



Parâmetros químicos, bioquímicos e mecânicos de fêmures de frangos de corte submetidos a diferentes balanços eletrolíticos

Elisa Sialino Müller¹, Anderson de Almeida Barbosa¹, George Henrique Kling de Moraes¹, Flávio Medeiros Vieites², Gilson Mendes Araújo²

¹ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular – UFV.

² Departamento de Zootecnia – UFMT.

RESUMO - Objetivou-se avaliar as características ósseas de frangos de corte tratados com diferentes níveis de balanço eletrolítico (BE) na ração. Foram criados 936 pintos de corte Cobb de 1 dia de idade distribuídos em delineamento de blocos ao acaso, com seis tratamentos (BE: -50, 0, 50, 100, 150 e 200 mEq/kg), seis repetições e 26 aves por unidade experimental. A ração basal para as duas fases – inicial, 1 a 21 dias, e de crescimento, 22 a 42 dias de idade – foi constituída de milho e farelo de soja, com balanço eletrolítico de 200 mEq/kg. Para obtenção dos outros níveis de BE, a ração basal foi suplementada com cloreto de amônio. Foram avaliados os teores de minerais e proteínas ósseas e os parâmetros geométricos dos fêmures aos 7, 14, 21 e 42 dias de idade. Aos 7 dias de idade, as aves alimentadas com a ração com BE de 200 mEq/kg apresentaram o maior teor de magnésio no osso. Os teores de cálcio e fósforo obtidos com BE de 150 mEq/kg não diferiram dos obtidos com BE de 200 mEq/kg. A maior relação cálcio:fósforo foi observada nos ossos das aves alimentadas com as rações com BE de 0 e 50 mEq/kg e o menor teor de cinzas, naquelas cujo BE da ração foi de 200 mEq/kg. O balanço eletrolítico de 200 mEq/kg de ração promoveu o menor teor de cálcio aos 42 dias de idade, mas, na avaliação da relação cálcio:fósforo, não diferiu do balanço de 150 mEq/kg. Os teores de proteínas colagenosas não diferiram aos 21 dias entre os BE de 150 e 200 mEq/kg de ração. Na avaliação dos parâmetros biomecânicos aos 7 dias, o maior valor de força máxima na flexão foi obtido com o BE de 200 mEq/kg de ração, demonstrando que na idade de 7 dias, os animais foram mais sensíveis às variações de BE da ração. Aos 14, 21 e 42 dias, podem ser usadas variações mais amplas, de 150 a 200 mEq/kg, nos níveis do balanço eletrolítico, pois não prejudicam as propriedades ósseas de frangos de corte.

Palavras-chave: balanço eletrolítico, fêmur, variação aniônica

Chemical, biochemical and mechanical parameters of femurs of broilers subjected to different electrolyte balance levels

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate bone characteristics of broilers treated with different levels EB in the diet. A total of 935 Cobb chicks of 1 day of age were distributed in a randomized blocks design with six treatments (EB: -50, 0, 50, 100, 150 and 200 mEq/kg), six replicates and 26 birds per experimental unit. The basal diet for the two phases – starter, from 1 to 21 days and growth, from 22 to 42 days of age – was composed of corn and soybean meal, with electrolytic balance of 200 mEq/kg. For the obtainment of the other EB levels, the basal diet was supplemented with ammonium chloride. Mineral and bone protein contents and geometric parameters of femurs at 7, 14, 21 and 42 days were evaluated. At 7 days of age, birds fed the diet with EB of 200 mEq/kg presented the highest magnesium content in the bone. The contents of calcium and phosphorus obtained with EB of 150 mEq/kg did not differ from that achieved with EB of 200 mEq/kg. The greatest calcium:phosphorus ratio was observed in bones of birds fed the diets containing EB of 0 and 50 mEq/kg and the lowest content of ash was in those consuming the diet whose EB was 200 mEq/kg. The electrolytic balance of 200 mEq/kg feed promoted the lowest content of calcium at 42 days of age, but at the evaluation of the calcium:phosphorus ratio, it did not differ from the balance of 150 mEq/kg. The content of collagenous proteins did not differ at 21 days between EB of 150 and 200 mEq/kg feed. At the evaluation of the biomechanical parameters at 7 days, the highest value of maximum bending strength was obtained with the electrolytic balance of 200 mEq/kg feed, demonstraitng that at 7 days of age the birds were more sensitive to variations of EB of the diet. At 14, 21 and 42 days, wider variations, from 150 to 200 mEq/kg can be used in the EB levels, for they do not harm the bone properties of broilers.

Key Words: anionic variation, electrolyte balance, femur

Introdução

Alguns estudos têm comprovado que o balanço dietético eletrolítico afeta o crescimento e a eficiência alimentar das aves (Simons et al., 1987; Karunajeewa & Barr, 1988; Karunajeewa et al., 1986). O metabolismo proteico, energético e mineral e a regulação ácido-básica são processos interrelacionados que influenciam o desempenho das aves (Patience, 1990). A manutenção do equilíbrio ácido-base é essencial para os processos fisiológicos e bioquímicos (Sousa et al., 2002), pois pequenas alterações no pH sanguíneo podem afetar processos metabólicos relacionados ao crescimento, à resistência a doenças e à sobrevivência ao estresse por calor (Monteiro et al., 2006). Mongin (1980) enfatizou a importância de se ajustar o conteúdo de minerais da dieta para manter o balanço essencial e o ótimo desempenho, uma vez que, quando o balanço se altera para acidose ou alcalose, as vias metabólicas não funcionam apropriadamente, e as proporções de sódio (Na), cloro (Cl) e potássio (K) na dieta passam a ser consideradas as variáveis mais importantes (Oviedo-Rondon et al., 2000).

Halley et al. (1986) verificaram influência do balanço eletrolítico sobre a incidência de discondroplasia tibial, e isso indica efeito da manipulação no conteúdo de eletrólitos da dieta sobre a capacidade tampão do sangue, o que pode afetar funções do organismo, como a mineralização do osso. Patience (1990) relatou que distúrbios ácido-básicos crônicos afetam o metabolismo ósseo. A acidose metabólica produzida por altos níveis de cloro pode reduzir a formação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que é essencial para normal mineralização óssea (Mongin & Sauveur, 1977). Altas temperaturas também podem afetar o balanço eletrolítico. Frangos de corte criados sob alta temperatura apresentaram reduzida excreção urinária de Cl^- e alta excreção de K^+ , Na^+ , P^{2-} , SO_4^{2-} , Mg^{+2} , Ca^{+2} e Mn^{+2} em relação a frangos criados a 24°C (Murakami, 2000).

A tibia tem sido usada como modelo ósseo para avaliação das disfunções metabólicas, porém a sequência na maturação óssea tem desenvolvimento centrípeto, com gradiente de amadurecimento distal (da extremidade) para proximal nos ossos dos membros (Kwakkel et al., 1998). Portanto, é importante a avaliação também do fêmur, pois a velocidade de mineralização e outros aspectos de desenvolvimento deste osso ocorrem mais lentamente que na tibia, uma vez que está mais próximo ao centro do corpo (Kwakkel et al., 1998). Assim, o fêmur pode ser o principal elo entre o rápido ganho de peso e os problemas de pernas (Barbosa et al., 2010). Assim, objetivou-se avaliar as características ósseas de frangos de corte tratados com diferentes níveis de balanço eletrolítico na ração.

Material e Métodos

Avaliou-se a composição química, bioquímica e biomecânica dos fêmures de frangos de corte aos 7, 14, 21 e 42 dias de idade. Os fêmures avaliados foram obtidos em experimento realizado no Setor de Avicultura do Centro Federal de Educação Tecnológica de Cuiabá, Mato Grosso. Foram utilizados 936 pintos de corte machos da marca comercial Cobb. As aves foram criadas de 1 até 42 dias de idade em galpão de alvenaria, com pé-direito de 3,0 m de altura. Foram utilizados 36 boxes de $3,54 \times 1,13$ m ($4,0\text{m}^2$). Utilizou-se delineamento experimental em blocos ao acaso, com seis níveis de balanço eletrolítico (BE), seis repetições (boxes) e 26 aves por unidade experimental. Durante o período experimental, foi adotado programa de luz contínuo, com 24 horas de luz natural + artificial. As temperaturas médias de máxima e de mínima foram 30 e 23°C , respectivamente, e a umidade relativa do ar média foi 67%.

A ração basal foi constituída de milho e farelo de soja, de forma a atender às recomendações nutricionais descritas por Rostagno (2000) para as fases inicial e de crescimento, compreendendo o período de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade, respectivamente, com BE de 200 mEq/kg (Tabela 1).

Os animais, com 1 dia de idade e peso médio de 47 g, foram distribuídos uniformemente nos boxes. Cada ração basal foi suplementada com cloreto de amônio (NH_4Cl) em substituição ao material inerte, de forma a se obterem seis níveis de balanço eletrolítico (Tabela 2).

Os valores de balanço eletrolítico foram calculados utilizando-se a seguinte fórmula sugerida por Mongin (1981): $\text{BE} = (\% \text{Na}^+ \times 100/22,990^*) + (\% \text{K}^+ \times 100/39,102^*) - (\% \text{Cl}^- \times 100/35,453^*)$; (*Equivalente-grama do Na^+ , K^+ ou Cl^- , respectivamente).

Aos 7, 14, 21 e 42 dias de idade, uma ave de cada box com o peso médio da unidade experimental foi sacrificada por deslocamento cervical. Os fêmures de ambas as pernas foram removidos e limpos de todo o tecido aderente, pesados, medidos quanto ao comprimento, com paquímetro de precisão, e congelados a -20°C . As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Animal do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, versão 9.1), desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa. Foram feitas análises de variância (5% de significância) dentro de cada idade. As médias dos tratamentos foram testados pelo teste Dunnett a 5% de probabilidade.

Para determinação dos teores de cinzas e minerais, utilizaram-se fragmentos ósseos secos e desengordurados. As amostras foram incineradas em mufla a 550 °C por 12 horas e pesadas. Os resultados foram expressos em porcentagem de cinzas em relação ao peso do osso seco e desengordurado, de acordo com o método de Thorp &

Tabela 1 - Composição calculada das rações basais

Ingrediente (%)	Fase inicial	Fase de crescimento
Milho	54,516	59,722
Farelo de soja	36,179	30,524
Óleo de soja	3,724	4,291
Calcário	0,977	0,927
Fosfato bicálcico	1,825	1,623
DL-metionina (99%)	0,230	0,209
L-lisina HCl (98%)	0,153	0,198
Sal comum	0,456	0,462
Carbonato de potássio	-	0,104
Cloreto de amônio	0,062	-
Cloreto colina (60%)	0,080	0,080
Mistura vitamínico ¹	0,100	0,100
Mistura mineral ²	0,050	0,050
Virginamicina ³	0,050	0,050
Anticoccidiano ⁴	0,050	0,050
Antioxidante ⁵	0,010	0,010
Areia lavada (inerte)	1,600	1,600
Total	100,00	100,00
Exigências nutricionais (%)		
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.000	3.100
Proteína bruta (%)	21,40	19,30
Cálcio (%)	0,960	0,874
Fósforo disponível (%)	0,450	0,406
Sódio (%)	0,222	0,222
Potássio (%)	0,829	0,799
Cloro (%)	0,386	0,359
Arginina digestível (%)	1,336	1,177
Glicina + serina (%)	2,024	1,812
Metionina + cistina digestível (%)	0,807	0,741
Lisina digestível (%)	1,143	1,045
Treonina digestível (%)	0,717	0,643
Triptofano digestível (%)	0,242	0,211
Balanço eletrolítico (mEq/kg)	200	200

¹ Suplementação de vitaminas, minerais e aditivos/kg do produto; vit. A - 10.000.000 UI; vit. D3 - 2.000.000 UI; vit. E - 30.000 UI; vit. B1 - 2,0 g; vit. B6 - 4,0 g; ácido pantotênico - 12,0 g; biotina - 0,10 g; vit. K3 - 3,0 g; ácido fólico - 1,0 g; ácido nicotínico - 50,0 g; vit. B12 - 15.000 mcg; selênio - 0,25 g; veículo q.s.p. - 1.000 g.

² Rologomix (Roche) - Níveis de garantia por quilo de produto: manganês - 16,0 g; ferro - 100,0 g; zinco - 100,0 g; cobre - 20,0 g; cobalto - 2,0 g; iodo - 2,0 g; veículo q.s.p. - 1.000 g.

³ Stafac® - 50%.

⁴ Coxistac® (salinomicina) - 12%.

⁵ Butil-hidroxi-tolueno.

Waddington (1997). Para determinação por espectrometria de absorção atômica dos teores de Na, K, Ca, P e Mg nas cinzas, 10 mL de ácido clorídrico (6M) foram adicionados às cinzas com a finalidade de descomplexar os cristais de hidroxiapatita, liberando os minerais. Essas amostras foram colocadas sobre uma placa de aquecimento e a solução foi evaporada em capela de exaustão até secar completamente. O precipitado foi dissolvido por adição de água destilada e deionizada e na solução filtrada o volume completado para 30 mL para a idade de 7 e 14 dias de idade e para 50mL para as idades de 21 e 42 dias de idade (Thorp & Waddington, 1997).

Os fêmures utilizados para o teste de flexão foram cortados longitudinalmente, removendo-se a medula óssea com jatos de água destilada e deionizada. A seguir, foram desengordurados com éter de petróleo, em aparelho de Soxhlet, por 12 horas, e utilizados para determinação das concentrações das proteínas não-colagenosas e colagenosas. Para tanto, os fêmures foram desmineralizados extensivamente com solução de EDTA 0,5M e pH 8,2, de acordo com o método proposto por Hauschka & Gallop (1977) para extração das Gla-proteínas ósseas ou proteínas não-colagenosas. O fim da extração foi confirmado com o ácido oxálico. Após a extração, os volumes foram ajustados para 5 mL para a idade de 7 dias, 14 mL para 14 dias, 30 mL para 21 dias e 80 mL para 42 dias. As proteínas não-colagenosas foram quantificadas na solução de EDTA pelo método de Bradford (1976) utilizando-se albumina sérica bovina como padrão.

Depois de desengordurados e desmineralizados, os ossos foram lavados com água destilada e deionizada para extração do EDTA e, então, usados para determinação do teor de proteínas colagenosas, utilizando-se o método Kjeldahl segundo Silva & Queiroz (2006). O teor de proteínas colagenosas (PC) foi obtido multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25.

A avaliação dos aspectos biomecânicos dos fêmures foi realizado de acordo com Barbosa et al. (2010). Os fêmures esquerdos foram descongelados até atingir a temperatura ambiente e submetidos a ensaio de flexão segundo norma ANSI/ASAE S459-98 (1992) em máquina universal de ensaios mecânicos EMIC.

Tabela 2 - Tratamentos constituídos pelas rações experimentais (inicial e de crescimento) suplementadas com NH₄Cl

Balanço eletrolítico (mEq/kg)	Ração basal (kg)	Inerte (%)	NH ₄ Cl (%)	Total (%)
-50	98,4	0,255	1,345	100
0	98,4	0,524	1,076	100
50	98,4	0,793	0,807	100
100	98,4	1,062	0,538	100
150	98,4	1,331	0,269	100
200	98,4	1,600	-	100

NH₄Cl - peso molecular (U.M.A.) = 53,45; pureza 99,5%.

Resultados e Discussão

Os balanços eletrolíticos interferiram nas porcentagens de cinzas, na relação cálcio:fósforo e nos teores de cálcio, fósforo e magnésio (Tabela 3) aos 7 dias. Somente o nível de 150 mEq/kg não diferiu do controle (200 mEq/kg) quanto aos teores de cálcio ($P>0,05$) e fósforo. Todos os teores de magnésio obtidos com os níveis de balanço eletrolítico testados foram inferiores ($P<0,05$) ao observado no nível controle. A relação cálcio:fósforo obtida com os balanços eletrolíticos de 0 e 50 mEq/kg diferiu, com valores superiores ($P<0,05$) ao observado no grupo controle. Finalmente, o teor de cinzas observado nas aves do grupo controle foi menor ($P<0,05$) que em todos os demais grupos.

Para a idade de 14 dias, os balanços eletrolíticos da ração interferiram nas porcentagens de sódio nas cinzas, sendo apenas o grupo contendo 100 mEq/kg igual ao controle ($P>0,05$).

A variação dos níveis de balanço eletrolítico na dieta não interferiu ($P>0,05$) nos parâmetros químicos dos fêmures dos frangos na idade de 21 dias, fato comprovado pelo teste

Dunnett a 5% de probabilidade. Todavia, Vieites et al. (2004) verificaram que o melhor balanço eletrolítico para a deposição de cálcio em tíbias foi de 132 mEq/kg para frangos de corte aos 21 dias de idade.

Aos 42 dias de idade, a variação do balanço eletrolítico interferiu na relação cálcio:fósforo e nos teores do cálcio dos fêmures. O grupo controle apresentou o menor teor de cálcio nas cinzas ($P<0,05$). A relação cálcio:fósforo observada com o balanço eletrolítico de 150 mEq/kg foi igual à obtida com o nível controle ($P>0,05$).

Neste trabalho, para a variação aniônica aos 7 dias de idade as porcentagens de cálcio e fósforo foram menores que o controle a partir do nível de 100 mEq/kg, em todos os níveis de cloro. O excesso de cloro na dieta leva a uma acidose metabólica que pode reduzir a capacidade de síntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que é essencial para o estímulo da absorção do cálcio no intestino (Waldenstedt, 2006). Contrariamente, Araújo (2009) encontrou maior teor de cálcio nas cinzas quando utilizou balanço eletrolítico de -50 mEq/kg aos 7 dias de idade. No entanto, aos 42 dias de idade neste trabalho, observou-se o mesmo que Araújo (2009), com

Tabela 3 - Aspectos químicos dos fêmures de frangos de corte alimentados com rações de diferentes níveis de balanço eletrolítico

Balanço eletrolítico (mEq/kg)	Minerais no osso (%)						
	Cálcio	Fósforo	Magnésio	Sódio	Potássio	Relação cálcio:fósforo	% cinzas
	7 dias						
-50	12,98*	8,16*	0,41*	1,26 ^{ns}	1,87 ^{ns}	1,59*	47,01*
0	13,80*	8,28*	0,42*	1,22 ^{ns}	1,72 ^{ns}	1,67*	49,79*
50	12,95*	7,89*	0,39*	1,01 ^{ns}	1,38 ^{ns}	1,64*	52,16*
100	13,84*	8,78*	0,43*	1,28 ^{ns}	2,00 ^{ns}	1,58*	42,51*
150	15,57 ^{ns}	9,56 ^{ns}	0,47*	1,11 ^{ns}	1,63 ^{ns}	1,63 ^{ns}	47,11*
200**	17,44	10,71	0,56	1,25	2,28	1,63	39,25
	14 dias						
-50	14,80 ^{ns}	8,65 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,75*	1,05 ^{ns}	1,71 ^{ns}	52,45 ^{ns}
0	13,92 ^{ns}	8,06 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,73*	0,96 ^{ns}	1,72 ^{ns}	53,45 ^{ns}
50	13,18 ^{ns}	7,78 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,67*	0,90 ^{ns}	1,69 ^{ns}	54,48 ^{ns}
100	12,62 ^{ns}	7,58 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,82 ^{ns}	1,67 ^{ns}	55,31 ^{ns}
150	14,02 ^{ns}	8,32 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,68*	0,79 ^{ns}	1,68 ^{ns}	52,82 ^{ns}
200**	14,08	8,38	0,41	0,63	0,85	1,68	55,29
	21 dias						
-50	20,25 ^{ns}	12,48 ^{ns}	0,67 ^{ns}	1,18 ^{ns}	0,56 ^{ns}	1,62 ^{ns}	53,71 ^{ns}
0	20,92 ^{ns}	12,31 ^{ns}	0,64 ^{ns}	1,22 ^{ns}	0,61 ^{ns}	1,70 ^{ns}	53,64 ^{ns}
50	20,03 ^{ns}	11,64 ^{ns}	0,62 ^{ns}	1,14 ^{ns}	0,61 ^{ns}	1,72 ^{ns}	55,24 ^{ns}
100	19,73 ^{ns}	11,92 ^{ns}	0,58 ^{ns}	1,24 ^{ns}	0,67 ^{ns}	1,66 ^{ns}	54,27 ^{ns}
150	20,55 ^{ns}	12,42 ^{ns}	0,62 ^{ns}	1,25 ^{ns}	0,65 ^{ns}	1,66 ^{ns}	56,37 ^{ns}
200**	16,95	9,91	0,59	1,16	0,58	1,61	55,90
	42 dias						
-50	25,69*	13,35 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,94 ^{ns}	0,68 ^{ns}	1,93*	57,94 ^{ns}
0	28,82*	14,17 ^{ns}	0,79 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,60 ^{ns}	2,03*	57,00 ^{ns}
50	27,70*	13,79 ^{ns}	0,78 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,68 ^{ns}	2,01*	56,96 ^{ns}
100	29,10*	14,87 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,72 ^{ns}	1,96*	57,72 ^{ns}
150	18,65*	11,48 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,89 ^{ns}	0,68 ^{ns}	1,63 ^{ns}	57,76 ^{ns}
200**	16,64	10,14	0,58	0,86	0,67	1,54	55,80

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

** Controle.

redução dos níveis de cálcio nas cinzas com o balanço de 200 mEq/kg quando houve havia menores quantidades equimolares de cloro na dieta.

O aumento da quantidade de cloro da dieta aumenta as anormalidades das cartilagens, especialmente quando o conteúdo de sódio e o potássio estão baixos na dieta. Dietas suplementadas com NH_4Cl e NaHCO_3 aumentaram a excreção de cálcio pelos rins, isto porque o osso funciona como um sistema tamponante para o controle ácido-base dos fluidos corporais. Dietas ácidas induzem a liberação de cátions (incluindo o cálcio) do osso para o sangue para corrigir seu pH; e para cada mol de cálcio depositado, 9 moles de ácidos são liberados (Patience 1990). A acidose metabólica estimula primeiro a dissolução mineral e depois a reabsorção óssea mediada por células, devido à maior excreção de cálcio pelos rins (Oliveira et al., 2010). Neste trabalho, aos 7 dias de idade, houve este efeito, pois a porcentagem de cálcio foi maior quando se diminuiu o teor de cloro na dieta. Então, é possível inferir que, pelo menos nesta idade, com níveis de balanço eletrolítico mais baixos, o osso tenha fornecido cálcio para o sangue, culminando em menor porcentagem de cálcio ósseo.

Embora as relações cálcio:fósforo tenham sido afetadas significativamente nas idades de 7 e 42 dias para os valores de balanço eletrolítico de 150 e 200 mEq/kg, estes valores foram mantidos próximos aos preconizados por Williams et al. (2000) como relação ideal (1,67:1), embora Field (2000) tenha considerado que a relação ideal seja em torno de 2:1. Entretanto, Williams et al. (2000) não observaram diferenças nas propriedades mecânicas dos ossos quando as relações cálcio:fósforo variaram de 1,82:1 até 3,89:1.

Distúrbios severos no balanço ácido-base ou no suprimento de certos eletrólitos são refletidos na composição de sais dos ossos. Uma quantidade de sódio e potássio pode ser mobilizada do esqueleto sob circunstâncias apropriadas sem dissolução geral da matriz do cristal (Brown & Jaffe, 2000). A composição de sais dos ossos não é fixa, mas reflete o estado de equilíbrio químico do corpo. Bergstrom & Wallace (1954) já haviam indicado uma troca desproporcional entre o sódio e o cálcio no osso. Portanto, as relações cálcio:fósforo só serão alteradas durante um período de acidose prolongada no qual o sódio e o potássio ósseo que estão prontamente disponíveis para troca com prótons (H^+) estiverem esgotados, sendo necessária a dissolução da matriz óssea e com consequente liberação desses minerais do osso. Neste trabalho, a quantidade em porcentagem de sódio nos fêmures aos 14 dias foi significativamente menor no balanço de 200 mEq/kg. Entretanto, esta variação pode não estar associada aos

fatores previamente descritos, visto que as quantidades de sódio na dieta não foram alteradas e para 200 mEq/kg os níveis de cloro foram os mais baixos entre os tratamentos. Ossos de animais mais jovens possuem maiores quantidades de água e estão em fase de constante remodelamento, o que proporciona maior possibilidade de liberação de íons para servirem ao sistema tamponante sistêmico (Green & Kleeman, 1991). Nas outras idades, não houve influência do balanço eletrolítico sobre os níveis de sódio e potássio.

Houve diferenças significativas nas concentrações de magnésio apenas para 200 mEq/kg na idade de 7 dias, e isso evidencia que o balanço de 200 mEq/kg foi o que proporcionou maior deposição óssea de magnésio nesta idade. O magnésio ósseo será mobilizado principalmente durante uma deficiência deste elemento e não em resposta às mudanças de pH; este fato foi comprovado neste trabalho. O magnésio pode ser incorporado no lugar do cálcio no osso em quantidades que dependem de sua concentração sanguínea. Do magnésio corporal 60% estão presentes nos ossos (Waldenstedt, 2006). Diferentemente do potássio e do cloro, que são facilmente e totalmente trocados no osso, o magnésio e o sódio podem penetrar na camada superficial da matriz óssea e são menos disponíveis para trocas nesta fase. Portanto, a resposta às alterações catiônicas provenientes de deficiências nutricionais ou acidose metabólica difere em termos de respostas para o sódio e potássio *versus* magnésio.

As deficiências de cálcio e fósforo dietético podem ocasionar redução do conteúdo de cinzas (Field, 2000). Neste trabalho as porcentagens de cinzas encontradas estão de acordo com o observado por Thorp & Waddington (1997), que obtiveram 55,6% em frangos de corte com 35 dias de idade. Leterrier & Nys (1992) também observaram aumento das porcentagens de cinzas em tíbias com o aumento da idade, variando de 26% ao primeiro dia de vida até o máximo de 39% aos 22 dias de idade. Contrariamente ao que se esperava, o balanço eletrolítico de 200 mEq/kg aos 7 dias de idade apresentou valores significativamente menores de cinzas. Esse resultado difere do observado por Araújo (2009), que encontrou o menor valor para cinzas no balanço eletrolítico de -50 mEq/kg e relatou que o teor de cinzas aumentou à medida que foi reduzida a inclusão de NH_4Cl nas rações, comprovando efeito negativo da acidificação da dieta sob a mineralização óssea. Moghaddam et al. (2005) não notaram diferenças nos teores de cinza e cálcio quando variaram o balanço eletrolítico em frangas de 7 a 35 dias de idade.

Para os teores de proteínas colagenosas e não-colagenosas, os balanços eletrolíticos da ração interferiram significativamente apenas na idade de 21 dias para proteína

colagenosa (Tabela 4), sendo que apenas o nível de 150 mEq/kg não diferiu do controle ($P < 0,05$).

Anormalidades do tecido ósseo podem estar associadas aos altos teores de proteínas não-colagenosas dos ossos das pernas de frangos de corte. O aumento de Gla-proteínas implica tanto na mineralização óssea quanto na estimulação à liberação de cálcio do osso (Moraes et al., 2010). Como neste trabalho não houve diferença significativa nos teores de proteína não-colagenosa, pode-se afirmar que o balanço eletrolítico de -50 a 200 mEq/kg não gerou desequilíbrio metabólico a ponto de interferir no parâmetro proteína não-colagenosa nas condições avaliadas. Diferente deste trabalho, Oliveira et al. (2006) observaram que o balanço eletrolítico de 153 mEq/kg possibilitou maior deposição de proteína não-colagenosa nos ossos longos das aves aos 21 dias de idade.

As propriedades ósseas são proporcionadas pelos seus constituintes principais, água, minerais e matriz orgânica, principalmente o colágeno tipo I. Todavia, as relações das quantidades entre eles interferem em algumas características biomecânicas relacionadas às propriedades de suportar carga (Currey, 2003). O colágeno é o principal componente proteico do osso e corresponde a 90% de seu conteúdo; sua função é fornecer tenacidade à estrutura óssea para que o osso sofra flexão sem se quebrar. Portanto, o colágeno permite ao osso suportar maior carga, independentemente de sua rigidez, que é proporcionada pelos cristais de apatita. Neste trabalho só foi observada diferença significativa aos 21 dias para os balanços de 150 e 200 mEq/kg para proteínas colagenosas, contrariamente ao que se esperava, pois, nestes níveis as proporções de minerais dos ossos deveriam ser maiores; porém, aos 21 dias, o balanço eletrolítico adequado pode interferir no crescimento do animal, fazendo com que os ossos também se desenvolvam mais, com maior velocidade no ciclo de remodelação óssea, impedido a deposição de uma matriz óssea mais madura (Crespo et al., 2002). Outro aspecto que pôde ter contribuído para não observação de diferenças

significativas para proteínas colagenosas nos diferentes níveis de balanço eletrolítico é que regiões diferentes do mesmo osso possuem níveis de mineralização diferentes. Regiões onde existe maior quantidade de ossos esponjosos são menos mineralizadas e podem expressar melhor certas diferenças. Como no presente trabalho as proteínas colagenosas foram avaliadas dos ossos inteiros, outras regiões menos sensíveis, como a região mediana dos ossos, podem ter mascarado as diferenças da região de crescimento ósseo (Muamba & Gerver, 1989).

Os parâmetros biomecânicos são indicativos da verdadeira qualidade óssea e são determinados pela densidade (Barreiro et al., 2011) e força máxima na flexão (Reis et al., 2011). Aos 7 dias de idade, as dietas contendo diferentes balanços eletrolíticos interferiram apenas nos valores da força máxima na flexão (Tabela 5). O grupo controle (BE de 200 mEq/kg) apresentou o menor valor em relação aos tratamentos ($P < 0,05$).

O parâmetro SpE não apresentou diferenças significativas ($P > 0,05$) para nenhuma idade, diferindo do observado por Araújo (2009), que encontrou maior resultado para o balanço eletrolítico de 50 mEq/kg. Esse autor relatou ainda que, ao contrário do esperado, houve aumento da carga máxima suportada pelos ossos à medida que as dietas foram acidificadas.

O osso funciona como um sistema tamponante para o controle ácido-base dos fluidos corporais. Dietas ácidas induzem a liberação de cátions (incluindo o cálcio) do osso para o sangue para corrigir seu pH (Oliveira et al., 2010). A acidose metabólica estimula primeiro a dissolução mineral e depois a reabsorção óssea mediada por células, devido à maior excreção de cálcio pelos rins (Riond, 2001; Oliveira et al., 2010). Essa perda de cálcio resultaria em menor mineralização óssea, podendo afetar a qualidade mecânica dos ossos no animal. Um fator importante é que a quantidade de cálcio no osso tem sido associada à fragilidade óssea. Thorp & Waddington (1997) observaram que ossos com valores inferiores de cálcio fraturavam mais durante o processamento. Crespo et al. (2002) também encontraram

Tabela 4 - Teores de proteínas colagenosas e não-colagenosas dos fêmures de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de balanço eletrolítico

Balanço eletrolítico (mEq/kg)	% proteína colagenosa				% proteína não-colagenosa			
	7 dias	14 dias	21 dias	42 dias	7 dias	14 dias	21 dias	42 dias
-50	59,16 ^{ns}	51,14 ^{ns}	40,15*	46,67 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,39 ^{ns}
0	55,54 ^{ns}	53,37 ^{ns}	43,65*	46,97 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,41 ^{ns}
50	56,21 ^{ns}	51,71 ^{ns}	41,83*	46,99 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,43 ^{ns}
100	62,31 ^{ns}	53,35 ^{ns}	44,48*	49,11 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,40 ^{ns}
150	56,34 ^{ns}	52,06 ^{ns}	51,35 ^{ns}	47,02 ^{ns}	0,87 ^{ns}	0,42 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,50 ^{ns}
200	55,62	47,57	48,13	46,76	0,75	0,36	0,49	0,43

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

Tabela 5 - Parâmetros biomecânicos dos fêmures de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de balanço eletrolítico

Balanço eletrolítico (mEq/kg)	Fmax (N)	MOR (MPa)	SpE (N/mm)	I (m ⁴)	Diâmetro (mm)
7 dias					
-50	22,579*	9,417 ^{ns}	11,109 ^{ns}	2,90E-12 ^{ns}	1,401 ^{ns}
0	23,822*	10,901 ^{ns}	12,459 ^{ns}	2,64E-12 ^{ns}	1,370 ^{ns}
50	27,174*	11,308 ^{ns}	13,510 ^{ns}	2,85E-12 ^{ns}	1,395 ^{ns}
100	24,388*	9,926 ^{ns}	10,349 ^{ns}	2,81E-12 ^{ns}	1,362 ^{ns}
150	27,043*	12,178 ^{ns}	13,528 ^{ns}	2,61E-12 ^{ns}	1,368 ^{ns}
200	41,967	11,862	11,998	4,87E-12	1,554
14 dias					
-50	91,057 ^{ns}	7,688 ^{ns}	8,498 ^{ns}	3,12E-11 ^{ns}	2,605 ^{ns}
0	96,042 ^{ns}	7,245 ^{ns}	10,350 ^{ns}	3,80E-11 ^{ns}	2,723 ^{ns}
50	90,294 ^{ns}	6,919 ^{ns}	7,878 ^{ns}	3,72E-11 ^{ns}	2,689 ^{ns}
100	99,349 ^{ns}	7,160 ^{ns}	7,542 ^{ns}	3,81E-11 ^{ns}	2,688 ^{ns}
150	76,254 ^{ns}	4,600 ^{ns}	4,889 ^{ns}	4,73E-11 ^{ns}	2,882 ^{ns}
200	117,000	8,266	8,887	3,92E-11	2,733
21 dias					
-50	193,568 ^{ns}	7,206 ^{ns}	10,662 ^{ns}	1,49E-10 ^{ns}	3,892 ^{ns}
0	177,937 ^{ns}	7,715 ^{ns}	9,954 ^{ns}	1,23E-10 ^{ns}	3,704 ^{ns}
50	208,875 ^{ns}	9,441 ^{ns}	16,132*	1,29E-10 ^{ns}	3,740 ^{ns}
100	187,257 ^{ns}	8,836 ^{ns}	10,909 ^{ns}	1,07E-10 ^{ns}	3,587 ^{ns}
150	175,776 ^{ns}	7,701 ^{ns}	12,230 ^{ns}	1,28E-10 ^{ns}	3,740 ^{ns}
200	183,954	7,928	11,773	1,18E-10	3,628
42 dias					
-50	313,495 ^{ns}	8,140 ^{ns}	13,096 ^{ns}	4,93E-10 ^{ns}	5,326 ^{ns}
0	328,324 ^{ns}	7,496 ^{ns}	13,004 ^{ns}	5,31E-10 ^{ns}	5,368 ^{ns}
50	277,466 ^{ns}	6,600 ^{ns}	13,367 ^{ns}	5,36E-10 ^{ns}	5,390 ^{ns}
100	269,137 ^{ns}	7,385 ^{ns}	12,172 ^{ns}	4,61E-10 ^{ns}	5,201 ^{ns}
150	273,464 ^{ns}	6,278 ^{ns}	16,790 ^{ns}	5,41E-10 ^{ns}	5,468 ^{ns}
200	249,606	5,989	13,263	4,94E-10	5,321

Fmax = força máxima na flexão; MOR = resistência à flexão; SpE = tenacidade na flexão; I = momento de inércia.

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

maior incidência de fraturas de fêmures em perus adultos que possuíam menores porcentagens de cálcio. As quantidades relativas e propriedades do mineral, matriz orgânica, determinam suas propriedades em termos de força mecânica. Neste trabalho, aos 7 dias de idade para o balanço eletrolítico de 200 mEq/kg, a força máxima na flexão foi significativamente maior em função das propriedades físicas dos ossos, comprovada pelo aumento do diâmetro ósseo, que implica maior capacidade de suportar força, porém, quando se observaram o MOR e SpE que representam propriedades intrínsecas do material ósseo, excluindo os efeitos dos ajustes geométricos, não foi observada melhora na qualidade do osso. Aos 21 dias para o balanço de 50 mEq/kg, observamos maior valor de SpE. Esta propriedade óssea expressa a capacidade de suportar carga do osso e está relacionada ao colágeno, porém, como não foi observada maior quantidade de proteínas colagenosas para este tratamento, não se pode atribuir o maior valor de SpE ao percentual desta fração proteica. No entanto, além das quantidades de colágeno, as alterações da orientação das fibras, mesmo sem alterar o grau de maturação, podem

contribuir para a manutenção da força óssea, até em casos de diminuição da densidade mineral (Boskey et al., 1999), fator não explorado neste trabalho.

Não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) nos parâmetros físicos diâmetro e inércia em nenhum tratamento em relação ao controle de 200 mEq/kg.

Conclusões

A idade de 7 dias mostrou-se mais sensível às variações do balanço eletrolítico em níveis inferiores ao controle, pelo menos nas propriedades físicas e químicas como um todo. Portanto, deve-se ter mais cautela ao estabelecer dietas aniônicas para fase inicial, a fim de reduzir problemas de deformações ósseas que possam comprometer a locomoção das aves, prejudicando seu bem-estar e desempenho. Para idades 14, 21 e 42 dias, variações mais amplas dos níveis do balanço eletrolíticos podem ser usadas sem prejuízos para às propriedades ósseas de maneira geral. Isto permite inferir que os níveis ideais de balanço eletrolítico estão na faixa de 150 a 200 mEq/kg.

Referências

- AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS - ASAE Standard S459. **Shear and three-point bending test of animal bone**. Saint Joseph: ASAE, 1992. p.581-583.
- ARAÚJO, G.M. **Variação aniônica e catiônica da dieta sobre as características ósseas de frangos de corte: resistência à quebra, composição mineral e orgânica**. 2009. 103f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá.
- BARBOSA, A.A.; MORAES, G.H.K.; TORRES, R.A. et al. Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos, bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.772-778, 2010.
- BARREIRO, F.R.; AMARAL, L.A.; SHIMANO, A.C. et al. Physiologic values of broiler femurs at different growth phases using boné densitometry and bone breaking strength. **International Journal of Poultry Science**, v.10, n.7, p.530-533, 2011.
- BERGSTROM, W.; WALLACE, W. Bone as a sodium and potassium reservoir. **American Society for clinical investigation**, v.33, n.6, p.867-873, 1954.
- BOSKEY, A.L.; WRIGHT, T.M.; BLANK, R.D. Collagen and bone strength. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.14, n.3, p.330-335, 1999.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.2, p.248-254, 1976.
- BROWN, S.E.; JAFFE, R. Acid-alkaline balance and its effect on bone health. **International Journal of Integrative Medicine**, v.2, n.6, p.1-12, 2000.
- CRESPO, R.; STOVER, S.M.; SHIVAPRASAD, H.L. et al. Microstructure and mineral content of femora in male turkeys with and without fractures. **Poultry Science**, v.81, p.1184-1190, 2002.
- CURREY, J.D. Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. **Osteoporosis International**, v.14, (Suppl. 5) p.S29-S36, 2003.
- FIELD, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. **Meat Science**, v.55, n.3, p.255-264, 2000.
- GREEN, J.; KLEEMAN, C. Role of the skeleton in acid-base homeostase. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.61, p.151-164, 2002.
- HALLEY, J.T.; NELSON, T.S.; KIRBY, L.K. et al. Effect of altering dietary mineral balance on growth, leg abnormalities, and blood base excess in broiler chicks. **Poultry Science**, v.66, p.1684-1692, 1986.
- HAUSCHKA, P.V.; GALLOP, P.M. Purification and calcium binding properties of osteocalcin, the carboxyglutamate containing protein of bone. In: WASSERMAN, R.H. (Ed.) **Calcium binding proteins and calcium function**. Amsterdam: Elsevier, 1977. p.338-347.
- KARUNAJEEWA, H.; BARR, D.A. Influence of dietary electrolyte balance, source of added potassium and anticoccidial agents on the performance of male broilers. **British Poultry Science**, v.29, n.1, p.137-147, 1988.
- KARUNAJEEWA, H.; BARR, D.A.; FOX, M. Effect of dietary phosphorus concentration and electrolyte balance on the growth performance of broiler chickens. **British Poultry Science**, v.27, n.4, p.601-612, 1986.
- KWAKKEL, R.P.; HOF, G.; ZANDSTRA, T. et al. Diphasic allometric growth of some skeletal bones and the digestive tract in white leghorn pullets consuming *ad libitum* and restricted diets. **Poultry Science**, v.77, p.826-833, 1998.
- LETERRIER, C.; NYS, Y. Composition, cortical structure and mechanical properties of chicken tibiotarsi: effect of growth rate. **British Poultry Science**, v.33, n.5, p.925-939, 1992.
- MOGHADDAM, H.N.; JANMOHAMMADI, H.; NAJAFABADI, J. The effect of dietary electrolyte balance on growth, tibia ash and some blood serum electrolytes in young pullets. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.7, p.493-496, 2005.
- MONGIN, P. Role of sodium, potassium and chloride in eggshell quality. In: NUTRITION CONFERENCE OF FLORIDA, Florida, 1980. **Proceedings...** Florida, 1980. p.114-117.
- MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: applications in poultry. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.40, p.285-294, 1981.
- MONGIN, P.; SAUVEUR, B. Interrelationships between mineral nutrition, acid-base, growth and cartilage abnormalities. **Proceedings Poultry Science**, v.12, p.235-247, 1977.
- MONTEIRO, M.P.; MORAES, G.H.K.; FANCHIOTTI, F.E. et al. Alfa-amilase em frangos de corte: efeitos do balanço eletrolítico e do nível protéico da dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1070-1076, 2006.
- MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P.; SILVA, F.A. et al. Efeito do ácido L-glutâmico e da vitamina K na composição bioquímica parcial de fêmures de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.796-800, 2010.
- MUAMBA, J.M.M.; GEVERS, D.G. Collagen and non-collagenous proteins in different mineralization stages of human femur. **Acta Anatomica**, v.134, p.265-268, 1989.
- MURAKAMI, A.E. Balanço eletrolítico da dieta e sua influência sobre o desenvolvimento dos ossos de frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. p.33-61.
- OLIVEIRA, A.F.G. **Estudo do padrão de crescimento ósseo em frangos de corte de diferentes grupos genéticos criados em duas densidades populacionais**. 2006. 73f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- OLIVEIRA, M.C.; ARANTES, U.M.; STRINGHINI, J.H. Efeito do balanço eletrolítico da ração sobre parâmetros ósseos e da cama de frango. **Revista Biotemas**, v.23, n.1, p.203-209, 2010.
- OVIEDO-RONDÓN, E.O.; MURAKAMI, A.E.; FURLAN, A.C. et al. Exigências nutricionais de sódio e cloro e estimativa do melhor balanço eletrolítico da ração para frangos de corte na fase pré-inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1162-1166, 2000.
- PATIENCE, J.F. A review of the role of acid-base balance in amino acid nutrition. **Journal of Animal Sciences**, v.68, p.398-408, 1990.
- REIS, D.T.C.; TORRES, R.A.; BARBOSA, A.A. et al. Efeito de linhagem e sexo nas características geométricas e biomecânicas de tibias de frangos de corte. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.33, n.1, p.101-108, 2011.
- RIOND, J.L. Animal nutrition and acid-base balance. **European Journal of Nutrition**, v.40, p.245-254, 2001.
- ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos- Composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 141p.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 235p.
- SIMONS, P.C.M.; HULAN, H.W.; TEUNIS, G.P. et al. Effect of dietary cation-anion balance on acid-base status and incidence of tibial discondroplasia of broiler chickens. **Nutrition Reports International**, v.35, n.3, p.591-600, 1987.
- SOUZA, B.B.; BERTECHINI, A.G.; TEIXEIRA, A.S. et al. Efeitos dos cloretos de potássio e de amônia sobre o desempenho e deposição de gordura na carcaça de frangos de corte criados no verão. **Revista Brasileira de ciência Avícola**, v.4, n.3, p.209-218, 2002.
- THORP, B.H.; WADDINGTON, D. Relationships between the bone pathologies, ash and mineral content of long bones in 35-day-

- old broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, v.62, n.1, p.67-73, 1997.
- VIEITES, F.M.; MORAES, G.H.K.; ALBINO, L.F.T. et al. Balanço eletrolítico e níveis de proteína bruta sobre parâmetros sanguíneos e ósseos de frangos de corte aos 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1520-1530, 2004.
- WALDENSTEDT, L. Nutritional factors of importance for optimal leg health in broilers: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, p.291-307, 2006.
- WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; SOLOMON, S. et al. Dietary effects on bone quality and turnover, and Ca and P metabolism in chickens. **Research in Veterinary Science**, v.69, p.81-87, 2000.