



**AVALIAÇÃO QUÍMICA DE ODOR SEXUAL E ACEITABILIDADE DE CARNE SUÍNA
OBTIDA DE ANIMAL IMUNOCASTRADO**

CAMILA C. **FORTE**¹; EDUARDO A. **ORLANDO**²; EXPEDITO T. F. **SILVEIRA**²; KÁTIA
M. V. A. B. **CIPOLLI**³

Nº 12253

RESUMO

O odor sexual é um fator de rejeição da carne obtida de machos inteiros, sendo atribuído a dois compostos: a androstenona, um esteróide sintetizado nos testículos, e o escatol, produto da degradação do triptofano no intestino. Aliando as vantagens dos animais inteiros aos conceitos de bem estar animal, a imunocastração desponta como uma eficiente técnica na prevenção dos compostos responsáveis pelo odor sexual. O presente estudo teve como objetivo quantificar as concentrações de androstenona e escatol, simultaneamente, por cromatografia líquida de alta eficiência, assim como avaliar a aceitabilidade sensorial de suínos machos inteiros, castrados fisicamente e imunologicamente, além de fêmeas. O método desenvolvido obteve boa linearidade e seletividade, além de repetibilidade e reprodutibilidade consideradas aceitáveis, porém não se obteve uma boa porcentagem de recuperação, devido à complexidade da matriz lipídica. Apenas as amostras de macho inteiro apresentaram concentrações de androstenona e escatol superiores ao limite de detecção sensorial citado em literatura. A imunocastração se demonstrou eficiente, com uma redução em aproximadamente 90% destes compostos comparados a suínos não castrados, assemelhando-se às amostras de fêmea analisadas. Entre imunocastrados, castrados fisicamente e fêmeas, não houve diferença significativa na percepção de sabor e odor por parte do consumidor, obtendo-se boa aceitação.

¹ Bolsista CNPq; Graduanda em Eng. de Alimentos, UNICAMP, Campinas-SP,
camiladoforte@gmail.com.

² Colaborador: CTC/ITAL, Campinas-SP.

³ Colaborador: CCQA/ITAL, Campinas-SP.



ABSTRACT

The boar taint is a rejection factor of meat obtained from entire swine males being attributable to androstenone, a steroid synthesized in the testes, and skatole, degradation product of tryptophan in the gut. Connecting the advantages of non-castrated animals to the concepts of animal welfare, the immunocastration emerged as an efficient technique in the prevention of the compounds responsible for boar taint. The present study aimed to quantify the concentrations of androstenone and skatole simultaneously by high performance liquid chromatography, as well as to evaluate the sensory acceptability of swine castrated physically and immunologically well as females. The developed method has obtained good linearity and selectivity, and intra and inter-assay variation consider acceptable, but they were not a good recovery, due to the complexity of the lipid matrix. Only concentrations of entire male presented androstenone and skatole concentration above the detection threshold reported in the literature. The immunocastration was effective with a reduction of approximately 90% of these compounds compared to non-castrated swine, resembling the female samples analyzed. Among immunocastrated, castrated physically and females, there was no significant difference in the taste and odor perception by the consumer, achieving good sensory acceptance.

INTRODUÇÃO

O odor desagradável, perceptível no cozimento da carne suína obtida de machos inteiros, designado como odor sexual, é um fator de rejeição da carne por parte dos consumidores (BONNEAU, 2000). Dois compostos são considerados os principais responsáveis pela ocorrência de odor sexual: escatol (3-metilindol) e androstenona (α -androst-16-em-3-ona). O escatol é o produto da degradação anaeróbica do triptofano no intestino. A androstenona é um esteróide sintetizado nos testículos, que possui um odor associado à urina. Para redução ou até mesmo eliminação destes compostos, a maneira mais eficiente é através da castração (FONTI FURNOLS, 2008).

A castração física é uma prática comum em diversos países, porém consiste em uma prática dolorosa e estressante para o animal e não é bem vista por organizações que defendem o bem estar animal (EFSA, 2003; PRUNIER et al, 2006).

Aliando as vantagens dos animais inteiros, como rápido crescimento e obtenção de carcaças magras (RIUS, HORTÓS, GARCIA-REGUEIRO, 2005), aos conceitos de bem estar animal, a imunocastração desponta como uma eficiente



técnica na prevenção de odores desagradáveis, inibindo o crescimento dos testículos por imunização ativa e controlando a produção de compostos responsáveis pelo odor sexual (JAROS, 2005).

No contexto da nutrição animal, com a possibilidade de ser aplicado em conjunto com a castração, destaca-se o uso de compostos β -adrenérgicos, como a 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 (PEREIRA et al., 2008; SCHINCKEL et al., 2003).

Atualmente, a indústria vem buscando métodos analíticos precisos para determinação de compostos responsáveis pelo odor sexual, que auxiliem na classificação das carcaças e permitam estabelecer limiares de detecção sensorial para tais substâncias (MORTENSEN, SORENSEN, 1984). De modo que a tendência, conforme estudos de atitudes e opiniões de consumidores (MACHADO FILHO, 2000), é considerar cada vez mais o bem estar animal nos produtos que consomem, porém, faltam pesquisas no país para o melhor conhecimento das tecnologias de produção que considerem este aspecto, como a imunocastração.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 21 amostras de animais suínos, submetidos a diferentes processos de castração, com e sem suplementação: animais castrados fisicamente com alimentação tradicional (CF), castrados fisicamente com suplementação de ractopamina (CR); imunocastrados com alimentação tradicional (IM) e imunocastrados com suplementação de ractopamina (IR); fêmeas com alimentação tradicional (FM), fêmeas com suplementação de ractopamina (FR) e animais inteiros (INT).

Os suínos castrados fisicamente passaram por procedimento usual da granja para tal tratamento. Os suínos imunocastrados receberam duas doses da vacina Improvac®, sendo a primeira aplicada 8 semanas e a segunda aplicada 4 semanas antes do abate, de acordo com as recomendações do fabricante (Pfizer Animal Health).

As meias carcaças foram processadas no CTC-ITAL. A gordura foi armazenada em ultrafreezer à temperatura de -82°C, e o lombo em freezer à -30°C.



Determinação do teor de androstenona e escatol da gordura subcutânea costolombar por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

As análises foram realizadas utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para determinação das concentrações de escatol e androstenona, simultaneamente, utilizando de metodologia baseada na descrita por Hansen-Moller (1994), com algumas modificações.

Para a extração das amostras foram adicionados 3,0 mL de metanol a 0,5g de gordura suína previamente congelada e homogeneizada. A mistura foi agitada por 1 minuto em agitador de tubos tipo Vortex, sendo em seguida mantida em banho ultrassônico por 10 minutos. Os tubos foram então mantidos em banho de gelo por 15 minutos e centrifugados a 4°C/8000rpm por 10 minutos (centrífuga Beckman Avanti J-25). Após a decantação, 500 µL de extrato foram filtrados em membranas de 0,45 µm de polímero de Politetrafluoretileno (PTFE), e transferidos para frascos individuais de 1,5 mL. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

Para a detecção por fluorescência, a androstenona foi previamente derivatizada. O procedimento foi realizado em frascos contendo uma alíquota de 30 µL de uma solução de 2% de dansilhidrazina em metanol, 4,4 µL de água destilada e 15 µL de trifluoreto de boro a 14%. Foi adicionado à mistura 140 µL de extrato. Após 5 minutos, à temperatura ambiente, foi realizada a injeção de 20 µL no cromatógrafo.

Utilizou-se o cromatógrafo Shimadzu-LC10AT equipado com sistema de bombeamento quaternário; detector UV acoplado em série com detector de fluorescência e coluna com fase estacionária reversa de C18 DE 4,6 X 250 mm (ACE, USA) com partículas de 5 µm. Utilizou-se as seguintes fases móveis: A - ácido acético 0,10% em solução aquosa pH 3,0; B - Acetonitrila grau HPLC (Tedia, USA) e C - Tetrahidrofurano grau HPLC (Tedia, USA). Seguiu-se o seguinte perfil de gradiente: 0-10 minutos: 28% A; 40% B, 32% C; 10-15 minutos: 25% A; 30% B; 45% C; 15-25 minutos: 10% A; 30% B; 60% C. Após 25 minutos de corrida, a fase móvel retornava para as condições iniciais.

O tempo total de corrida foi estabelecido em 30 minutos, com fluxo de 1mL/min e temperatura do forno de 40°C. O detector de fluorescência foi empregado com excitação a 285 nm e emissão a 340 nm nos primeiros 15 minutos (escatol), sendo alterado aos 15 minutos para excitação a 346 nm e emissão em 521 nm (dansilhidrazonas de androstenona). As concentrações foram determinadas através da interpolação da área dos picos em curva padrão obtida por diferentes concentrações de soluções de padrões analíticos (Sigma-Aldrich – USA) das substâncias avaliadas.



Validação da metodologia

Foram realizados testes de linearidade do método e determinação do limite de quantificação com diluições de soluções-padrão das substâncias avaliadas, em seis níveis: de 0,8 a 0,025 µg/mL para androstenona e 0,2 a 0,00625 µg/mL para o escatol.

Para análise de seletividade do método, utilizou-se uma amostra de fêmea, com quantidade desprezível de androstenona e escatol.

Para os testes repetibilidade e reprodutibilidade, a mesma amostra foi fortificada com soluções-padrão dos compostos, em três níveis, variando de 0,4 a 0,025 µg/mL de androstenona e 0,8 a 0,05 µg/mL de escatol. As avaliações de reprodutibilidade foram realizadas em sete dias, avaliando as amostras em duplicata. Para repetitividade do método foram avaliadas seis repetições de cada nível, seguidamente. A porcentagem de recuperação foi calculada nas concentrações de 0,6, 0,2 e 0,05 µg/mL de escatol e 1,2, 0,4 e 0,1 µg/mL de androstenona.

Avaliação sensorial com consumidores

Foi conduzido teste afetivo (MEILGAARD, CIVILLE, CARR, 2006) para avaliação da aceitação da gordura subcutânea costolombar e do lombo com cobertura de gordura de no máximo 3 mm, separadamente. Foram recrutados 30 consumidores de carne suína, para avaliação das amostras, sem restrições quanto à idade, sexo e classe social.

A metodologia de preparo da gordura e do lombo suíno foi realizada conforme Cipolli (2012).

As amostras obtidas de animais que não foram alimentados com ractopamina, de gordura subcutânea costolombar e de lombo suíno, foram avaliadas quanto à aceitabilidade do odor da gordura e do sabor do lombo, utilizando utilizando escala hedônica de nove pontos (9 = gostei muitíssimo, 8=gostei muito; 7=gostei moderadamente; 6=gostei ligeiramente; 5 = não gostei nem desgostei; 4=desgostei ligeiramente; 3=desgostei moderadamente; 2= desgostei muito e 1 = desgostei muitíssimo). As amostras de machos inteiros foram apenas avaliadas quanto ao odor, atendendo a legislação que estabelece restrição ao abate de suínos machos inteiros (BRASIL, 1997).

Análise estatística

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método para avaliação de androstenona e escatol, simultaneamente, adaptado de Hansen-Moller (1994) obteve boa seletividade, sem picos interferentes nos tempos de retenção e boa linearidade, com coeficientes de correlação de 0,9996 para androstenona e 0,9980 para o escatol. O limite de quantificação foi de 0,06 µg/g para o escatol e 0,18 µg/g para a androstenona, determinados através do último ponto da curva padrão, assemelhando-se ao obtido por Hansen-Moller (1994), que obteve um limite de 0,03 µg/g para o escatol e 0,2 µg/g para androstenona.

Foram obtidos coeficientes de variação inferiores a 20% nas análises de repetibilidade e reprodutibilidade, como demonstrado na Tabela 1, aceitáveis em níveis próximos aos limites de quantificação de acordo com a resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 (BRASIL, 2003).

TABELA 1. Coeficientes de variação na avaliação de repetibilidade e reprodutibilidade do método.

		Androstenona			Escatol		
Concentração (µg/mL)		0,8	0,2	0,05	0,4	0,1	0,025
C.V.(%)	Repetibilidade	7,53	19,32	13,65	2,75	7,12	9,14
	Reprodutibilidade	15,03	18,66	18,34	13,45	6,92	7,24

A recuperação da metodologia desenvolvida, demonstrada na Tabela 2, foi menor do que a observada em metodologias que utilizaram HPLC com detector de fluorescência e extração com metanol, como a de Tuomola, Vahva e Kallio (1996), citados por Haugen, Brunius, Zamaratskaia (2012) – 98% para o escatol. E a de Hansen-Moller (1994) – 96,9% para o escatol e 100% para androstenona. Tal fato deve-se à diferença de polaridade entre compostos indólicos e esteróides, o que representa um desafio na escolha adequada de solventes para uma extração simultânea (HAUGEN, BRUNIUS, ZAMARATSKAIA, 2012).

As variações obtidas, principalmente nas concentrações de androstenona, são justificáveis, devido à alta interferência da matriz gordurosa. Tal fato pode ser contrabalanceado com o uso de detectores mais avançados, como o de espectrometria de massas, além de diferentes métodos de extração, como saponificação e concentração do extrato (BEKAERT et al, 2012).

TABELA 2: Porcentagens de recuperação obtidas na metodologia desenvolvida

Concentração (µg/mL)	Androstenona			Escatol		
	1,2	0,4	0,1	0,6	0,2	0,05
% de Recuperação	56,55	75,17	94,99	76,58	85,14	83,30
Recuperação média (%)	75,57			81,67		

Após interpolação das áreas determinadas nas avaliações das amostras provenientes de diferentes tratamentos, foram obtidas as concentrações dos compostos, apresentados na Tabela 3.

Considerando todos os tratamentos avaliados, apenas as amostras de macho inteiro apresentaram valores acima do limiar de percepção sensorial citado na literatura, de 0,50 µg/g para androstenona e 0,22 µg/g para o escatol (BONNEAU; SQUIRES, 2004), diferindo dos demais gêneros ($P < 0,05$).

Apesar de serem criados em abatedouros distintos, comparando os suínos inteiros com imunocastrados, observa-se uma redução dos níveis de escatol e androstenona de aproximadamente 90%, constatando a eficiência da técnica. Einarsson (2006) verificou em experimento realizado com aplicações da vacina (Improvac®) uma redução de níveis de androstenona em 80% e de escatol em 50%.

TABELA 3. Médias e desvio-padrão⁽¹⁾ das concentrações de androstenona e escatol de gordura suína proveniente de diferentes tratamentos⁽²⁾.

	CF	CR	IM	IR	FM	FR	INT
Androstenona (µg/g)	0,14±0,05 ^a	0,16±0,06 ^a	0,12±0,04 ^a	0,09±0,01 ^a	0,11±0,03 ^a	0,10±0,03 ^a	1,06±0,24 ^b
Escatol (µg/g)	0,09±0,01 ^a	0,10±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	0,08±0,02 ^a	0,08±0,02 ^a	0,09±0,04 ^a	0,77±0,56 ^b

(1) Média ± Desvio-Padrão. Para cada linha, valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente entre si ao nível de erro de 5%.

(2) CF- castrado fisicamente; CR – castrado fisicamente alimentado com ractopamina; IM - imunocastrado; IR - imunocastrado alimentado com ractopamina; FM - fêmea; FR - fêmea alimentada com ractopamina; INT - inteiro

A análise estatística das concentrações obtidas, desconsiderando o gênero INT, demonstra uma diferenciação nos gêneros ($P < 0,05$), com uma maior concentração dos compostos encontrada nos suínos castrados cirurgicamente, conforme Tabela 4.

A suplementação com ractopamina não promoveu diferença significativa ($P < 0,05$) entre as amostras em relação às concentrações de androstenona e escatol (Tabela 4).

TABELA 4. Médias⁽¹⁾ das concentrações de androstenona e escatol, considerando apenas os gêneros FM (fêmea), IM (imunocastrado) e CF (castrado fisicamente).

	FM	IM	CF
Androstenona (µg/g)	0,11±0,03 ^b	0,10±0,03 ^b	0,15±0,06 ^a
Escatol (µg/g)	0,08±0,03 ^{ab}	0,08±0,01 ^b	0,09±0,01 ^a

(1) Média ± Desvio-Padrão. Para cada linha, valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente entre si ao nível de erro de 5%.

Na avaliação sensorial com consumidores, obtiveram-se as seguintes médias nos julgamentos, demonstradas na Tabela 5.

TABELA 5. Médias⁽¹⁾ atribuídas na avaliação de odor e sabor de gordura e carne suína proveniente de diferentes tratamentos⁽²⁾, através de teste de aceitação.

	FM	CF	IM	INT
Odor da gordura	5,9 ± 1,6 ^a	5,8 ± 1,8 ^a	5,8 ± 1,8 ^a	5,4 ± 1,9 ^a
Sabor da carne	6,9 ± 1,8 ^a	6,8 ± 1,8 ^a	6,3 ± 1,6 ^a	-

(1) Média ± Desvio-Padrão. Para cada linha, valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente entre si ao nível de erro de 5%.

(2) FM (fêmea), IM (imunocastrado) CF (castrado fisicamente) e INT (inteiro).

Os gêneros não diferiram entre si ($P>0,05$) e foram aceitos com médias entre “não gostei, nem desgostei” e “gostei pouco”, para o odor da gordura e entre “gostei pouco” e “gostei” para o sabor do lombo.

Os resultados obtidos no presente estudo, relacionando as avaliações químicas e sensoriais, demonstram a eficiência da técnica de imunocastração na redução do odor sexual, não ocasionando alteração significativa na aceitação sensorial do consumidor.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, constatou-se a eficiência da imunocastração na redução de androstenona e escatol, sendo as concentrações destes 90% menor, comparados a suínos machos inteiros. A análise sensorial consolidou os dados obtidos quimicamente, não sendo perceptíveis as diferenças aos consumidores entre sabor, odor de animais castrados fisicamente, imunologicamente e fêmeas.

Em relação aos compostos analisados, a ractopamina não influenciou significativamente, em nível de 95% de significância.

A metodologia de determinação dos compostos por HPLC/FL necessita de estudos mais aprofundados, para aumento de sua precisão nos resultados, principalmente na extração e quantificação da androstenona.



AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBITI, pela bolsa concedida.

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

Ao CTC – ITAL, pela colaboração e aprendizado.

REFERÊNCIAS

BEKAERT, K.M. et al. A validated ultrahigh performance liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry analysis for the simultaneous quantification of the three known boar taint compounds . **Journal of Chromatography**, v. 1239, n.1, p. 49-55, 2012.

BONNEAU, M. et al. An international study on the importance of androstenone and skatole for boar taint: Presentation of the programme and measurement of boar taint compounds with different analytical procedures. **Meat Science**, v. 54, n.1, p. 251-259, 2000.

BONNEAU, M.; SQUIRES, E.J. Boar taint: causes and measurement. **Encyclopedia of Meat Sciences**. Elsevier, Oxford, 2004. p.91-96.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. R.I.I.S.P.O.A. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal** (Aprovado pelo decreto nº 30.691, de 29 mar. 1952 a lterado pelos decretos nº 1.255 de 25 jun. 1962, nº 1.236 de 02 set 1994, nº 1.812 de 08 fev 1996, nº 2.244 de 04 jun 1997). Brasília, 1997. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 01 nov. 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Anexo – Guia para validação de métodos analíticos (Aprovado pela Portaria n.º 238, de 31 de março de 2003. Brasília, 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm> Acesso em: 01 nov. 2011.

CIPOLLI, M. V. A. B. Imunocastração e seus efeitos nas características sensoriais, físicas e químicas da carne suína. Tese doutorado – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP - Campinas, SP, 2012.

EFSA. **European Food Safety Authority** – Scientific opinion, 2003. <http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/report_ahaw03_pigcast_v2_en1.pdf>. Acesso em 20 out. 2011.



EINARSSON, S. Vaccination against GnRH: pros and cons. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.48, n.1, 2006. Disponível em: <http://www.actavetscand.com/content/48/S1/S10>>. Acesso em: 17 out. 2011.

FONT I FURNOLS, M. et al. Consumer's sensory acceptability of pork from immunocastrated male pigs. **Meat Science**, v. 80, n.1, p. 1013-1018, 2008.

HANSEN-MOLLER, J. Rapid high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of androstenone, skatole and indole in back fat from pigs. **Journal of Chromatography**, v. 661, n.1, p. 219-230, 1994.

HAUGEN, J.-E; BRUNIUS, C.; ZAMARATSKAIA, G. Review of analytical methods to measure boar taint compounds in porcine adipose tissue: The need for harmonised methods. **Meat Science**, v.90, n 1, p.9-19, 2012.

JAROS, P et al. Effect of active immunization against GnRH on androstenone concentration, growth performance and carcass quality in intact male pigs. **Livestock Production Science**, v.92, n.1, p.31-38, 2005.

MACHADO FILHO, L.C. P. Bem-estar de suínos e qualidade da carne: Uma visão brasileira. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DE CARNE SUÍNA, 1, Doc.69. 2000. Concórdia. **Anais eletrônicos...** Concórdia: Embrapa. 2001. p.34-40. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br>>. Acesso em: 28 out. 2008.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. 4 edition. CRC Press: Boca Raton. FL. 2006. 448p.

PEREIRA, F. A et al. Efeitos da Ractopamina e de dois níveis de lisina digestível na dieta sobre o desempenho e características de carcaça de leitoas em terminação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.60, n.4, p.943-952, 2008.

PRUNIER, A.; BONNEAU, M.; VON BORELL, E. H.; CINOTTI, S.; GUNN, M.; FREDRIKSEN, B.; GIERSENG, 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. **Journal Animal Welfare**. v.15, n.1, p.277-289, 2006.

RIUS M.A., HORTOS M., GARCÍA-REGUEIRO J.A. Influence of volatile compounds on the development of off-flavours in pig back fat samples classified with boar taint by a test panel. **Meat Science** v.71, n.1, p. 595-602, 2005.

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. **Journal of Animal Science**. v.81, n.1, p.1106-1119, 2003.