

ESTUDO PARA ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO DE ANÁLISE DE MINERAIS EM OSSOS DE AVES

Amanda Luft Berardinelli¹, Lana Flávia Baron², Eloise Claudia Parise³, Gizelle Cristina Bedendo⁴ e Everton Luís Krabbe⁵

¹Graduada em Química Tecnológica pela Universidade Federal de Santa Catarina.

²Graduanda em Farmácia pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, Estagiária da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CNPq/PIBIC, lanaflaviabaron@hotmail.com.

³Graduada em Medicina Veterinária no Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia.

⁴Analista da Embrapa Suínos e Aves.

⁵Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves.

Palavras-chave: tíbias, metodologia, minerais.

INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é metabolicamente ativo e multifuncional, constituído de células heterogêneas, estando em diversos estágios de diferenciação. São divididos em duas formas morfológicas: compacto, onde as fibrilas do colágeno estão posicionadas densamente; e esponjoso, que possui uma matriz porosa e pouco organizada. Os ossos são responsáveis pela sustentação da estrutura do corpo, estando intimamente ligados com o crescimento de todo organismo (1, 2). Através de eventos que ocorrem, há a regulação do depósito de minerais durante a vida do animal, sendo essa uma das funções dos ossos, reservatório principalmente de cálcio e fósforo (2). Estes íons, presentes no sangue e em fluidos intersticiais de tecidos em calcificação, em uma fase mineral sólida, quando vencem a barreira termodinâmica, por meio da sua conversão, ocorre a mineralização ou também conhecida calcificação. A presença desses minerais é responsável principalmente pela saúde óssea, desde a formação, manutenção da estrutura e rigidez do esqueleto (1). Desta forma, devido a inexistência de um protocolo padrão para análise desses minerais, o objetivo do presente estudo é verificar a influência de tratamentos prévios, com éter de petróleo e enzima protease sobre a composição mineral de tíbias (cinzas – CZ) e teor de matéria seca (MS).

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se 84 pares de tíbias de frangos de corte, oriundas de um experimento conduzido na Embrapa Suínos e Aves alimentadas de forma a atender seus requerimentos nutricionais e de manejo, divididas em três grupos com 28 pares cada. Para fins de comparação, de cada par, uma das tíbias foi analisada de acordo com a metodologia padrão da Embrapa (tíbias submetidas a mufla sem desengorduramento e cocção prévia) e a outra conforme os tratamentos pretendidos (T2, T4 e T6) apresentados na Tabela 1. Inicialmente todas as amostras foram submetidas a determinação de pré-matéria seca (pré-MS) em estufa a 55°C durante 72 horas, quando as amostras foram deixadas em repouso em bandejas forradas com papel pardo e, posteriormente pesadas. Ao final da fase de submissão aos tratamentos todas as amostras foram analisadas para MS em estufa a 105 °C durante 14 horas, após realizou-se pesagem das mesmas, quando foi determinado o teor de CZ em mufla a 600 °C durante 5 horas, seguido de pesagem e maceração em gral de porcelana. As amostras que foram submetidas ao tratamento, foram divididas e tratadas da seguinte forma: T2 imersão no éter de petróleo por três noites, para remoção de gordura, com troca de solvente no segundo dia, após secagem em estufa a 55 °C durante 72 horas e pesagem. T4 remoção da proteína com enzima protease (1 g de protease/1 Kg amostra), imersas em água destilada, onde o pH encontrava-se entre 6,0 e 7,0. Foram deixadas em banho-maria a 60 °C por 5 horas para ação enzimática, seguido de secagem em estufa a 55 °C durante 72 horas e pesagem. T6 consistiu da utilização dos dois tratamentos, éter de petróleo seguido de enzima protease. As amostras foram deixadas em éter de petróleo durante duas noites, sem troca de solvente, após uma noite em estufa a 55 °C e pesou-se. Depois de seca, foi feita digestão com a enzima protease, utilizando o mesmo método descrito com as amostras T4. Por fim, colocadas em estufa a 55 °C por uma noite e pesadas. As amostras após tratadas, seguiram o mesmo procedimento realizado para as tíbias controles (T1, T3 e T5). Para fins de análise, as respostas foram comparadas com seu respectivo controle (tíbias da mesma ave, sendo uma analisada pela metodologia controle e outra conforme metodologia teste), sendo as variáveis submetidas a análise de variância e as médias comparadas pelo teste F ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados na Tabela 2. Para a variável MS, não foi observado efeito do tratamento. No entanto, o preparo prévio das tíbias afetou a resposta teor de cinzas (CZ), sendo que tanto a exposição das tíbias ao desengorduramento por imersão em solvente (éter de petróleo), como a exposição a uma hidrólise enzimática (protease), bem como a adoção de ambos procedimentos. Com base na Figura 1, é possível ter uma idéia de como o preparo das tíbias influenciou na resposta teor de cinza, expresso na matéria seca. Claramente, o maior distanciamento entre o tratamento T6 e T5, demonstra que existe uma maior retirada de compostos orgânicos, implicando assim, em tíbias menos contaminadas e por consequência com um maior teor de cinza. Com base na observação prática no laboratório, o tratamento 2, utilizando éter de petróleo mostrou-se eficaz, pois o solvente apresentava-se turvo e amarelado ao final do tempo estipulado, comprovando a extração da gordura. No tratamento 4,

onde utilizou-se a enzima protease, ocorreu a decomposição das proteínas, pois a solução onde se encontravam as tíbias, estava com cor escura e odor característico da ação enzimática. Com a realização deste estudo, observou-se que as amostras de tíbias de aves sofreram influência significativa pelo tratamento com éter de petróleo e ou enzima protease. Contudo, é possível que tenha ocorrido a saturação do solvente ou o tempo tenha sido curto para a ação enzimática. Desta forma, sugere-se a repetição das análises visando validação ou adequações nos procedimentos, como mais trocas do solvente éter de petróleo, evitando sua saturação e aumento no tempo de ação da enzima protease, para confirmar a hidrólise total das proteínas. O fato do preparo prévio ter afetado o teor de cinza das amostras, pode impactar respostas de teores de minerais independentes, e este fato pode ser de grande relevância, por permitir análises mais precisas quanto ao perfil mineral de ossos de aves. Isso se confirmado, pode auxiliar no estudo do efeito de enzimas do tipo fitases.

CONCLUSÕES

O preparo prévio de tíbias de aves através de imersão em éter de petróleo e ou enzima protease, não afetou o teor de matéria seca, contudo afetou a resposta teor de cinzas na matéria seca.

REFERÊNCIAS

1. MACARI, Marcos; FURLAN, Renato Luís; GONZALES, Elisabeth (Ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a Frangos de Corte**. São Paulo: Funep, 2002. 375 p.
2. TORTORA, Gerard J; GRABOWSKI, Sandra R. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

Tabela 1. Protocolos adotados para o processamento das tíbias para determinação de sua composição mineral.

Protocolo/Tratamento	Pré-Matéria Seca	Extração Gordura	Protease	Matéria Seca	Muflo
T1, T3 e T5 - Controles	1º	----	----	2º	3º
T2 - Desengorduramento	1º	2º	---	3º	4º
T4 - Protease	1º	---	2º	3º	4º
T6 - Protease+Desengorduramento	1º	2º	3º	4º	5º

Tabela 2. Teores de matéria seca (MS) e cinzas (CZ) em tíbias de frangos seguindo distintos protocolos, comparados com seus pares.

Tratamentos	MS (%)	CZ (%)*
T1 x T2	47,92x48,41	39,57 x 47,35
	P = 0,3485	P = 0,0001
	CV% = 4,02 SE = 0,518	CV% = 4,17 SE = 0,484
T3 x T4	47,80 X 47,66	39,47 X 40,92
	P = 0,7423	P = 0,0066
	CV% = 3,19 SE = 0,406	CV% = 4,78 SE = 0,513
T5 x T6	48,39 X 49,09	40,03 X 50,02
	P = 0,2050	P = 0,0001
	CV% = 4,19 SE = 0,546	CV% = 4,26 SE = 0,512

*expresso na matéria seca

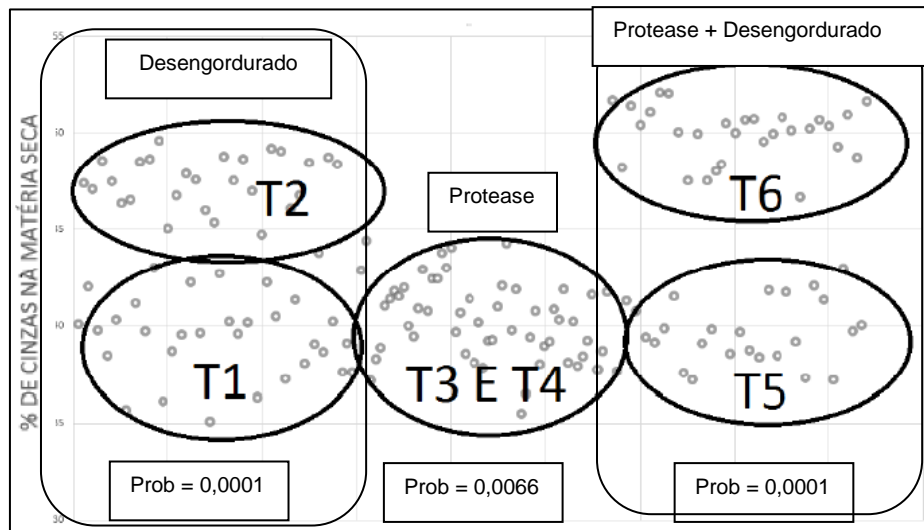


Figura 1. Resultados das amostras em porcentagem de CZ na MS. Onde T1, T3 e T5 são os grupos controles e, T2, T4 e T6 são respectivamente grupos tratados.