

**ESCATOL EM GORDURA COSTO-LOMBAR DE SUÍNO: QUANTIFICAÇÃO POR
CROMATOGRAFIA GASOSA E VARIABILIDADE EM DIFERENTES
TRATAMENTOS.**

REGIANE AP. **GUADAGNINI**¹; ADRIELE **MARTINS**²; EDUARDO A. **ORLANDO**³;
MÁRCIA R.C. **ALVES**³, E. TADEU F. **SILVEIRA**⁴; KÁTIA M.V.A.B. **CIPOLLI**⁵

Nº 11255

RESUMO

A castração cirúrgica vem sendo banida por causar dor aos animais, apesar de ser eficaz em prevenir o odor de macho inteiro (odor desagradável exalado da carne de suínos machos não castrados cruas e principalmente durante o preparo). Porém, a imunocastração evita a produção de odores sem a necessidade de castração cirúrgica: consiste em uma vacina que atua no sistema imunológico do suíno, controlando os compostos responsáveis pelo odor sexual. No âmbito da nutrição animal, destacam-se os compostos β -adrenérgicos, representados comercialmente pela Ractopamina, análogos dos hormônios naturais catecolaminas utilizados na alimentação de suínos como aditivos repartidores de nutrientes, aumentando a quantidade de tecido magro na carcaça e diminuindo a deposição de tecido adiposo. O estudo dos compostos que afetam o odor e sabor da carne suína gera um importante conhecimento de sua qualidade e complementa informações de análise sensorial. As tecnologias de imunocastração e alimentação com Ractopamina são consideradas novas e necessitam de estudos no país. Portanto, existe a necessidade da quantificação destes compostos de forma prática e precisa, facilitando o estabelecimento de padrões de aceitação pelos consumidores. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo quantificar o escatol da gordura costolombar de suínos obtidos de diversos tratamentos: machos inteiros, castrados cirurgicamente, fêmeas e imunocastrados, com/sem dieta de Ractopamina. Foi utilizada cromatografia gasosa (CG) para quantificação de escatol e foi desenvolvida a micro-extração em fase sólida (SPME) como etapa de preparo da amostra, considerado rápido, para detecção em cromatógrafo. Detectou-se teores de escatol, abaixo do *threshold* citado na literatura, contudo perceptíveis por equipe treinada em avaliação sensorial.

¹ Bolsista CNPq: Graduanda em Química, UNICAMP, Campinas-SP, regianeguadagnini@yahoo.com.br.

² Mestranda FEA/UNICAMP; estagiária CTC/ITAL Campinas-SP.

³ Colaborador: Técnico, CTC/ITAL, Campinas-SP.

⁴ Colaborador: Pesquisador, CTC/ITAL, Campinas-SP.

⁵ Orientadora: Pesquisadora, LAFISE/CCQA/ITAL, Campinas-SP (kcipolli@ital.sp.gov.br)

ABSTRACT

Surgical castration has been banned for causing pain to animals, despite being effective in preventing the boar taint (unpleasant odor exhaled from the flesh of non-castrated male and especially raw during preparation). However, immunocastration prevents the production of boar taint without the need for surgical castration: it consists of a vaccine that works in the pig's immune system, controlling the compounds responsible for boar taint. As part of animal nutrition, we highlight the β -adrenergic compounds, represented by the commercially Ractopamine, catecholamine analogues of natural hormones used as feed additives for pigs and nutrient distribution frames, increasing the amount of lean tissue and decreasing carcass tissue deposition of fat. The study of compounds that affect the odor and flavor of pork generates an important knowledge of their quality and complements information from sensory analysis. Technologies immunocastration and Ractopamine are considered new and need further studies in Brazil. Therefore, the quantification of these compounds in a practical and precise way is necessary in order to establish standards for acceptance by consumers. Therefore, this study aimed to quantify skatole back fat obtained from pigs of different treatments: physically castrated, immunocastrated and female, with / without diet Ractopamine. We used gas chromatography (GC) for quantification of skatole and has developed a micro-solid phase extraction (SPME) as sample preparation step, considered fast for detection in chromatography. It turned out skatole levels below the threshold of rejection cited in the literature, however perceived by trained panellists in sensory evaluation.

INTRODUÇÃO

O mercado interno brasileiro absorveu 83 % da produção de carne suína em 2010 e, segundo a ABIPECS (2010) ainda há uma grande possibilidade de crescimento de consumo, estimado em 15 kg por habitante ano. Desta forma, a suinocultura brasileira vem investindo nos últimos anos, no binômio: valor econômico e qualidade de produto, a partir de estudos aplicáveis ao setor tais como: áreas de genética, manejo, novas formas de castração e nutrição.

No que diz respeito à nutrição, a Ractopamina é um aditivo beta-adrenérgico que age alterando o metabolismo animal e modificando a repartição dos nutrientes. Assim, ao mesmo tempo ocorre uma redução na síntese lipídica, e aumento na síntese protéica, proporcionando melhor rendimento da carcaça dos suínos (SCHINCKEL *et al.*, 2003).

Outra característica importante da carne suína diz respeito ao odor que apresenta a carne proveniente de macho inteiro. Para tanto, a castração cirúrgica destes animais, obrigatório no Brasil (BRASIL, 1980) ocorre para eliminar o odor sexual causado por compostos como androstenona e escatol que acumulam no tecido adiposo do suíno gerando odores desagradáveis. Porém, pelo fato da castração cirúrgica estar sendo banida em função da dor gerada aos animais, se faz necessária a verificação da eficiência de outras técnicas que permitam o mesmo efeito obtido pela castração cirúrgica. Como opção, surge a imunocastração, que evita a produção de odores pela redução da atividade hormonal dos suínos.

Esta técnica também apresenta vantagem de os suínos machos não castrados quando comparados aos animais castrados e às fêmeas, apresentarem melhor eficiência alimentar sob regime de restrição alimentar, crescimento mais rápido e, maior proporção de carne e menos gordura na carcaça (BONNEAU *et al.*, 2001). A literatura mostra que os teores de androstenona na gordura apresentam os limites de rejeição entre 0,5 µg/g e 1 µg/g. Já os teores de escatol em gordura, de acordo com trabalhos realizados ao longo dos últimos anos, apresentam os limites de rejeição variando de 0,20 a 0,25 µg/g (PRUNIER *et al.*, 2006; ANNOR-FREMPONG *et al.*, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 1997). As tecnologias de imunocastração e alimentação com Ractopamina são consideradas novas e necessitam de estudos no país.

Dentre vários métodos analíticos, a cromatografia gasosa (CG) tem sido utilizada na identificação e quantificação de compostos que influenciam diretamente na qualidade e aceitabilidade da carne. Porém, segundo Valente e Augusto (2000), a viabilização da análise por CG depende de um método adequado de preparo da amostra para identificação e quantificação dos analitos. A micro-extração por fase sólida – SPME – é uma microtécnica em que o processo de extração ocorre mergulhando-se a seção recoberta com filme de polímero (PDMS/Carbowax/Carboxen) na amostra ou no seu “*headspace*”. As moléculas do analito têm de se deslocar da matriz e penetrar no recobrimento, vencendo resistências à transferência de massa, até que se estabeleça um equilíbrio de partição (ou de adsorção, para o caso de recobrimentos sólidos) do analito entre a fibra e o meio que a envolve.

Portanto, a teoria de SPME baseia-se na cinética de transferência de massa entre fases e na termodinâmica que descreve o equilíbrio de partição do analito entre elas. A SPME tem aplicações em outras áreas além da área de alimentos e é considerada relativamente nova (década de 90) continuando em consolidação tanto no

aspecto de fundamentação teórica quanto sob os de aplicações (Valente e Augusto, 2000).

Esta quantificação analítica instrumental de compostos que afetam o odor e sabor da carne obtida dos diferentes tratamentos gera um importante conhecimento da qualidade da carne e complementa as informações obtidas pela análise sensorial, propiciando a obtenção de carne suína com maior aceitação pelo consumidor, direcionando a sua utilização como matéria prima de produtos suínos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram utilizadas 12 amostras da gordura subcutânea da região costo-lombar de suínos provenientes de diferentes tratamentos de castração e nutrição: 1 animal macho inteiro (INT) 2 animais imunocastrados (IM), 2 animais castrados cirurgicamente (CC), 2 animais castrados cirurgicamente com dieta de Ractopamina (CR), 2 fêmeas (FM) e 2 fêmeas com dieta de Ractopamina (FMR). Os animais foram criados e abatidos em frigorífico de grande porte da região de São Paulo, sob boas condições de manejo e de fabricação. A retirada da gordura das carcaças foi realizada no CTC/ITAL. As amostras foram mantidas à – 87°C, descongeladas à temperatura ambiente.

Metodologia de extração de escatol e avaliação de androstenona

Foi desenvolvida metodologia visando utilização de poucos equipamentos e preparo rápido para extração. A metodologia não foi eficiente para a extração da androstenona da amostra, por isso estão sendo realizados outros ensaios para adequação e refinamento de metodologia para sua extração e quantificação.

A metodologia de avaliação de escatol (3-metil-indol) constou das seguintes etapas: a) preparo de amostra sintética a partir de padrão adquirido (SIGMA-ALDRICH), na concentração próxima à citada por Bounneau & Squires (2001) como teor percebido: 0,22 µg/g. Os padrões utilizados foram os mesmos utilizados em soluções nos treinamentos e validação da equipe treinada de avaliação sensorial, utilizados em projeto PIBIC. Avaliou-se o tempo de equilíbrio, com alguns tipos de fibra e analisou-se o extrato em cromatógrafo gasoso (Agilent modelo 5890 com detector FID).

Dessa forma obtiveram-se as condições cromatográficas: coluna, detector e recobrimento para a extração.

Os resultados obtidos foram avaliados por análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$).

Preparo de amostras para avaliações cromatográficas

O preparo de amostras de gordura subcutânea da região costo-lombar de suíno para avaliações de escatol foi desenvolvido de forma a exigir o menor tempo e o mínimo de manipulação das amostras. Também se levou em conta semelhança possível da forma de preparo utilizada para as avaliações sensoriais de odor. Foram avaliadas amostras da gordura subcutânea de suínos obtidos de diferentes formas de castração e nutrição para quantificação de escatol.

Aproximadamente 50 g de cada amostra foi homogeneizada com o auxílio de um moinho analítico (modelo 298A21 - IKA A11 *Basic* da Quimis), sendo posteriormente mantido em freezer durante a análise cromatográfica.

Micro-extração em fase sólida (SPME)

Aproximadamente 0,5000g da amostra homogeneizada foi adicionada em um frasco (*vial*) juntamente com 1,00 mL de solução saturada de NaCl e 20 μ L de padrão interno (2-metil-indol).

O material foi submetido à extração em fase sólida que ocorreu no *headspace* do frasco à temperatura de 80°C por 30 minutos. Utilizou-se a fibra de SPME (polidimetilsiloxano/divinilbenzeno) (Supelco Inc., USA) no frasco para extração no *headspace*.

Posteriormente, a fibra foi levada ao cromatógrafo gasoso para quantificação do escatol presente na amostra.

Detalhamentos da metodologia desenvolvida constam do manual de métodos de análises físico-químicas do CTC/ITAL. Foi possível operar a micro-extração por fase sólida (SPME) direta, pois não ocorreu contaminação/deterioração da fibra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estão apresentadas na Tabela 1 a concentração média (μ g/g) e desvio padrão de escatol presente nas diferentes amostras avaliadas em triplicatas: CC= animal castrado cirurgicamente, FM= fêmea, IM=animal imunocastrado, INT=animal inteiro, R alimentado com dieta de Ractopamina.

Verifica-se que a maior concentração média de escatol esteve presente em 1 de 2 amostras de gordura costolombar de CC. Nas amostras provenientes FMR a quantificação de escatol não foi possível, sendo esta concentração menor que 0,03395, o limite de quantificação da análise nas condições utilizadas.

Tabela 1: Quantificação de escatol na gordura custo-lombar de suínos

Tratamento	Escatol (µg/g)	
FMR	*	-
FMR	*	-
FM	0,0681	0,0277
FM	*	-
CR	0,0487	0,0125
CR	0,0619	0,0056
CC	0,1719	0,0105
CC	*	-
IM	0,1116	0,0313
IM	0,0783	0,0587
INT	0,0744	0,0095
INT	0,1073	0,0322

*abaixo do limite de quantificação; 0,03395 (µg/g).

Os valores obtidos neste estudo corroboram com os valores encontrados na literatura, os quais apresentam uma ampla faixa de variação: de 0,04 a 0,201 µg/g. Além disso, as concentrações detectadas neste estudo estão abaixo do limiar de detecção sensorial citada na literatura – 0,22 µg/g (GARCIA-REGUEIRO e DIAZ, 1989; HANSEN-MOLLER, 1994).

Na comparação das médias dos tratamentos não foi verificada diferença significativa ($p>0,05$) e, pode-se observar que a menor concentração de escatol ocorreu nas FMR, os quais não apresentaram quantidades de escatol passíveis de quantificação pelo método empregado.

Os resultados obtidos neste trabalho, com avaliação de 10 % dos animais estudados no projeto em andamento são concordantes com aqueles citados por Annor-Frempong *et al.* (1997); Oliveira *et al.*, (1997), Bonneau *et al.* (2000), Prunier *et al.* (2006), dentre outros, cuja quantidade detectada – inferior à 0,25 µg/g - é considerada baixa para a percepção humana. Na pesquisa que ocorre paralela a esta, em projeto PIBIC, a equipe treinada de análise sensorial que avaliou odor de escatol dessas e mais 106 amostras de gordura subcutânea detectou em muitas delas quantidades difíceis de perceber, sugerindo que escatol terá pequena contribuição no

odor desagradável da carne suína caso alguma delas o apresente. Detecção de escatol em outras amostras e resultados obtidos estão sendo avaliados e serão apresentados futuramente.

CONCLUSÃO

Concluiu-se com os resultados obtidos que a concentração de escatol não dependeu da forma de castração, e, mesmo em animal macho inteiro, houve diferença na intensidade de escatol presente na gordura subcutânea entre as amostras. As concentrações de escatol foram detectadas abaixo do *threshold* citado na literatura (0,22 µg/g), contudo perceptíveis por equipe treinada de avaliação sensorial.

A pequena quantidade detectada evidencia que os animais foram criados em boas condições ambientais e de alimentação confirmando as informações obtidas dos frigoríficos que abateram estes animais. Este fato poderá favorecer a aceitação pelos consumidores, já que o efeito sinérgico proveniente do odor de androstenona juntamente com o de escatol será minimizado pela baixa intensidade detectada por este último.

Avaliações de outras amostras e de androstenona estão sendo realizadas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq – PIBIT, pela bolsa concedida.

Ao LAFISE/CCQA– ITAL, pela oportunidade de estágio.

Ao CTC/ITAL – pela utilização do Laboratório de Análises Químicas.

REFERÊNCIAS

- ABIEPCS – Associação Brasileira Ind. Prod. Exp. Carne Suína. 2010. Disponível em: <http://www.abiepcs.org.br/news/257/101/Carne-Suina-avaliacao-dos-resultados-de-2010-e-perspectivas-para-2011.html>. Acesso: 17-02-11 09:50h.
- ANNOR-FREMPONG, I.E., NUTE, G.R., WHITTINGTON, F.W. & WOOD, J.D. The problem oftaint in pork: 1. Detection thresholds and odour profiles of androstenone and skatole in amodel system. **Meat Science**, v. 46, p. 45-55, 1997.
- BONNEAU, M., KEMPSTER, A.J., CLAUS, R., CLAUDI-MAGNUSSEN, C., DIESTRE, A., TORNBERG, E., WALSTRA, P., CHEVILLON, P., WEILER, U. & COOK, G.L. An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: I. Presentation of the programme and measurement of boar taint compounds with different analytical procedures. **Meat Science**, v. 54, p. 251-259, 2000.

BONNEAU, M., E. J. SQUIRES, E. J. O uso de machos inteiros na produção de suínos. In: **CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DE CARNE SUÍNA**, 1, Doc.69. Concórdia. Anais eletrônicos. Concórdia, SC. Ed. Embrapa. 2001. p.173 -198. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br>. Acesso em 10/2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA**, artigos 121 e 172 do Título VII. p. 32-38, 1980.

GARCIA-REGUEIRO, J.A.; DIAZ, I. Evaluation of the contribution of skatole, indole, androstenone and androstenols to boar-taint in back fat of pigs by HPLC and capillary gás chromatography (GC). **Meat Science**, v. 25, p. 307-16, 1989.

HANSEN-MOLLER. Rapid high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of androstenone, skatole and indole in back fat from pigs. **Journal of Chromatography B**, v. 661, p. 219-230, 1994

OLIVEIRA, J. J. V.; SILVEIRA, E. T. F., VIANA, A. G. Determinação de androstenona e escatol em toucinho costal-lombar e glândula salivar submaxilar de suínos. **Revista Brasileira de Análise de Alimentos**, v. 5, p. 12–20, 1997.

PRUNIER, A.; BONNEAU, M.; VON BORELL, E. H.; CINOTTI, S.; GUNN, M.; FREDRIKSEN, B.; GIERSSING, M.; MORTON, D.B.; TUYTTENS, F. A. M.; VELARDE, A. A review of the welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods. **Animal Welfare**, v.15. p. 277-289, 2006.

SCHINCKEL, A.P.; LI, N.; RICHERT, B.T.; PRECKEL, P.V.; EINSTEIN, M.E. Requirements of pigs fed ractopamine – Development of a model to describe the compositional growth and dietary lysine. **J. Anim. Sci.**, v. 81, p. 1106-1119, 2003.

VALENTE, A. L.; AUGUSTO, F. Microextração por Fase Sólida. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p.523-530, 2000.