

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

***TURNOVER DO CARBONO-13 NOS TECIDOS DE FRANGOS DE CORTE
EM DIFERENTES FASES DE CRESCIMENTO***

MARIELA AKIE OKINO MITUO

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

Botucatu - SP
Agosto de 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

***TURNOVER DO CARBONO-13 NOS TECIDOS DE FRANGOS DE CORTE
EM DIFERENTES FASES DE CRESCIMENTO***

MARIELA AKIE OKINO MITUO
Zootecnista

ORIENTADOR: Prof. Dr. CARLOS DUCATTI

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

Botucatu - SP
Agosto de 2008

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho,

À Deus em primeiro lugar, sempre.

Aos meus pais, Helvio Minoru Mituo e Marie Okino Mituo, pelo incentivo, tamanha confiança e amor imenso dedicado a mim.

Aos meus irmãos, Fabio Heidi Okino Mituo e Mariana Okino Mituo, pelo apoio, companheirismo e amor.

Ao meu namorado, Murillo Mongenot Jacques de Almeida, por toda paciência, incentivo a todas escolhas que fiz e ser minha fonte de amor e alegria.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos,

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti, pela oportunidade de novos caminhos, paciência e orientação.

Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, pelos ensinamentos, amizade e auxílio no planejamento e condução dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Antônio Celso Pezzato, pela convivência e colaboração na realização dos experimentos.

Às queridas amigas Juliana Célia Denadai e Rosana Gottmann, pela amizade construída aos poucos dentro ou fora do ambiente de trabalho, imensa paciência e auxílio em todas as fases de desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos André Moreira Bordinhon, Cleusa Móri e Felipe Gustavo Ravagnani pela contribuição nas idéias e discussão do trabalho.

Aos meus amigos Vanessa, Kelen, Daniel, Igo, Ana Cristina, Érica, Fabyola e Priscila, por contribuir de alguma forma, seja na execução do experimento ou nas horas de descontração e cervejinhas.

Aos meus amigos e funcionários de Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do IB – Unesp/Botucatu; Evandro, Sílvia e Cibele, pela amizade, bom convívio, auxílio na realização das análises isotópicas.

Aos secretários da Seção de Pós-Graduação da FMVZ, Seila e Danilo, pela atenção às questões burocráticas.

Aos funcionários da Fábrica de Ração e do Setor de Aves, Sr. Arlindo, pela imensa ajuda no desenvolvimento dos experimentos.

À Empresa Nutron[®], pela doação dos Suplementos Mineral e Vitamínico.

À FAPESP, pela bolsa de estudo concedida.

E à todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. Introdução.....	2
2. Crescimento.....	2
3. Isótopos Estáveis e <i>Turnover</i>	6
4. Justificativa e Objetivo.....	11
5. Referências Bibliográficas.....	12
CAPÍTULO 2.....	17
INCORPORAÇÃO DO CARBONO-13 NOS TECIDOS DE FRANGOS DE CORTE EM DIFERENTES FASES DE CRESCIMENTO.....	17
Resumo.....	18
Abstract.....	19
1. Introdução.....	20
2. Material e Métodos.....	22
3. Resultados e Discussão.....	29
4. Conclusões.....	37
5. Referências Bibliográficas.....	38
CAPÍTULO 3.....	41
INCORPORAÇÃO DO CARBONO-13 NOS TECIDOS DE FRANGOS DE CORTE A PARTIR DE 47 DIAS DE IDADE.....	41
Resumo.....	42
Abstract.....	43
1. Introdução.....	44
2. Material e Métodos.....	45
3. Resultados e Discussão.....	50
4. Conclusões.....	53
5. Referências Bibliográficas.....	54
CAPÍTULO 4.....	56
IMPLICAÇÕES.....	56
Implicações.....	57
APÊNDICE.....	58

Apêndice	59
Valores Isotópicos dos tecidos analisados.....	59

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 2	
Figura 1 – Curvas de diluição isotópica do carbono (média \pm desvio-padrão, n = 4) dos tecidos de frangos de corte dos tratamentos experimentais em função dos intervalos de avaliação.	30
CAPÍTULO 3	
Figura 1 - Modelo exponencial do <i>turnover</i> dos isótopos estáveis do carbono (média \pm desvio-padrão, n = 2) e valores de meias-vidas em dias do músculo peitoral, quilha, tibia e fígado.	51

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Esquema de controle de temperatura ambiente para frangos de corte durante o período experimental.	22
Tabela 2 – Distribuição dos tratamentos experimentais.	23
Tabela 3 – Composição percentual, níveis nutricionais calculados e valores isotópicos médios das dietas experimentais.	24
Tabela 4 – Equações exponenciais das diluições isotópicas em função do tempo, do músculo peitoral com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).	31
Tabela 5 – Equações exponenciais das diluições isotópicas em função do tempo, da quilha com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).	31
Tabela 6 – Equações exponenciais das diluições isotópicas em função do tempo, da tíbia com seus coeficientes de determinação (R^2).	32
Tabela 7 – Equações exponenciais das diluições isotópicas em função do tempo, do fígado com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).	32
Tabela 8 – Valores calculados de meias-vidas (dias) dos tecidos experimentais a partir do dia de substituição das dietas.	33
Tabela 9 – Fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta dos frangos de corte submetidos às dietas experimentais ($\Delta = \delta_{\text{tecido}} - \delta_{\text{dieta}}$).	33

CAPÍTULO 3

Tabela 1 – Composição percentual, níveis nutricionais calculados e valores isotópicos médios das dietas experimentais.	46
Tabela 2 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (média \pm desvio padrão), expressos em ‰, dos tecidos experimentais.	50
Tabela 3 – Equações exponenciais das diluições isotópicas do carbono-13 em função do tempo dos tecidos analisados com suas respectivas meias-vidas (dias), fatores de fracionamento (Δ) e coeficientes de determinação (R^2).	52

LISTA DE APÊNDICES

Página

Tabela 1 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T ₀₋₁₄	59
Tabela 2 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T ₇₋₂₁	59
Tabela 3 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T ₁₄₋₂₈	60
Tabela 4 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T ₂₁₋₃₅	60
Tabela 5 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T ₂₈₋₄₂	60
Tabela 6 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T ₃₅₋₄₉	61
Tabela 7 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T ₄₂₋₅₆	61

CAPÍTULO 1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

As exportações da carne de frango brasileira foram de 3,3 milhões de toneladas em 2007, confirmando o país como maior exportador mundial (UBA, 2008). O mercado importador tem se mostrado cada vez mais exigente em relação à rastreabilidade de subprodutos de origem animal na alimentação de frangos e, dessa forma, a técnica dos isótopos estáveis apresenta potencial aplicação prática para detecção destes subprodutos por meio da análise dos tecidos da ave (Oliveira, 2005; Carrijo et al., 2006; Gottmann, 2007).

Entretanto, para o desenvolvimento dessa linha de pesquisa, Oliveira (2005) evidenciou a necessidade de realização de estudos que contribuam para o conhecimento da assimilação isotópica do carbono em diferentes tecidos em outras fases de criação das aves (*turnover*).

No processo de rastreabilidade busca-se um tecido que possa refletir a dieta antiga com a finalidade de poder detectar a inclusão de farinhas de origem animal, mesmo que estas sejam dadas apenas nas fases iniciais da vida do pintainho; para isto, necessita-se encontrar um tecido de metabolismo lento que conserve o sinal isotópico por mais tempo. Além disso, busca-se também um tecido que substitua rapidamente os seus carbonos, de forma que possa indicar a mudança da alimentação apenas na fase final da produção dos frangos de corte.

2. Crescimento

Nas aves a taxa de crescimento diário é acelerada até por volta do 35º dia de vida, depois ocorre crescimento linear durante a puberdade, e essa taxa começa a declinar gradualmente a partir do 45º dia, chegando a zero quando o animal atinge o peso corporal adulto (Lawrence & Fowler, 2002).

Historicamente, a avaliação do crescimento muscular em espécies animais voltadas para produção de carne têm envolvido dissecação completa de carcaças ou partes delas, técnicas de diluição, procedimentos de imagens (raio-X, ultrassonografia, ressonância magnética por imagens, etc.) ou medições de gravidade específica. Nas décadas passadas, a capacidade do músculo esquelético em sintetizar proteínas tem sido determinada por medidas da proteína do músculo esquelético ou ácidos nucleicos (DNA e RNA) e então usando estes valores para calcular suas razões. Enquanto estas razões fornecem alguma indicação do potencial de crescimento muscular, não medem

diretamente a síntese ou a degradação protéica. Recentemente, medidas de síntese ou degradação protéica vem sendo utilizadas em animais de produção para estimar o *turnover* protéico. Estas estimativas têm sido feitas quer em proteínas do corpo todo ou em proteínas do músculo esquelético (Bergen & Merkel, 1991).

O tecido ósseo desmineralizado, órgãos e músculos são constituídos principalmente por proteínas, sendo assim, o crescimento das aves pode ser caracterizado principalmente pelo aumento no conteúdo corporal de proteína. Durante o crescimento, os músculos necessitam de aporte relativamente alto em aminoácidos, principalmente os essenciais, importantes reguladores do crescimento, atuando diretamente na síntese e degradação protéica (Millward & Rivers, 1988).

Entretanto, para que ocorra o desenvolvimento muscular, é necessário a existência do suporte que são os ossos, por isso o desenvolvimento ósseo ocorre anteriormente ao desenvolvimento do tecido muscular que, por sua vez, é anterior ao do tecido adiposo. São fenômenos perfeitamente coordenados, distinguindo-se por maior ou menor taxa específica de crescimento (própria do tecido) em determinado momento (Gonzales & Sartori, 2002).

No início do crescimento, a taxa de anabolismo é maior que a taxa de catabolismo e o tecido cresce. Com o passar do tempo, a diferença entre esses processos diminui até se tornar nulo e o tecido pára de crescer. Porém altas taxas de anabolismo ou deposição protéica induzida por seleção genética, estimulação hormonal ou nutricional estão associados com a diminuição na degradação protéica (Millward et al., 1982)

O efeito observado de diferentes taxas de crescimento entre os tecidos é o resultado da mudança nas propriedades básicas do metabolismo de cada um deles. Em condições normais, a chegada da maturidade corporal causa redução na taxa de síntese e aumento na taxa de degradação das proteínas, reduzindo a deposição de proteína corporal, e conseqüentemente diminuindo a taxa de crescimento (Cyrino, 1995).

Como a substituição do carbono tecidual nos animais em crescimento está intimamente associada às taxas de síntese e degradação protéica e de outros compostos de carbono, pode ser utilizada a metodologia envolvendo a variação natural do $\delta^{13}\text{C}$ tecidual ou corporal para avaliar a qualidade da dieta e a eficiência com que é utilizada pelos animais (Oliveira, 2005). Essa metodologia pode ser considerada apropriada por avaliar a substituição do carbono e/ou nitrogênio tecidual durante períodos prolongados (vários dias e/ou alguns meses), fornecendo

diretamente a taxa de *turnover*, em vez de taxas de síntese e degradação separadamente (Zuanon, 2003).

Segundo Zuanon (2003) existem dois tecidos de grande importância para as funções fisiológicas do corpo: o fígado e o tecido muscular, os quais se comportam de maneiras diferentes. O fígado é principalmente um órgão homeostático, redistribuindo os metabólitos para os demais tecidos corporais. Os músculos apresentam principalmente função mecânica, mas também são importantes ao crescimento, atuando como fonte de aminoácidos para outros tecidos. Os músculos tendem a reagir mais lentamente que o fígado, em termos metabólicos, basicamente em função das diferenças na necessidade de adaptação às mudanças na composição da dieta (Peragón et al., 2001; Cruz, 2002).

Outros tecidos também importantes fisiologicamente, como os ossos e cartilagem, porém menos ativos metabolicamente, apresentam troca do carbono tecidual mais lenta. O tecido ósseo é formado por células e matriz óssea, sendo esta composta por aproximadamente 70% de substâncias inorgânicas, 22% de substâncias orgânicas (proteínas) e 8% de água. Dentre as inorgânicas, a mais abundante é o fosfato e o cálcio na forma de hidroxapatita. Dentre as orgânicas, praticamente 95% correspondem às fibras colágenas tipo I, sendo o restante formado por proteoglicanas e outras proteínas do tipo não colágeno. As substâncias inorgânicas conferem rigidez ao osso, enquanto as fibras colágenas dão-lhe certa flexibilidade (Penz Júnior, 2002).

O osso apresenta função de sustentação, proteção aos órgãos e metabolismo mineral, portanto é um tecido metabolicamente ativo e multifuncional, sendo constantemente formado, removido (reabsorvido) e sintetizado ao longo da vida por processo de *turnover*. Durante o crescimento o *turnover* dos ossos permite que eles sejam remodelados de acordo com os requerimentos de diferentes estágios de desenvolvimento pela substituição periódica do tecido (Spencer, 1989).

No osso jovem, o processo de modelação e reabsorção o faz aumentar em tamanho e diâmetro, já no osso velho, esses processos acontecem internamente sem alteração significativa na sua forma (Penz Júnior, 2002).

De acordo com Kierszbaum (2004) a quilha é cartilagem formada por fibras protéicas (colágeno) e proteoglicanos (*proteo* = proteína; *glicano* = polissacarídeo), não apresentam nervos, vasos sanguíneos e linfáticos. De modo geral, a cartilagem é tecido elástico e flexível, branco ou acinzentado, aderente às superfícies articulares dos ossos com finalidade de diminuir o atrito. Serve para dar forma e sustentação a algumas partes do corpo, porém com menor rigidez que os ossos.

A maior parte do crescimento do tecido cartilaginoso durante a vida pós-natal ocorre por aposição de novas células a partir da camada mais profunda do pericôndrio (camada condrogênica). Nas primeiras fases da vida da cartilagem pode ocorrer a divisão de células que se encontram na parte central da cartilagem. Este tipo de crescimento é conhecido como crescimento intersticial (Kierszembraum, 2004).

Segundo Guyton & Hall (2006), o fígado é um grande agrupamento celular quimicamente reativo, que possui elevada taxa metabólica, compartilha substratos e energia com um e outro sistema metabólico, processa e sintetiza múltiplas substâncias que são transportadas para outras áreas do corpo e realiza ampla quantidade de funções metabólicas.

O corpo animal não pode ficar mais que alguns dias sem a contribuição hepática ao metabolismo protéico, sem que lhe sobrevenha a morte. As funções hepáticas mais importantes no metabolismo protéico são: desaminação dos aminoácidos; formação de uréia para remoção da amônia dos líquidos corporais; formação das proteínas plasmáticas; interconversões entre os diversos aminoácidos e síntese de outros compostos a partir deles. (Guyton & Hall, 2006).

A alta taxa metabólica do fígado resulta em elevado *turnover* celular, como pode ser visto na regeneração hepática após hepatectomia parcial, onde, devido a alta capacidade proliferativa dos hepatócitos, tem capacidade de se regenerar por completo. O mesmo não ocorre para o tecido muscular esquelético, pois, uma vez diferenciado tem potencial proliferativo limitado (Reeds, 1989).

3. Isótopos Estáveis e *Turnover*

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.

Há naturalmente a ocorrência de dois isótopos estáveis de carbono (^{12}C e ^{13}C), com abundâncias naturais de 98,89 e 1,11 átomos %, respectivamente (Kennedy & Krouse, 1990).

Em função desta grande diferença na abundância natural dos isótopos estáveis do carbono, a mensuração da relação entre eles na maioria das amostras gera valores muito pequenos. Para converter esta relação a uma magnitude manuseável, os valores do carbono-13 são expressos na terminologia dos isótopos estáveis em delta per mil da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}$) do produto, em relação a um padrão internacional definido, *Peedee Belemnite* (PDB). Segundo Friedman & O'Neill (1977), o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono. Trata-se do fóssil carbonatado sólido da era *cretáceos*, denominado *Belemnitela americana*, da formação *PeeDee* da Carolina do Sul, Estados Unidos, o qual foi empregado inicialmente como padrão por Craig (1957).

A medida da relação entre isótopos estáveis é realizada por espectrometria de massas, que detecta a concentração dos diferentes isótopos do elemento. O enriquecimento isotópico relativo é obtido pela expressão (1):

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

A simbologia da expressão (1) indica que (*i*) refere-se ao isótopo pesado do elemento químico em consideração; (R) refere-se a razão entre o isótopo pesado e o leve, tanto para a amostra quanto para seu padrão internacional. A terminologia δ reflete o enriquecimento relativo da razão isotópica da amostra, comparativamente a

razão isotópica do padrão internacional, e é utilizada na análise de mensuração das variações isotópicas naturais.

A fonte primária do carbono para as plantas terrestres é o gás carbônico atmosférico, o qual possui valor de $\delta^{13}\text{C}$ de aproximadamente $-7,7\text{‰}$ (Kennedy & Krouse, 1990). De acordo com seu ciclo fotossintético, as plantas podem ser classificadas, na sua maioria, em dois grupos principais: plantas C_3 e C_4 , onde o primeiro composto orgânico a ser sintetizado é um ácido carboxílico, com três e quatro átomos de carbono, respectivamente.

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).

Essa diferença natural na razão isotópica de carbono entre espécies de plantas torna possível utilizá-las como traçadores em animais, 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 et al., 1983; Tyrrell et al., 1984; Boutton et al., 1988; Metges et al., 1990).

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 tornou-se a base da maioria dos pressupostos dos experimentos que utilizam os isótopos estáveis do carbono.

Estas investigações têm demonstrado que 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, 2002; Carrijo, 2003), codornas de corte (Móri et al., 2007), peixes (Zuanon, 2003), ovinos (Silva, 2003) e outras espécies animais.

Gannes et al. (1998), afirmam que dietas com assinaturas isotópicas distintas podem ser utilizadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de

animais. Após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica no tecido ou corpo depende da velocidade que os constituintes da nova dieta serão incorporados. Tecidos com rápido *turnover* refletirão dietas mais recentes, enquanto aqueles com taxas de *turnover* mais lentas refletirão dietas de períodos anteriores. De modo geral, os tecidos mais ativos metabolicamente (fígado, pâncreas e tecido adiposo) apresentam taxas de *turnover* mais rápidas que os menos ativos, como o colágeno dos ossos (Hobson & Clark, 1992a), embora as escalas de tempo associadas a tais alterações não estejam esclarecidas (Frazer et al., 1997).

Ducatti et al. (2002), fundamentados em resultados da literatura, propuseram um modelo teórico capaz de exprimir os resultados do enriquecimento relativo de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em função do tempo de alimentação, fornecendo dietas contrastantes em $\delta^{13}\text{C}$ (formuladas com grãos de plantas dos ciclos fotossintéticos C_3 e C_4) a animais adultos. Partindo do pressuposto que o metabolismo de determinado tecido animal depende da taxa de entrada de compostos pré-existentes, os autores chegaram à equação 2 :

$$\delta^{13}\text{C}(t) = \delta^{13}\text{C}(f) + [\delta^{13}\text{C}(i) - \delta^{13}\text{C}(f)]e^{-kt} \quad (2),$$

Onde a simbologia empregada significa:

$\delta^{13}\text{C}(t)$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t). Adimensional.

$\delta^{13}\text{C}(f)$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final. Adimensional.

$\delta^{13}\text{C}(i)$ = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial. Adimensional.

k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹.

t = tempo (em dias) desde a substituição da ração.

O modelo é adequado para determinar o tempo de substituição total ou parcial (meia-vida) de carbono nos tecidos em estudos com aves e animais de pequeno porte.

Hobson & Clark (1992a) estabeleceram *turnover* do carbono e curvas de substituição isotópica em tecido de codornas japonesas adultas pela mudança de dietas com assinaturas contrastantes. Os autores verificaram valores de meia-vida de 2,6; 11,4; 12,4 e 173,3 dias para o fígado, sangue, músculo e colágeno ósseo, respectivamente. Os resultados demonstram que o *turnover* do carbono dietético variou amplamente entre os tecidos analisados. Estes dados estão de acordo com os achados por Tieszen et al. (1983), os quais encontraram valores de meia-vida de 6,4

dias para o fígado; 15,6 dias para a gordura; 27,6 dias para o músculo; 47,5 dias para o pêlo e 28,2 dias para o cérebro de gerbis adultos em experimento similar utilizando troca de dieta.

DeNiro e Epstein (1978) recomendaram a utilização, se possível, do carbono de todo o animal para estimar o $\delta^{13}\text{C}$ da dieta, pois nenhum tecido isolado é ideal para determinar a relação entre a composição isotópica do animal e sua dieta (fracionamento tecidual). Entretanto, Tieszen et al. (1983) encontraram uma variação inferior a 1‰ de fracionamento tecido – dieta para o fígado, músculo e tecido de cérebro de gerbis e afirmaram que estes tecidos podem ser indicadores adequados da composição isotópica da dieta.

Segundo Zuanon (2003), o *turnover* depende, dentre outros fatores (ambientais, nutricionais e sanitários), do crescimento animal sendo que esta estimativa apresenta valores distintos para um mesmo tecido, em diferentes fases da vida do animal, pois a taxa de crescimento varia de acordo com a idade.

A maioria dos estudos para determinação de taxas de *turnover* isotópico têm utilizado animais adultos, provavelmente a fim de evitar erros de interpretações causadas pelo fator crescimento. Zuanon et al. (2006), avaliando o *turnover* do carbono muscular de Tilápias do Nilo em crescimento, verificaram que o modelo matemático proposto por Ducatti et al. (2002) também se mostra adequado para animais em crescimento e concluíram que, neste caso, o acréscimo de massa tecidual é o principal fator na velocidade de diluição isotópica do carbono tecidual (*turnover* isotópico) em relação ao *turnover* metabólico, além disso, sugerem que uma boa maneira para avaliar a atividade metabólica tecidual pode ser por comparação dos valores de meia-vida do carbono entre diferentes tecidos da mesma espécie ou o mesmo tecido entre diferentes espécies.

Fry & Arnold (1982) verificaram que o *turnover* do carbono em camarões (*Penaeus aztecus*), foi acelerado durante o crescimento, sendo primeiramente em função do ganho de peso enquanto que o *turnover* em animais adultos foi em função apenas do tempo. O mesmo foi observado por Hesslein et al. (1993) para o *turnover* do carbono, nitrogênio e enxofre em peixes (*Coregonus nasus*).

De acordo com Reeds (1989), a idade do indivíduo primariamente afeta a porção de *turnover* protéico diretamente relacionado ao crescimento. Embora diferentes tecidos crescem a taxas muito semelhantes, existem diferenças inerentes na taxa da síntese e degradação protéica entre tecidos. Estas diferenças relacionam-se primariamente com o número de ribossomos (geralmente inferido pela concentração

de RNA) por “célula”. Em um indivíduo bem nutrido, a quantidade de proteína sintetizada por unidade de RNA é notavelmente constante (Millward et al., 1975; Lewis et al., 1984). Assim, as contribuições dos diferentes tecidos ao *turnover* protéico total corporal diferem daquelas contribuições da massa protéica corpórea e em certa medida, suas relativas contribuições variam com a idade (Goldspink & Kelly, 1984; Lewis et al., 1984).

A literatura se apresenta escassa com relação aos trabalhos que avaliam o *turnover* em frangos de corte, durante o período de criação comercial, ou seja, em torno de 42 dias (Leterrier et al., 1998). Entretanto, Oliveira (2005) encontrou valores de meia-vida semelhantes (2,2; 1,9 e 2,3 dias para músculo peitoral, quilha e tíbia, respectivamente, quando de frangos de corte receberam dieta vegetal e 2,1; 2,0 e 2,1 dias para músculo peitoral, quilha e tíbia, respectivamente, quando receberam dieta contendo farinha de vísceras) na fase inicial de criação, sugerindo a interferência do fator crescimento nas taxas de *turnover* do carbono tecidual.

4. Justificativa e Objetivo

O conhecimento do tempo de substituição do carbono nos tecidos em função das diferenças fisiológicas durante todas as fases de crescimento dos frangos de corte é de extrema importância, pois, no processo de rastreabilidade de subprodutos de origem animal, tecidos de metabolismo lento podem evidenciar mudanças na dieta fase inicial, no entanto, tecidos de metabolismo rápido podem indicar troca de dieta na fase final de produção de frangos de corte.

O Capítulo 2, denominado **“Incorporação do Carbono-13 em Tecidos de Frangos de Corte em Diferentes Fases de Crescimento”** 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 determinar o *turnover* do carbono-13 pela substituição de dieta composta predominantemente de grãos do ciclo fotossintético C₄ por dieta composta exclusivamente de grãos do ciclo fotossintético C₃, no músculo *Pectoralis major*, fígado, quilha e tíbia de frangos de corte em diferentes períodos de crescimento, utilizando a técnica de isótopos estáveis.

O Capítulo 3, denominado **“Incorporação do Carbono-13 em Tecidos de Frangos de Corte a partir de 47 dias de idade”** 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 objetivo deste trabalho foi realizar o estudo de *turnover* do carbono-13 no músculo *Pectoralis major*, fígado, quilha e tíbia de frangos de corte a partir de 47 dias de idade, utilizando a técnica de isótopos estáveis.

5. Referências Bibliográficas

- BERGEN, W.G.; MERKEL, R.A. Protein Accretion. In: PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. **Growth regulation in farm animals**, cap.7, p.169-170, 1991.
- 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.
- CARRIJO, A.S. **Técnica dos isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) em frangos de corte**. 2003. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.
- 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**, v.2, p.209-218, 2000.
- 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.
- CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.12, p.133-149, 1957.
- CRUZ, V.C. **Livre escolha de alimentos dos ciclos fotossintéticos C_3 e C_4 , fracionamento e turnover dos isótopos estáveis do carbono em tecidos de frangos de corte**. 2002. 65 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.
- CYRINO, J.E.P. Regulação nutricional do crescimento. In: **Simpósio Internacional sobre Nutrição de Peixes e Crustáceos**, p.69-90, 1995.
- DENADAI, J.C.; DUCATTI, C.; PEZZATO, A.C.; CARRIJO, A.S.; CALDARA, F.R.; OLIVEIRA, R.P. Studies on carbon-13 turnover in eggs and blood of commercial layers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.8, p.251-256, 2006.

- DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**; v.42, p.495-506, 1978.
- DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. You are what you eat (plus a few ‰) the carbon isotope cycle in food chains. **Geological Society of America**, v.6, p.834, 1976.
- DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. 2004 [Apostila]. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p.184, 2004.
- DUCATTI, C.; CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; MANCERA, P.F.A. Modelo teórico e experimental do reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agrícola**, v.59, n.1, p.29-33, 2002.
- FRAZER, T.K.; ROSS, R.M.; QUETIN, L.B.; MONTOYA, J.P. Turnover of carbon and nitrogen during growth of larval krill, *Euphausia superba* Dana: a stable isotope approach. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.212, p.259-275, 1997.
- FRY, B.; ARNOLD, C. Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). **Oecologia**, v.54, p.200-204, 1982.
- 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**, v.119A, n.3, p.725-737, 1998.
- GOLDSPINK, D.F.; KELLY, F.J. Protein turnover and growth in the whole-body, liver and kidney of the rat from the foetus to senility. **The Biochemical Journal**. v.217, p.507-516, 1984.
- GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e metabolismo muscular. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**, cap.21, p.279-297, 2002.
- GOTTMANN, R. **Influência da composição das rações na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis em frangos de corte**. 2007. 39 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**, cap.70, p.861-862, 2006.

- HESSLEIN, R.H.; HALLARD, K.A.; RAMLAL, P. Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by $\delta^{43}\text{S}$, $\delta^{13}\text{C}$, and $\delta^{15}\text{N}$. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v.50, p.2071-2076, 1993.
- HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of ^{13}C in tissues. **The Condor**, 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**, v.94, p.189-197, 1992b.
- JONES, R.; LUDLOW, M.; TROUGHTON, J. Estimation of the proportion of C_3 and C_4 plant species in diet of animals from the ratio of natural ^{12}C and ^{13}C isotopes in the faeces. **Journal of Agricultural Science**, v.92, p.91-100, 1979.
- 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.
- KIERSZEMBAUM, A.L. **Histologia e Biologia Celular: Uma Introdução à Patologia**, cap.4, p.122-128, 2004.
- LAWRENCE, T.L.J.; FOWLER, V.R. Growth and Puberty in Breeding Animals. In: LAWRENCE, T.L.J.; FOWLER, V.R. **Growth of Farm Animals - Second Edition**, v.13, p.271, 2002.
- LETERRIER, C.; ROSE N.; CONSTANTIN, P.; NYS, Y. Reducing growth rate of broiler chickens with a low energy diet does not improve cortical bone quality. **British Poultry Science**, v.39, p.24-30, 1998.
- LEWIS, S.E.M.; KELLY, F.J.; GOLDSPINK, D.F. Pre- and post-natal growth and protein turnover in smooth muscle, heart and slow- and faster-twitch skeletal muscles of the rat. **The Biochemical Journal**, v.217 (2), p.517-526, 1984.
- 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 ^{13}C value of food in dairy cows. **British Journal of Nutrition**, v.63, p.187-196, 1990.

- MILLWARD, D.J.; RIVERS, P.W. The nutritional role of indispensable amino acids and the metabolic basis for their requirements. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.42, p.367-393, 1988.
- MILLWARD, D.J.; GARLICK, P.J.; STEWART, R.J.C.; NNANYELUGO, D.O.; WATERLOW, J.C. Skeletal muscle growth and protein turnover. **The Biochemical Journal**, p.235-243, 1975.
- MILLWARD, D.J.; DAVIES, C.T.; HALLIDAY, D.; WOLMAN, S.L.; MATTHEWS, D.; RENNIE, M. Effect of exercise on protein metabolism in humans as explored with stable isotopes. **Fed. Proc.**, v.41, n.10, p.2686-2691, 1982.
- MINSON, D.J.; LUDLOW, M.M. Differences in natural carbon isotope ratios of milk and hair from cattle grazing tropical and temperate pastures. **Nature**, v.256, p.602, 1975.
- MÓRI, C. GARCIA E.A.; DUCATTI C.; DENADAI J.C.; PELÍCIA K.; GOTTMANN R.; MITUO M.A.O; BORDINHON A.M. 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. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.9, n.4, p.263-269, 2007.
- 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.
- O'LEARY, M.H. Carbon isotope fractionation in plants. **Phytochemistry**, v.20, n.4, p.553-567, 1981.
- PENZ JÚNIOR, A.M. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**, cap.19, p.247-265, 2002.
- PERAGÓN, J.; BARROSO, J.B.; GARCÍA-SALGUERO, L.; HIGUERA, M.; LUPIÁÑEZ, J.A. Growth, protein-turnover and nucleic-acid concentrations in the white muscle of rainbow trout during development. **The International Journal of Biochemistry e Cell Biology**, v.33, p.1227-1238, 2001.
- REEDS, P.J. Regulation of Protein Turnover. In: CAMPION, D.R.; HAUSMANN, G.J.; MARTIN, R.J. **Animal growth regulation**, cap.9, p.183-184, 1989.

- 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.
- SPENCER, E.M. Endocrinology of Bone Formation. In: CAMPION, D.R.; HAUSMANN, G.J.; MARTIN, R.J. **Animal growth regulation**, cap.2, p.21-22, 1989.
- TIESZEN, L.L.; BOUTTON, T.W.; TESDAHL, K.G.; SLADE, N.A. 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.
- TYRRELL, H.F.; PELLETIER, G.; CHEVALIER, R.; HILLAIRE-MARCELL, C.; GAGNON, M. Use of carbon-13 as tracer in metabolism studies. **Canadian Journal of Animal Science**, p.127-129, 1984.
- UBA. União Brasileira de Avicultura. **Exportações de carne de frango (em toneladas)**. Disponível em: <http://www.uba.org.br>. Acessado em: 21 de fevereiro de 2008.
- 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**, p.29-46, 1993.
- ZUANON, J.A.S. **Turnover de carbono em tecido muscular de alevinos de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*, cichlidae)**. 2003. 65 f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) – Centro de Aqüicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- ZUANON, J.A.S.; PEZZATO, A.C.; PEZZATO, L.E.; PASSOS, J.R.S.; BARROS, M.M.; DUCATTI, C. Muscle $\delta^{13}\text{C}$ change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effects of growth and carbon turnover. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v.145, p.1001-107, 2006.

CAPÍTULO 2
INCORPORAÇÃO DO CARBONO-13 NOS TECIDOS DE FRANGOS DE CORTE EM
DIFERENTES FASES DE CRESCIMENTO

Incorporação do Carbono-13 nos Tecidos de Frangos de Corte em Diferentes Fases de Crescimento

Resumo

Este trabalho objetivou determinar o *turnover* do carbono-13 no *Pectoralis major*, quilha, tibia e fígado de frangos de corte em diferentes períodos de crescimento, utilizando a técnica de isótopos estáveis. Foram utilizados 184 pintos de corte, machos, *Cobb*, distribuídos ao acaso em sete tratamentos com dias de substituição das dietas distintos: 0; 7; 14; 21; 28; 35; 42 dias de idade, denominados: T_{0-14} , T_{7-21} , T_{14-28} , T_{21-35} , T_{28-42} , T_{35-49} e T_{42-56} respectivamente. Para mensurar o *turnover* do carbono-13 (diluição isotópica) nos tecidos em determinado intervalo de tempo, foram utilizados o modelo sigmoidal de regressão de Boltzmann ou função exponencial do tempo. Os valores de meias-vidas foram: 2,5; 2,8; 2,9; 4,9; 5,1; 5,5 e 6,0 dias para músculo peitoral; 2,7; 2,9; 3,1; 4,6; 5,3; 4,1 e 8,0 dias para quilha; 4,4; 3,6; 5,4; 5,8; 4,3; 5,2 e 6,3 dias para tibia e 1,3; 1,9; 1,4; 1,5; 1,9; 1,7 e 2,1 dias para fígado, nos tratamentos T_{0-14} , T_{7-21} , T_{14-28} , T_{21-35} , T_{28-42} , T_{35-49} e T_{42-56} respectivamente. Dessa forma, a meia-vida dos tecidos estudados, em geral, aumentou de acordo com o avanço da idade de avaliação. Dentre os tecidos estudados, a tibia apresentou maiores valores de meia-vida, indicando lenta incorporação do carbono-13 e o fígado, os menores, sugerindo rápida incorporação. De acordo com os resultados deste estudo, pode-se concluir que a tibia apresenta *turnover* e metabolismo lento indicando o sinal isotópico das dietas iniciais da criação dos frangos de corte; e o fígado, *turnover* e metabolismo rápido, indicado para refletir a dieta próxima da fase de avaliação.

Palavras-chave: diluição isotópica, isótopos estáveis, metabolismo, rastreabilidade, *turnover*

Carbon-13 Incorporation in Poultry Tissues at Different Growth Stages

Abstract

This study aimed to evaluate carbon-13 turnover on *Pectoralis major*, keel, tibia and liver of poultry at different life stages using the carbon stable isotopes technique. In this trial, 216 male chick lings (Cobb) were allocated in 36 galvanized iron cages with gutter-like feeders and nipple-like water dispensers. The trial was conducted in a totally random distribution consisting on seven treatments with distinct days for diet substitution (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 days old). Either Boltzmann sigmoid regression or the exponential time function was used in order to measure the carbon-13 turnover (isotopic dilution) in a specific period of time. The values of half-life was: 2.5, 2.8, 2.9, 4.9, 5.1, 5.5 and 6.0 days for muscle tissue, 2.7, 2.9, 3.1, 4.6, 5.3, 4.1 and 8.0 days for keel, 4.4, 3.6, 5.4, 5.8, 4.3, 5.2 and 6.3 days for tibia; and 1.3, 1.9, 1.4, 1.5, 1.9, 1.7 and 2.1 days for liver, on T1, T2, T3, T4, T5, T6 and T7 treatments, respectively. Generally, the half-life of the studied tissues increased along with the increase on the evaluated ages. The half-life of tibia was higher than the other tissues, indicating the slow carbon-13 incorporation. The half-life of liver presented the smallest value indicating fast incorporation of carbon-13. According to the results of this study, it is possible to conclude that tibia has slow metabolism and it may indicate the isotopic signature of initial broiler diets, and the liver, fast metabolism tissue, is appropriated to reflect the diets fed at a closer evaluation period.

Key words: isotopic dilution, stable isotope, metabolism, traceability, turnover

1. Introdução

Os constituintes corporais encontram-se em estado dinâmico, sendo continuamente formados e utilizados para diferentes propósitos. Esse processo é geralmente chamado de *turnover*. Todas as substâncias do corpo sejam elas metabólitos orgânicos ou inorgânicos, estão sujeitas ao *turnover* (Hetenyi *et al.*, 1983). As taxas de *turnover* podem variar entre as diferentes espécies, tecidos, frações bioquímicas e são influenciadas pelo estado fisiológico do animal (Kennedy & Krouse, 1990). Dessa forma, a taxa de incorporação do carbono da dieta pode sofrer influência do crescimento em animais jovens.

Segundo Gannes *et al.* (1998), dietas com assinaturas isotópicas distintas podem ser utilizadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais. Após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica no tecido ou corpo depende da velocidade que os constituintes da nova dieta serão incorporados. A escolha do tecido para estudo é importante, pois tecidos que são mais ativos metabolicamente no organismo apresentarão taxas de *turnover* mais rápidas, como o fígado, músculo e sangue, e os tecidos menos ativos apresentarão menores taxas, como o colágeno e o osso (Hobson & Clark, 1992).

Durante o crescimento ocorre renovação do tecido por meio de sua síntese e degradação. Neste período ocorre também a hipertrofia e hiperplasia tecidual, as quais podem influenciar sua taxa de renovação, dependendo da fase em que o animal se encontra, por exemplo, no animal jovem ocorre interferência destas, já no animal adulto, não. Dessa forma, o fenômeno de *turnover* acelerado e a incorporação de carbono estão relacionados com o rápido crescimento das aves, porém o aumento do tamanho corporal está relacionado com a diluição do sinal isotópico e menor taxa de *turnover* do carbono tecidual.

Existem dois tecidos de extrema importância para as funções fisiológicas do corpo: o fígado e o tecido muscular, os quais se comportam de diferentes maneiras. O fígado é principalmente um órgão homeostático, redistribuindo os metabólitos para os outros tecidos corporais. Os músculos apresentam principalmente função mecânica, mas também são muito importantes no crescimento, atuando como fonte de aminoácidos para outros tecidos. Os músculos tendem a reagir mais lentamente que o fígado em termos metabólicos, basicamente em função das diferenças na necessidade de adaptação às mudanças na composição da dieta (Peragón *et al.*, 2001).

A maioria dos estudos de *turnover* utilizando as variações naturais do $\delta^{13}\text{C}$ dos alimentos apresenta questões ecológicas, enfocando a velocidade de troca do carbono tecidual a partir da ingestão de alimentos com razões isotópicas distintas, em função de migrações ou mudanças de níveis tróficos. Entretanto, a técnica de isótopos estáveis pode ser útil em estudos de fisiologia e nutrição animal, uma vez que as taxas de substituição do carbono tecidual podem ser influenciadas por fatores ambientais, nutricionais e sanitários (Carrijo *et al.*, 2000).

Zuanon *et al.* (2006) avaliando o *turnover* do carbono muscular de Tilápias do Nilo em crescimento, verificou que o modelo matemático proposto por Ducatti *et al.* (2002) para avaliar substituição do carbono tecidual em animais adultos, mostrou-se adequado para animais em crescimento, uma vez que a constante de diluição isotópica de carbono obtida, integra o efeito da adição de novo tecido (crescimento) e do *turnover* metabólico. De acordo com este autor, o acréscimo de massa tecidual decorrente do crescimento é o principal fator na determinação da velocidade de diluição isotópica do carbono tecidual, em relação ao *turnover* metabólico, em animais jovens.

A técnica dos isótopos estáveis apresenta potencial de aplicação prática para a rastreabilidade de subprodutos de origem animal na alimentação de frangos de corte por meio da análise de seus tecidos (Oliveira, 2005; Carrijo *et al.*, 2006; Gottmann, 2007); entretanto, para o desenvolvimento dessa linha de pesquisa, há a necessidade de realização de estudos que contribuam para o conhecimento da assimilação isotópica da matéria orgânica nos tecidos das aves (*turnover*).

Dessa forma, este trabalho objetivou avaliar o *turnover* do carbono-13 pela substituição de dieta composta predominantemente de grãos do ciclo fotossintético C_4 por dieta composta exclusivamente de grãos do ciclo fotossintético C_3 , no músculo *Pectoralis major*, quilha, tíbia e fígado de frangos de corte em diferentes períodos de crescimento, utilizando a técnica de isótopos estáveis.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado na UNESP – Campus de Botucatu, na Câmara Climatizada do Laboratório de Nutrição de Aves da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, com duração de 56 dias.

Foram utilizados 184 pintainhos de corte machos, da linhagem *Cobb*, com 1 dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro, Marek, Bouda Aviária e Coccidiose. As aves foram alojadas em 36 gaiolas de arame galvanizado medindo 0,50 m de altura, 0,50 m de largura e 0,60 m de profundidade, dispostas em fileiras, equipadas com comedouros individuais tipo calha e bebedouros tipo *nipple*, sendo que água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental. O programa de luz foi constante, com o fornecimento de 24 horas de luz durante todo o período de criação.

Temperatura e ventilação foram mantidas na zona de conforto térmico (temperatura termoneutra) durante todo o período de criação, conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Esquema de controle de temperatura ambiente para frangos de corte durante o período experimental.

Idade (dias)	Temperatura da Câmara Climatizada (°C)
1 a 4	35
5 a 7	32
7 a 14	30
15 a 16	28
17 a 21	26
22 a 42	24
43 a 56	22

Adaptado de Sartori (2000).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos com dias de substituição das dietas distintos (0; 7; 14; 21; 28; 35; 42 dias de idade). Os tratamentos experimentais estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Distribuição dos tratamentos experimentais.

Tratamentos	Dia de substituição das dietas	Intervalo de avaliação (dias)	Dia de coleta das amostras (abate)
T ₀₋₁₄	0	0 a 14	0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 5; 8; 11; 14*
T ₇₋₂₁	7	7 a 21	7; 8; 9; 12; 16; 21
T ₁₄₋₂₈	14	14 a 28	14; 15; 16; 19; 23; 28
T ₂₁₋₃₅	21	21 a 35	21; 22; 23; 26; 30; 35
T ₂₈₋₄₂	28	28 a 42	28; 29; 30; 33; 37; 42
T ₃₅₋₄₉	35	35 a 49	35; 36; 37; 40; 44; 49
T ₄₂₋₅₆	42	42 a 56	42; 43; 44; 47; 51; 56

*Dia 0 = considerado o momento de alojamento dos pintos de corte; dia 0,5 = considerado 12 horas de alojamento; dia 1 = considerado 24 horas de alojamento; dia 1,5 = considerado 36 horas de alojamento.

Os pintainhos foram obtidos de matrizes que receberam dietas compostas predominantemente por grãos de plantas do ciclo fotossintético C₄, e ao nascerem, estes possuíam em seus tecidos corporais sinais isotópicos de carbono-13 semelhantes a estas dietas. A fim de manter o sinal isotópico deste pintainho, até o início do período a ser avaliado, estes receberam dieta composta predominantemente de plantas C₄.

O tratamento T₀₋₁₄ recebeu exclusivamente dieta C₃ desde a chegada das aves. O tratamento T₇₋₂₁ teve sua dieta substituída no dia 7, o tratamento T₁₄₋₂₈ passou a receber dieta C₃ no dia 14, o tratamento T₂₁₋₃₅ teve sua dieta substituída no dia 21, no dia 28 houve a troca da dieta do tratamento T₂₈₋₄₂. No tratamento T₃₅₋₄₉ a mudança ocorreu no dia 35 e no tratamento T₄₂₋₅₆ a dieta foi substituída no 42º dia de experimento.

As exigências nutricionais das aves foram divididas em duas fases: inicial (1 – 21 dias) e crescimento (22 – 56 dias) e adaptadas das recomendações de Rostagno *et al.* (2005), de acordo com Tabela 3, a fim de diminuir a variação nos sinais isotópicos das dietas.

Tabela 3 – Composição percentual, níveis nutricionais calculados e valores isotópicos médios das dietas experimentais.

Ingredientes, %	Dietas Experimentais			
	Inicial C ₃	Crescimento C ₃	Inicial C ₄	Crescimento C ₄
Milho moído	-	2,00	57,61	59,44
Farelo de soja	35,68	28,42	36,21	28,51
Arroz, quirera	59,34	61,84	-	5,00
Óleo de soja	-	4,30	2,17	3,61
Calcário calcítico	0,80	0,69	0,88	0,77
Fosfato bicálcico	2,02	1,69	1,92	1,58
DL-Metionina	0,23	0,16	0,21	0,14
L-Lisina	0,21	0,15	0,25	0,20
Suplemento vitamínico e mineral	0,40 ¹	0,40 ²	0,40 ¹	0,40 ²
Sal comum	0,35	0,35	0,35	0,35
Caulim	0,97	-	-	-
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
EM, kcal/kg	2975	3150	2975	3150
PB, %	21,50	18,50	21,50	18,50
Ca, %	0,91	0,77	0,91	0,77
P disp., %	0,46	0,39	0,46	0,39
Metionina, %	0,58	0,47	0,54	0,43
Metionina + Cistina, %	0,88	0,73	0,88	0,73
Lisina, %	1,24	1,02	1,24	1,02
Valores isotópicos médios analisados³				
$\delta^{13}\text{C}$, ‰	-28,11 ± 0,01	-27,59 ± 0,06	-18,92 ± 0,10	-18,91 ± 0,07

¹Suplemento vitamínico e mineral da Nutron® para fase inicial por Kg de ração: Mn = 75mg; Zn = 70mg; Fe = 45mg; Cu = 8mg; I = 0,75mg; Se = 0,3mg; Vit. A = 6.720UI/kg; Vit. D3 = 1.600UI/kg; Vit. E = 14mg; Vit. K3 = 1,44mg; Vit. B1 = 1,75mg; Vit. B2 = 4,8mg; Vit. B6 = 2,496mg; Vit. B12 = 9,6mcg; Ác. Fólico = 0,8mg; Ác. Pantotênico = 12,48mg; Niacina = 33,6mg; Biotina = 0,04mg; Colina = 302,8mg; Coccidiostático = 100mg; Promotor de crescimento = 80mg.

²Suplemento vitamínico e mineral da Nutron® para fase de crescimento por Kg de ração: Mn = 75mg; Zn = 70mg; Fe = 45mg; Cu = 8mg; I = 0,75mg; Se = 0,3mg; Vit. A = 5.600UI/kg; Vit. D3 = 1.200UI/kg; Vit. E = 10mg; Vit. K3 = 1,2mg; Vit. B1 = 1,55mg; Vit. B2 = 4mg; Vit. B6 = 2,08mg; Vit. B12 = 8mcg; Ác. Fólico = 0,65mg; Ác. Pantotênico = 10,4mg; Niacina = 28mg; Colina = 261mg; Coccidiostático = 60mg; Promotor de crescimento = 80mg.

³Valores isotópicos médios expressos em $\delta^{13}\text{C}$ relativos ao padrão *PeeDee Belemnite* (PDB), (n = 2).

Para a coleta das amostras foram tomadas aleatoriamente quatro aves por tratamento, ao longo dos dias de avaliação (Tabela 2), e sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical. Considerando-se cada ave uma repetição, foram colhidas amostras de músculo peitoral, quilha, tíbia e fígado.

As amostras de músculo peitoral foram obtidas a partir do corte de uma fatia de aproximadamente 5 mm do terço médio longitudinal do *Pectoralis major* esquerdo. Para obtenção da amostra de quilha, foi retirado o prolongamento cartilaginoso do esterno e aparado a inserção com o osso por um corte transversal, formando um ângulo reto com a sua superfície dorsal. As amostras ósseas de tíbia foram obtidas a partir do terço médio longitudinal da tíbia esquerda, excluindo-se o conteúdo medular por meio de lavagem com água destilada. O fígado foi retirado totalmente.

Devidamente acondicionadas em sacos plásticos e identificadas, as amostras foram imediatamente congeladas a -20°C até a sua preparação para as análises isotópicas. As coletas foram concentradas nos primeiros dias, em cada tratamento, devido a maior velocidade na diluição isotópica do carbono no tecido durante essa fase (Hobson & Clark, 1992).

Para a realização das análises isotópicas dos tecidos, as amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada (Marconi – modelo MA 035I) a 56°C por um período de 48 horas. Todos os tecidos avaliados e as dietas experimentais foram moídas criogenicamente (moinho criogênico modelo Spex – 6750 freezer/mill), à -196°C . Neste moinho, aproximadamente 2,0 g de amostra foi colocada em frasco de polycarbonato juntamente com uma barra magnética, o qual, devidamente fechado, foi imerso em nitrogênio líquido. Pelo impacto entre a amostra e a barra magnética, submetida ao campo magnético oscilante (15 impactos/s), pulverizou-se a amostra. O programa utilizado na moagem das amostras compreendeu-se de uma primeira etapa de pré-congelamento de um minuto e uma segunda etapa de congelamento e pulverização de 3 minutos para os tecidos e 5 minutos para as dietas experimentais. Este procedimento permitiu obter partículas com granulometria menor que $60\ \mu\text{m}$ (Licatti, 1997; Rosa *et al.*, 2002; Ducatti, 2004).

Após a moagem, as amostras de fígado passaram por processo de extração da gordura em éter etílico, utilizando aparelho de Soxhlet, durante 4 horas, e novamente moídas para obter homogeneização.

As análises isotópicas foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, Campus de Botucatu. Para a determinação da composição isotópica das amostras foi utilizado o

espectrômetro de massas DELTA-S (Finnigan Mat) acoplado ao Analisador Elementar (EA 1108 CHN). Foram pesadas em cápsulas de estanho, aproximadamente 60 a 70; 50 a 70; 100 a 120; 50 a 70 e 60 a 70 μg das amostras de músculo peitoral, quilha, tibia, fígado e ração, respectivamente, em duplicata. Os resultados foram expressos em notação $\delta^{13}\text{C}$, em relação ao padrão *Peedee Belemnite* (PDB), com erro de análise da ordem de 0,2‰ e calculado pela equação 1:

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{amostra, padrão})} = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3 \quad (1)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}$ = enriquecimento da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação ao padrão PDB, em partes per mil (‰). Adimensional;

R = razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e do padrão. Adimensional.

Para mensurar o *turnover* isotópico do carbono (diluição isotópica) nos tecidos em um determinado intervalo de tempo, foi utilizado o modelo sigmoidal de regressão de Boltzmann segundo equação 2 ou a função exponencial do tempo expressa pela equação 3, atribuindo-se terminologia isotópica (Ducatti *et al.*, 2002), do software Origin[®] 6.0 Professional (Microcal Software, 1999):

$$\delta^{13}\text{C}(t) = \delta^{13}\text{C}(f) + \frac{\delta^{13}\text{C}(i) - \delta^{13}\text{C}(f)}{1 + e^{-\frac{(t-\chi_0)}{dx}}} \quad (2)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}(i)$ = enriquecimento relativo inicial no tecido. Adimensional;

$\delta^{13}\text{C}(f)$ = enriquecimento relativo final no tecido. Adimensional;

$\delta^{13}\text{C}(t)$ = enriquecimento relativo no tecido em qualquer tempo. Adimensional;

χ_0 = ponto de inflexão da sigmóide (meia-vida), em dias;

dx = constante de tempo, em dias;

t = tempo experimental, em dias.

$$\delta^{13}\text{C}(t) = \delta^{13}\text{C}(f) + [\delta^{13}\text{C}(i) - \delta^{13}\text{C}(f)]e^{-kt} \quad (3)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}(t)$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t). Adimensional;

$\delta^{13}\text{C}(f)$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final. Adimensional;

$\delta^{13}\text{C}(i)$ = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial. Adimensional;

k = constante de troca (*turnover*) em dia^{-1} ;

t = tempo (em dias) a partir da substituição da dieta.

A meia-vida do ^{13}C para os tecidos, na condição de 50% da condição inicial e 50% da condição final, em $t = T$, foi calculada pela equação 4:

$$T = \ln 2/k \quad (4)$$

Onde:

T = meia-vida, em tempo (dias);

ln = logaritmo niperiano;

k = constante da taxa de *turnover* no tecido, em dia^{-1} .

Os valores do fracionamento isotópico dos tecidos ao final dos períodos dos tratamentos experimentais em relação às dietas foram calculados de acordo com DeNiro & Epstein (1978) pela equação (5):

$$\Delta = \delta_{\text{tecido}} - \delta_{\text{dieta}} \quad (5)$$

Onde:

Δ = fator de fracionamento entre o tecido e a dieta, em partes per mil (‰);

δ_{tecido} = enriquecimento relativo do tecido em questão, em partes per mil (‰);

δ_{dieta} = enriquecimento relativo médio da respectiva dieta, em partes per mil (‰).

Nos tratamentos T₀₋₁₄ e T₇₋₂₁ o valor isotópico da dieta para o cálculo foi $\delta_{\text{dieta}} = -28,11\text{‰}$, pois os animais destes tratamentos receberam apenas a dieta inicial. Para o tratamento T₁₄₋₂₈ foi considerado como valor isotópico da dieta a média aritmética das dietas inicial e crescimento, ou seja, $\delta_{\text{dieta}} = -27,85\text{‰}$, pois estes animais receberam as duas dietas por um período de sete dias cada. O fracionamento isotópico dos tratamentos de T₂₁₋₃₅ a T₄₂₋₅₆ foram calculados com base no valor isotópico da dieta final ($\delta_{\text{dieta}} = -27,59\text{‰}$).

3. Resultados e Discussão

A mudança no valor do $\delta^{13}\text{C}$ dos tecidos ao longo do tempo ocorreu gradativamente durante o crescimento das aves. A Figura 1 ilustra o comportamento da diluição isotópica no músculo peitoral, quilha, tibia e fígado, respectivamente.

As Tabelas 4, 5, 6 e 7 mostram as equações exponenciais em função do tempo e coeficientes de determinação do músculo peitoral, quilha, tibia e fígado, respectivamente, de cada tratamento experimental. Estas equações demonstraram a diluição isotópica do carbono-13 dos tecidos ao longo do período experimental e seus valores calculados de meias-vidas estão contidos na Tabela 8.

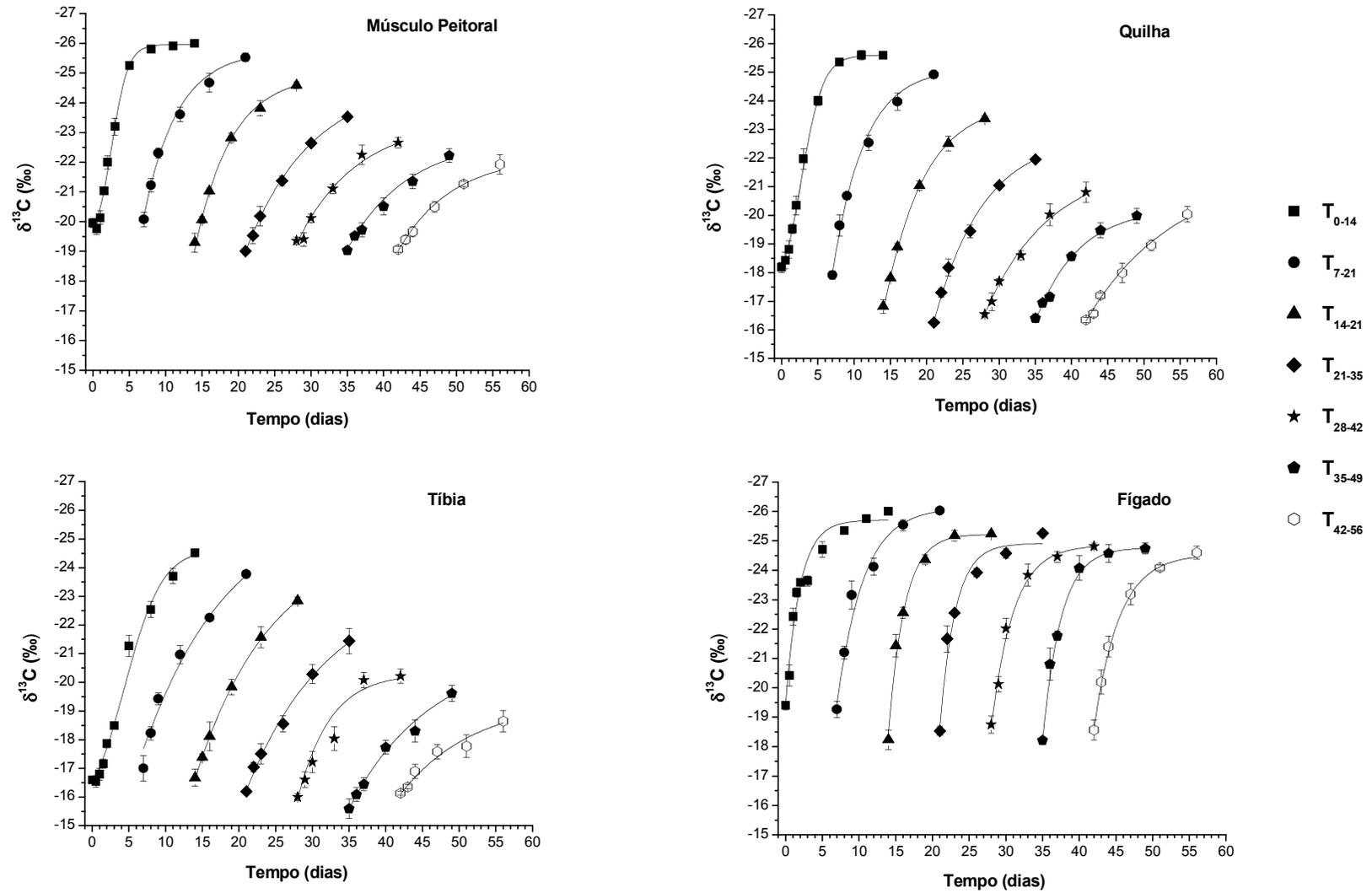


Figura 1 – Curvas de diluição isotópica do carbono (média \pm desvio-padrão, $n = 4$) dos tecidos de frangos de corte dos tratamentos experimentais em função dos intervalos de avaliação.

Tabela 4 – Equações exponenciais das diluições isotópicas em função do tempo, do músculo peitoral com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).

Tratamentos	Equações	R^2
T ₀₋₁₄	$\delta^{13}C = -25,96 + \frac{6,89}{1 + e^{\frac{t-2,54}{1,13}}}$	0,998
T ₇₋₂₁	$\delta^{13}C = -25,66 + 5,57e^{-0,2455(t-7)}; t \geq 7$	0,997
T ₁₄₋₂₈	$\delta^{13}C = -24,78 + 4,14e^{-0,2415(t-14)}; t \geq 14$	0,993
T ₂₁₋₃₅	$\delta^{13}C = -24,22 + 5,27e^{-0,1417(t-21)}; t \geq 21$	0,997
T ₂₈₋₄₂	$\delta^{13}C = -23,32 + 4,05e^{-0,1348(t-28)}; t \geq 28$	0,984
T ₃₅₋₄₉	$\delta^{13}C = -22,74 + 3,66e^{-0,1271(t-35)}; t \geq 35$	0,992
T ₄₂₋₅₆	$\delta^{13}C = -22,50 + 3,45e^{-0,1163(t-42)}; t \geq 42$	0,995

Tabela 5 – Equações exponenciais das diluições isotópicas em função do tempo, da quilha com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).

Tratamentos	Equações	R^2
T ₀₋₁₄	$\delta^{13}C = -25,60 + \frac{8,71}{1 + e^{\frac{t-2,71}{1,50}}}$	0,999
T ₇₋₂₁	$\delta^{13}C = -25,12 + 7,18e^{-0,2422(t-7)}; t \geq 7$	0,999
T ₁₄₋₂₈	$\delta^{13}C = -23,70 + 7,34e^{-0,2242(t-14)}; t \geq 14$	0,997
T ₂₁₋₃₅	$\delta^{13}C = -22,72 + 6,43e^{-0,1502(t-21)}; t \geq 21$	0,999
T ₂₈₋₄₂	$\delta^{13}C = -21,64 + 5,16e^{-0,1302(t-28)}; t \geq 28$	0,999
T ₃₅₋₄₉	$\delta^{13}C = -20,39 + 4,08e^{-0,1688(t-35)}; t \geq 35$	0,983
T ₄₂₋₅₆	$\delta^{13}C = -21,52 + 5,21e^{-0,0868(t-42)}; t \geq 42$	0,991

Tabela 6 – Equações exponenciais das diluições isotópicas em função do tempo, da tíbia com seus coeficientes de determinação (R^2).

Tratamentos	Equações	R^2
T ₀₋₁₄	$\delta^{13}C = -24,66 + \frac{9,59}{1 + e^{\frac{t-4,4}{2,54}}}$	0,996
T ₇₋₂₁	$\delta^{13}C = -23,96 + 6,89e^{-0,1928(t-7)}; t \geq 7$	0,988
T ₁₄₋₂₈	$\delta^{13}C = -24,04 + 7,44e^{-0,1295(t-14)}; t \geq 14$	0,996
T ₂₁₋₃₅	$\delta^{13}C = -22,51 + 6,29e^{-0,1202(t-21)}; t \geq 21$	0,998
T ₂₈₋₄₂	$\delta^{13}C = -20,88 + 4,91e^{-0,1627(t-28)}; t \geq 28$	0,993
T ₃₅₋₄₉	$\delta^{13}C = -20,24 + 4,72e^{-0,1336(t-35)}; t \geq 35$	0,972
T ₄₂₋₅₆	$\delta^{13}C = -19,28 + 3,18e^{-0,1105(t-42)}; t \geq 42$	0,948

Tabela 7 – Equações exponenciais das diluições isotópicas em função do tempo, do fígado com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).

Tratamentos	Equações	R^2
T ₀₋₁₄	$\delta^{13}C = -25,71 + 6,19e^{-0,5169t}$	0,975
T ₇₋₂₁	$\delta^{13}C = -25,89 + 6,60e^{-0,3726(t-7)}; t \geq 7$	0,991
T ₁₄₋₂₈	$\delta^{13}C = -25,25 + 6,95e^{-0,4998(t-14)}; t \geq 14$	0,997
T ₂₁₋₃₅	$\delta^{13}C = -25,00 + 6,41e^{-0,4769(t-21)}; t \geq 21$	0,992
T ₂₈₋₄₂	$\delta^{13}C = -24,84 + 6,26e^{-0,3626(t-28)}; t \geq 28$	0,993
T ₃₅₋₄₉	$\delta^{13}C = -24,79 + 6,57e^{-0,4053(t-35)}; t \geq 35$	0,999
T ₄₂₋₅₆	$\delta^{13}C = -24,43 + 5,85e^{-0,3326(t-42)}; t \geq 42$	0,995

Tabela 8 – Valores calculados de meias-vidas (dias) dos tecidos experimentais a partir do dia de substituição das dietas.

Tratamentos	Músculo Peitoral	Quilha	Tíbia	Fígado
T ₀₋₁₄	2,5	2,7	4,4	1,3
T ₇₋₂₁	2,8	2,9	3,6	1,9
T ₁₄₋₂₈	2,9	3,1	5,4	1,4
T ₂₁₋₃₅	4,9	4,6	5,8	1,5
T ₂₈₋₄₂	5,1	5,3	4,3	1,9
T ₃₅₋₄₉	5,5	4,1	5,2	1,7
T ₄₂₋₅₆	6,0	8,0	6,3	2,1

Os fatores de fracionamento isotópico calculados para os tecidos e tratamentos experimentais estão contidos na Tabela 9. Estes cálculos demonstram que os tecidos fracionam a dieta de forma distinta, e podem ser explicados por Tieszen *et al.* (1983), os quais afirmaram que as principais frações bioquímicas do organismo diferem isotopicamente umas das outras.

Tabela 9 – Fator de fracionamento isotópico (‰) entre tecido e dieta dos frangos de corte submetidos às dietas experimentais ($\Delta = \delta_{\text{tecido}} - \delta_{\text{dieta}}$).

Tratamentos	Músculo Peitoral	Quilha	Tíbia	Fígado
T ₀₋₁₄	2,11	2,52	3,60	2,11
T ₇₋₂₁	2,58	3,15	4,33	2,08
T ₁₄₋₂₈	3,26	4,47	5,00	2,61
T ₂₁₋₃₅	4,06	5,63	6,14	2,33
T ₂₈₋₄₂	4,93	7,56	7,37	2,77
T ₃₅₋₄₉	5,36	7,60	7,97	2,85
T ₄₂₋₅₆	5,66	7,55	8,94	2,99

Os resultados isotópicos da análise do músculo peitoral, quilha e tíbia do tratamento T₀₋₁₄ foram explicitados pelo modelo sigmoidal de Boltzmann, exceto para o fígado. Este comportamento pode ser explicado, pelo fato de após o alojamento os

pintainhos nutrem-se do saco vitelino e apresentam baixo consumo de ração, devido ao estresse, causando baixa troca de sinal isotópico nas primeiras 24 horas.

A incorporação do sinal isotópico da dieta C_3 começa após este período crítico, indicando o início da deposição de tecido corporal, resultado semelhante ao encontrado por Caldara (2005) quando avaliou o *turnover* do tecido adiposo de leitões pós-desmame. Segundo Rutz *et al.* (2006), é justamente durante a primeira semana de vida que a ave atravessa um dos momentos fisiologicamente mais difíceis, deixando de se alimentar da dieta endógena (fundamentalmente rica em proteínas e lipídios presentes no saco vitelino) e iniciando a alimentação por dieta exógena à base de proteínas, lipídios e carboidratos complexos, estes de difícil digestão pelo trato gastrointestinal, já que nesta fase as aves ainda não apresentam o complexo enzimático completamente desenvolvido. A gema é completamente internalizada na cavidade abdominal entre o 19º e o 20º dias de incubação, porém continua fornecendo nutrientes durante vários dias após a eclosão.

O fígado no tratamento T_{0-14} respondeu de forma exponencial, este fato pode ser consequência da elevada taxa metabólica deste órgão considerado quimicamente reativo (Guyton & Hall, 2006).

Nos demais tratamentos os resultados foram explicitados pela função exponencial em função do tempo para todos os tecidos avaliados. As equações concordaram com os modelos propostos por Ducatti *et al.* (2002), que avaliaram a substituição de carbono tecidual em poedeiras adultas, e também com Zuanon *et al.* (2006) que afirmaram que o modelo pode ser utilizado para animais em crescimento.

As curvas de diluição isotópica do músculo peitoral (Figura 1) indicaram que apenas os tratamentos T_{0-14} e T_{7-21} alcançaram o patamar de equilíbrio isotópico; pela comparação das equações (Tabela 4) e dos fatores de fracionamento (Tabela 9) pode-se verificar que apenas o tratamento T_{7-21} se aproximou dos valores do tratamento T_{0-14} , apesar da curva do tratamento T_{7-21} não ter apresentado patamar.

As curvas de diluição isotópica dos tratamentos experimentais da quilha (Figura 1) demonstram que apenas os tratamentos T_{0-14} e T_{7-21} atingiram o novo patamar de equilíbrio isotópico, baseando-se nas equações (Tabela 5), apenas o valor isotópico final do tratamento T_{7-21} se aproximou do tratamento T_{0-14} (-25,60 ‰ e -25,12 ‰ para T_{0-14} e T_{7-21} , respectivamente). Mas o fator de fracionamento (Tabela 9), a partir do T_{7-21} se distanciou do valor do fracionamento isotópico ocorrido no tratamento T_{0-14} .

Observando as curvas de diluição isotópica da tíbia (Figura 1) pode-se verificar que apenas o tratamento T_{0-14} chegou próximo do novo patamar de equilíbrio

isotópico, nos outros tratamentos o tempo de coleta de dados não foi suficiente para que este patamar fosse alcançado. Nas equações da Tabela 6 foi verificado que os valores isotópicos finais foram diferentes entre si, além disso, pelo cálculo do fator de fracionamento isotópico (Tabela 9), pode-se observar que com o aumento da idade inicial de avaliação houve aumento no fator de fracionamento, este fato pode ser devido ao tempo limitado de coletas para todos os tratamentos e não pelo fato de o fator de fracionamento aumentar com o aumento da idade.

Estes resultados concordam com Hammond *et al.* (1983), que afirmam que o crescimento corporal após o nascimento (idade versus peso corporal) pode ser representado por curva sigmoidal. O início do crescimento pós-natal é lento, mas aumenta rapidamente até os estágios tardios, quando a taxa de crescimento é reduzida. As curvas de crescimento dos tecidos em individual e de órgãos vitais também são sigmoidais, porém por causa do desenvolvimento em tempos diferentes dos tecidos diferentes, as curvas individuais não podem ser sobrepostas. O melhor exemplo é o crescimento lento dos músculos, ossos e órgãos vitais durante estágios posteriores de crescimento pós-natal com concomitante aumento na taxa de deposição de gordura. Hammond (1932) e McMeekan (1940) caracterizaram curvas de crescimento em vários órgãos e tecidos incluindo músculos esqueléticos específicos, ossos e depósitos de gordura de espécies domésticas. A ordem de desenvolvimento encontrada foi os tecidos esqueléticos, musculares e então o adiposo.

A incorporação do carbono-13 da dieta C₃ no fígado (Figura 1) ocorreu de forma rápida, de modo que todos os tratamentos atingiram o novo patamar de equilíbrio isotópico, e geraram equações semelhantes entre si (Tabela 7). Além disso, os valores de fracionamento isotópico entre o fígado e a dieta não sofreram grandes alterações.

Os valores de meia-vida do músculo peitoral, quilha e tibia (Tabela 8) podem ser divididos em dois grupos de acordo com a fase de crescimento e metabolismo da ave. O primeiro grupo pode ser determinado pelos tratamentos T₀₋₁₄, T₇₋₂₁ e T₁₄₋₂₈, onde as meias-vidas dos tecidos obtiveram valores semelhantes, indicando rápido crescimento do animal, *turnover* e meias-vidas curtas semelhante entre tratamentos, e conseqüente alta incorporação do carbono. Os demais tratamentos (segundo grupo) apresentaram também meias-vidas semelhantes entre si, indicando crescimento desacelerado, *turnover* mais lento e menor incorporação de carbono-13 (massa tecidual).

Os valores de meia-vida do fígado de todos os tratamentos (Tabela 8) mostraram-se semelhante entre si, indicando pouca variação de *turnover*, que mesmo com a ave e seus tecidos crescendo, o metabolismo do fígado mostrou-se tão intenso em qualquer fase da vida.

As meias-vidas dos tecidos estudados, em geral, aumentaram de acordo com o avanço da idade de avaliação. A tíbia foi o tecido que apresentou maior valor de meia-vida quando comparados aos outros tecidos, indicando lenta incorporação do carbono-13. Os menores valores de meia-vida dos tratamentos experimentais foram encontrados no fígado, sugerindo rápida incorporação do carbono-13. O músculo peitoral e a quilha apresentaram valores de meia-vida próximos entre si e intermediário aos anteriores.

Analisando os fatores de fracionamento contidos na Tabela 9, foi possível observar que com o aumento da idade inicial de avaliação, aumentou-se o valor do fator de fracionamento no músculo peitoral, quilha e tíbia, e apenas os valores de fracionamento do fígado não sofreram grande variação, sugerindo que o tempo de avaliação a partir do tratamento T₇₋₂₁, ou seja, em pintainhos de sete dias de idade ou mais, não foi suficiente para que estes tecidos alcançassem o novo patamar de equilíbrio isotópico, por outro lado, no fígado mostrou-se suficiente. Esta constatação sugere que novos estudos sejam realizados, aumentando o tempo de avaliação para que os valores de meias-vidas possam ser reafirmados ou não.

4. Conclusões

De acordo com os resultados deste estudo, pode-se concluir que:

- A tíbia é considerada um tecido de metabolismo lento, pois apresenta maior meia-vida conseqüentemente *turnover* mais lento que os tecidos analisados, o que reflete o sinal isotópico das dietas iniciais da criação dos frangos de corte.
- O fígado é considerado tecido de metabolismo rápido, pois apresenta taxa de troca de carbono (*turnover*) maior que os outros tecidos sendo indicado para refletir a dieta próxima da fase de avaliação.
- Dentre os tecidos avaliados, o fígado é o tecido que apresenta menor fracionamento isotópico tecido – dieta, e pode ser escolhido para determinar o valor isotópico de dietas, com avaliação de 14 dias.

5. Referências Bibliográficas

Caldara FR. Efeito da glutamina sobre o *turnover* do carbono em tecidos corporais de leitões desmamados. [Tese] Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2005.

Carrijo AS, Pezzato AC, 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 2000; 2: 209-18.

Carrijo AS, Pezzato AC, Ducatti C, Sartori JR, Trinca L, Silva ET. Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. Revista Brasileira de Ciência Avícola 2006; 8: 37-42.

DeNiro MJ, Epstein S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochimica et Cosmochimica Acta 1978; 42: 495-506.

Ducatti C. Isótopos estáveis ambientais. [Apostila]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2004.

Ducatti C, Carrijo AS, Pezzato AC, Mancera PFA. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. Scientia Agrícola 2002; 59(1): 29-33.

Gannes LZ, Del-Rio CM, Koch P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. Comparative Biochemistry and Physiology 1998; 119A (3): 725-37.

Gottmann R. Influência da composição das rações na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis em frangos de corte. [Dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2007.

Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica; 2006; p.861-862.

Hammond J. Growth and the development of Mutton Qualities in the Sheep; 1932; p.1-597.

Hammond J, Bowman Jr. JC, Robinson TJ. Hammond's Farm Animals; 1983; p.1-305.

Hetenyi GJR, Perez G, Vranic M. Turnover and precursor-product relationships of nonlipid metabolites. Physiological Reviews 1983; 63(2): 606-67.

Hobson KA, Clark RG. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of ^{13}C in tissues. *The Condor* 1992; 94: 181-8.

Kennedy BV, Krouse HR. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology* 1990; 68: 960-72.

Licatti F. Isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) em plantas do ciclo bioquímico C_3 e C_4 . [Monografia]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 1997.

McMeekan CP. Growth and development in the pig, with special reference to carcass quality characters. *Journal of Agricultural Science* 1940; 30: 276.

Microcal Software Inc. Microcal Software Origin[®] 6.0 Professional. Origin data analysis and technical graphics. Northampton (MS): Microcal Software Inc.; 1999.

Oliveira RP. Rastreabilidade da farinha de vísceras na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$). [Tese]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2005.

Peragón J, Barroso JB, García-Salguero L, Higuera M, Lupiáñez JA. Growth, protein-turnover and nucleic-acid concentrations in the white muscle of rainbow trout during development. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2001; 33: 1227-38.

Rosa CR, Mores M, Neto JAG, Nobrega JA, Nogueira AR. Effect of modifiers on thermal behavior of Se in acid digestates and slurry of vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* 2002; 79: 517-23.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais; 2005; p.186.

Rutz F, Rech JL, Xavier EG, Anciuti MA, Rossi P. Cuidados críticos na nutrição inicial de aves: alternativas para melhorar o desempenho e o papel essencial dos nucleotídeos. In: *Anais Brasil-Sul Avicultura*. 2006. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoesecod_publicacao=770. Acessado em 21 de fevereiro de 2008.

Sartori JR. Efeito da temperatura ambiente e restrição alimentar sobre a composição de fibras musculares esqueléticas de frangos de corte. [Tese]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 2000.

Tieszen LL, Boutton TW, Tesdahl KG, Slade NA. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* 1983; 57: 32-7.

Zuanon JAS, Pezzato AC, Pezzato LE, Passos JRS, Barros MM, Ducatti C. Muscle $\delta^{13}\text{C}$ change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effects of growth and carbon turnover. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2006; 145: 1001-107.

CAPÍTULO 3
INCORPORAÇÃO DO CARBONO-13 NOS TECIDOS DE FRANGOS DE CORTE A
PARTIR DE 47 DIAS DE IDADE

Incorporação do Carbono-13 nos Tecidos de Frangos de Corte a partir de 47 dias de Idade

Resumo

O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo de *turnover* do carbono-13 no músculo *Pectoralis major*, fígado, quilha e tíbia de frangos de corte a partir de 47 dias de idade, utilizando a técnica de isótopos estáveis. Foram utilizados 16 pintos de corte, machos, *Cobb*, alojados em 8 gaiolas de arame galvanizado, equipadas com comedouros individuais tipo calha e bebedouros tipo *nipple*. As coletas foram feitas aos 47; 48; 54; 61; 68; 75; 82 e 89 dias de idade. Para mensurar o *turnover* do carbono-13 (diluição isotópica) nos tecidos foi utilizado função exponencial do tempo. Os valores de meia-vida encontrados no músculo peitoral, quilha, tíbia e fígado foram de 12,9; 12,5; 18,7 e 2,8 dias respectivamente. As meias-vidas do músculo peitoral e quilha foram semelhantes e intermediários às dos outros tecidos, sendo que a meia-vida da tíbia foi a maior e a do fígado a menor, demonstrando lenta e rápida incorporação do carbono-13, respectivamente. De acordo com os resultados deste estudo, pode-se concluir que a tíbia apresenta *turnover* e metabolismo lento, podendo eleger a tíbia, dentre os tecidos analisados, como o tecido que reflete por mais tempo o valor isotópico da dieta antiga.

Palavras-chave: diluição isotópica, isótopos estáveis, rastreabilidade, *turnover*

Carbon-13 Incorporation in 47-day old Broiler Tissues

Abstract

This study aimed to evaluate which tissue (*Pectoralis major*, keel, tibia and liver) reflects the first diets for long periods in 47-day old broiler using the carbon stable isotopes technique. In this trial, 16 male broiler chicks (Cobb) were allocated in 8 galvanized iron cages with gutter-like feeders and nipple-like water dispensers. Samples were collected at 47; 48; 54; 61; 68; 75; 82 and 89 days. The exponential time function was used to measure the carbon-13 turnover (isotopic dilution) on tissues. Half-life observed values for liver, muscle, keel and tibia were 2.8, 12.9, 12.5 and 18.7 days, respectively. The half-life of tibia was the highest and liver the smallest when tissues were compared at the same phase. Among tissues evaluated, tibia reflected the isotopic value of first diets for longer periods.

Key words: isotopic dilution, metabolism, *turnover*

1. Introdução

Os constituintes corporais encontram-se em estado dinâmico, sendo continuamente formados e utilizados para diferentes propósitos. Esse processo é geralmente chamado de *turnover*. Todas as substâncias do corpo sejam elas metabólitos orgânicos ou inorgânicos, estão sujeitas ao *turnover* (Hetenyi *et al.*, 1983). As taxas de *turnover* podem variar entre as diferentes espécies, tecidos, frações bioquímicas e são influenciadas pelo estado fisiológico do animal (Kennedy & Krouse, 1990). Dessa forma, a taxa de incorporação do carbono da dieta pode sofrer influência do crescimento em animais jovens.

Segundo Gannes *et al.* (1998), dietas com assinaturas isotópicas distintas podem ser utilizadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais. Após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica no tecido depende da velocidade com que os constituintes da nova dieta serão incorporados. A escolha do tecido é importante, pois tecidos que são ativos metabolicamente no organismo apresentarão *turnover* mais rápido, como o fígado, músculo e sangue, e tecidos menos ativos apresentarão taxas menores, como o colágeno e o osso (Hobson & Clark, 1992).

A maioria dos estudos de *turnover* utilizando as variações naturais do $\delta^{13}\text{C}$ dos alimentos apresentam questões ecológicas, enfocando a velocidade de troca do carbono tecidual a partir da ingestão de alimentos com razões isotópicas distintas, em função de migrações ou mudanças de níveis tróficos. Entretanto, a técnica dos isótopos estáveis pode ser útil em estudos de fisiologia e nutrição animal, uma vez que as taxas de substituição do carbono tecidual podem ser influenciadas por fatores ambientais, nutricionais e sanitários (Carrizo *et al.*, 2000).

A técnica dos isótopos estáveis apresenta potencial de aplicação prática na rastreabilidade de subprodutos de origem animal utilizada na alimentação de frangos de corte por meio da análise de seus tecidos (Oliveira, 2005; Carrizo *et al.*, 2006; Gottmann, 2007), entretanto, para o desenvolvimento dessa linha de pesquisa, há a necessidade de realização de estudos que contribuam para o conhecimento da assimilação isotópica da matéria orgânica nos tecidos das aves (*turnover*).

No processo de rastreabilidade busca-se um tecido que possa refletir a dieta antiga com a finalidade de poder detectar a inclusão de farinhas de origem animal, mesmo que estas dietas sejam dadas apenas nas fases iniciais da vida do pintainho,

para isto, necessita-se encontrar um tecido de metabolismo lento que conserve o sinal isotópico por mais tempo.

Este trabalho teve a finalidade de realizar o estudo de *turnover* do carbono-13 no músculo *Pectoralis major*, fígado, quilha e tibia de frangos de corte a partir de 47 dias de idade, utilizando a técnica de isótopos estáveis.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado na UNESP – Campus de Botucatu, na Câmara Climatizada do Laboratório de Nutrição de Aves da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, com duração de 89 dias.

Foram utilizados 16 frangos de corte machos, da linhagem *Cobb*, com 1 dia de idade, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro, Marek, Bouda Aviária e Coccidiose. As aves foram distribuídas ao acaso em 8 gaiolas de arame galvanizado medindo 0,50 m de altura, 0,50 m de largura e 0,60 m de profundidade, dispostas em fileiras, equipadas com comedouros individuais tipo calha e bebedouros tipo *nipple*, sendo que a água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental. O programa de luz foi constante, com o fornecimento de 24 horas de luz durante todo o período de criação. Temperatura e ventilação foram mantidas na zona de conforto térmico durante todo o período de criação.

Os frangos foram criados com dieta composta predominantemente por grãos de plantas do ciclo fotossintético C₄ até 46 dias de idade. No início do período de avaliação, no 47º dia, as aves passaram a receber a dieta experimental C₃.

As exigências nutricionais das aves foram divididas em três períodos: 1 - 21 dias, 22 - 56 dias e 47 - 89 dias e adaptadas das recomendações de Rostagno *et al.* (2005), de acordo com Tabela 1.

Tabela 1 – Composição percentual, níveis nutricionais calculados e valores isotópicos médios das dietas experimentais.

Ingredientes, %	Períodos (dias)		
	1-21	22-46	47-89
Milho moído	57,70	63,25	-
Farelo de soja	35,56	29,82	25,79
Arroz, quirera	-	-	65,02
Óleo de soja	2,64	3,11	5,63
Calcário calcítico	0,98	0,94	0,68
Fosfato bicálcico	1,83	1,63	1,61
DL-Metionina	0,23	0,22	0,19
L-Lisina	0,16	0,22	0,23
Suplemento vitamínico e mineral	0,40 ¹	0,40 ²	0,40 ²
Sal comum	0,46	0,38	0,35
Caulim	-	-	0,10
TOTAL	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados			
EM, kcal/kg	3000	3100	3250
PB, %	21,40	19,30	17,50
Ca, %	0,96	0,88	0,74
P disp., %	0,45	0,41	0,37
Metionina, %	0,56	0,51	0,49
Metionina + Cistina, %	0,90	0,83	0,73
Lisina, %	1,26	1,16	1,02
Valores isotópicos médios analisados³			
$\delta^{13}\text{C}$, ‰	-17,72 ± 0,25	-17,09 ± 0,16	-28,51 ± 0,08

¹Suplemento vitamínico-mineral inicial Vaccinar® (níveis de garantia por kg de ração): Vit. A = 14.000 UI; Vit. D₃ = 2.500 UI; Vit. E = 25 mg; Vit. K₃ = 3 mg; Vit. B₁ = 2 mg; Vit. B₂ = 5 mg; Vit. B₆ = 4 mg; Vit. B₁₂ = 5 mcg; Niacina = 35 mg; Ác. Pantotênico = 12 mg; Biotina = 0,10 mg; Ác. Fólico = 1 mg; Colina = 800 mg; Antioxidante (B.H.T.) = 2 mg; Se = 0,18 mg; Fe = 50,10 mg; Mn = 78 mg; I = 0,70 mg; Cu = 10 mg; Zn = 55 mg.

²Suplemento vitamínico-mineral crescimento Vaccinar® (níveis de garantia por kg de ração): Vit. A = 10.000 UI; Vit. D₃ = 2.000 UI; Vit. K₃ = 2 mg; Vit. B₁ = 2 mg; Vit. B₂ = 4 mg; Vit. B₆ = 4 mg; Vit. B₁₂ = 20 mcg; Niacina = 30 mg; Ác. Pantotênico = 10 mg; Biotina = 0,06 mg; Ác. Fólico = 1 mg; Colina = 600 mg; Antioxidante (B.H.T.) = 2 mg; Se = 0,18 mg; Fe = 50,10 mg; Mn = 78 mg; I = 0,70 mg; Cu = 10 mg; Zn = 55 mg.

³Valores isotópicos médios expressos em $\delta^{13}\text{C}$ relativo ao padrão *PeeDee Belemnite* (PDB), (n = 2).

Para a coleta das amostras foram sacrificadas aleatoriamente duas aves por deslocamento da articulação crânio-cervical, ao longo do período de avaliação (47; 48; 54; 61; 68; 75; 82 e 89 dias de idade). Considerando-se cada ave uma repetição, foram colhidas amostras de músculo peitoral (*Pectoralis major*), quilha, tibia e fígado.

As amostras de músculo peitoral foram obtidas a partir do corte de uma fatia de aproximadamente 5 mm do terço médio longitudinal do *Pectoralis major* esquerdo. Para obtenção da amostra de quilha, foi retirado o prolongamento cartilaginoso do esterno e aparado a inserção com o osso por corte transversal, formando-se ângulo reto com a sua superfície dorsal. As amostras ósseas de tibia foram obtidas a partir do terço médio longitudinal (diáfise) da tibia esquerda, excluindo-se o conteúdo medular por meio de lavagem com água destilada. O fígado foi retirado totalmente.

Devidamente acondicionadas em sacos plásticos e identificadas, as amostras foram imediatamente congeladas a -20°C até a sua preparação para as análises isotópicas.

Para a realização das análises isotópicas dos tecidos, as amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada (Marconi – modelo MA 035) a 56°C por 48 horas. Todos os tecidos avaliados e as dietas experimentais foram moídas criogenicamente (moinho criogênico modelo Spex – 6750 freezer/mill), à -196°C . Neste moinho, aproximadamente 2,0 g de amostra foram colocadas em frasco de policarbonato juntamente com uma barra magnética, o qual, devidamente fechado, foi imerso em nitrogênio líquido. Pelo impacto entre a amostra e a barra magnética, submetida ao campo magnético oscilante (15 impactos/s), pulverizou-se a amostra. O programa utilizado na moagem das amostras compreendeu-se de uma primeira etapa de pré-congelamento de um minuto e uma segunda etapa de congelamento e pulverização de 3 minutos para os tecidos e 5 minutos para as dietas experimentais. Este procedimento permitiu obter partículas com granulometria menor que $60\ \mu\text{m}$ (Licatti, 1997; Rosa, *et al.*, 2002; Ducatti, 2004).

Após a moagem, as amostras de fígado passaram por processo de extração da gordura em éter etílico, utilizando aparelho de Soxhlet, durante 4 horas, e novamente moídas para obter homogeneização.

As análises isotópicas foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, campus de Botucatu. Para a determinação da composição isotópica das amostras foi utilizado o espectrômetro de massas DELTA-S (Finnigan Mat) acoplado ao Analisador Elementar

(EA 1108 CHN). Foram pesadas em cápsulas de estanho, de 60 a 70; 50 a 70; 100 a 120; 50 a 70 e 60 a 70 μg das amostras de músculo peitoral, quilha, tibia fígado e ração, respectivamente, em duplicata. Os resultados foram expressos em notação $\delta^{13}\text{C}$, em relação ao padrão *Peedee Belemnite* (PDB), com erro de análise da ordem de 0,2‰ e calculado pela equação 1:

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{amostra, padrão})} = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3 \quad (1)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}$ = enriquecimento da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação ao padrão PDB, em partes per mil (‰). Adimensional.

R = razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e do padrão. Adimensional.

Para mensurar o *turnover* do carbono (diluição isotópica) nos tecidos em determinado intervalo de tempo, foi utilizado a função exponencial do tempo expressa pela equação 2 (Ducatti *et al.*, 2002), do software Origin[®] 6.0 Professional (Microcal Software, 1999):

$$\delta^{13}\text{C}(t) = \delta^{13}\text{C}(f) + [\delta^{13}\text{C}(i) - \delta^{13}\text{C}(f)]e^{-kt} \quad (2)$$

Onde:

$\delta^{13}\text{C}(t)$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t). Adimensional.

$\delta^{13}\text{C}(f)$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final. Adimensional.

$\delta^{13}\text{C}(i)$ = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial. Adimensional.

k = constante de troca (*turnover*) em dia^{-1}

t = tempo (em dias) a partir da substituição da dieta.

A meia-vida do ^{13}C para os tecidos, na condição de 50% da condição inicial e 50% da condição final, em $t = T$, foi calculada pela equação 3:

$$T = \ln 2/k \quad (3)$$

Onde:

T = meia-vida, em tempo (dias)

ln = logaritmo niperiano

k = constante da taxa de *turnover* no tecido, em dia^{-1}

Os valores do fracionamento isotópico dos tecidos ao final do período do experimental em relação à dieta foram calculados de acordo com DeNiro & Epstein (1978) pela equação (4):

$$\Delta = \bar{\delta}_{\text{tecido}} - \bar{\delta}_{\text{dieta}} \quad (4)$$

Onde:

Δ = fator de fracionamento entre o tecido e a dieta, em parte per mil (‰);

$\bar{\delta}_{\text{tecido}}$ = enriquecimento relativo do tecido em questão, em parte per mil (‰);

$\bar{\delta}_{\text{dieta}}$ = enriquecimento relativo médio da respectiva dieta, em parte per mil (‰);

3. Resultados e Discussão

Os valores isotópicos médios dos tecidos analisados (músculo peitoral, quilha, tíbia e fígado) foram expressos na Tabela 2. Estes dados foram analisados segundo a função exponencial do tempo e geraram as curvas de diluição isotópica em função do tempo, expressas na Figura 1.

Tabela 2 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (média \pm desvio padrão), expressos em ‰, dos tecidos experimentais.

Idade (dias)	Músculo	Quilha	Tíbia	Fígado
47	-18,93 \pm 0,04	-15,42 \pm 0,11	-15,60 \pm 0,25	-18,07 \pm 0,04
48	-19,39 \pm 0,38	-15,83 \pm 0,10	-15,96 \pm 0,21	-20,29 \pm 0,30
54	-21,28 \pm 0,62	-18,38 \pm 0,11	-18,18 \pm 0,61	-24,25 \pm 0,44
61	-21,93 \pm 0,24	-19,43 \pm 0,17	-18,94 \pm 0,64	-24,21 \pm 0,17
68	-23,02 \pm 0,34	-20,39 \pm 0,06	-19,46 \pm 0,80	-25,15 \pm 0,43
75	-23,69 \pm 0,01	-21,09 \pm 0,30	-20,88 \pm 0,13	-25,92 \pm 0,09
82	-23,35 \pm 0,37	-21,28 \pm 0,31	-21,05 \pm 0,04	-25,02 \pm 0,02
89	-24,44 \pm 0,39	-22,64 \pm 0,56	-22,18 \pm 0,22	-26,10 \pm 0,27

As equações exponenciais e suas respectivas meias-vidas são demonstradas na Tabela 3. Verificou-se que a meia-vida do músculo peitoral, quilha e tíbia destas aves a partir de 47 dias de idade foram maiores que as meias-vidas dos mesmos tecidos de frangos de corte jovens encontradas por Mituo (dados não publicados), demonstrando que estes tecidos apresentam *turnover* maior e menor taxa de crescimento nesta fase de avaliação (de 47 a 89 dias de idade).

Neste estudo os valores de meias-vidas do músculo peitoral e quilha foram semelhantes e intermediários às dos outros tecidos. Dessa forma, a meia-vida da tíbia foi a maior, demonstrando lento metabolismo e incorporação do carbono-13 e a meia-vida do fígado foi a menor.

Além disso, a meia-vida do fígado não sofreu mudança, quando comparada aos valores de meia-vida encontrados por Mituo (dados não publicados), este fato pode ser consequência da alta atividade metabólica deste tecido em todas as fases de vida.

Os valores de meias-vidas do fígado e músculo peitoral encontrados concordam com resultados de Hobson & Clark (1992) quando estabeleceram *turnover* do carbono e curvas de substituição isotópica em tecido de codornas japonesas adultas pela mudança de dietas com assinaturas contrastantes, os quais foram de 2,6 e 12,4 dias para o fígado e músculo, respectivamente.

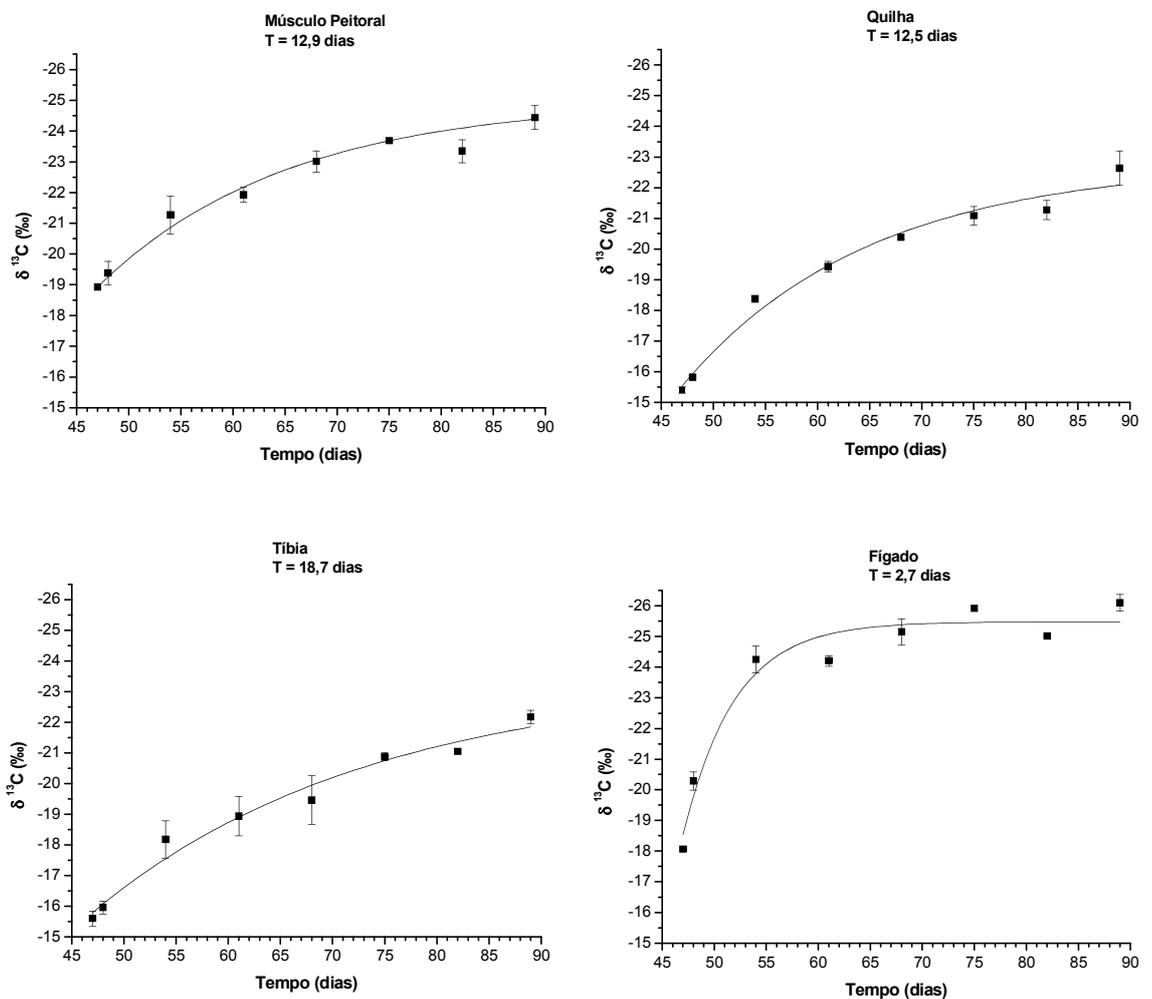


Figura 1 - Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do carbono (média \pm desvio-padrão, n = 2) e valores de meias-vidas em dias do músculo peitoral, quilha, tibia e fígado.

De acordo com a Figura 1, observou-se que curvas de diluição isotópica do músculo peitoral, quilha e tíbia não alcançaram o patamar de equilíbrio, enquanto que a do fígado atingiu este equilíbrio, porém nenhum dos tecidos analisados alcançou o valor isotópico da dieta experimental.

Tabela 3 – Equações exponenciais das diluições isotópicas do carbono-13 em função do tempo dos tecidos analisados com suas respectivas meias-vidas (dias), fatores de fracionamento (Δ) e coeficientes de determinação (R^2).

Tecidos	Equações	Meias-Vidas*	Δ , ‰	R^2
Músculo	$\delta^{13}C = -25,04 + 6,11e^{-0,0540(t-47)}; t \geq 47$	12,9	4,07	0,999
Quilha	$\delta^{13}C = -22,78 + 7,24e^{-0,0556(t-47)}; t \geq 47$	12,5	5,87	0,982
Tíbia	$\delta^{13}C = -23,46 + 7,66e^{-0,0372(t-47)}; t \geq 47$	18,7	6,33	0,977
Fígado	$\delta^{13}C = -25,36 + 7,02e^{-0,2539(t-47)}; t \geq 47$	2,7	2,41	0,963

*Meias-vidas a partir do dia de substituição da dieta.

A quilha e a tíbia foram os tecidos que obtiveram maiores fracionamentos isotópicos dieta-tecido (5,87 e 6,33; respectivamente), estas variações encontradas entre as frações não são bem compreendidas, mas para Tieszen *et al.* (1983), as frações bioquímicas diferem isotopicamente entre si, e as diferenças isotópicas do organismo podem ser o reflexo de suas diferentes composições bioquímicas. Além disso, estes altos valores de fracionamento isotópicos podem ser consequência de suas curvas não terem alcançado o patamar de equilíbrio. Estes resultados concordam com curvas de diluição isotópica do carbono de Mituo (dados não publicados), onde avaliou o *turnover* destes mesmo tecidos em frangos de corte em crescimento.

O fígado apresentou menor fracionamento tecido-dieta, corroborando dados de Mituo (dados não publicados), que afirma que este tecido serve como indicativo do sinal isotópico da dieta dada em qualquer fase da vida da ave.

4. Conclusões

Conclui-se que, dentre os tecidos analisados, o fígado apresenta meia-vida curta, *turnover* e metabolismo rápido, podendo ser indicador de dietas dadas recentemente aos frangos de corte.

A tíbia apresenta meia-vida maior, *turnover* e metabolismo lento, sendo indicada como o tecido que reflete por mais tempo o valor isotópico da dieta antiga, podendo ser útil no processo de rastreabilidade para informação da inclusão de subprodutos de origem animal nas rações iniciais de frangos de corte.

5. Referências Bibliográficas

Carrijo AS, Pezzato AC, 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 2000; 2: 209-18.

Carrijo AS, Pezzato AC, Ducatti C, Sartori JR, Trinca L, Silva ET. Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. Revista Brasileira de Ciência Avícola 2006; 8: 37-42.

DeNiro MJ, Epstein S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochimica et Cosmochimica Acta 1978; 42: 495-506.

Ducatti C. Isótopos estáveis ambientais. [Apostila]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2004.

Ducatti C, Carrijo AS, Pezzato AC, Mancera PFA. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. Scientia Agrícola 2002; 59(1): 29-33.

Gannes LZ, Del-Rio CM, Koch P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. Comparative Biochemistry and Physiology 1998; 119A(3): 725-37.

Gottmann R. Influência da composição das rações na rastreabilidade de farinhas de origem animal pela técnica dos isótopos estáveis em frangos de corte. [Dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2007.

Hetenyi GJR, Perez G, Vranic M. Turnover and precursor-product relationships of nonlipid metabolites. Physiological Reviews 1983; 63(2): 606-67.

Hobson KA, Clark RG. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of ^{13}C in tissues. The Condor 1992; 94: 181-8.

Kennedy BV, Krouse HR. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. Canadian Journal Physiology and Pharmacology 1990; 68: 960-72.

Licatti F. Isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) em plantas do ciclo bioquímico C_3 e C_4 . [Monografia]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 1997.

Microcal Software Inc. Microcal Software Origin® 6.0 Professional. Origin data analysis and technical graphics. Northampton (MS): Microcal Software Inc.; 1999.

Oliveira RP. Rastreabilidade da farinha de vísceras na alimentação de frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$). [Tese]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2005

Rosa CR, Mores M, Neto JAG, Nobrega JA, Nogueira AR. Effect of modifiers on thermal behavior of Se in acid digestates and slurry of vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Food Chemistry 2002; 79: 517-23.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais; 2005; p.186.

Tieszen LL, Boutton TW, Tesdahl KG, Slade NA. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. Oecologia 1983; 57: 32-7.

CAPÍTULO 4
IMPLICAÇÕES

Implicações

A rastreabilidade de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte, por meio da variação natural dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, se mostrou promissora, diante de estudos realizados no Centro de Isótopos Estáveis/IBB/UNESP – Campus de Botucatu. Estas pesquisas surgiram da necessidade de tecnologia independente para a certificação de frangos de corte que não fossem alimentados com subprodutos de origem animal, visto a exigência de mercados importadores dessas aves.

Porém outros estudos são necessários para contribuir com o desenvolvimento da técnica dos isótopos estáveis na rastreabilidade de farinhas de origem animal na alimentação de frangos de corte com o aumento dos dias de avaliação, para que os valores de meias-vidas destes tecidos avaliados possam ser reafirmados ou não.

Sugere-se a avaliação de novos tecidos, como sangue, fração celular, plasma ou penas, com o objetivo de buscar tecidos que possam refletir as dietas, sem a necessidade de sacrifício das aves. O plasma e o sangue poderiam ser utilizados para o acompanhamento periódico (ex. semanal) dos lotes de frangos de corte, por apresentarem *turnover* isotópico rápido. No entanto a fração celular ou penas podem trazer informações sobre a média isotópica das rações ministradas às aves durante todo o período de criação.

Deve-se destacar que é importante a mensuração das variáveis de desempenho para que possam ser relacionadas com as taxas de crescimento e *turnover*.

APÉNDICE

Apêndice

Valores Isotópicos dos tecidos analisados

As Tabelas de 1 a 7 demonstram os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ do músculo peitoral, quilha e tibia e fígado dos tratamentos experimentais do Capítulo 2.

Tabela 1 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T₀₋₁₄.

Dia de Coleta	Músculo Peitoral	Quilha	Tíbia	Fígado
0	-19,96 \pm 0,15	-18,19 \pm 0,18	-16,59 \pm 0,09	-19,40 \pm 0,15
0,5	-19,76 \pm 0,18	-18,43 \pm 0,29	-16,55 \pm 0,20	-20,42 \pm 0,36
1	-20,14 \pm 0,22	-18,81 \pm 0,31	-16,80 \pm 0,21	-22,43 \pm 0,28
1,5	-21,04 \pm 0,10	-19,53 \pm 0,17	-17,16 \pm 0,16	-23,25 \pm 0,16
2	-22,00 \pm 0,22	-20,35 \pm 0,32	-17,86 \pm 0,13	-23,59 \pm 0,08
3	-23,20 \pm 0,29	-21,97 \pm 0,36	-18,50 \pm 0,14	-23,64 \pm 0,18
5	-25,25 \pm 0,11	-24,01 \pm 0,16	-21,27 \pm 0,37	-24,71 \pm 0,27
8	-25,81 \pm 0,09	-25,35 \pm 0,12	-22,54 \pm 0,28	-25,36 \pm 0,09
11	-25,91 \pm 0,07	-25,60 \pm 0,17	-23,71 \pm 0,26	-25,76 \pm 0,09
14	-26,00 \pm 0,04	-25,59 \pm 0,10	-24,51 \pm 0,13	-26,00 \pm 0,10

Tabela 2 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T₇₋₂₁.

Dia de Coleta	Músculo Peitoral	Quilha	Tíbia	Fígado
7	-20,08 \pm 0,24	-17,92 \pm 0,15	-17,00 \pm 0,44	-19,27 \pm 0,28
8	-21,23 \pm 0,23	-19,65 \pm 0,36	-18,23 \pm 0,23	-21,21 \pm 0,22
9	-22,31 \pm 0,16	-20,68 \pm 0,11	-19,43 \pm 0,21	-23,16 \pm 0,48
12	-23,61 \pm 0,25	-22,54 \pm 0,27	-20,97 \pm 0,32	-24,12 \pm 0,29
16	-24,68 \pm 0,32	-23,97 \pm 0,30	-22,26 \pm 0,08	-25,54 \pm 0,19
21	-25,53 \pm 0,14	-24,92 \pm 0,14	-23,78 \pm 0,11	-26,03 \pm 0,09

Tabela 3 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T₁₄₋₂₈.

Dia de Coleta	Músculo	Quilha	Tíbia	Fígado
	Peitoral			
14	-19,30 \pm 0,32	-16,82 \pm 0,24	-16,68 \pm 0,29	-18,24 \pm 0,33
15	-20,06 \pm 0,11	-17,82 \pm 0,04	-17,39 \pm 0,11	-21,44 \pm 0,38
16	-21,03 \pm 0,10	-18,90 \pm 0,13	-18,12 \pm 0,50	-22,56 \pm 0,19
19	-22,82 \pm 0,16	-21,04 \pm 0,16	-19,84 \pm 0,27	-24,36 \pm 0,16
23	-23,82 \pm 0,25	-22,51 \pm 0,26	-21,58 \pm 0,37	-25,18 \pm 0,18
28	-24,59 \pm 0,11	-23,38 \pm 0,10	-22,85 \pm 0,13	-25,24 \pm 0,10

Tabela 4 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T₂₁₋₃₅.

Dia de Coleta	Músculo	Quilha	Tíbia	Fígado
	Peitoral			
21	-19,01 \pm 0,09	-16,26 \pm 0,07	-16,20 \pm 0,09	-18,54 \pm 0,15
22	-19,54 \pm 0,27	-17,31 \pm 0,15	-17,05 \pm 0,17	-21,67 \pm 0,45
23	-20,19 \pm 0,33	-18,18 \pm 0,29	-17,51 \pm 0,35	-22,25 \pm 0,06
26	-21,38 \pm 0,17	-19,45 \pm 0,23	-18,56 \pm 0,28	-23,92 \pm 0,14
30	-22,65 \pm 0,08	-21,05 \pm 0,02	-20,29 \pm 0,33	-24,58 \pm 0,17
35	-23,53 \pm 0,08	-21,96 \pm 0,06	-21,45 \pm 0,44	-25,26 \pm 0,14

Tabela 5 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T₂₈₋₄₂.

Dia de Coleta	Músculo	Quilha	Tíbia	Fígado
	Peitoral			
28	-19,36 \pm 0,12	-16,54 \pm 0,08	-16,00 \pm 0,12	-18,75 \pm 0,29
29	-19,41 \pm 0,23	-16,99 \pm 0,31	-16,61 \pm 0,27	-20,13 \pm 0,26
30	-20,12 \pm 0,14	-17,70 \pm 0,09	-17,22 \pm 0,37	-22,02 \pm 0,34
33	-21,11 \pm 0,16	-18,61 \pm 0,16	-18,04 \pm 0,41	-23,84 \pm 0,38
37	-22,25 \pm 0,33	-20,03 \pm 0,38	-20,08 \pm 0,27	-24,46 \pm 0,18
42	-22,66 \pm 0,18	-20,81 \pm 0,36	-20,22 \pm 0,25	-24,82 \pm 0,10

Tabela 6 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T₃₅₋₄₉.

Dia de Coleta	Músculo	Quilha	Tíbia	Fígado
	Peitoral			
35	-19,04 \pm 0,07	-16,41 \pm 0,16	-15,60 \pm 0,34	-18,22 \pm 0,03
36	-19,53 \pm 0,04	-16,95 \pm 0,10	-16,09 \pm 0,25	-20,81 \pm 0,55
37	-19,73 \pm 0,23	-17,16 \pm 0,15	-16,45 \pm 0,23	-21,78 \pm 0,15
40	-20,52 \pm 0,28	-18,57 \pm 0,15	-17,74 \pm 0,23	-24,08 \pm 0,42
44	-21,36 \pm 0,25	-19,48 \pm 0,26	-18,31 \pm 0,38	-24,58 \pm 0,30
49	-22,23 \pm 0,23	-19,99 \pm 0,26	-19,62 \pm 0,28	-24,74 \pm 0,19

Tabela 7 – Valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ (médias \pm desvio padrão), expressos em ‰, de tecidos de frangos de corte do tratamento T₄₂₋₅₆.

Dia de Coleta	Músculo	Quilha	Tíbia	Fígado
	Peitoral			
42	-19,07 \pm 0,10	-16,35 \pm 0,09	-16,14 \pm 0,07	-18,57 \pm 0,34
43	-19,40 \pm 0,14	-16,57 \pm 0,11	-16,36 \pm 0,07	-20,20 \pm 0,41
44	-19,67 \pm 0,16	-17,21 \pm 0,09	-16,90 \pm 0,24	-21,41 \pm 0,35
47	-20,50 \pm 0,17	-18,00 \pm 0,34	-17,59 \pm 0,25	-23,19 \pm 0,36
51	-21,27 \pm 0,09	-18,96 \pm 0,19	-17,78 \pm 0,40	-24,09 \pm 0,09
56	-21,93 \pm 0,32	-20,04 \pm 0,27	-18,65 \pm 0,38	-24,60 \pm 0,23

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)