



## Deposição de proteínas no fêmur de frangos de corte em função do balanço eletrolítico das dietas

Nominando Andrade de Oliveira<sup>1</sup>, Aloízio Soares Ferreira<sup>2</sup>, George Henrique Kling de Moraes<sup>3</sup>, Horacio Santiago Rostagno<sup>4</sup>, Márvio Lobão Teixeira de Abreu<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Agropecuária - UFRN.

<sup>2</sup> DZO - UFV.

<sup>3</sup> BBM - UFV

<sup>4</sup> DZO - UFV.

<sup>5</sup> UFPI.

**RESUMO** - Objetivando-se estudar a influência do balanço eletrolítico (BE) e do teor de proteína das dietas na deposição de proteínas colagenosas (PC) e não-colagenosas (PNC) na matriz óssea de frangos de corte, foram utilizados fêmures de frangos provenientes de um ensaio de desempenho. Os frangos foram alimentados, nas fases de 21 e de 22 a 42 dias de idade, com dietas com dois níveis protéicos (20,0 ou 23,0% PB) e oito níveis de BE (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 ou 350 Meq/kg). Adotou-se um delineamento experimental inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 8 x 2 (oito níveis de BE e dois níveis de PB), com quatro repetições. O maior valor para deposição de PNC nos ossos aos 21 dias e de PC aos 22 e 42 dias de idade foi obtido com as dietas com BE entre 150 e 200 Meq/kg. O nível protéico afetou a deposição de PC e PNC aos 21 dias. Não houve efeito do BE e dos níveis de PB na deposição de PNC aos 42 dias. O BE influenciou a deposição de proteínas nos ossos de frangos de corte jovens.

Palavras-chave: bioquímica do tecido ósseo, matriz óssea, proteínas colagenosas, proteínas não-colagenosas

## Effects of dietary electrolyte balance on protein deposition in broiler femur

**ABSTRACT** - A performance assay was conducted to study the effects of dietary electrolyte balance (EB) and crude protein levels on deposition of collagenous protein (CP) and the non collagenous protein (NCP) in the broiler bone matrix femurs. The broilers were fed diets with 20.0 or 23.0% of CP combined with 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, or 350 Meq/kg of EB from 1 to 21 and from 22 to 42 days. The experiment was analysed as a completely randomised design with a factorial arrangement of treatments (eight levels of EB and two levels of PC) and four replications. The higher value of NCP deposition in the bone at 21 days and CP at 22 and 42 days was obtained with diets containing EB values from 150 to 200 Meq/kg. Effect of dietary protein level on CP and NCP at 21 days old was observed. There was no effect of EB and crude protein levels on NCP deposition at 42 days. Effect of EB level on the CP deposition in the femurs of broilers at 42 days old was noticed. The electrolyte balance affected bone protein deposition in young broilers.

Key Words: bone matrix, bone tissue biochemistry, collagenous protein, non collagenous protein

### Introdução

As pesquisas na área de nutrição realizadas com o objetivo de estimar as exigências nutricionais para máxima expressão do potencial genético de aves têm visado à formulação de dietas para máxima produção. Para isso, é necessário considerar os nutrientes e suas possíveis interações com os minerais, pois o equilíbrio ácido-base pode interferir em maior ou menor grau na resposta produtiva das aves.

O equilíbrio ácido-básico refere-se à concentração do íon hidrogênio ( $H^+$ ) nos fluidos corporais. As funções metabólicas das células estão intimamente relacionadas à

concentração deste íon. Pequenas alterações na concentração de  $H^+$  podem iniciar ou reduzir as funções metabólicas das células e, portanto, a regulação da concentração deste íon constitui-se um dos fatores mais importantes para a homeostase (Murray et al., 2003).

A atividade das células ósseas pode ser detectada por meio de marcadores bioquímicos específicos liberados na circulação sanguínea durante o processo de remodelagem do osso. Esses marcadores de reabsorção óssea adquiriram importância específica a partir do indicativo de que estão associados ao risco de fraturas e perda óssea. Eles refletem a degradação osteoclástica do colágeno ósseo e incluem a

hidroxiprolina (Hyp) e a galactosil hidroxilisina (GHyl), que são aminoácidos modificados predominantes no colágeno e na ligação cruzada do piridinium ao colágeno. A força e a rigidez estrutural da matriz óssea resultam da ligação cruzada entre moléculas de colágeno adjacentes, como na montagem das fibrilas. Como produto do processo de maturação, a ligação cruzada do piridinium não pode ser reutilizada na síntese de colágeno novo nem ser liberada como resíduo do processo de formação óssea (Robins, 1995).

A matriz orgânica do osso contém diversas proteínas, principalmente o colágeno. As glicoproteínas (osseomucóides e osseoalbuminóides) são também constituintes do tecido ósseo. A composição primária do colágeno de diferentes espécies contém, em média, 35,0% de glicina, 12,0% de prolina, 11,0% de alanina e 9,0% de hidroxiprolina (Freitas, 2002).

A lisina e a prolina presentes no colágeno são precursoras dos aminoácidos modificados, exclusivos dos tecidos conectivos (hidroxiprolina e hidroxilisina), ao passo que a glicina substitui a cisteína e participa do metabolismo do ácido úrico, com importância fundamental no metabolismo de nitrogênio das aves (Vougham, 1970; Prockop & Williams, 1982).

As mudanças na concentração de proteínas não-colagenosas podem contribuir para a fragilidade do osso por interferência na mineralização e arquitetura normal (Vetter et al., 1991).

Entre as Gla-proteínas identificadas no tecido ósseo, encontram-se a osteocalcina e a Gla-proteína da matriz. A osteocalcina apresenta-se em maior quantidade, sendo considerada a principal proteína não-colagenosa (PNC) da matriz óssea, e corresponde a valores de 10,0 a 20,0% da PNC ou a 1,0% do total da proteína do osso. A osteocalcina é formada por 49 aminoácidos, apresenta dois sítios de ligação para  $\text{Ca}^{++}$  e, em ossos embrionários, está relacionada ao aparecimento de depósitos minerais histologicamente definidos (Hauschka et al., 1975).

A osteocalcina é uma proteína de baixo peso molecular que contém resíduos de  $\gamma$ -carboxiglutâmico que conferem à proteína suas propriedades de ligação ao mineral. A osteocalcina liga-se fortemente a cristais de hidroxiapatita e é um potente inibidor da formação desses cristais. No osso, a osteocalcina ocorre em associação à matriz mineralizada, a qual se liga via  $\alpha$  hélice Gla (Rodrigues, 2001).

Os níveis de osteocalcina na circulação têm sido correlacionados à formação e ao crescimento ósseo e à elevação do *turnover* ósseo. Como a osteocalcina é produzida unicamente pelos osteoblastos no osso, seus níveis séricos têm sido freqüentemente usados como marcador

específico da atividade do osteoblasto (Parthemore et al., 1993).

Considerando a importância destas informações, avaliou-se a influência dos níveis protéicos e do balanço eletrolítico das dietas na deposição de proteínas na matriz óssea de fêmures de frangos corte.

## Material e Métodos

O experimento de desempenho foi realizado no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Foram utilizados fêmures de frangos de corte machos provenientes de um ensaio de desempenho, no qual as aves (1 dia de idade e peso médio de 45 g) foram distribuídas uniformemente nas unidades experimentais. Adotou-se um delineamento experimental com arranjo fatorial 2 x 8 (níveis de proteína x níveis de balanço eletrolítico), com quatro repetições por tratamento (arranjo) e 20 aves por unidade experimental.

Nas fases de 1 a 21 e de 22 a 42 dias de idade, as aves receberam rações com 20,0 e 23,0% de PB, constituídas à base de milho, farelo de soja e glúten de milho, de forma a atender às necessidades nutricionais segundo valores descritos por Rostagno et al. (2000), exceto para potássio e cloro (Tabela 1). Essas rações foram formuladas de forma a conter balanço eletrolítico (BE) de 150 Meq/kg, utilizando-se como fonte de cloro o cloreto de amônia ( $\text{NH}_3\text{Cl}$ ).

Os valores de BE foram calculados de acordo com a equação proposta por Mongin (1981):

$$\text{BE} = (\% \text{Na}^+ \times 10.000/22,990) + (\% \text{K}^+ \times 10.000/39,102) - (\% \text{Cl}^- \times 10.000/35,453)$$

\* Equivalente grama

Para obtenção dos níveis de BE, as rações utilizadas nas fases inicial e de crescimento foram suplementadas, em substituição ao material inerte, com cloreto de amônia ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), para obtenção dos níveis de 0, 50 e 100 e 150 Meq/kg Meq/kg, ou carbonato de potássio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ), para os níveis de 200, 250, 300 e 350 Meq/kg (Tabela 2).

Aos 21 e 42 dias de idade, uma ave de cada repetição, com o peso médio da unidade experimental, foi sacrificada por deslocamento cervical e os ossos do fêmur de ambas as pernas foram removidos integralmente. Os ossos foram acondicionados em sacos plásticos, devidamente identificados por idade e tratamento e lacrados imediatamente após a coleta. Os ossos foram transferidos para caixas térmicas, resfriados, congelados a  $-5^\circ\text{C}$  e armazenados no Setor de Conservação Térmica do Laboratório de Bioquímica Animal da UFV.

Tabela 1 - Composição das rações experimentais (%)

Table 1 - Ingredient and calculated compositions of the experimental diets (%)

Item Item	Nível de PB na ração CP level in the diet			
	1 a 21 dias (days)		22 a 42 dias (days)	
	20,0%	23,0%	20,0%	23,0%
Milho (Corn)	60,870	55,913	61,785	55,913
Farelo de soja (Soybean meal)	30,128	28,853	25,582	28,853
Farelo de glúten de milho (Corn gluten meal)	-	7,941	4,100	7,941
Oleo de soja (Soybean oil)	2,571	1,632	2,998	1,632
Calcário (Limestone)	1,000	1,027	0,957	1,027
Fosfato bicálcico (Dicalcium phosphate)	1,860	1,826	1,629	1,826
DL-metionina (DL-methionine, 99%)	0,285	0,130	0,163	0,130
L-arginina (L-arginine, 99%)	0,097	-	0,153	-
Glicina (Glycine)	0,296	-	-	-
L-lisina HCl (L-lysine HCL, 98%)	0,332	0,295	0,308	0,295
L-treonina (L-threonine, 98,5%)	0,139	0,007	-	0,007
L-triptofano (L-tryptophan, 99%)	0,012	-	0,006	-
Sal (Salt)	0,469	0,460	0,392	0,460
Cloreto de amônia (Ammonia chloride)	0,122	0,134	0,129	0,134
Cloreto de colina (Choline chloride, 60%)	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura vitamínica <sup>1</sup> (Vitamin mix)	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura mineral <sup>2</sup> (Mineral mix)	0,050	0,050	0,050	0,050
Virginiamicina <sup>3</sup> (Virginiamicin)	0,050	0,050	0,050	0,050
Anticoccidiano <sup>4</sup> (Anticoccidian)	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante <sup>5</sup> (Antioxidant)	0,010	0,010	0,010	0,010
Areia lavada (Washed sand)	1,500	1,500	1,500	1,500
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
Nível nutricional calculado Calculated nutritional level				
Energia metabolizável (Met. energy) (kcal/kg)	3000	3000	3000	3000
Proteína bruta (Crude protein) (%)	20,00	23,00	20,00	23,00
Cálcio (Calcium) (%)	0,960	0,960	0,874	0,960
Fósforo total (Total phosphorus) (%)	0,668	0,679	0,603	0,679
Fósforo disponível (Available phosphorus) (%)	0,450	0,450	0,406	0,450
Sódio (Sodium) (%)	0,225	0,222	0,192	0,222
Potássio (Potassium) (%)	0,737	0,712	0,663	0,712
Cloro (Chlorine) (%)	0,484	0,457	0,366	0,457
Arginina total (Total arginine) (%)	1,324	1,321	1,250	1,321
Arginina digestível (Digestible arginine) (%)	1,260	1,260	1,178	1,260
Glicina+serina (Glycine+serine) (%)	2,096	2,096	1,808	2,096
Metionina+cistina total (Meth + total cys) (%)	0,890	0,901	0,817	0,901
Metionina+cistina digestível (Digestible meth + cys, %)	0,815	0,815	0,741	0,815
Lisina total (Total lysine, %)	1,250	1,252	1,148	1,252
Lisina digestível (Digestible lysine, %)	1,143	1,143	1,045	1,143
Treonina total (Total threonine, %)	0,874	0,873	0,746	0,873
Treonina digestível (Digestible threonine, %)	0,766	0,766	0,650	0,766
Triptofano total (Total tryptophan, %)	0,245	0,243	0,243	0,243
Triptofano digestível (Digestible tryptophan, %)	0,221	0,221	0,221	0,221
Balanço eletrolítico (Electrolytic balance, mEq/kg)	150	150	150	150

<sup>1</sup> Conteúdo/kg (Content/kg) - vit. A - 10.000.000 UI, vit. D<sub>3</sub> - 2.000.000 UI, vit. E - 30.000 UI, vit. B<sub>1</sub> - 2,0 g, vit. B<sub>6</sub> - 4,0 g, ácido pantotênico (pantothenic acid) - 12,0 g, biotina (biotin) - 0,10 g, vit. K<sub>3</sub> - 3,0 g, ácido fólico (folic acid) - 1,0 g, ácido nicotínico (nicotinic acid) - 50,0 g, vit. B<sub>12</sub> - 0,015 g, selênio (selenium) - 0,25 g, veículo (vehicle) q.s.p. - 1.000 g.

<sup>2</sup> Conteúdo/kg (Content/kg): Mn, 16 g; Fe, 100 g; Zn, 100 g; Cu, 20 g; Co, 2 g; I, 2 g e veículo (vehicle) q.s.p. - 1.000 g.

<sup>3</sup> Princípio ativo (active principle) - 50%.

<sup>4</sup> Princípio ativo - salinomicina 12 % (active principle - salinomycin).

<sup>5</sup> BHT.

Para iniciar a limpeza e retirada dos resíduos de penas e da musculatura, os ossos foram descongelados em geladeira convencional a 5°C durante 12 horas e, depois, em temperatura ambiente por 2 horas. Sequencialmente, foram descarnados e limpos de todo o tecido aderente.

Os ossos foram pesados e desmineralizados com volume constante de uma solução de sal dissódico de EDTA (ácido etilenodiamina tetracético), com 0,5 molar e 8,2 de pH, de acordo com a técnica descrita por Hauschka & Gallop (1977), para extração das Gla-proteínas ósseas ou PNC. O

Tabela 2 - Tratamentos constituídos pelas rações inicial e de crescimento (20,0 e 23,0% de PB) suplementadas com  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ou  $\text{K}_2\text{CO}_3$   
 Table 2 - Treatments constituted by the initial and growth diets (20.0 and 23.0% of CP) supplemented with  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ou  $\text{K}_2\text{CO}_3$

BE (mEq/kg) EB (mEq/kg)	Ração basal (kg) Basal diet (kg)	Inerte (kg) Inert (kg)	$\text{NH}_4\text{Cl}$ (kg)	$\text{K}_2\text{CO}_3$ (kg)	Total (kg)
0	98,5	0,693	0,807	-	100
50	98,5	0,962	0,535	-	100
100	98,5	1,231	0,269	-	100
150	98,5	1,500	-	-	100
200	98,5	1,151	-	0,349	100
250	98,5	0,802	-	0,698	100
300	98,5	0,453	-	1,047	100
350	98,5	0,104	-	1,396	100

$\text{NH}_4\text{Cl}$  – peso molecular 53,45; pureza 66,3% (weight molecular of 53.45; purity of 66.3%).

$\text{K}_2\text{CO}_3$  – peso molecular 138,20; pureza 56,44% (weight molecular of 138.20; purity of 56.44%).

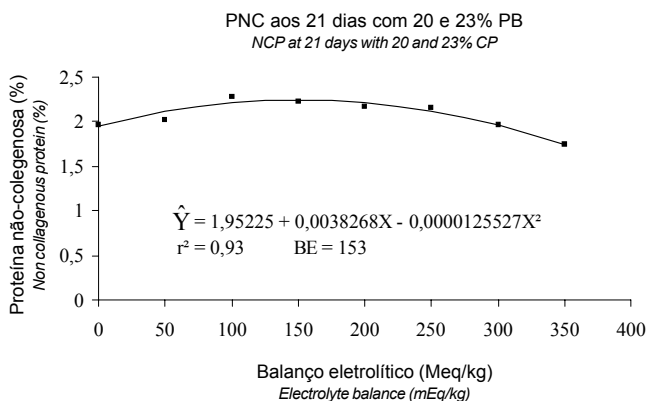


Figura 1 - Influência do BE e dos níveis de PB (20 e 23%) das dietas sobre a concentração de PNC nos fêmures de frangos de corte aos 21 dias de idade.

Figure 1 - NPC in femurs of broilers at 21 days old as affected by the EB and dietary CP levels (20 and 23%).

fim da extração foi determinado com o ácido oxálico. Os extratos de EDTA obtidos foram utilizados para determinação dos teores de PNC, conforme técnica descrita por Bradford (1976) utilizando-se albumina sérica bovina como padrão.

Os ossos, após desmineralização, foram exaustivamente lavados com água destilada e deionizada para eliminar o EDTA e submetidos à determinação do teor de PC, de acordo com técnica descrita por Guimarães (1988). O teor final de PC foi obtido multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25.

Avaliaram-se a interação BE  $\times$  teor de PB das dietas e seus efeitos sobre a deposição de PNC e PC nos fêmures das aves aos 21 e 42 dias de idade.

As análises estatísticas dos dados obtidos foram feitas por meio do programa SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 2000) utilizando-se a regressão polinomial de cada variável e aplicando-se o teste F na comparação das médias dos tratamentos para cada nível protéico.

O modelo estatístico empregado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + N_i + P_j + N_i/P_j + E_{ijk}$$

em que:  $Y_{ijk}$  = parâmetro observado na unidade experimental k, do nível de balanço eletrolítico i, dentro do nível de PB j;  $\mu$  = constante em função da média geral observada;  $N_i$  = efeito do balanço eletrolítico i;  $i = 0; 50; 100; 150; 200; 250; 300$  e  $350$ ;  $P_j$  = efeito do nível de PB j;  $j = 20,0$  e  $23,0\%$ ;  $N_i/P_j$  = efeito do balanço eletrolítico i, dentro do nível de PB j;  $E_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação.

## Resultados e Discussão

Conforme demonstrado na Tabela 3 e na Figura 1, observou-se efeito quadrático ( $P < 0,01$ ) do BE na deposição de PNC nos fêmures das aves aos 21 dias de idade. Entretanto, não se verificou interação BE  $\times$  níveis de PB nas idades analisadas.

Os teores médios de PNC observados neste estudo foram similares aos encontrados por Freitas (2002), em frangos de corte aos 21 dias de idade; por Silva et al. (2001), em estudo com diferentes níveis de nitrogênio não específico; e por Rodrigues (2001), ao avaliarem o nível de 12,5% de L-glutâmico para frangos de corte.

A dieta com o nível de 23,0% de PB resultou em deposição de PNC 10,9% superior à da dieta com 20% de PB. Os valores obtidos foram similares aos relatados por Silva et al. (2001), que constataram que o aumento de nitrogênio não específico na dieta eleva os teores de PNC nos fêmures de pintos de corte. Rodrigues (2001), no entanto, verificou que os teores de PNC foram maiores nas aves alimentadas com 6,25% de L-Glu que naquelas alimentadas com dietas contendo 12,5% de L-Glu. O nível do BE que possibilitou maior deposição de PNC nos ossos das aves aos 21 dias de idade foi de 153 Meq/kg para os dois níveis protéicos. Ao analisar a curva gráfica, observa-se que, à medida que se alcalinizou a dieta, houve aumento na

Tabela 3 - Percentual médio de proteínas não-colagenosas (PNC) nos fêmures de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade, de acordo com o BE e os teores protéicos das dietas

Table 3 - Average percentage of noncollagenous proteins (NCP) in the femurs of broiler at 21 and 42 days old as affected by the electrolytic and dietary crude protein levels

BE (Meq/kg) EB (mEq/kg)	PNC 21 dias NCP 21 days		PNC 21 dias NCP 21 days	PNC 42 dias NCP 42 days	
	20% PB 20% CP	23% PB 23% CP	20 e 23% PB 20 and 23% CP	20% PB 20% CP	23% PB 23% CP
0	2,02	1,95	1,97	1,23	1,18
50	1,83	2,23	2,02	1,17	1,19
100	1,96	2,60	2,28	1,36	1,07
150	2,31	2,16	2,23	1,16	0,99
200	2,18	2,17	2,17	1,18	1,11
250	1,84	2,47	2,15	1,01	1,31
300	1,78	2,17	1,97	1,17	1,14
350	1,73	1,76	1,74	1,01	1,38
Média (Average)	1,96a	2,19b	-	1,16	1,17
Efeito (Effect)	Q*	Q*	r <sup>2</sup> = 0,93	ns	ns
CV	14,33			15,56	

Q\* efeito quadrático (quadratic effect).

ns - não-significativo (P&gt;0,05) (not significant)

Means with different letters in same columns differ statistically.

deposição de PNC ( $r^2 = 0,93$ ) até o nível de 153 Meq/kg de BE e que, a partir desse ponto, ocorreu redução da deposição de proteínas principalmente quando o BE foi superior a 250 Meq/kg (25,2 e 23,0% para as dietas com 20,0 e 23,0% de PB, respectivamente). Pode-se inferir, portanto, que dietas alcalinas podem propiciar, até determinado nível de BE, maior deposição de PNC nos ossos longos de frangos de corte. Ribeiro (1990) e Patience (1990) também constataram efeitos da acidificação de dietas purificadas na redução dos teores de PNC nos ossos longos de aves de corte, enquanto Rondón et al. (1999) sugeriram que o poder alcalinizante das dietas pode proporcionar melhor pH para a atividade reformadora dos ossos de aves de corte.

Não houve efeito do BE e do nível de PB sobre a deposição de PNC nos fêmures das aves aos 42 dias de idade. O teor médio de PNC nos fêmures das aves nesta idade foi de 1,2%, similar ao encontrado por Silva et al. (2001) e inferior ao verificado por Rodrigues (2001). Embora não significativa, observou-se maior deposição de PNC nos ossos com BE entre 0 e 100 Meq/kg e entre 250 e 350 Meq/kg, com menor deposição das proteínas naqueles com BE entre 150 e 200 Meq/kg.

A acidificação das dietas com nitrogênio não específico pode diminuir a deposição de PNC e reduzir os problemas de anomalias de perna em frangos de corte jovens, em decorrência da atividade das PNC na inibição da mineralização óssea (Price, 1985; Price & Baukol, 1980). Essa relação entre os teores de PNC e a mineralização óssea pode ser explicada pelo aumento das Gla-proteínas (componentes da PNC), que pode inibir a mineralização dos ossos

ou estimular a liberação de cálcio do osso (Vermeer et al., 1995). Além disso, Rath et al. (2000) relataram que a osteocalcina tem a propriedade de ligar-se ao  $Ca^{++}$  por meio dos resíduos de Gla e pode associar-se a micelas de fosfolipídios do plasma. Segundo esses autores, essa interação íons  $Ca^{++}$  × componentes da matriz do osso e de outros tecidos mineralizados parece ser fundamental para a organização e integridade desses tecidos.

Em muitas pesquisas, tem-se evidenciado que a Gla-proteína (osteocalcina) desempenha importante função na modulação e no turnover ósseo. A expressão da osteocalcina é restrita ao osso, especificamente às regiões destinadas à mineralização. Esta proteína possui a propriedade de ligação à hidroxiapatita e tem sido expressa em níveis altos no tecido ósseo e na placa de crescimento (Young et al., 1992), de modo que as mudanças na concentração das PNC podem contribuir para a fragilidade do osso por interferir com a completa mineralização e/ou a arquitetura normal do osso (Vetter et al., 1991).

Portanto, as PNC podem contribuir para várias funções no osso, como estabilização da matriz, calcificação e outras atividades metabólicas reguladoras, e sua redução pode resultar em anormalidades no tecido ósseo.

Os resultados sugerem que o efeito BE sobre a deposição de PNC nos ossos é maior nas aves jovens (até 21 dias de idade), pois, nesse período, o pH da dieta influenciou significativamente a deposição de PNC nos fêmures dessas aves.

Conforme demonstrado na Tabela 4, houve efeito da interação (P<0,05) BE × nível de PB na dieta sobre a deposição de proteínas colagenosas aos 21 dias de idade. Os

tratamentos influenciaram ( $P < 0,05$ ) de forma linear a deposição de PC nos fêmures dos frangos de corte alimentados com dietas contendo 20,0% de PB e de modo quadrático naqueles que consumiram a dieta contendo 23,0% de PB (Figuras 2 e 3).

Os teores médios de proteínas colagenosas observados neste experimento foram inferiores aos obtidos por Rodrigues (2001) e Silva et al. (2001), em pintos com 14 dias de idade, e semelhantes aos encontrados por Freitas (2002), em frangos de corte de até 21 dias de idade alimentados com dietas contendo 19,0; 22,0 e 25,0% de PB.

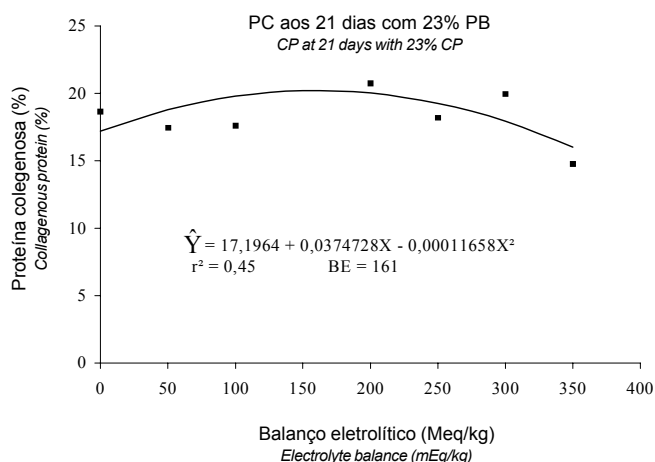


Figura 2 - Influência do BE e dos níveis de PB (20 e 23%) das dietas sobre a porcentagem de PC nos fêmures de frangos de corte aos 21 dias de idade.

Figure 2 - Crude protein percentage in the femurs of broiler chickens at 21 days old as affected by the EB and dietary CP levels (20.0% CP).

Além da idade do osso, a relação Ca:P determinada neste estudo foi próxima da considerada ideal, o que confirma a ocorrência de metabolismo na deposição dos minerais e justifica os teores de PC encontrados.

O nível de 20,0% de PB parece não ter sido suficiente para possibilitar resposta biológica conclusiva na deposição de proteínas colagenosas nos ossos das aves. O melhor nível de balanço eletrolítico estimado para deposição de PC nos ossos aos 21 dias de idade das aves alimentadas com dietas contendo 23,0% de PB foi de 161 Meq/kg.

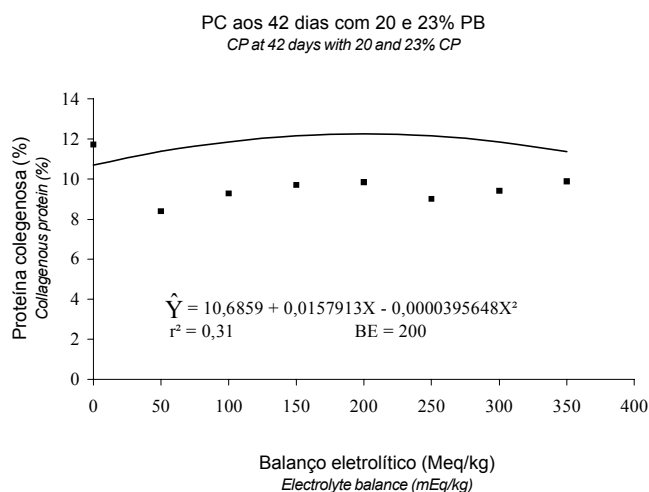


Figura 3 - Influência do BE e dos níveis de PB (20,0 e 23,0%) das dietas sobre a porcentagem de PC nos fêmures das aves aos 42 dias de idade.

Figure 3 - Crude protein percentage in the femurs of broiler chickens at 42 days old in as affected by the EB and dietary CP levels (20.0 and 23.0% PC).

Tabela 4 - Percentual médio de proteínas colagenosas (PC) nos fêmures de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade, de acordo com o BE e o teor protéico das dietas

Table 4 - Average percentage of collagenous proteins (CP) in the femurs of broiler at 21 and 42 days old as affected by the EB and dietary CP levels

BE (Meq/kg) EB (mEq/kg)	PC 21 dias CP 21 days		PC 42 dias CP 42 days		PC média Average PC 20 e 23% PB 20 and 23% CP
	20% PB 20% CP	23% PB 23% CP	20% PB 20% CP	23% PB 23% CP	
013,75	18,65	11,08	12,36	11,72	
50	11,51	17,45	8,72	8,07	8,39
100	12,19	17,61	8,68	9,71	9,28
150	15,03	21,82	9,94	9,48	9,71
200	14,56	20,75	10,36	9,35	9,85
250	16,95	18,20	9,18	8,84	9,01
300	15,22	19,95	7,98	10,84	9,41
350	16,23	14,77	9,12	10,65	9,88
Média (Average)	14,43	18,65	9,38	9,91	9,65
Efeito (Effect)	*L $r^2 = 0,60$	*Q $r^2 = 0,45$	*Q	*Q	$r^2 = 0,31$
CV	9,51	14,18	13,90		-

\*L – efeito linear ( $P < 0,05$ ) (linear effect).

\*Q – efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) (quadratic effect).

Houve efeito quadrático do BE na deposição de PC aos 42 dias de idade, entretanto, não se observou interação BE  $\times$  PB (Figura 3).

O melhor nível de BE para a deposição de PC aos 42 dias foi de 200 Meq/kg, mas estes resultados não apresentaram a consistência e acurácia desejadas ( $r^2 = 0,31$ ), pois os teores de PC encontrados foram inferiores aos relatados por outros pesquisadores e provavelmente tenham sido consequência do nível de mineralização dos ossos, que, na idade estudada, pode apresentar-se dentro das exigências fisiológicas das aves.

### Conclusões

A maior deposição de proteínas colagenosas e não-colagenosas no fêmur de frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade ocorre quando fornecidas dietas com balanço eletrolítico entre 150 e 200 Meq/kg.

O balanço eletrolítico influencia a deposição de proteínas não-colagenosas nos ossos em frangos de corte jovens.

### Literatura Citada

- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantifications of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochemistry*, v.72, p.248-254, 1976.
- FREITAS, H.T. **Efeitos de composição das dietas com níveis de proteínas e de nutrientes sobre o desempenho e as características ósseas de pintos de corte.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 144p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2002.
- GUIMARÃES, V.M.; MORAES, G.H.K.; ROSTAGNO, H.S. et al. Efeitos de aminoácidos não-essenciais no desenvolvimento e na incidência de problemas de pernas em pintos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.22, n.4, p.699-705, 1993.
- HAUSCHKA, P.V.; LIAN, J.B.; GALLOP, P.M. Direct identification of the calcium binding aminoacid gamma-carboxyglutamic in mineralized tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.70, p.3925-3929, 1975.
- HAUSCHKA, P.V.; GALLOP, P.M. Purification and calcium binding properties of osteocalcin, the gamma-carboxyglutamic acid-containing proteins of bone. In: WEISSIERMAN, R.H. (Ed.) **Calcium binding proteins and calcium function.** Amsterdam: Elsevier, 1977. p.338-347.
- MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: application in poultry. *Proceedings Nutrition Society*, v.40, p.285-294, 1981.
- MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.R. et al. **Harper's illustrated biochemistry.** 26.ed. London: Mc Graw-Hill, 2003. 693p.
- PARTHEMORE, P.; BURTON, D.W.; DEFTOS, L.J. Associations and dissociations between serum bone Gla-protein and alkaline phosphatase in skeletal metabolism. *Journal Orthopaedic Research*, v.11, p.671-676, 1993.
- PATIENCE, J.F. A review of role of acid-base balance in amino acid nutrition. *Journal of Animal Science*, v.68, p.398-408, 1990.
- PRICE, P.A. Vitamin K-dependent formation of bone Gla-protein (Osteocalcin) and its function. In: **Vitamins and hormones.** New York: Academic Press, 1985. v.42, p.65-109.
- PRICE, P.A.; BAUKOL, S.A. 1,25-Dihydroxy vitamin D3 increases synthesis of the vitamin-K-dependent bone protein by osteosarcoma cells. *Journal of Biological Chemistry*, v.225, n.24, p.11660-11663, 1980.
- PROCKOP, D.J.; WILLIAMS, C.J. Structure of organic matrix collagens structure (Chemical). In: NANCOLLAS, G.H. (Ed.) **Biological mineralization and desmineralization.** Berlin: Springer - Verlag, 1982. p.161-167.
- RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, W.E. et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poultry Science*, v.79, n.8, p.1024-1032, 2000.
- RIBEIRO, M.; MORAES, G.H.K.; FONSECA, J.B. et al. Efeitos de fontes e níveis de nitrogênio não-específico no desempenho e na incidência de anomalias nas pernas de pintos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.24, n.5, p.768-777, 1995.
- ROBINS, S.P. Collagens crosslinks in metabolic bone disease. *Acta Orthopaedics Scand*, v.66, p.171-175, 1995.
- RODRIGUES, A.C.P.; MORAES, G.H.K.; ROSTAGNO, H.S. et al. Efeitos de ácido L-glutâmico e de vitamina K no desempenho e nas anomalias nas pernas de pintos de corte. *Revista Ceres*, v.42, n.248, p.270-278, 1995.
- RONDÓN, E.O.O.; MURAKAMI, A.E.; MARTINS, E.N. et al. Sodium and chloride nutritional requirements for young broiler chickens (1 to 21 days of age). In: ANNUAL MEETING POULTRY SCIENCE ASSOCIATION, 88., 1999, Arkansas. **Proceedings...** Arkansas: Poultry Science Association, 1999. 63p.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 141p.
- SILVA, F.A. Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina D<sub>3</sub> nos fêmures e tibiotarsos de pintos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6S, p.2067-2077, 2001.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas.** Viçosa, MG: 2000.
- VERMEER, C.; JIE, K.S.G.; KNAPEN, H.J. Role of vitamin K in bone metabolism. *Annual Research Nutrition*, v.15, p.1-22, 1995.
- VETTER, V.; FISHER, L.W.; MINTZ, K.P. et al. Osteogenesis imperfecta: changes in noncollagenous protein in bone. *Journal of Bone Mineral Research*, v.6, p.501-505, 1991.
- VOUGHAM, J.M. **The physiology of bone.** Oxford: Clarendon Press, 1970. 325p.
- YOUNG, M.F.; KERR, J.M.; IBARAKI, K. et al. Structure, expression and regulation of major noncollagenous matrix proteins of bone. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, v.282, p.275-293, 1992.

Recebido: 09/12/04

Aprovado: 15/03/06