isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na detecção de farinha de vísceras de aves em codornas de corte criadas por longo período”** apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Revista Brasileira de Ciência Avícola – Brazilian Journal of Poultry Science* publicada pela *Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas*. O trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade da técnica dos isótopos estáveis em rastrear a farinha de vísceras de aves (FVA), na alimentação de codornas de corte criadas por longo período, após a substituição da dieta com 8% de FVA por dieta vegetal.

O Capítulo 3, denominado **“Diferentes tecidos na rastreabilidade da farinha de vísceras de aves na alimentação de codornas de corte criadas por longo período”** apresenta-se de acordo com as normas para publicação da revista *Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)*, sendo esta uma publicação mensal da Embrapa. O trabalho teve como objetivo avaliar o músculo peitoral e o osso tibiotarso de codornas de corte criadas por longo período, por meio dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, na rastreabilidade da farinha de vísceras de aves (FVA) utilizada em alguma fase de sua alimentação.

5. Referências

ALMEIDA, M. I. M. **Efeito de linhagem e de nível protéico sobre o desempenho e características de carcaça de codornas (*Coturnix sp*) criadas para corte**, 2001. Tese (Doutorado em Melhoramento Genético) - Instituto de Biociências – IB, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

BAUMGARTNER, J. Japanese quail production, breeding and genetics. **World's Poultry Science**, v. 50, n. 3, p. 227-235, 1994.

BRICOUT, J.; KOZIET, J. Control of authenticity of orange juice by isotopic analysis. **Journal of Agricultural Food Chemistry**; v. 35, p. 758-760, 1987.

BROOKES, S. T.; BARRIE, A.; DAVIES, J. E. A rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ test for determination of corn-syrups in honey. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 74, p. 627-629, 1991.

CALDAS, A. S. et al . A importância da denominação de origem para o desenvolvimento regional e inclusão social: O caso do território da cachaça de Abaíra. **Revista Desenbahia**, v. 2, n. 3, p. 181-200, 2005.

CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C. Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 2, p. 209-218, 2000.

CARRIJO, A. S et al. Traceability of Bovine Meat and Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, p. 37-42, 2006.

CERUTTI, M. Aplicação de um programa de rastreabilidade na cadeia de frangos de corte. In: **Simpósio sobre Manejo de Aves e Suínos e Tecnologia da Produção de Rações**, Campinas, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002, p. 253-264.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius Food and Agriculture organization of the United Nations, **Word Health Organization**, 1999

CONSLEG – Serviço das Publicações Oficiais das Comunidades Europeias. **Texto Consolidado – Regulamento nº 1774/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho da União Européia**, 154p. 2004. Disponível em: <http://defra.gov.uk/animalh/by-prods/publicate/em_2002R1774_do_001.pdf> Acesso em: 27 de abril de 2008.

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

CRUZ, V. C. et al. Tracing metabolic routes of feed ingredients in tissues of broiler chickens using stable isotopes. **Poultry Science**, v. 83, p. 1376-1381, 2004.

DENADAI, J. C. et al. Studies on carbon-13 turnover in eggs and blood of commercial layers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, p. 251-256, 2006.

DENADAI, J. C. et al. The traceability of animal meals in layer diets as detected by stable carbon and nitrogen isotope analysis of eggs. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 189–194, 2008.

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

DeNIRO, M. J.; EPSTEIN, S. You are what you eat (plus a few ‰) the carbon isotope cycle in food chains. **Geological Society of America**, Boulder, v. 6, p. 834, 1976.

DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. Método de análise da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ em carbonatos. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 51, n. 2, p. 275-286, 1979.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, p.184, 2004.

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 and Physiology**, New York, v. 119A, n. 3, p. 725-737, 1998.

GONZÁLEZ-MARTIN, I. et al. Differentiation of dietary regimen of Iberian swine by means of isotopic analysis of carbon and sulphur in hepatic tissue. **Meat Science**, v. 58, p. 25-30, 2001.

GOTTMANN, R. et al. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, p. 1641-1647, 2008.

GUSHIN, W. W.; KROIK, L. I.; NANOS, W. R. CIS quail industry is developing successfully. **World's Poultry Science**, v. 8, p. 43, 1992.

HARGIN, K. D. Authenticity issues in meat and meat products. **Meat Science**, v. 43, p. S277-S289, 1996.

HART, C. A. Transmissible spongiform encephalopathies. **Journal of Medical Microbiology**, v. 42, p. 153-155, 1995.

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

HOBSON, K. A.; CLARK, R. G. Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. **The Condor**, Los Angeles, v.94, p.189-197, 1992b.

IBA, S. K. et al. **Um panorama da rastreabilidade dos produtos agropecuários do Brasil destinados à exportação: carnes, soja e frutas**. 2003. Disponível em: <<http://www.cendotec1.org.br/dossier/cirad/produitsbrpr.pdf>> Acesso em: 20 mar. 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA, **Sistema IBGE de recuperação Automática**, 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.br/sidra>> Acesso em: 18 mar. 2008.

JONES, J. E.; HUGHES, B. L.; HALE, K. K. Coturnix D1 carcass yield. **Poultry Science**, v. 58, p. 1647-1648, 1979.

KELLY, S. et al. Assessing the authenticity of single seed vegetable oils using fatty acid stable carbon isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). **Food Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 181-186, 1997.

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.

KRÜCKEN-PEREIRA, L. **O processo de valorização de produtos alimentícios através das denominações de origem e qualidade: um estudo exploratório**. 2001, 179 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Programa de Pós Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

LUPI, O. Doenças priônicas: avaliação dos riscos envolvidos na utilização de produtos de origem bovina. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, p. 7-18, 2003.

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

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 1, DE 09 DE JANEIRO DE 2002**. Institui o Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem Bovina e Bubalina - SISBOV. 2002. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1777>> Acesso em: 24 fev. 2008.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 1, DE 29 DE OUTUBRO DE 2003**. Aprova o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos que Processam Resíduos de Animais Destinados à Alimentação Animal, o Modelo de Documento Comercial e o Roteiro de Inspeção das Boas Práticas de Fabricação. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do> > Acesso em: 18 de mar. 2008.

MARTIN, G. J. et al. Natural factors of isotope fractionation and the characterization of wines. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 36, p. 316-322, 1988.

MINSON, D. J.; LUDLOW, M. M. Differences in natural carbon isotope ratios of milk and hair from cattle grazing tropical and temperate pastures. **Nature**, Washington, DC, v. 256, p. 602, 1975.

MONIN, G. Recent methods for predicting quality of whole meat. **Meat Science**, v. 49, p. S231-S243, 1998.

MOREIRA, E. Expansão à vista: novas tendências em cena no mercado consumidor e o avanço tecnológico nas granjas estimulam o setor. **Revista Safra**, v. 6, n. 67, 2005.

MORENO CHAN R.; VALDES V.L.M. Encefalopatias esponjiiformes de los animals de zoológico. **Ciência Veterinária**, v. 7, p. 2165, 1996.

MÓRI, C. et al. Traceability of Animal Byproducts in Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Tissues using Carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and Nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) Stable Isotopes. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 4, p. 263 – 269, 2007.

MURAKAMI, A. E.; FURLAN, A. C. Pesquisas na nutrição e alimentação de codornas em postura no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COTURNICULTURA, 1., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, p.113-120, 2002.

MURAKAMI, A. E; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**, Jaboticabal: FUNEP, p. 79, 1998.

O'LEARY, M. H. Carbon isotope fractionation in plants. **Phytochemistry**, v. 20, n. 4, p. 553-567, 1981.

OLIVEIRA, R. P. **Rastreabilidade da farinha de vísceras na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$)**. 2005. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

PANDA, B.; SINGH, R. P. Developments in processing of quail meat and eggs. **World's Poultry Science**, v. 46, n. 11, p. 219-234, 1990.

PRUSINER, S. B. et al. Purification and structural studies of a major scrapie prion protein. **Cell**, v. 38, p. 127-134, 1984.

ROSSMANN, A. et al. The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. **European Food Research & Technology**, v. 211, p. 32-40, 2000.

SILVA, J. J. **Determinação da fase lactente – ruminante em cordeiros pelas técnicas de $\delta^{13}\text{C}$ e micro – histologia fecal**. 2003. 43 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

SMITH, B. N.; EPSTEIN, S. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of higher plants. **Plant Physiology**, v. 47, p. 380-384, 1971.

SMITH, G. C. et al. Traceability from a US perspective. **Meat Science**, v. 71, p. 174-193, 2005.

TYRRELL, H.F. et al. Use of carbon 13 as tracer in metabolism studies. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, p.127-129, 1984. Supplement.

VERBEKE, W., VIANE, J. Consumer attitude to beef quality labeling and associations with beef quality labels. **Journal of International Food and Agribusiness Marketing** v. 10, p. 45-65, 1999.

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

WHITE, J. W. et al. Stable carbon isotope ratio analysis of honey: validation of internal standard procedure for worldwide application. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 81, p. 610-619, 1998.

YANNKOPOULOS, A. L.; TSERVENI-GOUSHI, A. S. Quality characteristics of quail eggs. **British Poultry Science**, v. 27, p. 171-176, 1986.

ZUANON, J. A. S. et al. Muscle $\delta^{13}\text{C}$ change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, cichlidae) fingerling fed on C3 – or C4 cycle plants grain-based diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 147, p. 761-765, 2007.

CAPÍTULO 2

ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE CARBONO E NITROGÊNIO NA DETECÇÃO DE FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES EM CODORNAS DE CORTE CRIADAS POR LONGO PERÍODO

Isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na detecção de farinha de vísceras de aves em codornas de corte criadas por longo período

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a capacidade da técnica dos isótopos estáveis em rastrear a farinha de vísceras de aves (FVA), na alimentação de codornas de corte criadas por longo período, após a substituição da dieta com 8% de FVA por dieta vegetal. Foram utilizadas 320 codornas, distribuídas aleatoriamente em oito tratamentos: dieta vegetal (T1) e sete tratamentos com inclusão de 8% de FVA na dieta, um mantendo a dieta até o final do período experimental (T2), e nos demais a dieta foi substituída aos 42; 56; 70; 84; 98; 112 dias; respectivamente, por dieta vegetal. Para coleta das amostras de músculo peitoral foram sacrificadas ao acaso, quatro aves ($n = 4$) por tratamento, a cada 14 dias, sendo que no T1 e T2 tiveram início aos 42 dias e nos demais a partir da troca das dietas. Os resultados isotópicos obtidos foram submetidos à análise multivariada de variância (MANOVA) com auxílio do procedimento GLM do programa estatístico SAS. Os tratamentos diferiram do vegetal quando as aves foram sacrificadas duas semanas após a troca da dieta; após esse período os tratamentos experimentais tiveram comportamento semelhante ao vegetal, exceto o T3, que se mostrou semelhante ao T1 no abate 14 dias após a troca da dieta; e do T2 que em todos os períodos de comparação diferiu do T1. Conclui-se que a aplicação da técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na rastreabilidade da FVA, na alimentação de codornas de corte criadas por longo período é possível nas aves abatidas 14 dias após a troca de dieta, com exceção das aves sacrificadas aos 56 dias de idade.

Palavras-chave: carbono-13, nitrogênio-15, rastreabilidade, isótopos estáveis, coturnicultura

Stable isotopes of carbon and nitrogen in the detection of poultry visceral meal in meat quails raised for a long period

Abstract

The present work aimed to evaluate the capability of the stable isotope technique to trace poultry visceral meal (PVM) in the diet of meat quails raised for a long period after substitution of an 8% PVM diet for a vegetable diet. Three hundred and twenty poultries (320) were randomly distributed into eight treatments: vegetable diet (T1) and seven treatments containing 8% PVM in the diet: in one treatment, the same diet was kept until the end of the experimental period (T2), and in the remaining treatments, the diet was substituted at 42, 56, 70, 84, 98, and 112 days, respectively, for a vegetable diet. To collect chest muscle samples, four poultries ($n = 4$) per treatment were randomly sacrificed at every 14 days, starting at 42 days in T1 and T2 and from diet substitution in the remaining treatments. The obtained isotopic results were subjected to multivariate analysis of variance (MANOVA) using the GLM procedure of SAS statistical software. Treatments differed from the vegetable diet when poultries were sacrificed at two weeks following the diet substitution; after such period, the behavior of experimental treatments was similar to that of the vegetable diet, except for T3, which was similar to T1 at slaughtering at 14 days after the diet substitution, and T2 which, in all comparison periods, differed from T1. In conclusion, the technique of stable isotopes of carbon and nitrogen can be used to trace PVM in the diet of meat quails slaughtered at 14 days after diet substitution, except for poultries sacrificed at 56 days.

Keywords: carbon-13, nitrogen-15, traceability, stable isotopes, quail raising

1. Introdução

No cenário mundial, a produção de carne de codornas vem crescendo e representa, cada vez mais, uma opção econômica para os avicultores, já que essas aves possuem grande habilidade em converter alimentos primários em fonte de proteína de alta qualidade para o consumo humano, além disso, a carne possui sabor e aparência agradáveis e é de fácil armazenamento.

As exigências cada vez maiores por produtos de qualidade, principalmente em relação à segurança alimentar, mobilizam produtores e agroindústrias a adequarem seus sistemas de produção, com o objetivo de oferecerem aos seus clientes produtos comprovadamente seguros, transmitindo confiança aos mesmos, principalmente depois dos problemas relacionados à Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) ou “mal da vaca louca”.

No Brasil, os estabelecimentos que processam resíduos de animais para a produção de farinhas e gorduras destinadas à alimentação animal com o intuito de utilizar essas fontes protéicas de modo mais seguro, estão sob uma série de exigências previstas na Instrução Normativa nº 1 de 29 de outubro de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a fim de estabelecer padrões para condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação (BPF).

Segundo Block Júnior (2002) muitos procedimentos têm sido propostos para identificação de subprodutos de origem animal em rações animais, tais como hibridização de DNA, ELISA e PCR. Entretanto a espectrometria de massas, através da análise da razão isotópica para o elemento químico carbono tem sido usada com sucesso para testar a autenticidade e a qualidade de produtos como, sucos de frutas (Bricout & Koziat, 1987), vinhos (Martin et al., 1988), produtos lácteos (Rossmann et al., 2000; Manca et al., 2001), óleos vegetais (Kelly et al., 1997) e a caracterização e diferenciação do regime dietético de suínos Ibéricos, possibilitando a classificação dos animais de acordo com o tipo de alimentação recebida durante o período de engorda (González - Martin et al., 1999).

As diferenças naturais na razão isotópica de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) entre espécies de plantas oferecem a possibilidade de utilizar partes das mesmas como traçadores em animais, sem alterar o seu estado natural, sem a necessidade de sintetizar compostos

especificamente marcados, além de evitar problemas de saúde humana e segurança ambiental associado ao uso de isótopos radioativos (Jones et al., 1979; Tieszen, 1978; Tyrrell et al., 1984; Boutton et al., 1988; Metges et al., 1990).

A razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) em associação à razão isotópica do nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) permitiu rastrear no produto final a farinha de carne e ossos bovinos na alimentação de frangos de corte (Carrijo et al., 2006), farinha de vísceras de aves na alimentação de frangos de corte e codornas (Oliveira, 2005; Móri et al., 2007), farinha de vísceras de aves, juntamente com levedura e farelo de trigo, na alimentação de frangos de corte (Gottmann et al., 2008) e farinha de carne e ossos bovinos na alimentação de poedeiras (Denadai et al., 2008).

Na intenção de aprimorar a técnica e disponibilizar mais informações sobre a rastreabilidade em animais de ciclo longo de vida, como os perus e aves raras, aproveitando o baixo custo de criação das codornas e sua capacidade de prolongamento do ciclo de vida, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a capacidade da técnica dos isótopos estáveis em rastrear a farinha de vísceras de aves (FVA), na alimentação de codornas de corte, em um longo período de criação, após a substituição da dieta com 8% de FVA por dieta vegetal.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido na UNESP - Campus de Botucatu, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves, no período de 10 de abril a 13 de agosto de 2007, com 126 dias de experimento. Foram utilizadas 320 codornas de corte de um dia de idade provenientes da granja Fujikura em Suzano-SP.

As aves foram alojadas em 16 gaiolas medindo cada uma 0,30 m de altura, 0,95 m de largura e 0,50 m de profundidade, com densidade de 20 aves por gaiola, totalizando 40 aves por tratamento. O piso das gaiolas foi revestido com folhas de jornal e sobre estas foi colocada tela plástica preta de malha de um centímetro para evitar fuga das aves e possíveis traumatismos nas pernas das mesmas.

Inicialmente, foram utilizados bebedouros tipo copo de pressão infantil com capacidade de meio litro, cuja água era trocada duas vezes ao dia. Aos 21 dias, os bebedouros foram substituídos pelo bebedouro tipo *nipple*.

Nos primeiros 21 dias, as codorninhas foram alimentadas em comedouro tipo bandeja, sobre o qual se colocou tela plástica com malha de um centímetro, a fim de reduzir o desperdício de ração. A partir do 22º dia, a ração foi fornecida por meio de comedouros lineares tipo calha. Durante o período experimental as aves receberam água e ração *ad libitum*.

O programa de luz adotado foi de 24 horas diárias de luz nas três primeiras semanas, utilizando lâmpadas incandescentes de 100 watts e após este período a iluminação foi natural.

As aves foram distribuídas aleatoriamente em oito tratamentos: um tratamento vegetal (T1) com dieta a base de milho e farelo de soja; e sete com dieta contendo 8% de inclusão de farinha de vísceras de aves (FVA); desses, um manteve a dieta até o final do período experimental (T2) e nos demais em alguma fase da vida a dieta foi substituída pela dieta vegetal.

A substituição da dieta contendo 8% de FVA pela dieta vegetal ocorreu aos 42 dias para o tratamento T3; aos 56 dias para o tratamento T4; aos 70 dias para o tratamento T5; aos 84 dias para o tratamento T6; aos 98 dias para o tratamento T7; e aos 112 dias para o tratamento T8.

As rações foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais das aves. Optou-se por seguir o mesmo plano nutricional de uma empresa comercial, com duas fases: inicial (1 a 21 dias de idade) e crescimento (22 a 126 dias de idade). Os níveis nutricionais de ambas as dietas experimentais foram isoenergéticos e isoprotéicos, sendo formuladas a base de milho, farelo de soja, óleo de soja, fosfato bicálcico, calcário calcítico, sal comum, DL-metionina, L-lisina e suplementos minerais e vitamínicos (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição percentual dos ingredientes, níveis nutricionais calculados e valores isotópicos das dietas experimentais inicial (1 - 21 dias) e crescimento (22 – 126 dias).

Ingredientes, %	Dietas Experimentais			
	Inicial		Crescimento	
	Vegetal	8% FVA ¹	Vegetal	8% FVA ¹
Milho moído	44,96	50,69	50,94	58,19
Farelo de soja	48,50	37,29	40,82	29,26
Farinha de vísceras	-	8,00	-	8,00
Óleo bruto de soja	2,87	0,90	4,82	2,34
Calcário calcítico	1,02	0,88	0,92	0,77
Fosfato bicálcico	1,80	0,74	1,66	0,60
DL-metionina	0,10	0,07	0,09	0,06
L-lisina	-	-	-	0,03
Suplemento vitamínico e mineral	0,40 ²	0,40 ²	0,40 ³	0,40 ³
Sal comum	0,35	0,35	0,35	0,35
Inerte (caulim)	-	0,68	-	-
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Energia metabolizável, Kcal/kg	2900	2900	3100	3100
Proteína bruta, %	26,00	26,00	23,00	23,00
Cálcio, %	1,00	1,00	0,90	0,90
Fósforo disponível, %	0,45	0,45	0,42	0,42
Metionina, %	0,44	0,49	0,44	0,44
Metionina + Cistina, %	0,90	0,90	0,81	0,81
Lisina, %	1,40	1,45	1,29	1,26
Valores isotópicos médios analisados ⁴				
$\delta^{13}\text{C}$	-19,48	-18,53	-19,17	-17,44
$\delta^{15}\text{N}$	1,34	2,26	1,88	2,45

¹ FVA = farinha de vísceras de aves. ²Suplemento vitamínico e mineral da Nutron® para fase inicial por Kg de produto: Mn = 18.750mg; Zn = 17.500mg; Fe = 11.250mg; Cu = 2.000mg; I = 187,5mg; Se = 75mg; Vit. A = 1.680.000UI/kg; Vit. D3 = 400.000UI/kg; Vit. E = 3.500mg; Vit. K3 = 360mg; Vit. B1 = 436,5mg; Vit. B2 = 1.200mg; Vit. B6 = 624mg; Vit. B12 = 2.400mcg; Ác. Fólico = 200mg; Ác. Pantotênico = 3.120mg; Niacina = 8.400mg; Biotina = 10mg; Colina = 75.700mg; Coccidiostático = 25.000mg; Promotor de crescimento = 20.000mg. ³Suplemento vitamínico e mineral da Nutron® para fase de crescimento por Kg de produto: Mn = 18.750mg; Zn = 17.500mg; Fe = 11.250mg; Cu = 2.000mg; I = 187,5mg; Se = 75mg; Vit. A = 1.400.000UI/kg; Vit. D3 = 300.000UI/kg; Vit. E = 2.500mg; Vit. K3 = 300mg; Vit. B1 = 388mg; Vit. B2 = 1.000mg; Vit. B6 = 520mg; Vit. B12 = 2.000mcg; Ác. Fólico = 162,5mg; Ác. Pantotênico = 2.600mg; Niacina = 7.000mg; Colina = 65.250mg; Coccidiostático = 15.000mg; Promotor de crescimento = 20.000mg. ⁴Valores isotópicos médios expressos em $\delta^{13}\text{C}$ relativos ao padrão *Peedee Belemnite (PDB)* e $\delta^{15}\text{N}$ relativos ao padrão N_2 atmosférico.

Para a coleta das amostras de músculo *Pectoralis major*, foram tomadas aleatoriamente quatro aves por tratamento e sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical, considerando-se cada ave uma repetição. As coletas foram realizadas a partir da troca de dieta (42, 56, 70, 84, 98, 112 e 126 dias), para cada tratamento com intervalo de 14 dias. Essas amostras foram preparadas segundo Oliveira (2005) e Móri et al. (2007, 2008), acondicionadas em sacos plásticos identificados, sendo imediatamente congeladas a -20°C para posteriores análises isotópicas.

As análises isotópicas foram feitas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIE/IB), UNESP, *campus* de Botucatu, de acordo com Oliveira (2005), Carrijo et al. (2006), Móri et al. (2007, 2008), Denadai et al. (2008) e Gottmann et al. (2008). Para carbono foram pesadas em cápsula de estanho, aproximadamente 100 µg e para nitrogênio 400 µg.

Para determinação das razões isotópicas de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) foi utilizado o espectrômetro de massas de razão isotópica (IRMS) tipo DELTA – S (Finnigan Mat) acoplado ao Analisador Elementar (EA 1108 CHN), de acordo com método descrito por Ducatti (2004).

Os resultados das análises foram expressos em delta (δ) per mil da razão isotópica da amostra em relação aos padrões internacionais *PeeDee Belemnite* (PDB) e nitrogênio atmosférico (N_2), para os elementos carbono e nitrogênio, respectivamente, de acordo com a expressão:

$$\delta X_{(\text{amostra, padrão})} = [(R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3$$

onde:

δX = enriquecimento do isótopo mais pesado do elemento químico X da amostra em relação ao respectivo padrão internacional.

R = razão isotópica entre o isótopo menos e o mais abundante ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$; $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$).

Os resultados isotópicos obtidos foram submetidos à análise multivariada de variância (MANOVA) com auxílio do procedimento GLM do programa estatístico SAS (1996). A partir dos dados gerados pelas matrizes de erro, foram determinadas regiões com 95% de confiança para verificar as diferenças isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) entre as

médias do tratamento vegetal (T1) e dos tratamentos que foram alimentados com FVA em alguma fase da vida (T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8).

Para que determinado tratamento fosse considerado diferente do T1 (vegetal) sua região de confiança não pôde sobrepor nenhum eixo do gráfico. Desta maneira, quando uma elipse sobrepôs um dos eixos, mostrou que a diferença entre as médias de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos tratamentos comparados foi igual a zero, e assim esses tratamentos não diferiram.

3. Resultados e Discussão

Os resultados isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do músculo peitoral de codornas de corte estão dispostos na Tabela 2 e as elipses geradas à partir dos dados da análise estatística estão expostas na Figura 1.

Foi possível observar enriquecimento isotópico tanto em $\delta^{13}\text{C}$ quanto em $\delta^{15}\text{N}$ no músculo peitoral das aves que em alguma fase da sua vida receberam a dieta contendo FVA em comparação às que receberam dieta vegetal (T1). Este enriquecimento em ^{13}C e ^{15}N quando se adicionou farinha de origem animal à dieta de aves também foi observado por Oliveira (2005), Carrijo et al. (2006), Móri et al. (2007,2008) , Denadai et al. (2008) e Gottmann et al. (2008).

Portanto a assinatura isotópica da dieta é refletida no organismo dos animais, pois o animal é o que consome isotopicamente, até $\pm 2,0\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ e até $\pm 3,0\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$ (DeNiro & Epstein, 1976, 1978) e deste modo tornou-se possível a detecção da presença da farinha de vísceras de aves na alimentação das codornas de corte.

Tabela 2. Valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ com respectivos desvios- padrão do músculo peitoral ($n = 4$) de codornas de corte.

Tratamentos ¹	Período de abate (dias)							
	42	56	70	84	98	112	126	
T1	δ ¹³ C	-20,64 ± 0,48	-21,43 ± 0,40	-21,53 ± 0,18	-21,32 ± 0,43	-21,70 ± 0,31	-21,81 ± 0,13	-21,20 ± 0,29
	δ ¹⁵ N	3,03 ± 0,06	3,00 ± 0,20	2,99 ± 0,09	3,09 ± 0,15	3,13 ± 0,12	3,28 ± 0,13	3,44 ± 0,27
T2	δ ¹³ C	-19,43 ± 0,38	-19,37 ± 0,36	-19,90 ± 0,13	-19,86 ± 0,17	-19,94 ± 0,20	-20,13 ± 0,43	-19,34 ± 0,29
	δ ¹⁵ N	3,54 ± 0,08	3,78 ± 0,20	3,89 ± 0,16	3,99 ± 0,09	3,77 ± 0,12	3,80 ± 0,19	4,49 ± 0,29
T3	δ ¹³ C		-20,34 ± 0,37	-20,74 ± 0,35	-20,99 ± 0,19	-21,42 ± 0,26	-21,47 ± 0,04	-21,32 ± 0,08
	δ ¹⁵ N		3,40 ± 0,24	3,01 ± 0,20	3,14 ± 0,15	3,14 ± 0,07	3,28 ± 0,04	3,88 ± 0,55
T4	δ ¹³ C			-20,61 ± 0,34	-20,93 ± 0,23	-21,37 ± 0,18	-21,56 ± 0,36	-20,61 ± 0,34
	δ ¹⁵ N			3,53 ± 0,07	3,46 ± 0,15	3,39 ± 0,08	3,32 ± 0,11	4,33 ± 0,14
T5	δ ¹³ C				-20,60 ± 0,07	-20,89 ± 0,23	-20,91 ± 0,23	-21,28 ± 0,28
	δ ¹⁵ N				3,40 ± 0,09	3,49 ± 0,16	3,34 ± 0,28	3,62 ± 0,25
T6	δ ¹³ C					-20,66 ± 0,36	-21,26 ± 0,08	-20,93 ± 0,27
	δ ¹⁵ N					3,70 ± 0,18	3,38 ± 0,08	4,05 ± 0,23
T7	δ ¹³ C						-20,41 ± 0,26	-20,99 ± 0,10
	δ ¹⁵ N						3,53 ± 0,16	3,48 ± 0,10
T8	δ ¹³ C							-20,51 ± 0,24
	δ ¹⁵ N							4,49 ± 0,21

¹T1: dieta a base de milho e farelo de soja até 126 dias; T2: dieta com 8% de inclusão de farinha de vísceras de aves (FVA) até 126 dias; T3: dieta com 8% de inclusão de FVA até 42 dias, após esse período dieta vegetal; T4: dieta com 8% de inclusão de FVA até 56 dias, após esse período dieta vegetal; T5: dieta com 8% de inclusão de FVA até 70 dias, após esse período dieta vegetal; T6: dieta com 8% de inclusão de FVA até 84 dias, após esse período dieta vegetal; T7: dieta com 8% de inclusão de FVA até 98 dias, após esse período dieta vegetal; T8: dieta com 8% de inclusão de FVA até 112 dias, após esse período dieta vegetal.

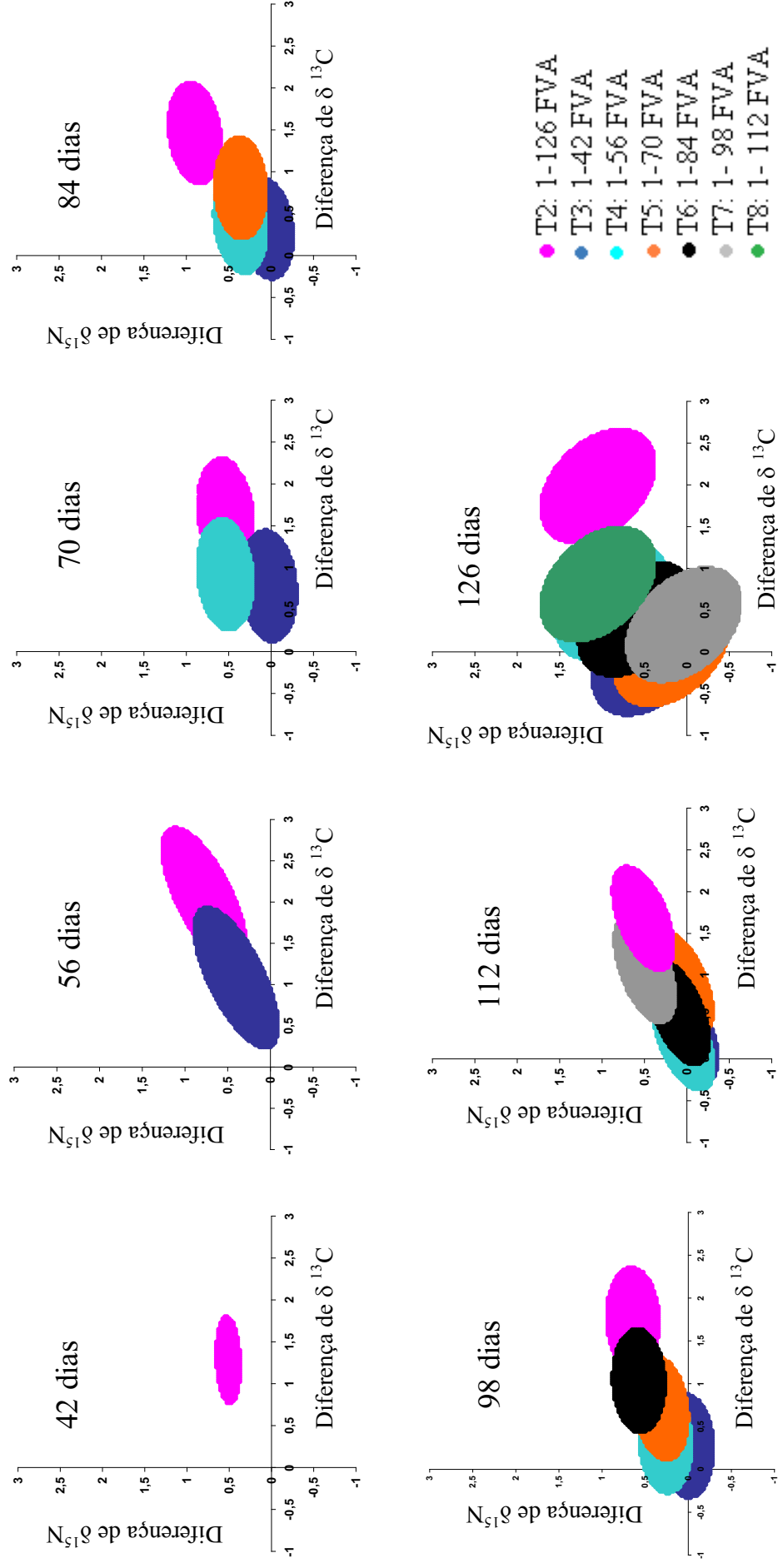


Figura 1- Regiões de confiança para os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do músculo peitoral, de codornas de corte nos diferentes dias de abate em cada tratamento quando comparados ao T1 (vegetal).

Nos gráficos em que as elipses de confiança se apresentaram alongadas, houve maior amplitude dos pontos gerados pela matriz de erro, situação possivelmente definida pelos maiores desvios-padrão observados. Segundo Murakami & Ariki (1998), Garcia & Pizzolante (2004) e Móri et al. (2007), desvios-padrão acima do esperado são comuns para codornas de corte, pois esses animais ainda não sofreram melhoramento genético suficiente.

As diferenças entre as médias dos tratamentos experimentais entre as aves que se alimentaram em alguma fase da vida de FVA, quando comparadas às médias do tratamento vegetal (T1) para $\delta^{15}\text{N}$, foram inferiores às diferenças das médias de $\delta^{13}\text{C}$, fazendo com que as regiões de confiança se deslocassem mais para o eixo do carbono do que para o eixo do nitrogênio. Segundo Oliveira (2005), esse comportamento é um reflexo das diferenças isotópicas de carbono e nitrogênio entre a dieta vegetal e uma dieta que contém farinha de vísceras de aves em sua composição.

Observando-se a Figura 1, notou-se que o tratamento T2, representado pelas aves alimentadas durante todo período de criação com farinha de vísceras de aves, diferiu do tratamento T1 (vegetal), em todos os dias de abate, quando analisado o músculo peitoral, observação essa que é corroborada por Móri et al. (2007, 2008) que também diferenciaram no músculo peitoral de codornas de corte abatidas aos 42 dias a alimentação com FVA da dieta vegetal. As aves que receberam a inclusão de FVA na dieta até os 42 dias de idade e foram sacrificadas a partir 56 dias (T3), não diferiram significativamente do grupo vegetal.

O tratamento T4 representado pelas aves que receberam a FVA até os 56 dias de vida e que foram sacrificadas aos 70 dias, diferiram do tratamento vegetal, porém quando essas aves foram abatidas a partir de 84 dias de idade, apresentaram-se semelhantes àquelas do T1.

As aves que receberam FVA até os 70 dias de vida (T5) se apresentaram diferentes do T1 apenas no abate aos 84 dias, sendo que a partir dos 98 dias já não diferiram do tratamento vegetal.

No tratamento T6, no qual a troca de dieta ocorreu aos 84 dias, observou-se diferença entre o tratamento T1 quando essas aves foram abatidas aos 98 dias, após esse período já apresentaram comportamento semelhante ao T1.

Quando as aves foram alimentadas até os 98 dias com FVA (T7) e comparadas ao T1 aos 112 dias, verificou-se diferença entre esses tratamentos, já aos 126 dias não diferiu de T1 e o tratamento T8 diferiu do tratamento vegetal aos 126 dias, 14 dias após a troca da dieta.

Em resumo, os tratamentos com a presença de FVA diferiram do tratamento vegetal quando as aves foram sacrificadas duas semanas após a troca da dieta, sendo que após esse período os tratamentos com a inclusão de FVA tiveram comportamento semelhante ao vegetal, com exceção do T3, que já se mostrou semelhante ao T1, no abate 14 dias após a troca da dieta; e do T2, que em todos os períodos de comparação diferiu do T1.

A rastreabilidade da FVA no músculo peitoral quando a troca da dieta aconteceu duas semanas antes do abate ocorreu, provavelmente, porque a curva de crescimento dessas aves estava próxima da estabilização e assim com metabolismo mais lento que os frangos avaliados por Oliveira (2005), que com 14 dias após a troca da dieta apresentaram sinal isotópico semelhante às aves alimentadas com dieta vegetal.

Porém, ao analisar outros tecidos, como a quilha e o osso tibiotarso, Oliveira (2005) concluiu que quando uma dieta contendo FVA é substituída por dieta vegetal, a detecção de FVA é possível duas semanas após a troca da dieta.

Considerando essas diferenças entre os tecidos, tornam-se necessários novos estudos, avaliando a capacidade de rastrear diferentes inclusões de FVA e outros tecidos com metabolismo mais lento, como o osso tibiotarso.

4. Conclusões

A aplicação da técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na rastreabilidade da farinha de vísceras de aves, na alimentação de codornas de corte criadas por longo período, é possível nas aves abatidas 14 dias após a troca de dieta, com exceção das aves sacrificadas aos 56 dias de idade.

5. Referências

- BLOCK JUNIOR, C. Monitoramento da qualidade de rações brasileiras para ruminantes por espectrometria de massa. In: Simpósio Sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos e tecnologia da produção de rações, 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002, p. 251-252.
- BOUTTON, T. W; TYRRELL, H. F; PATTERSON, B. W. Carbon kinetics of milk formation in Holstein cows in late lactation. **Journal of Animal Science** ; v. 66: p. 2636-2645, 1988.
- BRICOUT, J.; KOZIET, J. Control of the authenticity of orange juice by isotopic analysis. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 35, p. 758-760, 1987.
- CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J.R.; TRINCA, L.; SILVA, E.T. Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, p. 37-42, 2006.
- DENADAI, J. C. et al. The traceability of animal meals in layer diets as detected by stable carbon and nitrogen isotope analysis of eggs. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 189–194, 2008.
- DeNIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, London, v. 42, p. 495-506, 1978.
- DeNIRO, M. J.; EPSTEIN, S. You are what you eat (plus a few ‰) the carbon isotope cycle in food chains. **Geological Society of America**, Boulder, v. 6, p. 834, 1976.
- DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu: UNESP, Instituto de Biociências, p.184, 2004.
- GARCIA, E. A.; PIZZOLANTE, C. C. Nutrição de codornas para posturas. In: II Simposio Internacional e I Congresso Brasileiro de Coturnicultura, 2004, Lavras, **Anais...**p. 65 – 74.

GONZALEZ-MARTIN, I. et al. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine. **Meat Science**, v. 52, p. 437-441, 1999.

GOTTMANN, R. et al. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, p. 1641-1647, 2008.

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

KELLY, S. et al. Assessing the authenticity of single seed vegetable oils using fatty acid stable carbon isotope ratios (¹³C/¹²C). **Food Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 181-186, 1997.

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

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 1, DE 29 DE OUTUBRO DE 2003. Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos que processam resíduos de animais destinados à alimentação animal, o modelo de documento comercial e o roteiro de inspeção das boas práticas de fabricação. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do> > Acesso em: 18 mar. 2008.

MARTIN, G. J. et al. Natural factors of isotope fractionation and the characterization of wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, p. 316-322, 1988.

METGES, C.; KEMPE, K.; SCHIMIDT, H. L. Dependence of the carbon isotope contents of breath carbon dioxide, milk, serum and rumen fermentation products on the delta ¹³C value of food in dairy cows. **British Journal of Nutrition**, v. 63, p. 187-196, 1990.

MÓRI, C. et al. Traceability of Animal Byproducts in Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Tissues using Carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and Nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) Stable Isotopes. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 4, p. 263 – 269, 2007.

MÓRI, C. et al. Poultry Offal Meal Traceability in Meat Quail Tissues using the Technique of Stable Carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and Nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) Isotopes. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 1, p. 45 – 52, 2008.

MURAKAMI, A. E; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**, Jaboticabal: FUNEP, p. 79, 1998.

OLIVEIRA, R. P. **Rastreabilidade da farinha de vísceras na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$)**. 2005. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

ROSSMANN, A. et al. The potential of multielement stable isotope analysis for regional origin assignment of butter. **European Food Research & Technology**. v. 211, p. 32-40, 2000.

SAS-Statistical Analysis System. User's Guide: Statistics, Cary: SAS Institute, 1996. 956p.

TIESZEN, L. L. Carbon isotope fractionation in biological material. **Nature**, v. 276, p. 97-98, 1978.

TYRREL, H. F. et al. Use of carbon 13 as tracer in metabolism studies. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 129, p. 127-129, 1984, Supplement.

CAPÍTULO 3

DIFERENTES TECIDOS NA RASTREABILIDADE DA FARINHA DE VÍSCERAS DE AVES NA ALIMENTAÇÃO DE CODORNAS DE CORTE CRIADAS POR LONGO PERÍODO

Diferentes tecidos na rastreabilidade da farinha de vísceras de aves na alimentação de codornas de corte criadas por longo período

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o músculo peitoral e o osso tibiotarso de codornas de corte criadas por longo período, por meio dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, na rastreabilidade da farinha de vísceras de aves (FVA) utilizada em alguma fase de sua alimentação. Foram utilizadas 320 codornas de um dia de idade, distribuídas aleatoriamente em oito tratamentos: dieta vegetal (T1) e sete tratamentos com inclusão de 15% de FVA na dieta, um mantendo a dieta até o final do período experimental (T2), e nos demais a dieta foi substituída aos 42; 56; 70; 84; 98; 112 dias; respectivamente, pela dieta vegetal. A coleta das amostras dos tratamentos que receberam a mesma dieta até o final da criação teve início aos 42 dias, nos demais tratamentos a coleta começou com a troca das dietas. Para coleta de músculo peitoral e tibiotarso foram sacrificadas quatro aves ($n = 4$) por tratamento, a cada 14 dias, sendo que no tratamento vegetal e 15% FVA tiveram início aos 42 dias e nos demais a partir da troca das dietas. Os resultados isotópicos obtidos foram submetidos à análise multivariada de variância (MANOVA) com auxílio do procedimento GLM do programa estatístico SAS. Utilizando a técnica dos isótopos estáveis, no músculo peitoral foi possível rastrear a FVA na alimentação de codornas de corte, até 28 dias após a troca da dieta e no osso tibiotarso a detecção foi possível até 84 dias após esta troca.

Palavras-chave: carbono-13, coturnicultura, nitrogênio-15, rastreabilidade

Different tissues in poultry visceral meal traceability in the diet of meat quails raised for a long period

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the chest muscle and the tibiotarsal bone of meat quails, raised for a long period, using stable isotopes of carbon and nitrogen in the traceability of poultry visceral meal (PVM) supplied at a certain phase of their diet. Three hundred and twenty (320) poultries, aged one day, were randomly distributed into eight treatments: vegetable diet (T1) and seven treatments containing 15% PVM in the diet: in one treatment, the same diet was kept until the end of the experimental period (T2), and in the remaining treatments, the diet was substituted at 42, 56, 70, 84, 98, and 112 days, respectively, for a vegetable diet. Sample collection in treatments that received the same diet until the end of raising started at 42 days and in the remaining treatments, from diet substitution. To collect chest muscle and tibiotarsal bone, four poultries ($n = 4$) per treatment were sacrificed at every 14 days, starting at 42 days in the vegetable diet and in the 15% PVM treatment and from diet substitution in the remaining treatments. The obtained isotopic results were subjected to multivariate analysis of variance (MANOVA) with the aid of GLM procedure of SAS statistical software. Using the stable isotope technique, in the chest muscle PVM could be traced in the diet of meat quails until 28 days after diet substitution; in the tibiotarsal bone detection was possible until 84 days after such substitution.

Keywords: carbon-13, quail raising, nitrogen-15, traceability

1. Introdução

A coturnicultura vem se destacando por ser uma cultura que atende as necessidades do produtor, que busca por uma atividade lucrativa e também ao consumidor, cada vez mais exigente em relação aos produtos que consome, procurando informações sobre a origem e condições as quais aquele produto foi obtido.

O grande interesse pela criação de codornas deveu-se, principalmente, à qualidade excepcional de sua carne, ao alto valor nutritivo e agradável sabor de seu ovo, que tem resultado em grande aceitação pelo mercado consumidor. Além disso, as codornas apresentam rápido crescimento, alta taxa de postura, ciclo reprodutivo curto, maturidade sexual precoce, baixo consumo de ração e exigem espaço de criação consideravelmente reduzido (Murakami & Ariki, 1998). Todos esses fatores contribuem para que esta atividade requeira baixo investimento inicial e rápido retorno do capital empregado (Murakami & Furlan, 2002).

Essas características justificam o aumento da produção nacional, onde dados do IBGE (2008) mostram que o plantel de codornas no Brasil no ano de 2006 correspondeu a 7.207.830 milhões de aves, representando aumento de aproximadamente 6% no número das aves em relação ao ano de 2005, sendo considerado expressivo para cultura, visto que outros rebanhos não obtiveram o mesmo crescimento no mesmo período.

Em função de problemas ocorridos como a Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), a preocupação com questões relacionadas a organismos geneticamente modificados (OGM), febre aftosa e influenza aviária fez-se necessário o desenvolvimento de sistemas que permitam controlar toda a cadeia alimentar (Regattieri et al., 2007).

Assim, foram adotadas medidas internacionais ligadas à manutenção da qualidade dos produtos de origem animal, à ausência de resíduos de substâncias químicas nas rações; identificação, registro e rotulagem da carne e produtos à base de carne bovina (Comunidade Européia, 2000), além da restrição da utilização de subprodutos de origem animal em rações de animais da mesma espécie (Comunidade Européia, 2002).

Deste modo, pesquisas relacionadas a metodologias que permitam a certificação de origem e qualidade de produtos de origem animal vêm crescendo a cada ano (Hargin, 1996; Monin, 1998; Gonzáles – Martin et al., 1999; González – Martin et al., 2001;

Piasentier et al., 2003) e a técnica de isótopos estáveis, para rastrear o tipo de alimento consumido pelo animal, é bastante apropriada.

Para Caldas et al. (2005), a rastreabilidade alimentar é uma das principais reivindicações do consumidor mundial. Trata-se de ferramenta de gestão de risco para ser usada na resolução do problema de segurança alimentar, permitindo que se possa seguir e localizar os produtos, desde sua produção.

As indústrias alimentares que não aplicarem algum tipo de sistema de rastreabilidade terão dificuldades em manter-se no ramo por pressões de consumidores e agências governamentais reguladoras (Smith et al., 2005).

Pesquisadores brasileiros vêm utilizando a técnica dos isótopos estáveis com sucesso na identificação de subprodutos de origem animal em tecidos de aves. Carrijo et al. (2006) avaliando a inclusão de diferentes níveis de farinha de carne e ossos bovinos na ração de frangos de corte, afirmaram que a análise de músculo peitoral pela técnica de isótopos estáveis do carbono-13 e nitrogênio-15 pode ser adequada para o sistema de rastreabilidade na detecção deste subproduto.

Tendo em vista a amplitude da utilização da técnica dos isótopos estáveis na tentativa de disponibilizar mais informações sobre a rastreabilidade em animais de ciclo longo de vida, como os perus, e aproveitando o baixo custo de produção das codornas e sua capacidade de prolongamento do ciclo de vida, o presente estudo teve por objetivo avaliar o músculo peitoral e o osso tibiotarso de codornas de corte criadas por longo período, por meio dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, na rastreabilidade da farinha de vísceras de aves (FVA) utilizada em alguma fase de sua alimentação.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido na UNESP - Campus de Botucatu, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, no período de 10 de abril a 13 de agosto de 2007, totalizando 126 dias de experimento. Foram utilizadas 320 codornas de corte de um dia de idade provenientes da granja Fujikura em Suzano-SP.

As aves foram alojadas em 16 gaiolas medindo cada uma 0,30 m de altura, 0,95 m de largura e 0,50 m de profundidade, com densidade de 20 aves por gaiola, ou seja, 40 codornas por tratamento. O piso das gaiolas foi revestido com folhas de jornal e sobre as quais foram colocadas telas plásticas preta de malha de um centímetro para evitar fuga das aves e possíveis traumatismos nas pernas das mesmas.

Inicialmente, foram utilizados bebedouros tipo copo de pressão infantil com capacidade de meio litro, cuja água foi trocada duas vezes ao dia. Aos 21 dias, os bebedouros foram substituídos pelo bebedouro tipo *nipple*.

Nos primeiros 21 dias, as codornas foram alimentadas em comedouro tipo bandeja, sobre o qual foi colocado tela plástica com malha de um centímetro, tendo como objetivo a redução do desperdício de ração. A partir do 22º dia, a ração foi fornecida por meio de comedouros lineares tipo calha. Durante o período experimental as aves receberam água e ração *ad libitum*.

O programa de luz adotado foi de 24 horas diárias de luz nas três primeiras semanas, utilizando lâmpadas incandescentes de 100 watts e após este período a iluminação foi natural.

As aves foram distribuídas aleatoriamente em oito tratamentos: um tratamento vegetal (T1) com dieta a base de milho e farelo de soja; e sete com dieta contendo 15% de inclusão de farinha de vísceras de aves (FVA); desses, um manteve a dieta até o final do período experimental (T2) e os demais em alguma fase da vida a dieta foi substituída por dieta vegetal.

A substituição da dieta contendo 15% de FVA pela dieta vegetal ocorreu aos 42 dias para o tratamento T3; aos 56 dias para o tratamento T4; aos 70 dias para o tratamento T5; aos 84 dias para o tratamento T6; aos 98 dias para o tratamento T7; e aos 112 dias para o tratamento T8.

As rações foram formuladas de modo a atender as exigências nutricionais das aves, com base no plano nutricional de uma empresa comercial: inicial (de 1 a 21 dias de idade) e crescimento (de 22 a 126 dias de idade). Os níveis nutricionais de ambas as dietas experimentais foram isoenergéticas e isoprotéicas, sendo formuladas a base de milho, farelo de soja, óleo de soja, fosfato bicálcico, calcário calcítico, sal comum, DL - metionina, L - lisina e suplementos minerais e vitamínicos (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição percentual dos ingredientes, níveis nutricionais calculados e valores isotópicos das dietas experimentais: inicial (1 – 21 dias) e crescimento (22 – 126 dias).

Ingredientes, %	Dietas Experimentais			
	Inicial		Crescimento	
	Vegetal	15% FVA ¹	Vegetal	15% FVA ¹
Milho moído	44,96	53,33	50,94	64,37
Farelo de soja	48,50	27,92	40,82	19,09
Farinha de vísceras	-	15,00	-	15,00
Óleo bruto de soja	2,87	-	4,82	0,22
Calcário calcítico	1,02	0,65	0,92	0,43
Fosfato bicálcico	1,80	-	1,66	-
DL-metionina	0,10	0,05	0,09	0,05
L-lisina	-	-	-	0,09
Suplemento vitamínico e mineral	0,40 ²	0,40 ²	0,40 ³	0,40 ³
Sal comum	0,35	0,35	0,35	0,35
Inerte (caulim)	-	2,30	-	-
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Energia metabolizável, kcal/kg	2900	2900	3100	3100
Proteína bruta, %	26,00	26,00	23,00	23,00
Cálcio, %	1,00	1,00	0,90	0,90
Fósforo disponível, %	0,45	0,45	0,42	0,48
Metionina, %	0,44	0,49	0,44	0,45
Metionina + Cistina, %	0,90	0,90	0,81	0,83
Lisina, %	1,40	1,40	1,29	1,25
Valores isotópicos médios analisados (‰)⁴				
$\delta^{13}\text{C}$	-19,48	-16,44	-19,17	-16,66
$\delta^{15}\text{N}$	1,34	2,84	1,88	3,10

¹ FVA = farinha de vísceras de aves. ²Suplemento vitamínico e mineral da Nutron® para fase inicial por Kg de produto: Mn = 18.750mg; Zn = 17.500mg; Fe = 11.250mg; Cu = 2.000mg; I = 187,5mg; Se = 75mg; Vit. A = 1.680.00UI/kg; Vit. D3 = 400.000UI/kg; Vit. E = 3.500mg; Vit. K3 = 360mg; Vit. B1 = 436,5mg; Vit. B2 = 1.200mg; Vit. B6 = 624mg; Vit. B12 = 2.400mcg; Ác. Fólico = 200mg; Ác. Pantotênico = 3.120mg; Niacina = 8.400mg; Biotina = 10mg; Colina = 75.700mg; Coccidiostático = 25.000mg; Promotor de crescimento = 20.000mg. ³Suplemento vitamínico e mineral da Nutron® para fase de crescimento por Kg de produto: Mn = 18.750mg; Zn = 17.500mg; Fe = 11.250mg; Cu = 2.000mg; I = 187,5mg; Se = 75mg; Vit. A = 1.400.00UI/kg; Vit. D3 = 300.000UI/kg; Vit. E = 2.500mg; Vit. K3 = 300mg; Vit. B1 = 388mg; Vit. B2 = 1.000mg; Vit. B6 = 520mg; Vit. B12 = 2.000mcg; Ác. Fólico = 162,5mg; Ác. Pantotênico = 2.600mg; Niacina = 7.000mg; Colina = 65.250mg; Coccidiostático = 15.000mg; Promotor de crescimento = 20.000mg. ⁴Valores isotópicos médios expressos em $\delta^{13}\text{C}$ relativos ao padrão *Peedee Belemnite (PDB)* e $\delta^{15}\text{N}$ relativos ao padrão N_2 atmosférico.

Para a coleta das amostras de músculo peitoral (*Pectoralis major*) e osso tibiotarso, foram tomadas aleatoriamente quatro aves por tratamento e sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical, considerando-se cada ave uma repetição. As coletas foram realizadas a partir da troca de dieta (42, 56, 70, 84, 98, 112 e 126 dias), para cada tratamento, com intervalo de 14 dias. Essas amostras foram preparadas segundo Oliveira (2005) e Móri et al. (2007, 2008) para posteriores análises isotópicas.

As análises isotópicas foram feitas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIE/IB), UNESP, *campus* de Botucatu, de acordo com Oliveira (2005), Carrijo et al. (2006), Móri et al. (2007, 2008), Denadai et al. (2008), Gottmann et al. (2008). Para análise de carbono, as amostras foram pesadas em cápsulas de estanho, aproximadamente 100 µg e 250 µg, para músculo peitoral e tibiotarso, respectivamente; para análise de nitrogênio foram pesadas 400 µg e 1600 µg, respectivamente, para músculo peitoral e tibiotarso.

Para determinação das razões isotópicas de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) foi utilizado o espectrômetro de massas de razão isotópica (IRMS) tipo DELTA – S (Finnigan Mat) acoplado ao Analisador Elementar (EA 1108 CHN), de acordo com método descrito por Ducatti (2004).

Os resultados das análises foram expressos em delta per mil da razão isotópica da amostra em relação aos padrões internacionais *PeeDee Belemnite* (PDB) e nitrogênio atmosférico (N_2), para os elementos carbono e nitrogênio, respectivamente, de acordo com a expressão:

$$\delta X_{(\text{amostra, padrão})} = 1000 [(R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}}) - 1]$$

onde:

δX = enriquecimento do isótopo mais pesado do elemento químico X da amostra em relação ao respectivo padrão internacional.

R = razão isotópica entre o isótopo menos e o mais abundante ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$; $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$).

Os resultados isotópicos obtidos foram submetidos à análise multivariada de variância (MANOVA) com auxílio do procedimento GLM do programa estatístico SAS (1996). A partir dos dados gerados pelas matrizes de erro, foram determinadas regiões

com 95% de confiança para verificar as diferenças isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) entre as médias do tratamento vegetal (T1) e dos tratamentos que foram alimentados com farinha de vísceras de aves em alguma fase da vida (T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8).

Para que determinado tratamento fosse considerado diferente do T1 (vegetal) sua região de confiança não pôde sobrepor nenhum eixo do gráfico. Desta maneira, quando a elipse sobrepôs um dos eixos, mostrou que a diferença entre as médias de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos tratamentos comparados foi igual a zero, e assim esses tratamentos não diferiram.

3. Resultados e Discussão

Os resultados isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das amostras de músculo peitoral e osso tibiotarso das codornas de corte coletadas ao longo do período experimental foram expostos nas Tabelas 2 e 3, respectivamente, e as elipses geradas à partir dos dados da análise estatística estão contidas na Figura 1, para músculo peitoral e Figura 2 para osso tibiotarso.

Devido às variações na composição percentual dos ingredientes nas dietas, os valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ revelaram enriquecimento isotópico do músculo peitoral e do tibiotarso das aves nos tratamentos onde houve inclusão de farinha de vísceras de aves em comparação com a dieta sem inclusão desse ingrediente (T1). Este enriquecimento ocorreu em função das composições das rações variarem, já que as mesmas foram formuladas para serem isocalóricas e isoprotéicas em ambas as fases de criação das codornas de corte, e com a inclusão de FVA nas dietas, as percentagens de farelo e óleo de soja foram reduzidas e as de milho aumentadas. O milho, planta do ciclo fotossintético C_4 , possui valor isotópico $\delta^{13}\text{C} = -12,6\text{‰}$ enquanto a soja, planta do ciclo fotossintético C_3 , possui valor isotópico $\delta^{13}\text{C} = -27,6\text{‰}$. Este enriquecimento em ^{13}C e ^{15}N quando se adiciona farinha de origem animal na dieta de aves também foi observado por Oliveira (2005), Carrijo et al. (2006), Móri et al. (2007), Denadai et al. (2008) e Gottmann et al. (2008).

Os ingredientes utilizados nas rações não foram analisados isotopicamente para nitrogênio e carbono, mas apenas as dietas experimentais (Tabela 1). Porém, sabe-se

que a soja possui valor de $\delta^{15}\text{N}$ que se aproxima ao valor do padrão de N_2 atmosférico ($\delta^{15}\text{N} = 0,0 \pm 1,0 \text{‰}$), pois fixam o nitrogênio do ar e apresentam fator de fracionamento de $\delta^{15}\text{N}$ ao redor de uma unidade, ficando geralmente abaixo de 1,003‰ (Kohl & Shearer, 1980; Handley & Raven, 1992; Werner & Schmidt, 2002). Já o valor de $\delta^{15}\text{N}$ apresentado por plantas que não conseguem fixar o nitrogênio atmosférico depende, em grande parte, da abundância desse isótopo no solo e fertilizantes administrados, como é o caso do milho (Choi et al., 2002). Sleiman et al. (2004) , avaliando amostras de milho de alguns estados brasileiros, encontraram valores médios de $4,77 \pm 1,16$ para $\delta^{15}\text{N}$, e $-11,74 \pm 0,40$ para $\delta^{13}\text{C}$.

Assim, em função destas variações em ^{13}C e ^{15}N nas dietas, torna-se possível a detecção da presença de produtos de origem animal na alimentação de frangos de corte, bem como em outras espécies animais, considerando-se que a assinatura isotópica da dieta é refletida no organismo dos animais, pois o animal é o que consome isotopicamente, até $\pm 2,0\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ e até $\pm 3,0\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$, segundo DeNiro & Epstein (1976, 1978).

Tabela 2. Valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ com respectivos desvios- padrão do músculo peitoral (n=4) de codornas de corte.

Tratamentos ¹	Período de abate (dias)							
	42	56	70	84	98	112	126	
T1	δ ¹³ C	-20,64 ± 0,48	-21,43 ± 0,40	-21,53 ± 0,18	-21,32 ± 0,43	-21,70 ± 0,31	-21,81 ± 0,13	-21,20 ± 0,29
	δ ¹⁵ N	3,03 ± 0,06	3,00 ± 0,20	2,99± 0,09	3,09± 0,15	3,13± 0,12	3,28± 0,13	3,44± 0,27
T2	δ ¹³ C	-18,34 ± 0,28	-18,19 ± 0,45	-17,91 ± 0,36	-18,05 ± 0,20	-17,98 ± 0,17	-17,85 ± 0,06	-17,51 ± 0,23
	δ ¹⁵ N	3,86 ± 0,19	4,32± 0,09	4,55± 0,13	4,43± 0,17	4,49± 0,15	4,57± 0,09	4,85± 0,41
T3	δ ¹³ C		-20,01 ± 0,18	-20,44 ± 0,20	-21,01 ± 0,22	-21,07 ± 0,40	-21,43 ± 0,20	-21,16 ± 0,04
	δ ¹⁵ N		3,52± 0,09	3,48 ± 0,10	3,41± 0,04	3,44± 0,07	3,41± 0,15	3,96± 0,11
T4	δ ¹³ C			-19,59 ± 0,34	-20,55 ± 0,23	-20,82 ± 0,13	-21,24 ± 0,18	-20,90 ± 0,44
	δ ¹⁵ N			3,76± 0,24	3,37± 0,11	3,22± 0,15	3,31± 0,06	3,91± 0,17
T5	δ ¹³ C				-20,45 ± 0,43	-20,47 ± 0,27	-21,05 ± 0,11	-20,71 ± 0,45
	δ ¹⁵ N				3,68± 0,34	3,73± 0,15	3,60± 0,14	3,88± 0,11
T6	δ ¹³ C					-19,70 ± 0,25	-20,64 ± 0,21	-20,78 ± 0,16
	δ ¹⁵ N					3,96± 0,06	3,66± 0,13	3,99± 0,29
T7	δ ¹³ C						-19,89 ± 0,17	-19,76 ± 0,31
	δ ¹⁵ N						4,08± 0,15	4,63± 0,43
T8	δ ¹³ C							-19,57 ± 0,24
	δ ¹⁵ N							4,47± 0,07

¹ T1: dieta estritamente vegetal até 126 dias; T2: dieta com 15% de inclusão de farinha de vísceras de aves (FVA) até 126 dias; T3: dieta com 15% de inclusão de FVA até 42 dias, após esse período dieta vegetal; T4: dieta com 15% de inclusão de FVA até 56 dias, após esse período dieta vegetal; T5: dieta com 15% de inclusão de FVA até 70 dias, após esse período dieta vegetal; T6: dieta com 15% de inclusão de FVA até 84 dias, após esse período dieta vegetal; T7: dieta com 15% de inclusão de FVA até 98 dias, após esse período dieta vegetal; T8: dieta com 15% de inclusão de FVA até 112 dias, após esse período dieta vegetal.

Tabela 3. Valores médios do $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ com respectivos desvios- padrão do osso tibiotarso (n=4) de codornas de corte.

Tratamentos ¹	Período de abate (dias)							
	42	56	70	84	98	112	126	
T1	δ ¹³ C	-16,92 ± 0,55	-17,56 ± 0,17	-18,53 ± 0,17	-18,36 ± 0,39	-19,00 ± 0,41	-18,91 ± 0,42	-18,97 ± 0,44
	δ ¹⁵ N	4,12 ± 0,27	3,97± 0,12	3,91± 0,22	4,10± 0,24	3,54± 0,17	4,67± 0,21	3,87± 0,14
T2	δ ¹³ C	-15,56 ± 0,15	-15,65 ± 0,24	-14,81 ± 0,55	-16,71 ± 0,18	-15,08 ± 0,26	-15,27 ± 0,21	-15,56 ± 0,33
	δ ¹⁵ N	5,40± 0,34	5,38± 0,21	5,64± 0,18	5,43± 0,16	5,28± 0,30	5,57± 0,12	5,49± 0,26
T3	δ ¹³ C		-17,40 ± 0,37	-16,93 ± 0,55	-17,40 ± 0,37	-16,72 ± 0,41	-17,28 ± 0,17	-16,74 ± 0,39
	δ ¹⁵ N		5,27± 0,32	5,21± 0,18	5,21± 0,25	4,92± 0,04	4,77± 0,15	4,90± 0,28
T4	δ ¹³ C			-16,52 ± 0,47	-16,88 ± 0,10	-16,74 ± 0,22	-17,16 ± 0,44	-17,19 ± 0,38
	δ ¹⁵ N			5,16± 0,33	5,18± 0,19	4,58± 0,29	4,93± 0,13	4,69± 0,22
T5	δ ¹³ C				-16,76 ± 0,05	-17,18 ± 0,29	-17,17 ± 0,19	-17,67 ± 0,56
	δ ¹⁵ N				5,22± 0,39	5,07± 0,10	5,13± 0,09	5,33± 0,13
T6	δ ¹³ C					-16,18 ± 0,31	-15,73 ± 0,13	-15,70 ± 0,30
	δ ¹⁵ N					5,15± 0,28	5,33± 0,07	5,30± 0,18
T7	δ ¹³ C						-16,29 ± 0,17	-15,63 ± 0,16
	δ ¹⁵ N						5,38± 0,14	5,38± 0,17
T8	δ ¹³ C							-16,05 ± 0,27
	δ ¹⁵ N							5,45± 0,05

¹T1: dieta estritamente vegetal até 126 dias; T2: dieta com 15% de inclusão de farinha de vísceras de aves (FVA) até 126 dias; T3: dieta com 15% de inclusão de FVA até 42 dias, após esse período dieta vegetal; T4: dieta com 15% de inclusão de FVA até 56 dias, após esse período dieta vegetal; T5: dieta com 15% de inclusão de FVA até 70 dias, após esse período dieta vegetal; T6: dieta com 15% de inclusão de FVA até 84 dias, após esse período dieta vegetal; T7: dieta com 15% de inclusão de FVA até 98 dias, após esse período dieta vegetal; T8: dieta com 15% de inclusão de FVA até 112 dias, após esse período dieta vegetal.

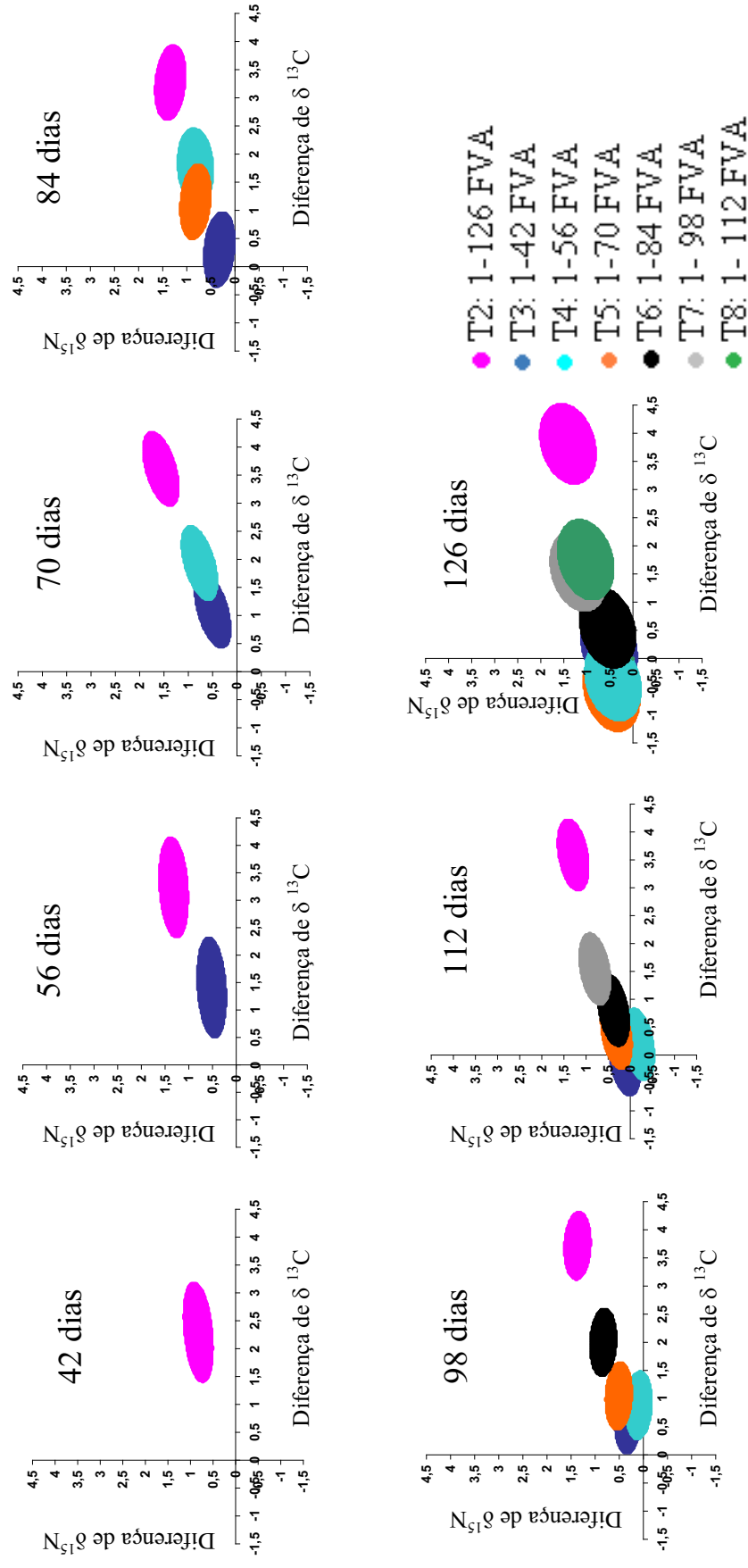


Figura 1 - Regiões de confiança para os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do músculo peitoral, de codornas de corte nos diferentes dias de abate em cada tratamento quando comparados ao T1 (vegetal).

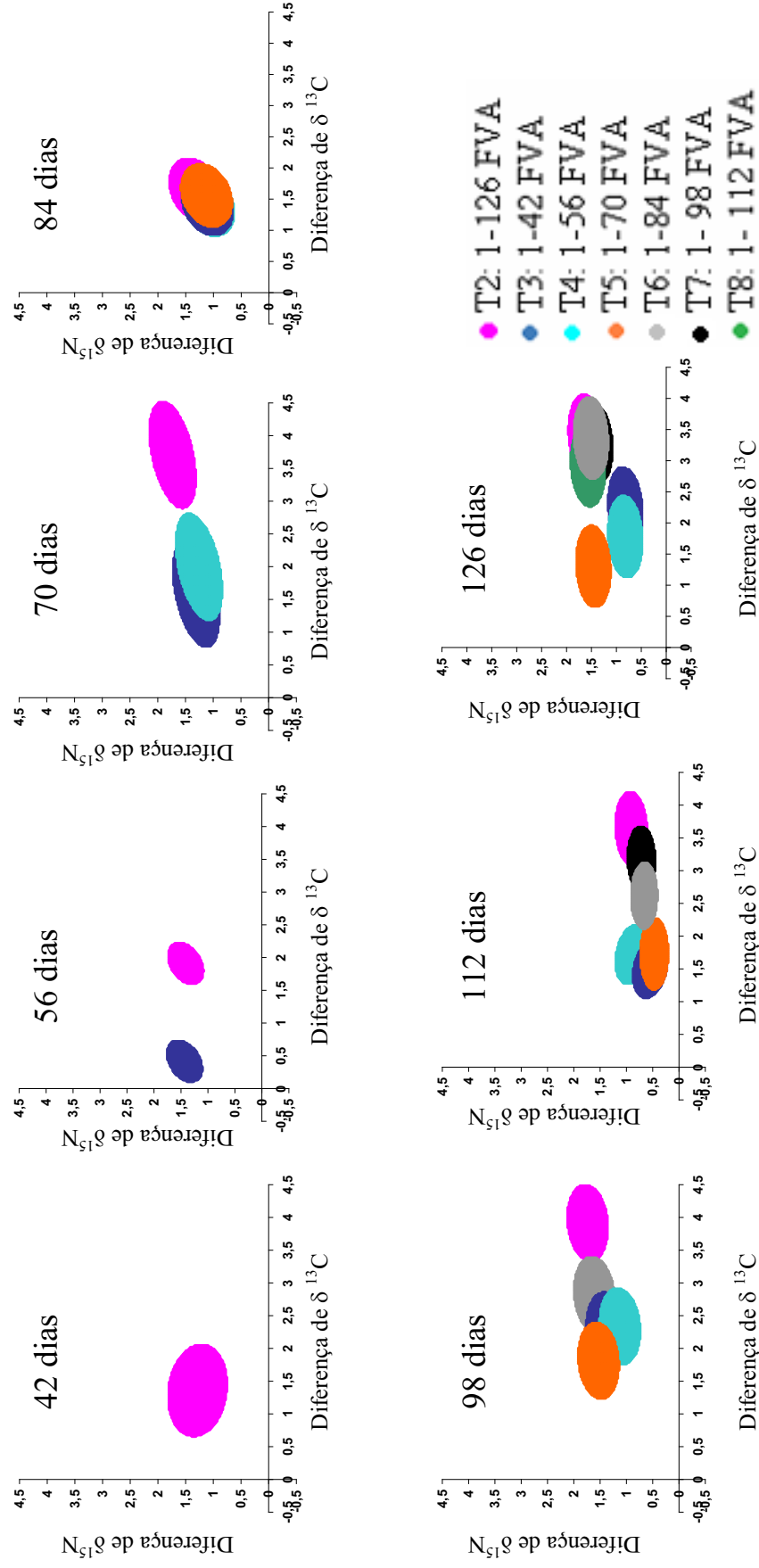


Figura 2- Regiões de confiança para os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do osso tibiotarso, de codornas de corte nos diferentes dias de abate em cada tratamento quando comparados ao T1 (vegetal).

Nos gráficos em que as elipses de confiança se apresentaram alongadas, houve maior amplitude dos pontos gerados pela matriz de erro em um dos eixos, situação possivelmente definida pelos maiores desvios-padrão observados. Desvios-padrão acima do esperado também foram encontrados por Murakami & Ariki (1998) e Garcia & Pizzolante (2004) para codornas de corte, pois esses animais ainda não sofreram melhoramento genético com a mesma intensidade que frangos de corte e aves de postura, observação também relatada por Móri (2007).

Notou-se que nas elipses das Figuras 1 e 2 as diferenças entre as médias dos tratamentos T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8 e as médias do tratamento vegetal (T1) para ^{15}N foram inferiores às médias de ^{13}C , fazendo com que as regiões de confiança se deslocassem mais para o eixo do carbono do que para o eixo do nitrogênio. Segundo Oliveira (2005) esse acontecimento é reflexo das diferenças isotópicas de carbono e nitrogênio entre a dieta vegetal e a dieta com FVA.

Observando-se o tratamento T2 nas Figuras 1 e 2, notou-se que estas aves alimentadas durante todo período de criação com inclusão de 15% de farinha de vísceras de aves (FVA) na dieta, diferiu do tratamento T1 (vegetal), em todos os dias de abate quando analisado o músculo peitoral e o osso tibiotarso

Para o músculo peitoral (FIGURA 1), observou-se que até 28 dias após as trocas de dieta com 15% de FVA para dieta vegetal, foi possível rastrear a FVA nas codornas dos tratamentos T3, T4, T5, T6, T7 e T8. Sernagiotto (dados não publicados), analisando o músculo peitoral, observou que codornas alimentadas com 8% de FVA e sacrificadas duas semanas após a troca da dieta, diferiram das que receberam dieta vegetal. Esta diferença na rastreabilidade provavelmente ocorreu devido aos diferentes níveis de inclusão de FVA, sendo que em níveis mais altos é possível a detecção da FVA por um período maior após a troca de dieta.

Com relação ao osso tibiotarso, diferentemente do músculo peitoral, foi possível rastrear a FVA em todos os tratamentos e em todos os dias de abate, pois nenhuma elipse se sobrepôs ao eixo que representa o tratamento com dieta vegetal (T1), revelando-se um tecido de incorporação lenta, devido à baixa taxa metabólica quando comparado ao músculo *Pectoralis major*, como também constatou Oliveira (2005) e Móri et al. (2007). Assim, mesmo 84 dias após a substituição da dieta com FVA por

vegetal as codornas ainda apresentaram o sinal isotópico da FVA, o que tornou possível a detecção da mesma.

Para Hobson & Clark (1992a e 1992b) cada tecido do mesmo animal apresenta particular assinatura isotópica, fator de fracionamento e turnover isotópico. Entre os dois tecidos analisados, o osso tibiotarso foi o que apresentou mais lenta incorporação de carbono-13 e nitrogênio-15.

As diferenças isotópicas encontradas nos tecidos avaliados em relação à dieta, provavelmente podem estar ligadas às diferenças na composição e formação dos tecidos em aminoácidos essenciais e não-essenciais. Segundo Moran Júnior (1999) a maior parte da composição de aminoácidos do músculo peitoral é de aminoácidos essenciais, e quando incorporados nos tecidos, exibem pouca mudança em relação a sua razão isotópica (Pinnegar & Polunin, 1999). No entanto, o colágeno tipo I, que constitui aproximadamente cerca de 95% da matriz óssea orgânica (Pizauro Júnior, 2002) e, portanto, a maior fonte de nitrogênio do osso, seja formada, na sua maioria, por aminoácidos não-essenciais, demonstrando diferenças no enriquecimento.

As variações isotópicas encontradas entre tecidos não são bem compreendidas. Para Tieszen et al. (1983), as principais frações bioquímicas diferem isotopicamente entre si, e as diferenças isotópicas do organismo podem ser o reflexo de suas diferentes composições bioquímicas. Tecidos que possuem em sua composição maior quantidade em lipídeos, provavelmente teriam valor de $\delta^{13}\text{C}$ menor do que o tecido que apresente menor quantidade desse componente, sendo relativamente mais pobre em carbono-13 (Tieszen et al., 1983; Piazzentier et al., 2003).

4. Conclusões

No músculo peitoral é possível rastrear a farinha de vísceras de aves na alimentação de codornas de corte, até 28 dias após a troca da dieta e no osso tibiotarso a detecção é possível até 84 dias após esta troca, utilizando a técnica dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio.

5. Referências

CALDAS, A. S. et al. A importância da denominação de origem para o desenvolvimento regional e inclusão social: O caso do território da cachaça de Abaíra. **Revista Desenbahia**, v. 2, n. 3, p. 181-200, 2005.

CARRIJO, A. S. et al. Traceability of Bovine Meat Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, p. 37-42.2006.

CHOI, W.J. et al. Natural ^{15}N abundances of maize and soil amended with urea and composted pig manure. **Plant and Soil**, v. 245, p. 223-232, 2002.

COMUNIDADE EUROPÉIA. Regulamento (CE) No. 1760/2000. **Official Journal of the European Communities**. Disponível em: http://europa.eu.int/smartapi/cgi/sga_doc?smartapi!celexapi!prod!CELEXnumdoc&lg=PT&numdoc=32000R1760&model=guichett Acesso em: 20 maio 2008.

COMUNIDADE EUROPÉIA. Regulamento (CE) No. 1774/2002. **Official Journal of the European Communities**. Disponível em: http://europa.eu.int/smartapi/cgi/sga_doc?smartapi!celexapi!prod!CELEXnumdoc&lg=PT&numdoc=32002R1774&model=guichett Acesso em: 20 maio. 2008.

DENADAI, J. C. et al. The traceability of animal meals in layer diets as detected by stable carbon and nitrogen isotope analysis of eggs. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 189–194, 2008.

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

DeNIRO, M. J.; EPSTEIN, S. You are what you eat (plus a few ‰) the carbon isotope cycle in food chains. **Geological Society of America**, Boulder, v. 6, p. 834, 1976.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu: UNESP, Instituto de Biociências, p.184, 2004.

GARCIA, E. A.; PIZZOLANTE, C. C. Nutrição de codornas para posturas. In: II Simposio Internacional e I Congresso brasileiro de coturnicultura, 2004, Lavras, **Anais...**p. 65 – 74.

GONZALEZ-MARTIN, I. et al. Use of isotope analysis to characterize meat from Iberian-breed swine. **Meat Science**, v. 52, p. 437-441, 1999.

GONZÁLEZ-MARTIN, I. et al. Differentiation of dietary regimen of Iberian swine by means of isotopic analysis of carbon and sulphur in hepatic tissue. **Meat Science**, v. 58, p. 25-30, 2001.

GOTTMANN, R. et al. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, p. 1641-1647, 2008.

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.

HARGIN, K. D. Authenticity issues in meat and meat products. **Meat Science**, v. 43, p. S277-S289, 1996.

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

HOBSON, K. A.; CLARK, R. G. Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. **The Condor**, Los Angeles, v. 94, p. 189-197, 1992b.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, **Sistema IBGE de recuperação Automática**, 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.br/sidra>>. Acesso em 18 mar. 2008.

KOHL, D. H.; SHEARER, G. Isotopic fractionation associated with symbiotic N_2 fixation and uptake of NO_3^- by plants. **Plant Physiology**; v. 66, p. 51-56, 1980.

MONIN, G. Recent methods for predicting quality of whole meat. **Meat Science**, v. 49, p. S231-S243, 1998.

MORAN E.T. Jr. Live production factors influencing yield and quality of poultry meat. In: Richardson, R. I., MEAD, G.C., eds. **Poultry Meat Science**. Wallingford (OX): CABI, 1999; p. 175-195.

MÒRI, C. et al. Traceability of animal byproducts in quail (*Coturnix coturnix japonica*) tissues using carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) stable isotopes. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 4, p. 263 – 269, 2007.

MÓRI, C. et al. Poultry offal meal traceability in meat quail tissues using the technique of stable carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) isotopes. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 1, p. 45 – 52, 2008.

MURAKAMI, A. E.; FURLAN, A. C. Pesquisas na nutrição e alimentação de codornas em postura no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COTURNICULTURA, 1., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2002, p.113-120.

MURAKAMI, A. E; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**, Jaboticabal: FUNEP, 1998, 79p.

OLIVEIRA, R. P. **Rastreabilidade da farinha de vísceras na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$)**. 2005. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

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

PINNEGAR, J. K., POLUNIN, V. C. Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissue: Implications for the study of trophic interactions. **Functional Ecology**, v. 13, p. 225-231, 1999.

PIZAURO JÚNIOR., J. M. Estrutura e função do tecido ósseo. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. In: MACARI, M. Ed. Fisiologia aviária aplicada à frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP, UNESP, 2002, p. 375.

REGATTIERI, A.; GAMBERI, M.; MANZINI, R. Traceability of food products: General framework and experimental evidence. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 347-356, 2007.

SAS-Statistical Analysis System. User's Guide: Statistics, Cary: SAS Institute, 1996. 956p.

SLEIMAN, M. et al. Isotopic analysis of carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) performed in raw material used for pilsen beer brewing. In: Brazilian Meeting on Chemistry of Foods and Beverages, 5., 2004, São Carlos: USP, Instituto de Química de São Carlos, 2004, p. 1-4.

SMITH, G. C. et al. Traceability from a US perspective. **Meat Science**, v. 71, p. 174-193, 2005.

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

WERNER, R. A., SCHMIDT, H. L. The in vivo nitrogen isotope discrimination among organic plant compounds. **Phytochemistry**, v. 66, p. 465-484, 2002.

CAPÍTULO 4

IMPLICAÇÕES

Até o momento, as pesquisas que utilizam a técnica dos isótopos estáveis em aves, foram desenvolvidas em um curto período de criação. Devido ao significativo valor econômico das aves de ciclo longo, como os perus e aves raras, surgiu a necessidade de inferir sobre a rastreabilidade da farinha de vísceras de aves em ciclos longos de criação, utilizando para tal estudo as codornas, devido ao seu pequeno porte corporal, que reflete em um baixo consumo de alimento e conseqüentemente, um menor custo de produção.

Alguns importadores do mercado globalizado de produtos alimentícios, ora por questões religiosas, ora pelas questões culturais e sanitárias, fazem sérias restrições aos produtos agroindustriais, exigindo de países exportadores, como o Brasil, uma adequação a essas especificações.

A linha de pesquisa do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais em parceria com os Departamentos de Nutrição/Melhoramento Animal e Departamento de Produção Animal, UNESP/*campus* de Botucatu, visam à certificação de produtos avícolas evitando possíveis sanções dos principais importadores de carne brasileira.

A técnica dos isótopos estáveis mostrou-se eficiente no processo de rastreabilidade da farinha de vísceras de aves em diferentes tecidos, como o músculo *Pectoralis major* e o osso tibiotarso.

Saber que a composição isotópica dos tecidos das aves é o reflexo da composição isotópica da dieta faz com que a técnica tenha grande aplicabilidade na indústria avícola.

Possivelmente o fator melhoramento genético influenciou nos resultados finais, pois nesse experimento não foi possível adquirir animais utilizados por agroindústrias de grande porte. Já que as codornas para produção de carne apresentam grande variabilidade individual, houve conseqüente aumento no desvio-padrão quando comparado à outra espécie. Talvez a utilização de um número maior de animais minimizaria tal fator. Outros fatores que podem interferir nesse aumento de desvio-padrão é a densidade de animais por gaiola, que poderia ser reduzida e a utilização de machos e fêmeas no mesmo tratamento, que deve ser evitada.