

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

CINÉTICA DO ^{15}N EM FRANGOS DE CORTE

Allan Reis Troni

Zootecnista

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

CINÉTICA DO ^{15}N EM FRANGOS DE CORTE

Allan Reis Troni

Orientadora: Profa. Dra. **Nilva Kazue Sakomura**

Coorientadores: Prof. Dr. **Nelson José Peruzzi**

Profa. Dra. **Juliana Célia Denadai**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia (Produção Animal).

2016

T772c Troni, Allan Reis
Cinética do ¹⁵N em frangos de corte / Allan Reis Troni. --
Jaboticabal, 2016
xv, 80 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Nilva Kazue Sakomura
Coorientadores: Nelson José Peruzzi, Juliana Célia Denadai
Banca examinadora: Rosangela Kiyoko Jomori Bonichelli, Vladimir
Eliodoro Costa, Edney Pereira da Silva, Amanda Liz Pacífico Manfrim
Bibliografia

1. Modelagem. 2. Isótopos estáveis. 3. Nutrição. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.087.7:636.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Allan Reis Troni, nascido em São José dos Campos no dia 04/07/1986. Iniciou a formação acadêmica em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concluído em 2010. Atuou principalmente na área de nutrição de não ruminantes, com bolsa de iniciação científica em nutrição de aves com orientação do professor Paulo Cezar Gomes no ano de 2009. Ingressou no mestrado na área de nutrição de aves na mesma instituição, concluído em 2012. Iniciou o curso de Doutorado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Júlio de Mesquita Filho; Unesp/Jaboticabal, no ano de 2012 sob orientação da professora Nilva Kazue Sakomura. Realizou treinamento de seis meses em 2015 na Pennsylvania State University campus University Park, sob a orientação do professor Michael Henry Green no desenvolvimento da modelagem por análise compartimental. Possui principal atuação na área de nutrição e modelagem para aves de produção e o uso de isótopos estáveis ambientais e enriquecidos como traçadores metabólicos.

EPIGRAFE

“Never doubt that a small group of thoughtful, committed citizens can change the world. Indeed, it is the only thing that ever has”.

Margaret Mead

“Do not go where the path may lead.
Go instead where there is no path and leave a trail”.

Ralph Waldo Emerson

DEDICATÓRIA

Este trabalho foi dedicado aos meus avós que, mesmo não estando mais ao nosso lado, foram essenciais em meu aprendizado e forneceram bases sólidas para o desenvolvimento e crescimento da família. Muito, muito obrigado Maria da Conceição Reis e Pascoal Troni pela dedicação.

AGRADECIMENTOS

Por me fornecer estrutura suficiente no desenvolvimento da pesquisa de doutorado, agradeço à Universidade Estadual Paulista e ao Departamento de Zootecnia.

A orientadora Nilva Kazue Sakomura pelo encorajamento de desenvolver um projeto desafiador e fornecer oportunidade suficiente para conhecer os pesquisadores que contribuíram com o trabalho.

Pelo financiamento dos quatro anos de doutorado, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao financiamento do projeto pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa do treinamento sanduíche.

Aos coorientadores: Nelson José Peruzzi pelo apoio incondicional nos momentos difíceis e acreditar na relevância da nossa ideia e a Juliana Célia Denadai que sempre abriu as portas do laboratório de pesquisas de Botucatu para direcionar o desenvolvimento do projeto.

Aos membros da banca de qualificação: Marcos Macari e Luciano Hauschild pelos ótimos conselhos e membros da banca de defesa: Edney Pereira da Silva por acreditar em mim desde os primeiros dias de trabalho em 2012 e Rosangela Kiyoko Jomori Borichelle pela disponibilidade a qualquer hora do dia.

Aos professores Carlos Ducatti e José Albertino Bendassolli por direcionar o andamento da pesquisa e disponibilizar o próprio tempo para os ensinamentos que levarei para toda a vida.

Aos professores Michael Henry Green e Joanne Balmer Green pelo exemplo de pessoas e pesquisadores. Todo o acolhimento, conselhos e conversas durante o período em que convivemos me ajudaram a melhorar como pessoa.

Aos amigos de trabalho do Laboratório de Ciências Avícolas da Unesp/Jaboticabal que ofereceram ajuda e, todos sem exceção, trouxeram muitos ensinamentos. Melina, Daniela, Rafael, Edney, Michele, Hilda, Gabriel, Nayara, Camila, Myrielle, Katiane, Juliano, Letícia, Henrique, Larissa, Joyce, Giuliana, Jaqueline Rafael, Fernando, Jaqueline, Hanay, Letícia Graziele, Israel, Marcos, Ako,

Dolores, Cristiane, Deise, Milena, Bruna e Renata: aos funcionários Robson, Izildo e Vicente pelo auxílio, montagem e colaboração nos experimentos.

Ao grupo carinhosamente chamado de Atomic Broilers, por acreditar no desenvolvimento da ideia, fazer acontecer e desejo que a linha de pesquisa não pare com esses integrantes. Rafael (amigo, conselheiro, mestrando e irmão japonês), Hanay (pelo incentivo no pontapé dos pilotos), Daniel (sempre disposto a conversar sobre os projetos e tomar uma cerveja nos finais de semana), Letícia (última estagiária que aceitou alguns conselhos e que irá fortalecer e muito o nosso grupo). Muito obrigado por terem a paciência em me escutar e pelos conselhos oferecidos, vocês fizeram a diferença.

Agradeço a companhia dos amigos do departamento de fisiologia pelos ensinamentos, conversas e apoio na linha de pesquisa: Daniel, Paulo Carneiro (grande amigo desde a graduação que tive a oportunidade de trabalhar junto), Fabricio, Fernando, Miguel e Raquel.

As conversas e aprendizado na bioclimatologia pelos amigos: Sheila, Angela, Marcos, Carol, Cinthia, Vivi (de tabela).

Aos companheiros que fiz durante a graduação e no mestrado em Viçosa, ao qual mesmo a distância, forneceram, fornece e fornecerá (espero) apoio a qualquer momento, turma de zootecnia 2005 vocês todos são muito importantes. Cleverson, Tainnah, Paulo, Tatiana, Palominha, Pedrão, Valdir, Luiz Fernando, Luciano, Luiz Felipe, Marcola, Matheus Souza, Mateuszinho, Mateus, Fatinha, Mel, Gabi,

Aos amigos de república, Wilton Ladeira, Marcelo Maia, Frederico Werneck, Luan Sousa e Warley pelo companheirismo e risadas ao longo destes quatro anos.

Aos amigos do colegial que sempre arrumam jeito (e tempo) para encontrar e manter a amizade. Ivan, Vivian, Paula e Felipe (vulgo Serjão). É bom retornar a São José e poder contar com vocês.

Com todos esses amigos a minha volta, só tenho a agradecer. Desculpe se esqueci de alguém no processo de escrita desta página.

Aos familiares que permitiram o meu desenvolvimento em Viçosa durante 7 anos e que, fortaleceram os laços quando retornei ao estado de São Paulo. Estar mais próximos a vocês ajudaram a entender o quão difícil é ficar tanto tempo longe. Obrigado pelo apoio, disponibilidade, risadas, conversas, ligações durante a semana

e encontros familiares nos aniversários (fatos raríssimos quando vivia em Minas Gerais). Pai, exemplo de honestidade, esforço e companheirismo. Me espelho em você (pode não parecer), mas tudo o que faço é para te mostrar e ver o teu sorriso. Mãe, alma leve e acolhedora, sabe como ninguém nos acalmar e dar a volta por cima quando há algum empecilho. Exemplo de mulher que não para no tempo e tem a vontade de sempre aprender e ajudar as pessoas. Cibeles, minha segunda mãe. Sempre me apoiando a correr atrás de um sonho com os pés no chão e dando o exemplo de como se colocar a dispor do próximo, não medindo esforços. A vocês, minha base sólida, obrigado.

A família Nakamura, em nome de Cláudio Fujio Nakamura, a família Kikuchi, em nome de Elvia Satie Nakamura, pelo acolhimento e por deixarem que eu faça parte da família de vocês.

A Cláudia Yukie Nakamura, que desde 2009 tem a difícil tarefa de estar ao meu lado, como amiga, namorada, noiva e em breve esposa. Uma luz que apareceu sem esperar, que ilumina a cada sorriso e sempre me ensinou que as pessoas têm um lado bom e que é preciso aprender com elas. Obrigado pelo apoio no final da graduação, obrigado pelo companheirismo durante o mestrado, obrigado por ter compreendido o período que ficamos três longos anos morando em cidades diferentes e muito obrigadas por continuar a acreditar em meus sonhos quando retornou a viver novamente comigo. Sempre fez a diferença em minha vida e disse uma frase que marcou, “Sozinhos, vamos mais rápido... juntos, vamos mais longe”. Obrigado por estar ao meu lado, sempre.

Sumário

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.INTRODUÇÃO	1
2.REVISÃO DE LITERATURA	2
Direcionamento dos estudos proteicos.....	2
Isótopos estáveis – O que são?	5
História	6
Espectrômetro de massas	7
Utilização do conceito nas ciências da vida.....	9
O que é <i>turnover</i> ?.....	12
Utilização do conceito na experimentação.....	13
Modelagem compartimental.....	16
Modelos conceituais e matemáticos.....	17
Estado de equilíbrio	19
Parâmetros cinéticos	20
3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
CAPÍTULO 2 - CRESCIMENTO TECIDUAL E INCORPORAÇÃO DO ^{15}N EM FRANGOS DE CORTE	29
4.INTRODUÇÃO	31
5.MATERIAL E MÉTODOS	32
Condições experimentais	32
Dietas	33
Cronograma e coleta das amostras	33
Amostras para determinar a curva de crescimento tecidual	35
Amostras para determinar a curva de incorporação ^{15}N	36
Análise dos dados	36
Curva de crescimento	36
Curva de incorporação do ^{15}N tecidual	37
6.RESULTADOS	38
Descrição do crescimento.....	38
Substituição e incorporação do ^{15}N	40
Fracionamento isotópico	42
7.DISSCUSSÃO	43

Descrição do crescimento.....	43
Substituição e incorporação ^{15}N	44
Fracionamento isotópico	46
8.CONCLUSÕES	47
9.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
CAPÍTULO 3 - CINÉTICA DO ^{15}N: UMA ABORDAGEM COM O USO DA ANÁLISE COMPARTIMENTAL PARA FRANGOS DE CORTE	53
10.INTRODUÇÃO	55
11.MATERIAL E MÉTODOS	56
Instalações.....	56
Dietas	56
Coleta e preparo das amostras.....	58
Deposição do ^{15}N tecidual.....	59
Construção do Modelo teórico e matemático.....	60
Parâmetros da análise compartimental	61
Elaboração do modelo.....	61
12.RESULTADOS	61
Modelo compartimental	61
Parâmetros cinéticos	66
Infusão única.....	68
13.DISSCUSSÃO	72
Modelos compartimentais	72
Simulação da análise compartimental do crescimento	72
Parâmetros cinéticos	73
Simulação de infusão única.....	75
14.CONCLUSÕES	77
15.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CINÉTICA DO ^{15}N EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO- Pesquisas que visam o aumento da produção avícola podem correlacionar a nutrição e o crescimento animal com o dinamismo do processo entre a síntese e degradação tecidual e, conseqüentemente, ampliar a discussão sobre o metabolismo da deposição proteica. Este conhecimento conjunto demonstra a grande complexidade que são os organismos vivos. Diante do exposto, a pesquisa foi realizada com o objetivo de descrever o rápido crescimento dos frangos de corte com o uso da modelagem matemática de crescimento, incorporação isotópica (Capítulo 2) e, análise compartimental em conjunto com a quantificação dos parâmetros cinéticos (Capítulo 3). Foram utilizados 136 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500® criados individualmente divididos em fase inicial (0 a 14 dias), crescimento (14 a 42 dias) e final (35 a 70 dias), os quais foram alimentados com dietas naturalmente enriquecidas com ^{15}N . Amostras de alimentos e excretas foram coletadas diariamente e, jejuno, fígado, plasma, peito e penas foram coletadas no momento dos abates sucessivos. A concentração de isótopos em função do tempo foi determinada por IRMS. Esta pesquisa compila resultados fisiológicos sobre a redução na incorporação do nitrogênio com o avançar da idade associado a teorias conhecidas da modelagem do crescimento. Além de apresentar o uso da análise compartimental a experimentos com enfoque nutricional para frangos de corte, confirma o papel essencial do fígado e do plasma no metabolismo nitrogenado, eficiência na transformação da proteína dietética em proteína animal e demonstra o “turnover” do nitrogênio. Esta pesquisa reforça a necessidade da utilização de diferentes metodologias de análise matemática para a compreensão nutricional, metabólica e fisiológica do período de rápido crescimento do frango de corte.

Palavras-chave: Isótopos estáveis, modelagem, nutrição

KINETIC OF ^{15}N IN BROILER CHICKENS

ABSTRACT- Researches aimed at increasing poultry production could correlate the nutrition and animal growth with the dynamism of the process between synthesis and tissue degradation and thus increase the discussion on the metabolism of protein deposition. This knowledge demonstrates the high complexity of living organisms. According to this, the study was conducted with the aim of describe fast growth of broiler chickens with the use of mathematical modeling of growth, isotopic incorporation (Chapter 2), and compartmental analysis along with the measurement of kinetic parameters (Chapter 3). Were used 136 male broilers Cobb 500® strain created individually divided in initial phase (0 to 14 days) growth phase (14 to 42 days) and final phase (35 to 70 days), of which they were fed diets naturally enriched with ^{15}N). Feed samples and excreta were collected daily and jejunum, liver, plasma, breast and feathers were collected at the time of successive slaughter. The isotope concentration versus time was determined by IRMS. This research compiles physiological results of reduction in nitrogen incorporation with advancing age associated with known theories of growth modeling. In addition to presenting the use of compartmental analysis experiments with the nutritional approach for broilers, confirming the essential role of the liver and plasma in nitrogen metabolism, efficient transformation of dietary protein into animal protein and demonstration of nitrogen turnover. This research reinforces the need to use different methods of mathematical analysis for nutritional understanding, metabolic and physiological of fast broiler growth period.

Keywords: Modeling, nutrition, stable isotopes

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.INTRODUÇÃO

Tendo em vista os investimentos na produção de frangos de corte e a importância mundial deste produto como fonte de proteína animal, estudos voltados para este setor avés aguçam pesquisadores a conhecer mais sobre a dinâmica proteica, nutriente este que abrange todos os organismos conhecidos.

De maneira simplista, o nutriente ofertado aos animais é convertido em produto (carne, ovo, leite, lã) e o percentual não aproveitado é excretado. Mas a investigação da cinética da proteína não é tão simples quanto parece.

Uma ferramenta passível para tais pesquisas são as razões isotópicas dos isótopos estáveis, que existem em todos os metabólitos corporais, mas com a vantagem de que o pesquisador conhece a quantidade de entrada no sistema e pode identificar os destinos para cada compartimento específico escolhido.

As razões isotópicas dos isótopos estáveis têm sido utilizadas por mais de 75 anos na avaliação de taxas de síntese, degradação e “turnover” tecidual para proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e minerais em animais e seres humanos. Com respeito ao metabolismo do nitrogênio, este envolve uma rede complexa de fluxos entre tecidos, que consiste no transporte e / ou transformação de compostos tais como proteínas, aminoácidos, ureia e amônio. Estas transformações resultantes de processos metabólicos do nitrogênio garantem a homeostase corporal.

Estudos de caráter fisiológico que trabalham em sinergia com a nutrição por meio da modelagem fornecem subsídios no conhecimento da cinética de nutrientes. Estes modelos podem ainda ser associados aos estudos avícolas que utilizam a razão isotópica dos isótopos estáveis como traçadores em suas dietas, pois apresentam a estimativa de quão rapidamente os nutrientes teciduais depositados são substituídos e incorporados por nutrientes derivados da dieta.

Neste sentido, o uso da análise compartimental pode significar um avanço nas pesquisas com aves de produção. Esses modelos matemáticos possuem a função de descrever algebricamente o processo biológico sistêmico, amplamente complexo, em um número limitado de compartimentos e rotas, direcionando o conhecimento integrado da ciência, a qual permite entender o dinamismo e fluxos dos nutrientes entre os tecidos corporais de maneira conjunta.

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo geral:

- 1) Descrever a cinética de utilização do nitrogênio para diferentes tecidos em frangos de corte durante três idades durante a fase de crescimento,

E objetivos específicos:

- 2) Descrever o crescimento tecidual por meio das curvas de Gompertz para todo o período experimental de 0 a 70 dias de vida;
- 3) Quantificar a incorporação do isótopo estável de ^{15}N tecidual durante a fase inicial (0-14 dias), crescimento (14 a 42 dias) e final (35 a 70 dias) com o uso da variação da razão isotópica do isótopo estável natural;
- 4) Descrever a cinética do nitrogênio em frangos de corte em três idades de criação utilizando conceitos da análise compartimental;
- 5) Quantificar os parâmetros cinéticos referentes aos tecidos do modelo;
- 6) Simular o comportamento do nitrogênio por meio da infusão única do traçador metabólico.

2.REVISÃO DE LITERATURA

Direcionamento dos estudos proteicos

O metabolismo proteico dos seres vivos é fonte frequente de pesquisas científicas, as quais procuram definir reações metabólicas, processos bioquímicos, utilização e requerimentos proteicos, molécula esta que abrange todos os

organismos conhecidos. Artigos relacionados ao metabolismo proteico alcançou um mínimo de 3.921.460 e mais especificamente, 15.949 artigos sobre proteína na nutrição animal, valor este encontrado no “Pubmed Search”, em agosto 2015.

Bequette (2003) cita que os primeiros conhecimentos gerados sobre o metabolismo proteico e nutrição podem ser encontrados há 250 anos, mas a substância foi introduzida oficialmente como proteína por Mulder (1838).

As proteínas são polímeros não ramificados de aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas, podendo ser constituídas por um ou mais polímeros. Cerca de três quartos dos sólidos corporais são formados por proteínas e são responsáveis por executar inúmeras funções na manutenção da homeostase e desenvolvimento do organismo. Entre as funções, podemos destacar a regulação metabólica via hormônios, componente de estruturas celulares, transportadores de substâncias, defesa imunológica, fonte energética, constituinte enzimático e transportes de substâncias como o oxigênio. As propriedades químicas das proteínas são tão extensas que constituem grande parte de toda a bioquímica (GUYTON, 2006).

O fígado sintetiza as proteínas plasmáticas, como albumina, células do sistema imunológico (principalmente leucócitos), enzimas digestivas e colágeno dérmico. Quando os aminoácidos estão acima dos requerimentos para a síntese proteica devido ao excesso de proteínas via dieta, não há armazenamento e o excedente é oxidado ou convertido em hidratos de carbono pelo fígado e rim, principais órgãos do catabolismo de aminoácidos. O custo energético deste metabolismo é alto, necessitando de 4,5 a 7 mols de adenosina tri fosfato (ATP) por mol de ligação peptídica formada e, 1 ou 2 mols de ATP por mol de ligação peptídica quebrada (DOHERTY *et al.*, 2009).

Durante a degradação de aminoácidos, o grupo α -amino é removido e o esqueleto de carbono resultante é convertido em metabólitos intermediários, principalmente em piruvato, acetil-CoA ou intermediários de três carbonos do ciclo do ácido cítrico (NELSON *et al.*, 2008). A perda do grupo α -amino ocorre por desaminação oxadativa ou transaminação.

Esta complexa rede de reações bioquímicas do metabolismo proteico desde o momento da ingestão a excreção, aguça pesquisadores a conhecer mais sobre a dinâmica da proteína. Schoenheimer (1946), com a utilização de compostos

enriquecidos isotopicamente (^{15}N , ^2H), demonstraram que não foi apenas a dinâmica de proteínas corporais (síntese e degradação), mas as taxas de “turnover” e o direcionamento do nitrogênio variam entre tecidos e órgãos.

Podemos definir “turnover” como processo contínuo de síntese e degradação da proteína corporal (RATHMACHER, 2000), mecanismo homeostático este de extrema importância ao qual altera de maneira significativa o acréscimo de proteína corporal dos animais.

Os mecanismos de síntese e degradação são independentes e influenciados por diversos fatores, tais como: a qualidade das proteínas (WOLFE, 1992), consumo de ração, idade animal (RATHMACHER, 2000; DUCATTI *et al.*, 2014), nível proteico da dieta, temperatura e ambiente (FARIA FILHO, 2006) e o nível energético da alimentação (COLETTA *et al.*, 2012 e HARRISON *et al.*, 2011).

Não somente o fornecimento, mas, a qualidade (perfil de aminoácidos) das proteínas dietéticas é importante para uma ótima produtividade, e conhecimentos nutricionais aliados às estratégias fisiológicas de absorção dos nutrientes auxiliam a eficiência produtiva, lucratividade, bem estar e sustentabilidade dos sistemas produtivos, visando o aumento na produção dos alimentos de origem animal e menor produção de resíduos.

Jonker *et al.* (2002) fez uma análise sobre a produção de leite nos Estados Unidos, mostrando que o excesso proteico de 7% na dieta resulta em aumento de 16% na excreção urinária de nitrogênio. Para aves e suínos a suplementação de aminoácidos reduz os níveis de proteína total da dieta e promove redução de 30 a 40% na excreção nitrogenada. Com o aumento da concentração do aminoácido limitante na dieta, sua eficiência de utilização decresce em virtude da maior proporção destes aminoácidos serem direcionados para processos metabólicos alternativos, não relacionados com a deposição proteica (HEGER e FRYDRYCH, 1989).

Na nutrição animal aplicada, o uso de modelos matemáticos para entender os sistemas biológicos torna-se comum, na tentativa de englobar características fisiológicas a respostas ambientais que influenciam a produção animal. O objetivo mais importante de um modelo é correlacionar os parâmetros de uma forma simples

com as respostas observadas e então, descrever este modelo mais complexamente, de modo que este possa se aproximar de um sistema real.

Metodologias têm sido suficientes para determinar exigências nutricionais (BONATO *et al.*, 2014; LIEBERT, 2015; SAKOMURA *et al.*, 2015) auxiliando no desenvolvimento de melhores dietas e aumentando o desempenho animal. No entanto, estas metodologias não possuem o enfoque de quantificar o processo de “turnover”. As proteínas possuem características de permanência no tecido a que foram depositadas, e que, podem ser alteradas em resposta aos diferentes tratamentos. Desta forma, a quantificação dos níveis proteicos não faz menção a sua atividade e uso, trazendo poucas respostas quanto à compreensão da cinética dos animais (KUCHAR, 2010).

Desta forma, conhecimento fisiológico e metabólico dos nutrientes é necessário para iniciar a descrição da cinética proteica em organismos animais. Na obtenção de dados do fluxo de massas entre órgãos, os isótopos estáveis podem ser utilizados como traçadores (GREEN e GREEN, 1990; COBELLI e FOSTER, 1998).

Isótopos estáveis – O que são?

Do grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), isótopos refere-se a elementos que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica, termo este citado por Sr. Frederick Soddy no início do século XX e amplamente utilizado até os dias atuais.

Os isótopos podem ser definidos como átomos de um mesmo elemento químico que apresentam o mesmo número de prótons (Z), e diferentes números de nêutrons (N), portanto são elementos que diferem em número de massa ($A = Z + N$).

O núcleo de um átomo possui os números específicos A e Z, chamado nuclídeo. Tal nuclídeo é estável apenas para determinadas combinações de números Z e N. Atualmente, 256 nuclídeos estáveis são conhecidos. Os nuclídeos instáveis, ou não estáveis, se diferem do elemento estável pela emissão de radiação, ou seja, emitem até o momento em que a estabilidade seja atingida. O número de nuclídeos instáveis sintetizadas em aceleradores e reatores nucleares

crece constantemente, mais de 3000 foram identificadas e cerca de 30 novos núclídeos são sintetizados por ano (PFÜTZNER *et al.*, 2012).

Se tratando de propriedades químicas, estas são determinadas pelo número, arranjo e carga provinda pela eletrosfera. Este número e arranjo são, por sua vez, determinados pela carga nuclear. Portanto, os isótopos de um determinado elemento terão propriedades químicas praticamente idênticas e propriedades físicas com pequenas diferenças devido ao tamanho do núcleo, referente à sua massa. Esse aumento em pequenas unidades na massa é suficiente para separar os isótopos de um mesmo elemento.

Fazendo referência a importância desta variação dos elementos na biosfera, qualquer elemento disposto na tabela periódica não possui massa com valor inteiro. Como exemplo, antigamente o nitrogênio poderia ser encontrado com o valor de massa (A) referente a 14. Com o avanço da espectrometria de massas, a massa atômica relativa de um elemento poderia ser estimada a partir dos valores dos seus isótopos estáveis e suas abundâncias relativas. Assim, a massa atômica relativa passou a ser expressa como um valor médio ponderado, ou seja, a massa atômica do nitrogênio está descrito com o valor 14,0067. Em 2009, União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) decidiu expressar o peso atômico padrão do hidrogênio e de mais outros nove elementos (Li, B, C, N, O, Si, S, Cl e I) como um intervalo não constante (COPLEN e Holden, 2011). Desta forma, nas tabelas periódicas atuais, pode-se encontrar a notação do nitrogênio como N: 14,00643 – 14,00728.

História

A descoberta de radioatividade por Becquerel (1896) e dos elementos radioativos polônio e rádio pelo casal Curie, (CURIE e CURIE, 1898) deu início a um avanço científico para o mundo a respeito da estrutura subatômica da matéria (WALTON 1992).

Através das primeiras obras, Rutherford (1899) publicou o conceito de meia-vida radioativa e provou que a radioatividade causa a transmutação de um elemento

químico em outro, além de distinguir e nomear as radiações alfa e beta. Em 1900, Villard descobriu os raios gama, enquanto estudava o urânio e o rádio. A descoberta do núcleo atômico (RUTHERFORD, 1911) e do nêutron (CHADWICK, 1932) foram outros dois marcos nas pesquisas atômicas e deram à luz a uma nova disciplina nuclear física. Uma boa revisão sobre estas pesquisas foi descrita por Pais (1986).

Em 1934, foram publicados os conceitos da radioatividade β^+ e a teoria do decaimento destas partículas (FERMI, 1934; CURIE e JOLIOT, 1934). Foi também o primeiro instante que um nuclídeo radioativo sintetizado em laboratório entrara em contraste com substâncias radioativas conhecidas de origem natural.

Em geral, a informação sobre os nuclídeos são provindos por diferentes abordagens experimentais. O estudo do decaimento radioativo sempre foi e ainda continua a ser uma ferramenta importante na física nuclear. Grande contribuição dos estudos de decaimento é representada pela teoria de meia vida. Os valores de meia-vida fornecem uma forma de identificar processos biológicos e oferece testes para o uso de modelos nucleares (PFUTZNER *et al.*, 2012).

Espectrômetro de massas

J. J. Thomson foi o primeiro cientista a separar os átomos e moléculas de um gás, de acordo com suas massas. Por esse método, ele foi capaz de mostrar que o elemento neônio apresentava dois tipos de átomos, alguns com peso relativo 20 e outros com peso 22. Em 1919, Aston aperfeiçoou o trabalho de Thomson e produziu um novo aparelho de raios positivos, no qual se alcançava maior separação de íons de diferentes massas, cada um correspondendo a um número definido da razão carga/massa. Por mostrar um espectro em linhas, foi chamado de espectrógrafo de massas. Esse aparelho destinava-se às razões isotópicas e determinações de massas atômicas.

Dempster (1936) desenvolveu um aparelho mais simples e apropriado para medidas quantitativas de isótopos, apesar de não poder ser usado para fazer medidas de massas atômicas. O aparelho de Dempster foi chamado de espectrômetro de massas (“Mass Spectrometer” - MS), uma vez que a corrente de

íons era medida eletronicamente e não registrada numa chapa fotográfica como no aparelho de Aston. Em meados da década de 30, os espectrômetros de massas determinaram a composição e as abundâncias dos isótopos dos elementos de ocorrência natural.

Um espectrômetro de massas de razão isotópica (“Isotope Ratio Mass Spectrometer” - *IRMS*) constitui-se, basicamente de: 1) Unidade de admissão ou de entrada para amostras gasosas; 2) Fonte de ionização; 3) Unidade aceleradora de íons; 4) Defletor magnético de íons e 5) Detector.

Em espectrômetros de massas de razão isotópica acoplados com cromatógrafos (“Gas Chromatographic Mass Spectrometer” - *GC-MS*, “Gas Chromatographic Isotope Ratio Mass Spectrometer” - *GC-IRMS* e “Automated Nitrogen e Carbon Analyzer Isotope Ratio Mass Spectrometer” - *ANCA-IRMS*) são feitas determinações de teores de C, N, H e S em amostras minerais e orgânicas, além da razão isotópica do elemento de interesse. Atualmente, há um fluxo contínuo de gás de arraste (hélio ultra puro) que carrega o gás produzido no cromatógrafo até a entrada do *IRMS*.

O *ANCA-SL* da Europa Scientific UK está exemplificado na Figura 1. Os sistemas dedicados são providos de software com controle de pulso de O_2 , permitindo que o seu volume seja variável para atender o tipo e tamanho da amostra desejada.

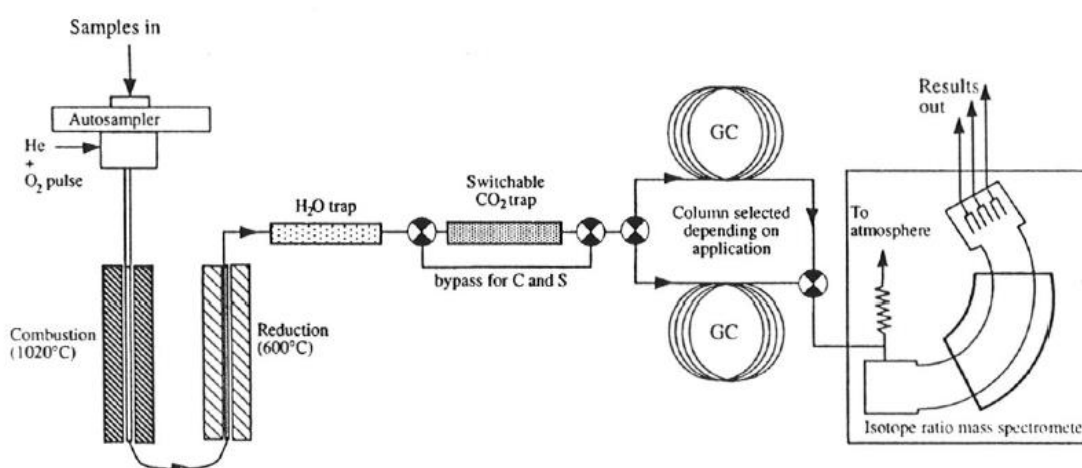


Figura 1 – Sistema de analisador automático *ANCA-SL/IRMS* da Europa Scientific (UK) (BARRIE E PROSSER, 1996).

De forma geral, os procedimentos de formação dos gases puros para a análise no IRMS possuem características específicas dependendo do elemento a ser trabalhado. Assim, é de grande importância que estes procedimentos sejam realizados de maneira integral, pois qualquer alteração poderá causar interferências no resultado final, os quais são baseados em quantidades ínfimas de cada amostra que representará uma grande parte, por exemplo, de um vegetal ou animal completo.

Utilização do conceito nas ciências da vida

Os isótopos estáveis estão presentes nos ecossistemas e sua distribuição natural reflete, de forma integrada, a história dos processos físicos e metabólicos do ambiente (PEREIRA e BENEDITO, 2008).

Utilizados em pesquisas por não sofrerem decaimento espontâneo e não emitirem radiação (em comparação aos isótopos radioativos), os isótopos estáveis de carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre (CHON'S) possuem um elemento abundante (^{12}C , ^1H , ^{16}O , ^{14}N , ^{32}S) e, um ou dois isótopos estáveis com menor prevalência na biosfera (^{13}C , ^2H , ^{17}O , ^{18}O , ^{15}N , ^{33}S , ^{34}S) (Tabela 1).

A maior abundância de um elemento nem sempre é representado pelo isótopo leve. Temos o exemplo do boro (B) que possui como isótopo mais abundante o ^{11}B (com seis nêutrons, prevalência 80%) em comparação ao seu isótopo mais leve (^{10}B). Assim como o selênio, que apresenta o isótopo de massa 80 (^{80}Se) como o mais abundante (49,6%) em comparação com os seus outros isótopos estáveis (^{74}Se – 0,87%; ^{76}Se – 9,36%; ^{77}Se – 7,63%; ^{78}Se – 23,78% e ^{82}Se – 8,73%).

Normalmente os valores dos deltas são correlacionados aos padrões isotópicos internacionais, os quais foram escolhidos arbitrariamente como padrões isotópicos primários. Para os isótopos estáveis do nitrogênio o padrão aceito é o ar atmosférico, o qual é considerado uma mistura isotópica homogênea na superfície terrestre. Para os isótopos estáveis do carbono o padrão é o Cretaceous carbonate fossil *Bellemnites americana*, da formação Peedee do Sul da Carolina/USA, abreviadamente V-PDB.

Tabela 1- Abundância natural dos isótopos estáveis em átomos %

Isótopo leve		Isótopo pesado		Padrão Internacional
¹² C	98,89	¹³ C	1,108	V-PDB
¹ H	99,98	² H	0,015	V-SMOW
¹⁶ O	99,75	¹⁷ O	0,037	V-SMOW e PDB
		¹⁸ O	0,203	
¹⁴ N	99,63	¹⁵ N	0,366	N ₂ atm
³² S	95,02	³⁴ S	4,220	V-CDT

DUCATTI (2007). V-PDB é a abreviação do Cretaceous carbonate fossil Bellemnitella americana, da formação Peedee da Carolina do Sul/USA. V-SMOW é a abreviação Vienna Standard Mean Ocean Water. V-CDT é a abreviação do mineral troilita do meteorito Cañon Diable.

Em relação ao seu padrão internacional teremos valor positivo em delta, quando a amostra apresentar maior quantidade do isótopo menos abundante. Como exemplo, o padrão internacional para o nitrogênio é o ar atmosférico, que possui valor igual a 0‰. Quando o valor de delta for positivo, há maior quantidade do ¹⁵N, portanto a amostra será mais enriquecida que o padrão N₂atm.

Estudos com isótopos são encontrados na geologia (RIBEIRO *et al.*, 2012), geoquímica (SHARP, 2007), medicina (MARQUINI *et al.*, 1998), ecologia (LEPOINT *et al.*, 2004), ciência animal (CANTALAPIEDRA-HIJAR *et al.*, 2015) e ciência vegetal (GUY *et al.*, 1993). Os isótopos estáveis de H e O podem ser utilizados na energia dispendida em processos metabólicos (DUGAS *et al.*, 2010), já os isótopos de C, N e S são utilizados para elucidar processos bioquímicos em vegetais (MCCONNAUGHEY *et al.*, 1997) ou animais (OBA *et al.*, 2005), processos de rastreabilidade (CRUZ *et al.*, 2012) e em cadeias alimentares aquáticas ou terrestres (MCCUTCHAN *et al.*, 2003).

Isótopos estáveis funcionam como excelentes traçadores e podem ser a fonte do enriquecimento tecidual. Os traçadores diferem dos marcadores, pois participam efetivamente das reações metabólicas de síntese e degradação, assim como qualquer outra substância necessária para o desenvolvimento do organismo em questão (quando usado em pequenas quantidades). É necessária que as primícias sejam consideradas: 1) A eletrosfera do átomo é comum a todos os isótopos; 2) O processo seletivo da membrana biológica vegetal ou animal não seleciona de maneira criteriosa, o elemento a ser utilizado pelo peso molecular (núcleo atômico) e

3) O principal fator de seleção da membrana para a utilização em processos biológicos é por meio de suas características químicas.

A técnica que utiliza o isótopo menos abundante como traçador consiste em fornecer ao organismo em estudo (desde microrganismos, células individuais, animais, vegetais e humanos) um composto químico ou dieta no qual a razão isotópica (composto menos abundante/composto mais abundante – $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) seja considerada diferente do enriquecimento natural e, em seguida, avaliar a distribuição do isótopo no sistema em função do tempo.

Por exemplo, plantas colocadas em ambiente controlado enriquecidas em $^{13}\text{CO}_2$, produzirão fotoassimilados enriquecidos em ^{13}C , conseqüentemente, modificará seu valor isotópico, possibilitando seu uso como traçador e sua quantificação/translocação serão determinadas, onde quer que estejam (SILVA *et al.*, 2011).

A determinação dos valores isotópicos é definida a partir de amostras do material orgânico que são analisadas pelo espectrômetro de massas de razão isotópica, que mede a concentração dos diferentes isótopos do elemento, admitido no sistema sob a forma gasosa (ex.: H_2 , CO_2 , N_2), com erro analítico de $\pm 0,02\%$.

A medida da relação entre isótopos estáveis é obtida pela expressão de enriquecimento isotópico relativo Criss *et al.* (1999):

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

Onde i refere-se ao isótopo menos abundante do elemento químico em consideração e R refere-se à razão entre o isótopo menos abundante com o mais abundante, tanto para a amostra (R_a) quanto para seu padrão internacional (R_p). A terminologia δ (delta) 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.

O método do traçador isotópico é usado de três maneiras: 1) No isolamento, purificação e identificação de intermediários desconhecidos numa cadeia de reações; 2) Obtenção de evidências da síntese (incorporação) e relações precursor/produto entre compostos conhecidos e 3) Como uma ferramenta analítica no acompanhamento do curso de uma reação, de compostos conhecidos.

Exemplos clássicos demonstram a utilidade do método com traçador isotópico, sobre a evidencia de relações precursor / produto como a Identificação de intermediários desconhecidos em estudos da fixação do dióxido de carbono no processo da fotossíntese (ciclo de Calvin-Benson, BENSON *et al.*, 1950).

Nas ciências agrárias, o traçador com o isótopo estável ^{15}N permite avaliar as transformações individuais do nitrogênio no solo, mesmo quando múltiplas transformações ocorrem simultaneamente no meio (MAXIMO *et al.*, 2005).

Podemos utilizar a abundância natural dos nutrientes constituintes da dieta (CRUZ, *et al.*, 2012) ou moléculas orgânicas construídas com o isótopo desejado, para alterarmos o enriquecimento da razão isotópica dos tecidos em estudo. O primeiro composto formado com um isótopo estável específico foi o triglicerídeo a base de deutério, com o intuito de estudar a deposição de triglicerídeo em camundongos (SCHOENHEIMER e RITTENBERG, 1935). Após este fato, compostos orgânicos enriquecidos foram construídos, o que possibilitou o estudo qualitativo e quantitativo do metabolismo de animais domésticos, a fim de trazer conhecimento da cinética e “turnover” dos nutrientes para organismos biológicos.

O que é “turnover”?

O “turnover” pode ser entendido como o estado dinâmico dos constituintes corporais (SCHOENHEIMER, 1942) e, mesmo descrito de maneira simples, seu significado possui abrangência tamanha que é estudada por praticamente todos os campos das ciências da vida. O “turnover” incorpora todas as substâncias do corpo, sejam metabólitos orgânicos ou inorgânicos, abrangendo a renovação ou substituição de uma substância biológica, bem como a troca de material entre os diferentes compartimentos (WATERLOW, 2006). Se utilizando do mesmo conceito, o “turnover” isotópico é a renovação contínua dos isótopos de todos os elementos químicos que compõem o organismo.

Esta renovação tecidual pode ser resultante de três períodos distintos do ciclo de vida de um organismo. O primeiro diz respeito ao período de crescimento, no qual a síntese / ressíntese representa a maior fração em comparação à degradação

/ oxidação. É caracterizado pelo aumento de massa corpórea e consequente diluição isotópica. Quando ambos os processos possuem valores aproximados, é o período de maturidade e estabilidade no peso corporal. Não há um aumento de massa considerável e algumas mensurações fisiológicas são desejáveis durante este período, também conhecido como “steady state” (ZIERLER 1981). O último estágio é o período no qual a degradação / oxidação supera em valores a síntese / ressíntese, isso pode ocorrer próximo ao fim de um ciclo de vida, em situações em que há perda de massa (câncer, injúria pós queimadura (TUVDENDORJ *et al.*, 2013) ou jejum prolongado.

Utilização do conceito na experimentação

Uma característica essencial para a investigação do “turnover” por meio de isótopos estáveis é o conceito da aleatoriedade de seleção das moléculas a serem metabolizadas. A aleatoriedade exige que todos os membros de uma espécie molecular em um “pool” devam ser tratados da mesma maneira pelo sistema celular (absorvidas, metabolizadas, oxidadas ou não aproveitadas pelo sistema), na presença ou não do isótopo. De maneira oposta, a síntese e degradação proteica é um processo por excelência não aleatória. Um exemplo clássico é o tempo de vida da hemoglobina, com um ciclo de 120 dias para um homem adulto, em comparação as células epiteliais da mucosa intestinal que, migram da cripta para a ponta da vilosidade em um período de quatro dias (WATERLOW, 2006).

A metodologia descrita por Ducatti *et al.* (2002) é utilizada na investigação deste conceito para animais de produção (JOMORI *et al.*, 2008) ou conhecimento de hábitos alimentares (PARKER *et al.*, 1989).

A técnica se baseia em admitir que determinados tecidos em estudo estejam em equilíbrio com uma dieta inicial controle com a abundância natural dos alimentos e uma situação posterior com a substituição por uma dieta experimental com proporção diferente a dieta inicial (maior ou menor proporção dos isótopos ^{13}C , ^{15}N , ^{34}S), os quais serão metabolizados (Figura 2). Por meio da mistura destes isótopos, o conhecimento prévio de uma concentração isotópica inicial y_0 , “input” ($dy / dt = q$) e

“output” do elemento ($dy / dt = -ky$), a equação não linear que representa o processo global é:

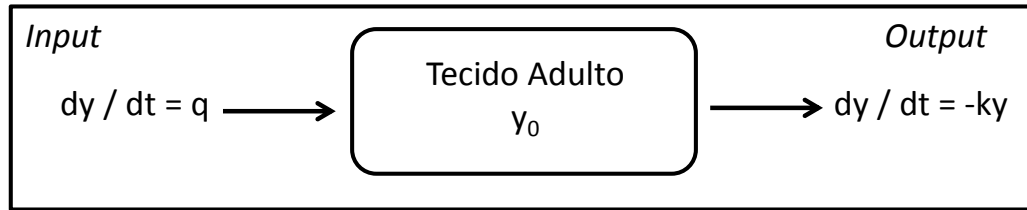


Figura 2. Representação gráfica da entrada, incorporação e saída do isótopo em um sistema biológico. Adaptado de Ducatti *et. al* (2002)

Com o desenvolvimento destas primícias, a expressão proposta por Ducatti *et al.* (2002) foi:

$$y(t) = \left(y_0 - q/k\right)e^{-kt} + q/k \quad (2)$$

Onde podemos destacar três variáveis importantes: 1) q simboliza a taxa de entrada de metabólitos no tecido adulto, em δ/tempo^{-1} ; 2) k como sendo a constante de troca isotópica, expressa por tempo^{-1} ; 3) q/k concentração isotópica de equilíbrio após a entrada de uma dieta com maiores ou menores proporções do isótopo em estudo.

Valores de $\delta^{13}\text{C}$ teciduais são semelhantes aos da dieta, com variação próxima a $\pm 1\text{‰}$, causada pelo baixo fracionamento isotópico associado à respiração e a incorporação do carbono (CRÉACH *et al.*, 1997; DENIRO e EPSTEIN, 1978). Por outro lado, as diferenças entre $\delta^{15}\text{N}$ dos tecidos em comparação a dieta são maiores, podendo chegar a $\pm 2\text{‰}$. Este fracionamento é correspondente aos processos biológicos de desaminação e transaminação dos aminoácidos (ROTH e HOBSON, 2000; WADDINGTON e MACARTHUR, 2008; GAMBOA-DELGADO e LE VAY, 2009), que podem concentrar nos tecidos a quantidade de ^{15}N presente na dieta.

Levando em consideração a teoria de meia vida ($t = 50\%$, que faz referência a nomenclatura utilizada para isótopos radioativos) como parâmetro utilizado na comparação entre diferentes tecidos em diferentes espécies (Equação 3), temos:

$$t = \left(-1/k\right) \times \ln (1 - f) \quad (3)$$

Onde, o valor de t é o tempo para a dada condição que será estabelecida de troca isotópica; o k é descrito como a taxa de “turnover” tecidual e o f é o percentual de troca isotópica desejada, portanto, na condição de meia vida, $f = 0,5$.

Com o uso destes conhecimentos, a constante de “turnover” (k), indica a taxa (concentração / tempo) do processo de eliminação e incorporação ou troca dos isótopos tecidual. Considera-se que cada tecido em cada espécie apresenta uma entrada e uma saída específica dos nutrientes, consequentemente, o valor da constante k e o valor da meia vida é específico, fornecendo comparações com respeito ao metabolismo.

Desta forma, tecidos menos ativos metabolicamente como cartilagem e ossos, terão valores da taxa de “turnover” menores e valores de meia vida maiores, quando comparado com tecidos mais ativos metabolicamente como o fígado, o plasma (que transportam grande quantidade de metabólitos) e tecido cerebral (utilizam metabólicos em curto espaço de tempo).

No entanto, existe a incerteza quanto ao período de tempo utilizado nas mensurações do “turnover” tecidual por meio dos isótopos em animais, o que pode confundir a interpretação dos dados. O período de meia-vida normalmente aumenta em três situações distintas: 1) Para animais com maior massa corporal, e esta diferença é mais perceptível no tecido muscular e no sangue em comparação com o plasma e os órgãos internos (VANDER ZANDEN *et al.*, 2015); 2) Com o envelhecimento da vida do animal; 3) Para tecidos metabolicamente menos ativos. Para a definição do período experimental total, estes conceitos devem ser levados em consideração.

Quando houver comparações do “turnover” tecidual para diferentes espécies animais (aves, mamíferos e peixes), é importante analisar as relações alométricas, pois, espera-se período mais curto de troca dos constituintes corporais para animais de pequeno porte em comparação para animais de grande porte (CARLETON *et al.*, 2005).

A taxa de incorporação isotópica para um tecido é consequência de dois processos distintos: acumulação de nova biomassa (crescimento) e substituição do tecido já existente (FRY E ARNOLD, 1982).

Alterações na dieta, sanidade e bioclimatologia poderão estar associadas a uma variação no “turnover” tecidual, como forma de uma possível adaptação (de curto ou longo prazo) a esta nova situação imposta. Portanto, na experimentação com animais, espera-se que o valor do “turnover” tecidual, de qualquer elemento, possa fornecer respostas importantes quanto à produção associada a conceitos fisiológicos.

Estudos com avaliações de modelos multi-compartimentais podem fornecer informações não somente o “turnover” dos tecidos de maneira individual, mas a dinâmica temporal da utilização dos nutrientes e as relações entre os diversos compartimentos (CARLETON *et al.*, 2008).

Modelagem compartimental

Em um sistema biológico, todos os mecanismos de funcionamento trabalham em sinergismo e ritmo intenso. Porém, o conhecimento de cada processo metabólico possui suas variáveis e particularidades, desta forma a avaliação conjunta demonstra a grande complexidade que são os organismos vivos.

A utilização da proteína é um processo complexo associado a inúmeros eventos de regulação hormonal, compostos metabólicos (proteínas, peptídeos, aminoácidos, a ureia e amoníaco) e processos dinâmicos, com a interconexão entre diferentes órgãos (seja absorvendo, degradando, oxidando ou transportando nutrientes) controlando a distribuição do nitrogênio.

Esta sucessão de eventos em diferentes tecidos corporais, funções e necessidades são o foco de pesquisas com animais, vegetais e humanos. O conhecimento desta cinética, para qualquer elemento ou nutriente, dentro de um contexto geral, traz muitas respostas e questionamentos sobre a fisiologia (SELIVANOV *et al.*, 2006), patologias (KELLEY *et al.*, 1998), nutrição (TAN *et al.*, 2014) e desenvolvimento corporal (FURR *et al.*, 1989).

Sob estas condições, a utilização de modelos matemáticos para a descrição dos processos dinâmicos corporais é uma ótima alternativa. Entre os modelos matemáticos sugeridos, a análise por compartimentos é adequada, porque pode

reduzir sistema biológico complexo em um número limitado de compartimentos e rotas, restringindo assim o número de variáveis e parâmetros dos modelos (JULLIET *et al.*, 2006). Tais modelos têm sido amplamente empregados com diversos nutrientes e em amplo espectro de áreas de investigação (PONT *et al.*, 1998; LAO *et al.*, 2006; MAKROGLOU *et al.*, 2006) auxiliando no conhecimento integrado da ciência.

O conceito de compartimento pode ser definido como uma coleção de material que é separável, anatomicamente ou funcionalmente. Esta distinção varia em função da pesquisa empregada. Um compartimento poderá ser o citoplasma e o meio intersticial, em pesquisas celulares, órgãos viscerais ou diferentes partes de um mesmo órgão. Aliado a este conceito, o termo “pool” metabólico refere-se como a mistura de componentes derivados da dieta e da quebra tecidual a qual o organismo utilizará estes constituintes para a síntese de tecidos ou utilização energética (SPRINSON e RITTENBERG, 1949). Deve-se considerar que, este conteúdo possui composição homogeneia. Simplificação esta necessária para o desenvolvimento do estudo.

Modelos conceituais e matemáticos

Um modelo compartimental conceitual é um diagrama que resume os conhecimentos atuais ou hipóteses sobre a estrutura em estudo e suas interconectividades. Este modelo é construído pelo pesquisador a priori sobre o sistema a ser avaliado. É o primeiro contato do conhecimento teórico com a representação biológica e, a resposta dos parâmetros será diretamente influenciada pela construção dos compartimentos e direções dos fluxos.

Como início do processo de conhecimento do comportamento de um traçador, podemos citar Tuvdendorj *et al.*, (2013) que divulgaram uma representação (Figura 3) sobre o comportamento do “pool” de aminoácidos muscular após a administração de traçador durante estado não estacionário.

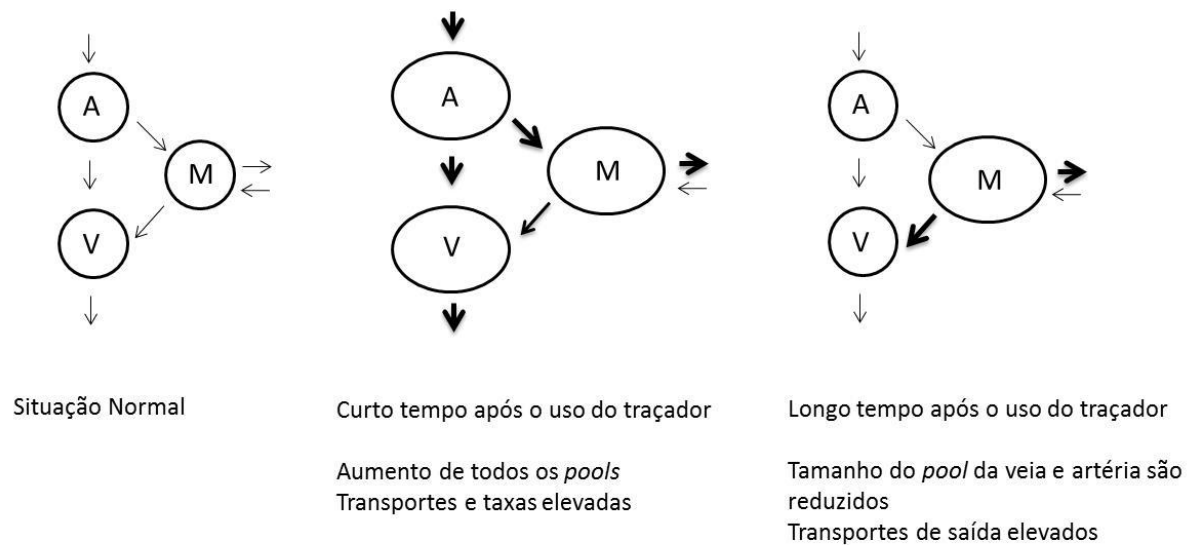


Figura 3. Adaptado de Tuvdenjord *et al.*, 2013. Resposta arterial (A), venoso (V) e intramuscular (M) para um pool de aminoácidos.

Após a administração de um “pool” de aminoácidos livres na corrente sanguínea, uma cascata de eventos é iniciada, partindo do aumento de concentração do traçador na artéria muscular, passando para o aumento da concentração da veia muscular e do “pool” de aminoácidos livres dentro do tecido.

Após cessar a adição do traçador, o sistema possui um período para regressar aos níveis originais de concentração. Neste período de movimentação do sistema, são realizadas as mensurações para montagem do modelo compartimental.

A definição do modelo se faz necessário para estabelecer os locais de coleta durante o período experimental. A construção do modelo teórico (Figura 4) inicial está sujeito a alterações posteriores, para melhor compreensão, interpretação dos resultados e validação do modelo após as análises realizadas. Após a análise dos dados e compreensão do sistema, estes compartimentos podem ser subdivididos (ou agregados) em outros órgãos, tecidos ou “pools”.

Em adição ao modelo conceitual, o modelo matemático é uma representação matemática formal de um sistema biológico.

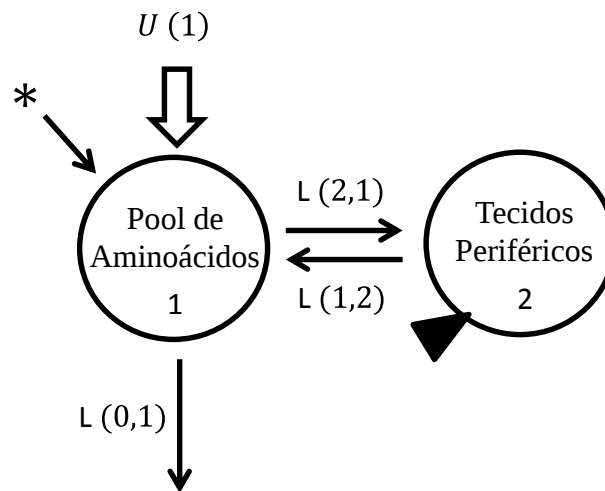


Figura 4. Modelo teórico inicial sobre a análise de aminoácidos e adição de traçador. Os compartimentos estão identificados pelos círculos 1 e 2; A fração da taxa de transferência do traçador (tempo) estão representados pelos $L(i,j)$; a taxa de entrada do elemento traçado no sistema (*tracee*) está simbolizada pelo $U(i)$; o asterisco indica o local de introdução de traçador (*tracer*) e $L(0,1)$ é a saída do material deste sistema. O triângulo ($\blacktriangle$) simboliza a coleta de material para formar o conjunto dos dados a serem analisados.

É o conjunto das equações diferenciais ordinárias (EDO) lineares, referente a cada compartimento do sistema (Equação 3). Elas traduzem as entradas e as saídas de material pelo tempo.

$$dQ_1/dt = U + L(1,2) \times M(2) - L(2,1) \times M(1) - L(0,1) \times M(1) \quad (4)$$

$$dQ_2/dt = L(2,1) \times M(1) - L(1,2) \times M(2) \quad (5)$$

As equações de balanço de massa que descrevem a mudança na quantidade do material entre os compartimentos. $Q(i)$ simbolizam a quantidade de material no compartimento em função do tempo¹; U é a entrada do material em estudo no sistema (“tracee”); $L(i,j)$ é a fração da taxa de transferência, em tempo⁻¹, ou seja, é a fração do material no compartimento J transferido para o compartimento I ; $M(i)$ é a massa do compartimento em um tempo fixo.

Estado de equilíbrio

Um sistema é dito em equilíbrio quando a taxa de entrada do isótopo é igual a taxa de saída do sistema, em função do tempo, mesmo que as taxas entre os compartimentos forem diferentes. Estudos estacionários verdadeiros não ocorrem em sistemas biológicos, no entanto, pequenas flutuações são aceitáveis.

O uso do estado estacionário simplifica a solução fisiológica e interpretação das equações diferenciais, usadas para aproximar o comportamento mecanicista de sistemas compartimentais. Porém com computadores e algoritmos avançados, o estado de equilíbrio não é obrigatório favorecendo a utilização de sistemas baseados no crescimento animal.

Parâmetros cinéticos

A utilização de modelos pode ser explicada como a representação matemática de um sistema real e a forma de como os fenômenos associado a este sistema ocorrem. O objetivo mais importante de um modelo é que ele permita o entendimento do objeto em estudo de forma simples ou descrever a situação de maneira mais completa.

De acordo com o conceito de modelagem compartimental, serão apresentados alguns parâmetros cinéticos que poderão ser utilizados no entendimento do processo da cinética de nutrientes (GREEN *et al.*, 1985).

Fração da taxa catabólica (“fractional catabolic rate”) [FCR (j,i) / tempo]. Este valor é a fração média em massa que deixa irreversivelmente do compartimento i por unidade de tempo após a entrada em massa no sistema U por meio do compartimento j:

$$FCR(i,j) = U(j)/M(i) \quad (6)$$

Onde M(i) é a massa do compartimento.

Tempo de trânsito [t (i)]: É a média do tempo de passagem de uma molécula, nutriente ou elemento durante uma única passagem em um compartimento i, antes de sair reversível ou irreversivelmente.

$$t(i) = 1 / \sum L(j,i) \quad (7)$$

Onde, $\sum L(j,i)$ são os tempos de transferências que partem do compartimento i entre os compartimentos j , com $j \neq i$.

Tempo de residência $[T(i)]$: é a média em tempo que uma substância permanece no compartimento i durante suas passagens até o momento de sua saída irreversível, desde o momento que ela entra no sistema por um compartimento j . Pode ser relacionada ao tempo total de exposição de um compartimento a uma droga administrada. Caso esta molécula não atinja o compartimento a ser avaliado, seu tempo de residência será zero. Ele é dependente do local de administração do traçador e seu tempo de residência será igual ao tempo de residência do traçado se ele for administrado da mesma forma.

$$T(i) = 1 / FCR(i,j) \quad (8)$$

Número de reciclagens $[\tilde{v}(i)]$ é referente ao número médio de vezes que uma substância recicla através do compartimento “ i ” antes de sua perda irreversível.

$$\tilde{v}(i) = [T(i) / t(i)] - 1 \quad (9)$$

Estes parâmetros estão descritos em relação a média, porque não são todas as moléculas referentes a substância de interesse (traçador ou traçado) que utilizam exatamente a mesma quantidade no tempo em cada compartimento. No caso da cinética do nitrogênio, inúmeras são as substâncias que possuem o nitrogênio em sua constituição molecular, e estes valores médios representam a estimativa do total de moléculas encontradas no sistema.

Durante a estimação dos parâmetros, o cineticista não só procura um bom ajuste entre os dados e a simulação do modelo, mas também deve conhecer ou suspeitar sobre a fisiologia e bioquímica do nutriente, de modo que a exposição final do trabalho deverá ser fisiologicamente coerente com a dinâmica representada. É entendido que o modelo final não deve ser extremamente complexo, caso contrário, pode-se obter um bom ajuste para os dados, mas à custa de muito poucas explicações conceituais dos parâmetros.

Um modelo é um conjunto de instruções para a reprodução das propriedades de um sistema (SUPPES, 1969). Em biologia, não sabemos todas as propriedades de um sistema e podemos simular apenas algumas delas. A exigência é alguma verossimilhança aceitável. Devemos validar tais modelos, exigindo preditivo valor e alterar as condições experimentais para predição de outros valores. Por meio de

testes matemáticos, conseguimos reduzir o número de modelos satisfatórios para um mesmo sistema em estudo, mas raramente, teremos descrito um modelo comprovadamente único. Desta forma, o propósito da modelagem é ajudar no desenvolvimento e compreensão dos processos biológicos (ZIERLER, 1981).

A análise compartimental é uma ferramenta que busca gerar hipóteses, utilizando conhecimentos passados, incorporando dados do nutriente no desenvolvimento do modelo, e lidar com situações de estado não estacionário.

3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASTON, F. W. LXXIV. A positive ray spectrograph. The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical **Magazine and Journal of Science**, v. 38, n. 228, p. 707-714, 1919.

BARRIE, A.; PROSSER, S. J. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. Mass spectrometry of soils. **New York, Marcel Dekker**, p. 1-46, 1996.

BECQUEREL, H. Emissions of the new radiations by metallic uranium. *Comp Rend Acad Sci*, v. 122, p. 1086, 1896.

BENSON, A. A.; BASSHA, J. A.; CALVIN, M.; GOODALE, T. C.; HAAS, V. A.; STEPKA, W. The path of carbon in photosynthesis. V. Paper chromatography and radioautography of the products1. **Journal of the American Chemical Society**, v. 72, n. 4, p. 1710-1718, 1950.

BEQUETTE, B. J. 5 Amino Acid Metabolism in Animals. Amino acids in animal nutrition, p. 87, 2003.

BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K.; SILVA, E. P.; ARAÚJO, J. A.; SUNDER, A.; LIEBERT, F. 20 Amino Acid Requirements for Pullets Based on Potential Protein Deposition and the Efficiency of Amino Acid Utilization. **Nutritional Modelling for Pigs and Poultry**, p. 269, 2014.

CANTALAPIEDRA-HIJAR, G.; ORTIGUES-MARTY, I.; SEPCHAT B.; AGABRIEL, J.; HUNEAU, J. F.; FOUILLET, H. I. Diet–animal fractionation of nitrogen stable isotopes reflects the efficiency of nitrogen assimilation in ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. 07, p. 1158-1169, 2015.

CARLETON, S. A.; DEL RIO, C. M. The effect of cold-induced increased metabolic rate on the rate of ¹³C and ¹⁵N incorporation in house sparrows (*Passer domesticus*). **Oecologia**, v. 144, n. 2, p. 226-232, 2005.

CARLETON, S. A.; KELLY, L.; ANDERSON-SPRECHER, R.; DEL RIO, C. M. Should we use one-, or multi-compartment models to describe ^{13}C incorporation into animal tissues? **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 22, n. 19, p. 3008-3014, 2008

CHADWICK, J. Possible existence of a neutron. **Nature**, v. 129, n. 3252, p. 312, 1932.

COBELLI, C; FOSTER, D. M. Compartmental models: theory and practice using the SAAM II software system. In: **Mathematical Modeling in Experimental Nutrition**. Springer US, p. 79-101, 1998.

COLETTA, L. D.; PEREIRA, A. L.; COELHO, A. A. D.; SAVINO, V. J. M.; MENTEN, J. F. M.; CORRER, E.; FRANÇA, L. C.; MARTINELLI, L. A. Barn vs. free-range chickens: Differences in their diets determined by stable isotopes. **Food Chemistry**, v.131, p. 155-160, 2012.

COPLEN, T. B.; HOLDEN, N. Atomic weights no longer constants of Nature. **Chemistry International**, v. 33, n. BNL--96284-2011-JA, 2011.

CRÉACH, V.; SCHRICKE, M. T.; BERTRU, G.; MARIOTTI, A. Stable isotopes and gut analyses to determine feeding relationships in saltmarsh macroconsumers. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 44, n. 5, p. 599-611, 1997.

CRISS, R. E. Principles of stable isotope distribution. **New York: Oxford University Press.**, 1999. 254 p.

CRUZ, V. C.; ARAÚJO, P. C.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C.; DENADAI, J. C.; POLYCARPO, G. V.; ZANETTI, L. H.; DUCATTI, C. Poultry offal meal in chicken: Traceability using the technique of carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)-and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$)-stable isotopes. **Poultry science**, v. 91, n. 2, p. 478-486, 2012.

CURIE, P.; SKLODOWSKA-CURIE, M. Sur une substance nouvelle radio-active, contenue dans la pechblende. **CR Acad. Sci. Paris**, v. 127, p. 175-178, 1898.

CURIE, I.; JOLIOT, F. Un nouveau type de radioactivité. **CR Acad Sci Paris**, v. 198, p. 254-256, 1934.

DEMPSTER, A. J. Ion Sources for Mass Spectroscopy. **Review of Scientific Instruments**, v. 7, n. 1, p. 46-49, 1936.

DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et cosmochimica acta**, v. 42, n. 5, p. 495-506, 1978.

DOHERTY, G. J.; MCMAHON, H. T. Mechanisms of endocytosis. **Annual review of biochemistry**, v. 78, p. 857-902, 2009.

DUCATTI, C.; CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; MANCERA, P. F. A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agrícola**, v. 59, n. 1, p. 29-33, 2002.

DUCATTI, C. Stable isotopes in aquaculture. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 1-10, 2007.

DUCATTI, C.; CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; MANCERA, P. F. A. Carbon turnover in poultry tissues at different growth stages. **Ciência Rural**, v. 44, n. 8, p. 1472-1478, 2014.

DUGAS, L. R.; HARDERS, R.; MERRILL, S.; EBERSOLE, K.; SHOHAM, D. A.; RUSH, E. C.; ASSAH, F. K.; FORRESTER, T.; DURAZO-ARVIZU, R. A.; LUKE, A. Energy expenditure in adults living in developing compared with industrialized countries: a meta-analysis of doubly labeled water studies. **The American journal of clinical nutrition**, p. ajcn. 007278, 2010.

FARIA FILHO, D. E.; ROSA, P. S.; FIGUEIREDO, D. F.; DAHLKE, F.; MACARI, M.; FURLAN, R. L. Dietas de baixa proteína no desempenho de frangos criados em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 101-106, 2006.

FERMI, E.. Versuch einer Theorie der β -Strahlen. I. **Zeitschrift für Physik**, v. 88, n. 3-4, 1934.

FRY, B.; ARNOLD, C.. Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). **Oecologia**, v. 54, n. 2, p. 200-204, 1982.

FURR, H., C.; AMEDEE-MANESME O.; CLIFFORD, A. J.; BERGEN III, H. R.; JONES, A. D.; ANDERSON, D. P.; OLSON, J. A. Vitamin A concentrations in liver determined by isotope dilution assay with tetradeuterated vitamin A and by biopsy in generally healthy adult humans. **The American journal of clinical nutrition**, v. 49, n. 4, p. 713-716, 1989.

GAMBOA-DELGADO, J.; LE VAY, L. Natural stable isotopes as indicators of the relative contribution of soy protein and fish meal to tissue growth in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed compound diets. **Aquaculture**, v. 291, n. 1, p. 115-123, 2009.

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 Part A: **Molecular & integrative physiology**, v. 119, n. 3, p. 725-737, 1998.

GREEN, M. H.; UHL, L.; GREEN, J. B. A multicompartmental model of vitamin A kinetics in rats with marginal liver vitamin A stores. **Journal of lipid research**, v. 26, n. 7, p. 806-818, 1985.

GREEN, M. H.; GREEN, J. B. The application of compartmental analysis to research in nutrition. **Annual review of nutrition**, v. 10, n. 1, p. 41-61, 1990.

GUY, R. D.; FOGEL, M. L.; BERRY, J. A. Photosynthetic fractionation of the stable isotopes of oxygen and carbon. *Plant Physiology*, v. 101, n. 1, p. 37-47, 1993.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E.; GUYTON, A. C. Tratado de fisiologia médica. **Elsevier Brasil**, 2006.

HARRISON, S. M.; SCHMIDT, O.; MOLONEY, A. P.; KELLY, S. D.; ROSSMAN, A.; SCHELLENBERG, A.; PRINI, M.; HOOGEWERFF, J.; MONAHAN, F. J. Tissue turnover in ovine muscles and lipids as recorded by multiple (H, C, O, S) stable isotope ratios. **Food Chemistry**, v. 124, p. 291-297, 2011.

HEGER, J.; FRYDRYCH, Z. Efficiency of utilization of amino acids. **Absorption and utilization of amino acids**, v. 1, p. 31-56, 1989.

JOMORI, R. K.; DUCATTI, C.; CARNEIRO, D. J.; PORTELLA, M. C. Stable carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotopes as natural indicators of live and dry food in *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) larval tissue. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 4, p. 370-381, 2008.

JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; HIGH, J. Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 5, p. 1218-1226, 2002.

JUILLET, B.; SACCOMANI, M. P.; BOS, C.; GAUDICHON, C.; TOMÉ, D.; FOUILLET, H. Conceptual, methodological and computational issues concerning the compartmental modeling of a complex biological system: Postprandial inter-organ metabolism of dietary nitrogen in humans. **Mathematical biosciences**, v. 204, n. 2, p. 282-309, 2006.

KELLEY, S. K., NILSSON, C. B., GREEN, M. H., GREEN, J. B.; HAKANSSON, H. Use of model-based compartmental analysis to study effects of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on vitamin A kinetics in rats. **Toxicological Sciences**, v. 44, n. 1, p. 1-13, 1998.

KUHAR, M. J. Measuring levels of proteins by various technologies: Can we learn more by measuring turnover?. **Biochemical pharmacology**, v. 79, n. 5, p. 665-668, 2010.

LAO, B. J.; KAMEI, D. T. A compartmental model of iron regulation in the mouse. **Journal of theoretical biology**, v. 243, n. 4, p. 542-554, 2006.

LEPOINT, G.; DAUBY, P.; GOBERT, S. Applications of C and N stable isotopes to ecological and environmental studies in seagrass ecosystems. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, n. 11, p. 887-891, 2004.

LIEBERT, F. Basics and applications of an exponential nitrogen utilization model ('Goettingen approach') for assessing amino acid requirements in growing pigs and meat type chickens based on dietary amino acid efficiency. In.: SAKOMURA, N.K.; GOUS, R.; KYRIAZAKIS, I.; HAUSCHILD, L. **Nutritional modelling for pigs and poultry**, p. 73-87, 2015.

MAKROGLOU, A.; LI, J.; KUANG, Y. Mathematical models and software tools for the glucose-insulin regulatory system and diabetes: an overview. **Applied Numerical Mathematics**, v. 56, n. 3, p. 559-573, 2006.

MARCHINI, J. S.; MORIGUTI, J. C.; PADOVAN, G. J.; NONINO, C. B.; VIANNA, S. M. L.; OLIVEIRA, J. E. D. Métodos atuais de investigação do metabolismo protéico: Aspectos básicos e estudos experimentais e clínicos. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, v. 31, n. 1, p. 22-30, 1998.

MAXIMO, E.; BENDASSOLLI, J. A.; TRIVELIN, P. C. O.; ROSSETE, A. L. R. M.; OLIVEIRA, C. R. O.; PRESTES, C. V. Produção de sulfato de amônio duplamente marcado com os isótopos estáveis ^{15}N e ^{34}S . **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 211-216, 2005.

MCCONNAUGHEY, T. A.; BURDETT, J.; WHELAN, J. F.; PAULL, C. K. Carbon isotopes in biological carbonates: respiration and photosynthesis. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 61, n. 3, p. 611-622, 1997.

MCCUTCHAN JR, J. H.; LEWIS JR, W. M.; KENDALL, C.; MCGRATH, C. C. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. **Oikos**, v. 102, n. 2, p. 378-390, 2003.

MULDER, G. J. Zusammensetzung von fibrin, albumin, leimzucker, leucin usw. **Annalen der Pharmacie**, v. 28, n. 1, p. 73-82, 1838.

NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. Macmillan, 2008.

OBA, M.; BALDWIN, R. L.; OWENS, S. L.; BEQUETTE, B. J. Metabolic fates of ammonia-N in ruminal epithelial and duodenal mucosal cells isolated from growing sheep. **Journal of dairy science**, v. 88, n. 11, p. 3963-3970, 2005.

PAIS, A. Inward bound: of matter and forces in the physical world. 1986.

PARKER, P. L.; ANDERSON, R. K.; LAWRENCE, A. A $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ tracer study of nutrition in aquaculture: *Penaeus vannamei* in a pond growout system. In: Stable isotopes in ecological research. **Springer New York**, 1989. p. 288-303.

PEREIRA, A. L.; BENEDITO, E. Isótopos estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectivas. **Revista biociências**, v. 13, n. 3, 2008.

PFÜTZNER, M.; KARNY, M.; GRIGORENKO, L. V.; RIISAGER, K. Radioactive decays at limits of nuclear stability. **Reviews of Modern Physics**, v. 84, n. 2, p. 567, 2012.

PONT, F.; DUVILLARD, L.; VERGÈS, B.; GAMBERT, P. Development of Compartmental Models in Stable-Isotope Experiments Application to Lipid Metabolism. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 18, n. 6, p. 853-860, 1998.

RATHMACHER, J. A. Measurement and significance of protein turnover. *Farm Animal Metabolism and Nutrition: Critical Reviews*. JP F D'Mello, ed. **CAB International, Wallingford, UK**, p. 25, 2000.

RIBEIRO, A. A.; SUITA, M. T. F.; FALLICK, A. E.; ELI, F.; GOULARD, E. A. Geoquímica de isótopos estáveis (C, S e O) das rochas encaixantes e do minério de Cu (Au) do depósito Cristalino, Província Mineral de Carajás, Pará. **Geochimica Brasiliensis**, v. 23, n. 2, 2012.

RITTENBERG, D.; SCHOENHEIMER, R. Deuterium as an indicator in the study of intermediary metabolism II. Methods. **Journal of Biological Chemistry**, v. 111, n. 1, p. 169-174, 1935.

ROTH, J. D.; HOBSON, K. A. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissue of captive red fox: implications for dietary reconstruction. **Canadian Journal of Zoology**, v. 78, n. 5, p. 848-852, 2000.

RUTHERFORD, E. Uranium Radiation and the Electrical Conduction Produced by It. **Philosophical Magazine**. Series 5, v. 47, p. 109, 1899.

RUTHERFORD, E. The scattering of α and β particles by Matter and the Structure of the Atom. **Philosophical Magazine**. Series 6, v. 21, p. 669-688, 1911.

SAKOMURA, N., K.; SILVA, E. P.; DORIGAM, J. C. P.; GOUS, R. M.; ST-PIERRE, N.. Modeling amino acid requirements of poultry. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, n. 2, p. 267-282, 2015.

SCHOENHEIMER, R.; RITTENBERG, D. Deuterium as an Indicator in the Study of Intermediary Metabolism. I. **Journal of Biological Chemistry**, v. 111, n. 1, p. 163-168, 1935.

SCHOENHEIMER, R. The Dynamic State of Body Constituents. **Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts**. 1942.

SCHOENHEIMER, R. The dynamic state of body constituents. **The dynamic state of body constituents.**, 1946.

SELIVANOV, V. A.; MARIN, S.; LEE, P. W. N.; CASCANTE, M. Software for dynamic analysis of tracer-based metabolomic data: estimation of metabolic fluxes and their statistical analysis. **Bioinformatics**, v. 22, n. 22, p. 2806-2812, 2006.

SHARP, Z. Principles of stable isotope geochemistry. **Upper Saddle River, NJ**: Pearson Education, 2007.

SILVA, A. C.; SOUZA, A. P.; DUCATTI, C.; LEONEL, S.. Carbon-13 turnover in fig trees' Roxo de Valinhos'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 660-665, 2011.

SPRINSON, D. B.; RITTENBERG, D. The rate of interaction of the amino acids of the diet with the tissue proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 180, n. 2, p. 715-726, 1949.

SUPPES, P. 1969. Studies in the Methodology and Foundations of Science. **Dordrecht-Holland: Reidel**. 473 pp.

TAN, L.; WRAY, A. E.; GREEN, M. H.; ROSS, C. Retinol kinetics in unsupplemented and vitamin A-retinoic acid supplemented neonatal rats: a preliminary model. **Journal of lipid research**, v. 55, n. 6, p. 1077-1086, 2014.

TUVDENDORJ, D.; CHINKES, D. L.; HERNDON, D. N.; ZHANG, X.; WOLFE, R. R. A novel stable isotope tracer method to measure muscle protein fractional breakdown rate during a physiological non-steady-state condition. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 304, n. 6, p. E623-E630, 2013.

VANDER ZANDEN, M. J.; CLAYTON, M. K.; MOODY, E. K.; SOLOMON, C. T.; WEIDEL, B. C. Stable Isotope Turnover and Half-Life in Animal Tissues: A Literature Synthesis. **PloS one**, v. 10, n. 1, p. e0116182, 2015.

WADDINGTON, K; MACARTHUR, L. Diet quality and muscle tissue location influence consumer-diet discrimination in captive-reared rock lobsters (*Panulirus cygnus*). *Marine Biology*, v. 154, n. 3, p. 569-576, 2008

WALTON H. F. The Curie-Becquerel Story. **Journal of chemical education**, v. 69, n. 1, p. 10, 1992.

WATERLOW, J. C. Protein turnover. **CABI**, 2006.

WOLFE, R. R. Radioactive and stable isotope tracers in biomedicine: principles and practice of kinetic analysis. 1992

ZIERLER, K. A critique of compartmental analysis. **Annual review of biophysics and bioengineering**, v. 10, n. 1, p. 531-562, 1981.

CAPÍTULO 2 - CRESCIMENTO TECIDUAL E INCORPORAÇÃO DO ^{15}N EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO: Pesquisas que visam o aumento da produção avícola podem correlacionar a nutrição e o crescimento animal com o dinamismo do processo entre a síntese e degradação tecidual e, conseqüentemente, ampliar o conhecimento sobre o metabolismo da deposição proteica. Diante do exposto, a pesquisa foi realizada com o objetivo de descrever as curvas de crescimento tecidual e incorporação do nitrogênio em diferentes tecidos/órgãos durante o crescimento do frango de corte. Foram utilizados 136 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500® criados individualmente, divididos em fase inicial (0 a 14 dias), fase de crescimento (14 a 42 dias) e fase final (35 a 70 dias) de produção. Foi utilizada a substituição de alimentos com sinais isotópicos contrastantes e abates sucessivos ao longo do tempo na determinação dos parâmetros da equação para o crescimento e na incorporação do nitrogênio. A taxa de maturidade (B) referente ao crescimento tecidual durante os 70 dias foram: 0,103 para jejuno; 0,080 para penas; 0,059 para fígado; 0,0585 para os rins 0,0478 para a tíbia; 0,0425 para cartilagem; 0,0412 para músculo peitoral maior e 0,0306 para o músculo sartório. Estes resultados demonstram o rápido crescimento de órgãos responsáveis pelo acelerado metabolismo dos frangos de corte, como jejuno, fígado e rins. Os músculos foram representados pelos menores resultados de B, musculo peitoral maior e sartório. Os valores de meia vida para a fase de crescimento foram: 2,22; 2,27; 2,95; 4,72 e 6,09 dias para jejuno, plasma, fígado, penas das asas e músculo peitoral maior, respectivamente. Valores maiores foram determinados durante a fase final: 5,25; 4,93; 7,76; 18,94 e 8,86 dias para jejuno, plasma, fígado, penas das asas e músculo peitoral maior, respectivamente. Estes resultados demonstram a redução na incorporação do nitrogênio com o avançar da idade. A avaliação conjunta entre crescimento tecidual e incorporação do nitrogênio revelam os diferentes comportamentos que visam a produção animal e o metabolismo tecidual em frangos de corte.

PALAVRAS CHAVES: Crescimento, isótopos estáveis, modelagem, nitrogênio

ABSTRACT: Studies aimed at increasing poultry production could correlate the nutrition and animal growth with the dynamism of the process between synthesis and tissue degradation and thus increase knowledge of the metabolism of protein deposition. Given the above, the research was conducted with the aim of describe the tissue growth curves and incorporation of nitrogen in different tissues / organs during the broiler production. Were used 136 male broilers Cobb 500® strain created individually divided in initial phase (0 to 14 days) growth phase (14 to 42 days) and final phase (35 to 70 days). Substitution feed with contrasting isotopic signals and successive slaughtering were used over time to determine the parameters, equation for the growth and for incorporation of nitrogen. The maturation rate (B) for the tissue growth during the 70 days were: 0.103 for jejunum; 0.080 for feathers; 0.059 for liver; 0.0585 to kidney; 0.0478 for tibia; 0.0425 for cartilage; 0.0412 to the pectoralis major muscle and 0.0306 for the sartorius muscle. These results demonstrate the rapid growth of organs responsible for the accelerated metabolism of broilers as jejunum, liver and kidney. Results about muscles were represented by the smaller B, pectoralis major muscle and sartorius. The half-life values for the growth phase were: 2.22; 2.27; 2.95; 4.72 and 6.09 days for jejunum, plasma, liver, feathers of the wings and the pectoralis major muscle, respectively. Higher values were determined for the final phase: 5.25; 4.93; 7.76; 18.94 and 8.86 days for jejunum, plasma, liver, feathers of the wings and the pectoralis major muscle, respectively. These results show a reduction in nitrogen incorporation with the advancing of age. The joint evaluation of tissue growth and incorporation of nitrogen revealed the different behaviors aimed at animal production and tissue metabolism in broilers.

KEY WORDS: Growth, modeling, nitrogen, stable isotopes

4.INTRODUÇÃO

O perfil fundamental da produção de frangos de corte comercial é o rápido crescimento em menores períodos de tempo. Com a caracterização do desenvolvimento corporal e estabelecimento das exigências nutricionais bem definidas. Pesquisas direcionam em busca do conhecimento sinérgico do metabolismo dos nutrientes com a otimização da deposição tecidual, teoria esta que é traduzida pelas taxas de incorporação e interconexão entre os diferentes tecidos e órgãos que compõem o organismo do frango de corte.

A descrição do crescimento das aves é o primeiro estágio para elaborar modelos de simulação capazes de prever as exigências nutricionais das aves (GOUS et al.,1999). Embora existam diversos modelos matemáticos, lineares e não lineares para descrever o crescimento (Logístico, Brody, Richards, Bertalanffy), pesquisadores (MARTIN et al., 1994; HANCOCK et al., 1995, HRUBY et al., 1996, MACLEOD, 2000, SAKOMURA et al., 2005, SANTOS et al., 2005, NEME et al., 2006; MARCATO et al. 2008) concordam que a função de Gompertz (1825) é a mais indicada, pela necessidade de conhecer apenas três parâmetros com significados biológicos que permitem o bom ajuste dos dados.

A análise conjunta da síntese e degradação é realizada com o uso dos isótopos estáveis, que possuem a característica de serem ótimos traçadores metabólicos, ou seja, sofrem os mesmos processos biológicos dos nutrientes provindos do alimento e são quantificados nos órgãos de interesse (ATKINS, 1969). Esta ferramenta de investigação nuclear permite acompanhar elementos leves como o carbono (DENADAI et al., 2009), nitrogênio (SILVA et al., 2006), hidrogênio (RACETTE et al., 1994), oxigênio (GAT et al., 1981) e enxofre (BÖTTCHER et al., 1998). Se tratando especificamente de proteína, os mecanismos de síntese e degradação são independentes e influenciados por diversos fatores, tais como: qualidade da proteína ingerida (WOLFE, 1992), o consumo de ração, o nível proteico da dieta, a temperatura ambiente (FARIA FILHO, 2006), nível energético da alimentação (COLETTA et al., 2012 e HARRISON et al., 2011) e idade animal (RATHMACHER, 2000). Estudos avícolas que usam isótopos estáveis como traçadores em suas

dietas estimam como os isótopos teciduais são substituídos por isótopos derivados da dieta (DENADAI *et al.*, 2011; DUCATTI *et al.*, 2014). Com este enfoque, Ducatti *et al.* (2014), analisou tecidos de frangos de corte enriquecidos com ^{13}C e evidenciou que valores de meia-vida do fígado mostraram-se semelhantes durante a fase jovem até as fases adulta ($\approx 1,68$ dias), resposta diferente a outros tecidos coletados (músculo, tíbia e quilha) que aumentaram de acordo com o avanço da idade. Mas a interação das respostas metabólicas de incorporação com a modelagem do crescimento não é prática corriqueira das pesquisas em produção animal.

Por estes motivos, o presente estudo tem como objetivo 1) Descrever o potencial genético de crescimento para frangos de corte com o uso da modelagem e 2) Quantificar a incorporação do isótopo estável de ^{15}N tecidual durante diferentes idades.

5.MATERIAL E MÉTODOS

Condições experimentais

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Ciências Avícolas na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal. Os procedimentos experimentais descritos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” *Campus* de Jaboticabal, sob o protocolo nº 9999/14.

Foram utilizados 136 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500[®] no período de zero a 70 dias de vida. Os animais foram criados no piso, em galpões de alvenaria do tipo convencional, bebedouro “nipple” e comedouro tubular conforme o padrão de criação da linhagem até o início dos períodos experimentais. No início de cada ensaio experimental, as aves foram acondicionadas individualmente em

gaiolas de metabolismo de 50x50x50cm com comedouros e bebedouros “nipple” individuais, mantendo assim controle quanto a sua alimentação e excreção. Durante todo o período experimental, foram utilizadas 24 horas de luz.

Dietas

O cronograma de arraçoamento (Figura 1) teve como objetivo promover o enriquecimento tecidual por meio do aumento da ingestão natural do traçador biológico ^{15}N , segundo de Araújo *et al.* (2011). As dietas experimentais consistiram na substituição do milho (M) e farelo de soja (FS) como principais constituintes da dieta, por quirera de arroz (A) e farinha de vísceras (FV). As dietas foram formuladas segundo as recomendações nutricionais de Rostagno *et al.* (2011) para cada fase de criação (Tabela 1).

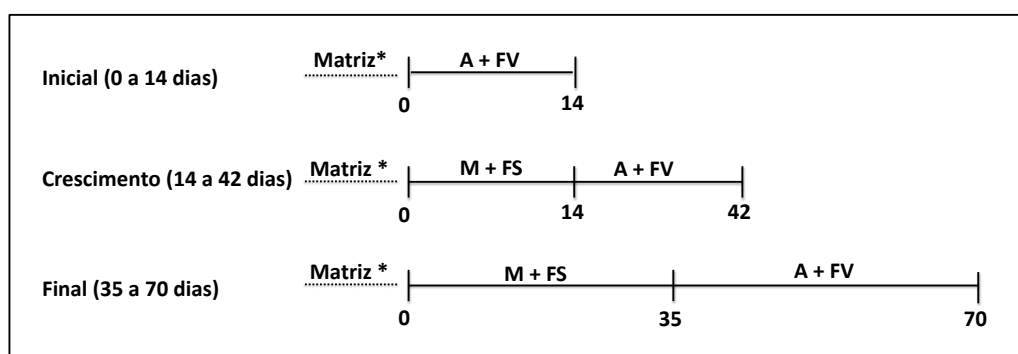


Figura 1. Cronograma de substituição das dietas com enriquecimento padrão de milho (M) e soja (FS) por dietas com maior concentração de ^{15}N , formuladas com quirera de arroz (A) e farinha de vísceras (FV), para frangos de corte durante o período experimental de 0 a 70 dias de vida. A alimentação ofertada a Matriz* foi estipulada pela empresa fornecedora dos frangos de corte, não sendo possível o controle de seus ingredientes por parte do pesquisador.

Cronograma e coleta das amostras

As coletas teciduais tiveram dois objetivos. O primeiro se refere à elaboração das curvas de crescimento tecidual com o uso da equação de Gompertz (1825), portanto os dados utilizados são do período conjunto de 0 a 70 dias de vida.

Tabela 1. Composição das dietas com diferentes concentrações de ¹⁵N utilizadas na fase inicial, crescimento e final para frangos de corte

INGREDIENTES	INICIAL	INICIAL	CRESCIMENTO	CRESCIMENTO	FINAL
	(0 a 14 dias)	(0 A 14 dias)	(14 a 42 dias)	(14 a 42 dias)	(35 a 70 dias)
	%	%	%	%	%
Quirera de Arroz (A)	-	63,03	-	66,16	70,39
Milho (M)	55,74	-	59,9	-	-
Farelo de Soja (FS)	38,08	25,41	32,98	20,26	16,31
Farinha de Vísceras (FV)	-	7,0	-	8,0	8,0
Óleo de Soja	2,812	1,315	4,186	2,76	2,756
Coletor de Sódio	0,494	0,439	0,457	0,402	0,389
Calcário Calcítico	1,037	0,885	0,907	0,747	0,644
Fosfato Bicalcico	1,386	1,304	1,153	1,085	0,904
DL-Metionina	0,155	0,149	0,137	0,13	0,119
L-Lisina	0,092	0,268	0,082	0,258	0,291
Premix Min/Vit	0,201 ¹	0,201 ¹	0,202 ²	0,202 ²	0,203 ³
Composição Nutricional					
Energia Metabolizável (Kcal/Kg)	3005	3005	3150	3150	3200
Proteína Bruta (%)	21,8	21,8	19,8	19,8	18,4
Cálcio (%)	0,88	0,88	0,76	0,76	0,66
Fósforo Digestível (%)	0,37	0,37	0,32	0,32	0,28
Lisina Digestível (%)	1,271	1,271	1,131	1,131	1,06
Metionina Digestível (%)	0,496	0,496	0,452	0,452	0,424
Treonina Digestível (%)	0,862	0,836	0,785	0,756	0,698
Assinaturas Isotópicas δ ¹⁵ N (‰)	1,05	3,19	1,12	3,26	3,67

¹Premix Mineral e Vitamínico Inicial: Biotina 44mg, Colina 187.500mg, Vit A 4.687.500UI, Vit D3 1.187.500UI, Vit E, 17.500UI, Vit K3 940mg, Vit B1 1.250mg, Vit B2 3.125mg, Ác. Nicotínico 18.750mg, Ác. Pantotênico 6.250mg, Ác. Fólico 437,5mg, Vit B6 1.175mg, Vit B12 7,5mg, Cobre 6.250mg, Ferro 31.250mg, Iodo 625mg, Manganês 44.000mg, Selênio 187,5mg, Zinco 40.650mg. ²Premix Mineral e Vitamínico Crescimento: Biotina 36,75mg, Colina 157.500mg, Vit A 3.937.500UI, Vit D3 997.500UI, Vit E 14.750UI, Vit K3 787,5mg, Vit B1 1.050mg, Vit B2 2.625mg, Ác. Nicotínico 15.750mg, Ác. Pantotênico 5.250mg, Ác. Fólico 367,5mg, Vit B6 1.450mg, Vit B12 6,25mg, Cobre 5.250mg, Ferro 26.250mg, Iodo 525mg, Manganês 36.750mg, Selênio 157,5mg, Zinco 34.125mg. ³Premix Mineral e Vitamínico Final: Biotina 26,5mg, Colina 112.500mg, Vit A 2.812.500UI, Vit D3 712.500UI, Vit E 10.500UI, Vit K3 565mg, Vit B1 750mg, Vit B2 1.875mg, Ác. Nicotínico 11.250mg, Ác. Pantotênico 3.750mg, Ác. Fólico 262,5mg, Vit B6 1.050mg, Vit B12 4,5mg, Cobre 3.750mg, Ferro 18.750mg, Iodo 375mg, Manganês 26.500mg, Selênio 112,5mg, Zinco 24.400mg. Todas as fontes de minerais e vitaminas foram fornecidas pela empresa Agrocere Multimix

Fizeram parte desta análise: Jejuno, fígado, rim, coração, cartilagem, tíbia, músculo peitoral maior, sartório, penas e peso vivo da ave. O segundo objetivo teve a finalidade de determinar a incorporação do ^{15}N , por meio da equação descrita por Ducatti *et al.* (2002). Fizeram parte desta análise: Jejuno, fígado, plasma, músculo peitoral maior, penas e excretas, os quais foram separados em três períodos de crescimento, 0 a 14, 14 a 42 e 35 a 70 dias de vida da ave.

Os tecidos foram coletados e pesados de quatro aves por dia de coleta, cada ave representou uma unidade experimental. Na fase inicial foram realizados nove abates, na fase de crescimento foram 12 abates e na fase final foram 13 abates (Tabela 2). O tempo de coleta das amostras foi concentrado nas primeiras horas dos ensaios experimentais, devido à maior velocidade de incorporação isotópica do nitrogênio no tecido (RIEDIJK *et al.*, 2007; HOBSON e CLARK, 1992).

Tabela 2. Cronograma de abates para coleta tecidual de frangos de corte

Fases	Período Experimental	Dias de abates
Inicial	0 - 14	0, 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14
Crescimento	14 - 42	14, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 25, 28, 31, 35, 42
Final	35 - 70	35, 36, 37, 38, 40, 42, 45, 48, 51, 55, 59, 63, 70

Amostras para determinar a curva de crescimento tecidual

Após a quantificação diária do consumo e peso das excretas (em gramas), as aves foram insensibilizadas e abatidas por deslocamento crânio cervical. Para a coleta dos tecidos corporais (em gramas), foi realizado corte crânio caudal no segmento jejuno para limpeza da digesta com água deionizada. O fígado e o coração foram extraídos de forma total. Foram retirados e pesados ambos os rins. A cartilagem a qual sustentam os músculos peitorais foi retirada de forma integral. O osso da tíbia direita foi retirado. O músculo peitoral foi retirado de forma total. Ambos os lados do músculo sartório foram retirados após a dissecação da sobrecoxa.

O peso das penas foi realizado considerando a diferença entre a ave abatida inteira (corpo + penas) subtraída pela ave abatida depenada. Esta diferença fornecia o peso total das penas.

Amostras para determinar a curva de incorporação ^{15}N

As amostras de sangue foram extraídas por meio de punção cardíaca, centrifugado na presença de heparina sódica e o plasma sanguíneo foi separado por meio de pipeta volumétrica; a amostra de jejuno foi composta por cinco centímetros da parte medial do órgão; foi retirado um seguimento do lobo direito do fígado; uma porção do terço médio longitudinal do músculo peitoral maior esquerdo compôs a amostra muscular; as penas foram compostas por duas amostras, uma coletada no dorso e outra nas asas da ave, de maneira completa (composta por raque, bárbulas, barba e o cálamo); para coleta das excretas, aplicou-se o método de coleta total.

As amostras dos tecidos e das excretas foram liofilizadas. Os tecidos e dietas experimentais foram moídos em moinho criogênico (SPEX Sample Prep 2010 Geno/Grinder 2010), à temperatura de -196°C , Aproximadamente 2,0 g de amostra foram armazenadas para a pesagem (Mettler Toledo XP6) em cápsulas de estanho (de 500 a 700 μg para tecidos e 2100 a 2200 μg para as dietas) para análises em espectrômetro de massa de razões isotópicas (“Delta V Advantage IRMS, Thermo Scientific”) acoplado ao Analisador Elementar (“Flash 2000 Organic Elemental Analyzer EA, IRMS”) do Centro de Isótopos Estáveis do Instituto de Biociências (CIE/IBB) da UNESP, Campus de Botucatu.

Análise dos dados

Curva de crescimento

Para a descrição das curvas de crescimento tecidual, os pesos (em gramas) dos órgãos e tecidos foram ajustados pela equação de Gompertz:

$$P_t = P_m \times e^{-e^{[-B \times (t-t^*)]}} \quad (1)$$

Considerando, P_t o peso tecidual em gramas no tempo t ; P_m é o peso estimado a maturidade em gramas; B taxa de maturidade tecidual no tempo⁻¹ e t^* é o tempo em dias que há a inflexão da sigmoide. As taxas de crescimento (TC) são obtidas pela derivada da equação de Gompertz (Sakomura & Rostagno, 2007):

$$TC = P_m \times B \times (e^{-e^{(-B \times (t-t^*))}}) \times (e^{(-B \times (t-t^*))}) \quad (2)$$

Curva de incorporação do ^{15}N tecidual

As razões isotópicas de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ nas dietas e amostras teciduais foram determinadas em comparação ao padrão internacional do nitrogênio atmosférico. As comparações relacionadas com as amostras e os padrões são expressos pela notação delta (δ), definido como partes per mil (‰), segundo Criss *et al.* (1999).

$$\delta^{15}\text{N} = [(R_a/R_p) - 1] \times 10^3 \quad (3)$$

Sendo R a razão isotópica de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ para a amostra (R_a) e padrão (R_p) do nitrogênio, correspondente ao enriquecimento isotópico tecidual em relação nitrogênio atmosférico, segundo as normas internacionais.

A partir do valor isotópico final ($\delta^{15}\text{N}_f$) para cada tecido, foi empregada a função proposta por Ducatti *et al.* (2002).

$$\delta^{15}\text{N}_t = \delta^{15}\text{N}_f + (\delta^{15}\text{N}_i - \delta^{15}\text{N}_f) \times e^{-kt} \quad (4)$$

No qual, $\delta^{15}\text{N}_t$ é o enriquecimento isotópico relativo no tecido no tempo t , expresso em partes por mil; $\delta^{15}\text{N}_i$ representa a concentração isotópica tecidual inicial, proveniente da condição tempo experimental igual a zero expresso em delta partes por mil; o valor de $\delta^{15}\text{N}_f$ é a concentração dos isótopos teciduais, quando ocorre a substituição completa dos isótopos, expresso em delta partes por mil; a

constante k é a taxa de substituição e incorporação isotópica com unidades de tempo⁻¹.

Para calcular o tempo de substituição e incorporação do isótopo estável tecidual, foi utilizada a equação descrita por Wolf & Chinkes (2005).

$$t = \left(-1/k\right) \ln(1 - f) \quad (5)$$

Onde, f é a fração de troca entre os átomos (valor entre de 0 a 1), para um dado tempo t em dias, e k é a constante de troca isotópica no tempo⁻¹. Quando esta fração representa 50% ($f=0,5$), podemos nomeá-la como meia vida.

O crescimento e a incorporação do nitrogênio isotópico tecidual foram ajustados ao modelo sigmoidal e exponencial, usando software OriginPro 8.0 (Copyright© 1991-2007 Original Lab Corporation).

6.RESULTADOS

Descrição do crescimento

O conjunto dos parâmetros que compõem a equação de Gompertz descreve o crescimento animal (Tabela 3). As penas possuem um valor de t^* baixo (29 dias) em comparação aos tecidos, como coração (31), tíbia (32), cartilagem (36) e músculo peitoral maior (43 dias).

De forma a determinar o crescimento dos tecidos das aves, podemos utilizar o parâmetro t^* como comparação entre os tecidos. O jejuno estabelece o seu crescimento com 16 dias, seguido por fígado e rins. As penas possuem um valor de t^* menor (29 dias) em comparação aos tecidos, tíbia (32), cartilagem (36) e músculo peitoral maior (43 dias). Estes resultados são influenciados pelo parâmetro B (taxa de maturidade). Em ordem decrescente, os resultados para o parâmetro B (taxa de maturidade) foram, jejuno (0,103), penas (0,080), fígado (0,059), rins (0,058), tíbia (0,047), cartilagem (0,042), peso vivo (0,042), peito (0,041), coração (0,038) e sartório (0,0306).

Tabela 3. Parâmetros da equação de Gompertz¹ para o crescimento tecidual em frangos de corte de 0 a 70 dias de vida

	Parâmetros						
	P _m (g)	EP	t*(dias)	EP	B (/dia)	EP	R ²
Jejuno	28,48	0,742	16,58	0,5887	0,1035	0,0102	0,901
Fígado	93,37	3,961	20,53	1,0664	0,0590	0,0053	0,908
Rim	26,92	0,925	24,73	0,8435	0,0585	0,0038	0,953
Coração	26,22	1,666	31,88	2,0014	0,0380	0,0030	0,946
Cartilagem	43,67	2,168	36,00	1,4048	0,0425	0,0026	0,969
Tíbia	43,41	2,4351	32,78	0,7378	0,0478	0,0019	0,985
Peito	2098,94	87,053	43,97	1,1572	0,0412	0,0019	0,988
Sartório	34,88	4,425	53,74	4,3185	0,0306	0,0031	0,956
Penas	175,88	8,737	29,17	1,2392	0,0800	0,0124	0,955
Peso Vivo	7102,27	185,540	37,64	0,7345	0,0424	0,0014	0,992

P_m: Peso a maturidade; t*: Tempo em dias para a inflexão da curva de crescimento; B: taxa de maturidade; EP: Erro Padrão; R²: Coeficiente de determinação.

Foram calculadas as taxas de crescimento (TC = g/dia), para ganho de peso vivo (Tabela 4) por meio da derivada das equações de Gompertz (Sakomura e Rostagno, 2007).

Tabela 4. Taxas de crescimento tecidual (g/d) em 10 semanas para frangos de corte

Dias	Taxa de Crescimento Tecidual – TC (g/dia)									
	PV ¹	PM ²	Fíg ³	Jej ⁴	Cor ⁵	Rim	Sart ⁶	Penas	Tíbia	Cart ⁷
1	12,63	1,44	0,74	0,10	0,13	0,12	0,04	0,01	0,10	0,10
7	28,28	4,06	1,33	0,54	0,20	0,26	0,07	0,23	0,23	0,21
14	53,82	9,57	1,86	1,04	0,27	0,45	0,12	1,64	0,44	0,37
21	80,47	16,96	2,02	0,99	0,33	0,56	0,19	3,96	0,63	0,53
28	100,56	24,21	1,86	0,67	0,36	0,57	0,26	5,15	0,74	0,64
35	109,99	29,42	1,53	0,38	0,36	0,50	0,32	4,71	0,76	0,68
42	108,94	31,68	1,17	0,20	0,34	0,40	0,37	3,52	0,70	0,66
49	100,24	31,16	0,85	0,10	0,31	0,30	0,39	2,35	0,60	0,60
56	87,33	28,63	0,60	0,05	0,27	0,22	0,39	1,46	0,49	0,52
63	73,04	25,00	0,41	0,02	0,22	0,15	0,38	0,88	0,39	0,43
70	59,27	21,01	0,28	0,01	0,19	0,10	0,35	0,52	0,30	0,35

1.Peso Vivo; 2.Peitoral Maior; 3.Fígado; 4. Jejuno; 5. Coração; 6.Sartório; 7.Cartilagem; Maiores taxas de crescimento para cada tecido por semana estão destacados em negrito

Este parâmetro representa a máxima deposição em peso vivo dos tecidos, expressando a capacidade genética da linhagem. O músculo peitoral

maior, possui a sua maior deposição na semana 6 (42 dias), em contrapartida, o jejuno estabeleceu a sua maior deposição na semana 2 (14 dias de vida), evidenciando a variação de crescimento entre os tecidos.

Substituição e incorporação do ^{15}N

Os resultados representam a incorporação do ^{15}N nos tecidos de frangos de corte (Tabela 5). Durante a fase inicial (0 a 14 dias), não foi possível realizar o ajuste da equação e definição dos parâmetros de incorporação do nitrogênio (dados não apresentados), devido ao alto enriquecimento dos frangos de corte nos primeiros dias de vida, motivo este decorrente de uma alimentação com maior concentração de ^{15}N proveniente da matriz (dieta esta não controlada pelo pesquisador). Notam-se os valores mais altos do parâmetro k para os tecidos metabolicamente ativos, plasma (0,306 e 0,141), jejuno (0,312 e 0,132) e fígado (0,235 e 0,089), em comparação a aqueles considerados como destino de deposição do nitrogênio, peito (0,114 e 0,078) e penas das asas (0,147 e 0,037). Estes resultados se repetem para a segunda e terceira fase.

A Troca Total ($f = 99\%$) representa o tempo necessário para a substituição dos isótopos teciduais na representação do sinal provindo da dieta. Na comparação da segunda para a terceira fase, os tecidos aumentam o tempo de troca isotópica, sendo 2,17 vezes para o plasma; 2,63 vezes para o fígado; 1,45 vezes para o peito; 4,01 vezes para as penas da asa e 3,89 vezes para penas do dorso.

Tabela 5. Parâmetros da equação de incorporação isotópico do ^{15}N , segundo Ducatti¹ et al. (2002) para frangos de corte em crescimento

Crescimento (14 a 42 dias)		Parâmetros					Substituição e Incorporação ^{15}N		
Amostras	$^{15}\text{N}_f - ^{15}\text{N}_i$	EP	$^{15}\text{N}_f$	EP	k	EP	50%T	99%T	R ²
	‰		‰		/dia		Dias	Dias	%
Plasma	2,231	0,102	5,511	0,054	0,306	0,034	2,27	15,05	92,2
Jejuno	2,199	0,089	4,054	0,045	0,312	0,030	2,22	14,76	93,2
Fígado	2,281	0,079	5,168	0,05	0,235	0,021	2,95	19,60	94,6
Peitoral Maior	2,146	0,082	4,044	0,084	0,114	0,012	6,09	40,47	95,1
Penas das Asas	2,133	0,076	3,730	0,067	0,147	0,015	4,72	31,33	94,6
Penas das Dorso	0,856	0,134	4,234	0,095	0,146	0,062	4,75	31,54	50,8
Excreta	2,747	0,234	2,791	0,087	0,774	0,146	0,90	5,95	76,6
Final (35 a 70 dias)		Parâmetros					Substituição e Incorporação ^{15}N		
Amostras	$^{15}\text{N}_f - ^{15}\text{N}_i$	EP	$^{15}\text{N}_f$	EP	k	EP	50%T	99%T	R ²
	‰		‰		/dia		Dias	Dias	%
Plasma	2,351	0,142	5,867	0,137	0,141	0,019	4,93	32,73	86,1
Jejuno	2,053	0,087	4,349	0,070	0,132	0,016	5,25	34,89	91,6
Fígado	2,271	0,125	5,501	0,130	0,089	0,014	7,76	51,57	89,7
Peitoral Maior	2,181	0,128	4,001	0,139	0,078	0,013	8,86	58,89	90,6
Penas das Asas	1,694	0,474	3,345	0,507	0,037	0,018	18,94	125,82	79,0
Penas das Dorso	2,709	0,649	4,482	0,691	0,038	0,016	18,48	122,80	81,4
Excreta	2,249	0,191	2,522	0,067	0,704	0,137	0,99	6,55	76,1

$^{15}\text{N}_f - ^{15}\text{N}_i$ Enriquecimento tecidual no período; $^{15}\text{N}_f$ Enriquecimento tecidual final; k Constante de troca isotópica; 50%T Meia Vida; 99%T: 99% de troca isotópica; EP Erro Padrão; R² Coeficiente de determinação

Fracionamento isotópico

Em todas as idades estudadas, os valores do fracionamento isotópico para excreta foram negativos e, excluindo a análise da fase inicial, os valores do fracionamento dos tecidos foram positivos. Importante verificar que, dentre os resultados positivos, aqueles que possuem maiores valores absolutos são o plasma e o fígado, durante o período de crescimento e final (Tabela 6).

Tabela 6. Valores da dieta experimental, amostras teciduais e fracionamentos isotópicos, em delta per mil de frangos de corte em diferentes fases do crescimento

Tecidos	$\delta^{15}\text{N}_{\text{dieta}}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}_i$ (‰)	EP	$\delta^{15}\text{N}_f$ (‰)	EP	δ Fr. Isotópico (‰)
Fase Inicial (0 a 14 dias)						
Plasma		4,363	0,074	5,130	0,166	1,940
Jejuno		2,383	0,039	1,609	0,120	-1,581
Fígado		2,983	0,103	2,597	0,110	-0,593
Peito	3,19	4,598	0,135	3,093	0,065	-0,097
Penas Asas		6,380	0,160	4,350	0,075	1,160
Penas Dorso		6,153	0,070	5,443	0,081	2,253
Excreta		-0,108	0,279	2,980	0,259	-0,210
Fase de Crescimento (14 a 42 dias)						
Plasma		3,390	0,074	5,588	0,065	2,328
Jejuno		1,769	0,029	4,322	0,099	1,062
Fígado		2,845	0,076	5,337	0,120	2,077
Peito	3,26	1,916	0,138	4,058	0,032	0,798
Penas Asas		1,617	0,061	3,857	0,089	0,597
Penas Dorso		3,269	0,004	4,362	0,048	1,102
Excreta		0,162	0,056	2,637	0,094	-0,623
Fase Final (35 a 70 dias)						
Plasma		3,440	0,073	6,183	0,103	2,513
Jejuno		1,988	0,075	4,639	0,111	0,969
Fígado		3,058	0,031	5,787	0,161	2,117
Peito	3,67	1,580	0,083	3,955	0,052	0,285
Penas Asas		1,595	0,032	3,179	0,049	-0,491
Penas Dorso		1,720	0,078	4,286	0,152	0,616
Excreta		0,335	0,176	2,759	0,082	-0,912

$\delta^{15}\text{N}_d$ Enriquecimento da dieta; $\delta^{15}\text{N}_i$ Enriquecimento tecidual inicial; $\delta^{15}\text{N}_f$

Enriquecimento tecidual final; δ Fr. Isotópico Fracionamento isotópico do nitrogênio (Δ) =

$\delta^{15}\text{N}_f - \delta^{15}\text{N}_{\text{dieta}}$; EP Erro Padrão

7.DISCUSSÃO

Descrição do crescimento

Os valores dos parâmetros da equação de Gompertz nos indica como ocorre o crescimento individual dos tecidos das aves (Tabela 3). O crescimento dos tecidos com metabolismo mais acelerado (jejuno, fígado e rins) possuem valores maiores para taxa de maturação (B) em comparação aos tecidos com o crescimento lento (tíbia, cartilagem e músculos) (FRANCE et al., 2008). Segundo Marcato et al, (2008), aves machos Cobb, possuem o valor de B (0,0416) para peso vivo próximo ao descrito neste trabalho (0,0424). Isto evidencia a pequena alteração no potencial genético desta linhagem no decorrer destes anos.

Segundo Macari *et al.* (2002), o desenvolvimento do frango de corte compreende três fases distintas: 1) Desenvolvimento dos órgãos: Logo após a eclosão, há crescimento alométrico negativo, os quais trarão suporte para o rápido crescimento do animal nos dias subsequentes. 2) Crescimento dos tecidos estruturais: Alongamento e desenvolvimento de cartilagens e ossos, preparando o corpo para suportar o acúmulo de massa corpórea. 3) Deposição da musculatura: Deposição proteica dos tecidos musculares. O crescimento é assim descrito para as espécies animais de maneira geral.

O parâmetro t^* para o coração é, 92,27% mais lento quando comparado ao crescimento do jejuno e este tecido, quando comparado aos demais, possui o menor valor do parâmetro B (0,0380). O melhoramento genético animal com enfoque na deposição proteica muscular não foi o mesmo quando analisamos o crescimento do coração.

Como demonstrado neste experimento, órgãos com papel fundamental no metabolismo proteico como jejuno (16 dias), fígado (20 dias) e rins (24 dias), estabelecem seu crescimento logo nas primeiras semanas, valor este representado pelo t^* em que ocorre a máxima taxa de crescimento dispostas em ordem crescente de tempo. Estruturas de sustentação, como ossos e cartilagem, são necessárias para a inserção e desenvolvimento muscular e

proteção dos órgãos. Portanto, os resultados para tibia (32 dias) e cartilagem (36 dias) são os próximos alcançarem a idade referente ao t^* , portanto, reduzirão sua taxa de crescimento. E como fase final do desenvolvimento corporal, os tecidos musculares do músculo peitoral maior (43 dias) e sartório (53 dias), foram os últimos a finalizarem o seu crescimento.

Correlacionando o metabolismo do nitrogênio para aves, as penas possuem posição de destaque, pois, além de possuir papel de extrema importância no início do crescimento quando se é necessário o aquecimento e manutenção da temperatura corpórea da ave (OLIVEIRA *et al.*, 2006), permite proteção contra choque mecânicos e sua constituição é preponderantemente proteica. Por esses motivos, o direcionamento do sistema biológico para crescimento de penas deve ser dar por completa precocemente, neste caso, quantificado em 29 dias. Este é um ponto importante para justificar tal crescimento acelerado (LEESON e WALSH, 2004) em comparação com tecidos estruturais como ossos e cartilagem.

A partir dos 43 dias de vida, o frango se torna menos eficiente no crescimento muscular peitoral e, conseqüentemente, espera-se que a conversão de ração para a deposição no peitoral maior seja menor, resposta esta confirmada com os valores de $t^* = 43,97$ dias, ou seja, há a redução do crescimento de deposição da massa muscular e a taxa de crescimento, $TC = 31,68$ g/dia no 42º dia de vida (Tabela 4).

Hancock *et al.* (1995) demonstrou, com o uso da equação de Gompertz, que os machos de seis linhagens apresentaram comportamento de deposição proteica maior que as fêmeas. Para as linhagens Ross 708, Ross 788, Ross 608, Ross 688, Hubbard e Hybro, o peso à maturidade (P_m) foi de 5171 a 6145g, a taxa de crescimento máximo (B) entre 0,0355 a 0,0371 e a idade no ponto de inflexão (t^*) variou de 41,9 e 44,2. GOUS *et al.* (1999) descreveram os parâmetros da equação de Gompertz determinados para peso vivo em frangos machos, no qual, P_m entre 5888 a 6087g; t^* variou entre 42,7 a 43,5 e o valor de B entre 0,0375 a 0,0382. Neste experimento, as aves Cobb possuem maiores valores para peso vivo nestes parâmetros ($P_m = 7102,27$; $B = 0,0424$ e $t^* = 37,64$), indicando crescimento precoce.

Substituição e incorporação ^{15}N

O farelo de soja, como representante de espécies leguminosas, consegue utilizar o ar atmosférico como fonte de nitrogênio graças a uma simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium sp.* (FAGAN *et al.*, 2007). Grãos que não realizam esta simbiose (por exemplo o milho), tendem a refletir o valor isotópico referente a adubação nitrogenada. O pintainho de um dia representará, em delta per mil, o nitrogênio proveniente da alimentação da matriz do frango de corte, o qual, possivelmente teria uma dieta a base de milho, farelo de soja e farelo de trigo. Os dados referência da fase inicial (0 a 14 dias), resultante dos primeiros dias de vida do frango tiveram um sinal isotópico acima do esperado ($\delta^{15}\text{Ni}$, Tabela 6), inviabilizando a análise, comumente, atribuída a incorporação do nitrogênio.

Na segunda fase (14 a 42 dias) as aves passaram 14 dias se alimentando somente da ração a base de milho e farelo de soja, portanto, houve um controle deste enriquecimento inicial (primeiros dias da segunda fase), permitindo que seja realizada a análise de incorporação nitrogenada, assim como a terceira fase, ao quais as aves ficaram 35 dias se alimentando de milho e farelo de soja antes de iniciar o experimento.

É importante verificar os valores de k (Tabela 6), constante de troca isotópica, mostram a quantidade que o traçador é transferido para o tecido por unidade de tempo. É uma medida que expressa a incorporação do nitrogênio, pois se trata de uma fase de crescimento exponencial da ave. Assim, quanto maior o valor desta constante, maior será a substituição do isótopo em menor tempo (50% Troca ou 99% Troca) do ^{15}N tecidual em comparação ao alimento ofertado.

Na segunda fase, nota-se enriquecimento mais rápido nos órgãos jejuno, plasma e fígado, valores visualizados pelos maiores coeficiente de troca isotópica (k) e menores valores de tempo (50% Troca e 99% Troca), em comparação ao tecido pena e músculo peitoral. Esta evidência indica que os órgãos internos possuem incorporação mais rápida do que tecido muscular (TIESZEN *et al.*, 1983).

Para as penas das asas ($k=0,147$), o valor da constante de troca (k) maior que a do músculo do peito ($k=0,114$) para a fase de crescimento (14 a 42 dias), mostra o importante direcionamento do nutriente nitrogenado para este tecido, indicando a sua importância na proteção corporal para esta fase de vida. Na

terceira fase (35 a 70 dias), observa-se o comportamento inverso dos tecidos (penas das asas, $k=0,037$, musculo peitoral maior, $k=0,078$), mostrando o maior direcionamento do nitrogênio para o crescimento do musculo peitoral maior.

Quando as fases são comparadas (Tabela 5), é visível verificar o aumento do tempo para finalizar o enriquecimento tecidual (99% Troca). O tecido que possui o maior valor de incorporação, o jejuno, passa de 15 dias de enriquecimento total na segunda fase para 35 dias na terceira fase. Esta comparação possui duas implicações importantes. 1) O tecido possui estabilização no seu desenvolvimento (valor de t^* na curva de crescimento, Tabela 3), ocorrendo enriquecimento principalmente pela substituição das células teciduais (valores similares entre síntese e degradação) e, não pela incorporação de novas células (síntese sendo superior que a degradação tecidual). Consequentemente, a substituição em função do tempo do valor isotópico foi reduzida (Tabela 5). 2) Quanto maior o animal, maior a quantidade de moléculas na formação dos tecidos, e consequentemente, maior será o tempo de substituição das moléculas (Tabela 5) de ^{14}N para o ^{15}N (VANDER ZANDEN *et al.*, 2015), esta teoria fornece outro subsídio para que ocorra o aumento do 50% de Troca e 99% de Troca isotópica.

Estes resultados demonstram a variedade de respostas fisiológicas que definem o rápido crescimento do frango e a precocidade para o abate em apenas 42 dias. A cada década, temos redução do período de abate das aves como forma de suprir as necessidades do mercado consumidor e, questões sobre a utilização diferenciada entre os tecidos para o nitrogênio (e consequentemente da proteína), iniciam os seus passos na associação aos importantes estudos de modelagem matemática.

Os isótopos estáveis ambientais possuem grande potencial para auxiliar os modelos de crescimento na compreensão das respostas produtivas frente a variações de entre animais, variáveis climáticas, sanitárias e principalmente nutricionais, por se tratar de uma ferramenta a somar esforços na descrição deste animal.

Fracionamento isotópico

Esta variação traduz a diferença existente entre estas assinaturas isotópicas (dieta e tecido formado) frente a processos químicos e físicos presente no metabolismo animal (CHAMBERS *et al.*, 1979). O resultado desta variável nos informa se houve enriquecimento (acúmulo do ^{15}N) tecidual acima do valor da dieta ou se, o tecido estudado teve um empobrecimento (perda das moléculas de ^{15}N). Em um mesmo ser vivo, o fracionamento isotópico é a resposta do sinal isotópico tecidual variável frente à composição isotópica dietética (Tabela 6).

Podemos observar os valores negativos para excreta (Tabela 6), e este é um processo resultante do fracionamento isotópico do nitrogênio. Se tratando de estudos sobre o nitrogênio, o primeiro ponto a ser avaliado é a discriminação da dieta aos tecidos, encontrado na literatura como fracionamento em nível trófico (VANDER ZANDEN *et al.*, 2015). Esta variação é causada pelo fracionamento durante a desaminação e transaminação proteica (DENIRO E EPSTEIN, 1978). Nestes processos enzimáticos, a desaminação remove preferencialmente os grupos de amina com ^{14}N . Por conseguinte, o nitrogênio excretado (neste caso ácido úrico) é empobrecido em ^{15}N (STEELE E DANIEL, 1978). De um modo semelhante, a transaminação favorece grupos amina contendo ^{14}N (MACKO *et al.*, 1986). Como resultado, o nitrogênio proveniente do glutamato (fonte frequente de transaminação para outros aminoácidos e desaminação do ciclo de ureia, NELSON *et al.*, 2008) é enriquecido com ^{15}N em relação a composição de nitrogênio proveniente da dieta (HARE *et al.*, 1991). Como comparação, animais carnívoros possuem maior valor do ^{15}N que animais herbívoros (AMBROSE *et al.*, 1986).

Desta forma, espera-se que tecidos com metabolismo intenso possuam maiores valores quanto ao fracionamento isotópico em relação à dieta, ou, tecidos responsáveis pelo transporte destas substâncias, corroborando com os resultados encontrados para plasma, fígado e jejuno durante a segunda e terceira fase experimental. O valor negativo do fracionamento na terceira fase para pena das asas (Tabela 6) pode ser explicado pelo baixo valor do coeficiente de “turnover” (k igual a 0,037) não fornecendo tempo experimental suficiente para esta incorporação ser positiva.

8.CONCLUSÕES

A associação inédita do estudo de crescimento tecidual por meio da modelagem clássica com os coeficientes de incorporação do nitrogênio possibilitou uma análise do perfil metabólico tecidual.

A determinação dos parâmetros presentes nas equações da modelagem do crescimento fornecem respostas ao uso diferenciado dos nutrientes pelos tecidos (diferentes valores das taxas de maturidade – B - e crescimento – TC -, peso a maturidade e ponto de inflexão - t*) metabólicos (jejuno, fígado, rins), de sustentação (tíbia e cartilagem) e deposição (músculos e penas). Os resultados se confirmam com a incorporação do traçador de ^{15}N específico e diferenciado entre os tecidos, além de confirmar a redução na incorporação do nitrogênio por unidade de tempo com o avançar da idade do frango de corte.

Esta pesquisa reforça a necessidade da utilização de diferentes metodologias de análise matemática para a compreensão nutricional, metabólica e fisiológica do período de rápido crescimento do frango de corte.

9.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATKINS, Gordon Leslie. Multicompartment models for biological systems. **London: Methuen**, 1969.

AMBROSE, S. H.; DENIRO, M. J. The isotopic ecology of East African mammals. **Oecologia**, v. 69, n. 3, p. 395-406, 1986.

BLACK, J. L. Brief history and future of animal simulation models for science and application. **Animal Production Science**, v. 54, n. 12, p. 1883-1895, 2014.

BÖTTCHER, M. E.; BRUMSACK, H.-J.; DE LANGE, G. J. Sulfate reduction and related stable isotope (^{34}S , ^{18}O) variations in interstitial waters from the eastern Mediterranean. In: Proceedings of the ocean drilling program. Scientific results. **Ocean Drilling Program**, 1998. p. 365-373.

CARRIJO, A. S. et al. Traceability of bovine meat and bone meal in poultry by stable isotope analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, n. 1, p. 63-68, 2006.

CHAMBERS, L. A.; TRUDINGER, P. A. Microbiological fractionation of stable sulfur isotopes: a review and critique. **Geomicrobiology Journal**, v. 1, n. 3, p. 249-293, 1979.

COLETTA, L. D., PEREIRA, A. L., COELHO, A. A. D., SAVINO, V. J. M., MENTEN, J. F. M., CORRER, E., FRANÇA, L. C., AND MARTINELLI, L. A. Barn vs. free-range chickens: Differences in their diets determined by stable isotopes. **Food Chemistry**, v.131, p. 155-160, 2012.

CRISS, R. E. Principles of stable isotope distribution. **New York: Oxford University Press.**, 1999. 254 p.

de ARAUJO, P. C.; SARTORI, J. R.; CRUZ, V. C.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; STRADIOTTI, A. C.; PELÍCIA, V. C. Rastreabilidade de farinha de vísceras de aves por isótopos estáveis em penas de frangos de corte. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v. 46, n. 5, p. 538-545, 2011.

DENADAI, J. C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C.; MÓRI, C.; GOTTMANN, R.; MITUO, M. A. O. Rastreabilidade da farinha de carne e ossos bovinos em ovos de poedeiras alimentadas com ingredientes alternativos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 44, n. 1, p. 1-7, 2009.

DENADAI, J. C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J. R.; PEZZATO, A. C.; GOTTMANN, R. Rastreabilidade da farinha de carne e ossos bovinos em ovos de poedeiras comerciais pela técnica dos isótopos estáveis do carbono e nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 12, p. 2760-2766, 2011.

DENIRO, M. J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et cosmochimica acta**, v. 42, n. 5, p. 495-506, 1978.

DUCATTI, C.; CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; MANCERA, P. F. A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agrícola**, v. 59, n. 1, p. 29-33, 2002.

DUCATTI, C.; CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; MANCERA, P. F. A. Carbon turnover in poultry tissues at different growth stages. **Ciência Rural**, v. 44, n. 8, p. 1472-1478, 2014.

FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; CASAROLI, D.; SIMON, J.; DOURADO NETO, D.; VAN LIER, Q. J.; SANTOS, O. S.; MULLER, L. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja-Revisão. **Revista da FZVA**, v. 14, n. 1, 2007.

FARIA FILHO, D. E.; ROSA, P. S.; FIGUEIREDO, D. F.; DAHLKE, F.; MACARI, M.; FURLAN, R. L. Dietas de baixa proteína no desempenho de frangos criados em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 101-106, 2006.

FRANCE, J.; KEBREAB, E. (Ed.). Mathematical modelling in animal nutrition. **Cabi**, 2008.

GAT, J. R.; GONFIANTINI, R. Stable isotope hydrology. Deuterium and oxygen-18 in the water cycle. 1981.

GOMPERTZ, B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, p. 513-583, 1825.

GOUS, R.M.; MORAN JR., E.T.; STILBORN, H.R.; BRADFORD, G.D.; EMMANS, G.C. Evaluation of the parameters needed to describe the overall growth, the chemical growth, and the growth of feathers and breast muscles of broilers. **Poultry Science**, v.78, p. 812-821,1999.

HANCOCK, C.E.; BRADFORD, G.D.; EMMANS, G.C.; GOUS, R.M. The evaluation of growth parameters of six strains of commercial broiler chickens. **British Poultry Science**, v.36, p.247-64, 1995.

HARE, P. E.; FOGEL, M. L.; STAFFORD JR., T. W.; MITCHELL, A. D., HOERING, T. C. The isotopic composition of carbon and nitrogen in individual amino acids isolated from modern and fossil proteins. **Journal of Archaeological Science**, v. 18, n. 3, p. 277-292, 1991.

HARRISON, S. M.; SCHMIDT, O.; MOLONEY, A. P.; KELLY, S. D.; ROSSMANN, A.; SCHELLENBERG, A.; CAMIN, F.; PERINI, M.; HOOGEWERFF, J.; MONAHAN, F. J. Tissue turnover in ovine muscles and lipids as recorded by multiple (H, C, O, S) stable isotope ratios. **Food Chemistry**, v. 124, p. 291-297, 2011.

HOBSON K. A.; CLARK R. G. Assessing Avian Diets Using Stable Isotopes II: Factors Influencing Diet-Tissue Fractionation. **The Condor** , Vol. 94, No. 1 (Feb., 1992), pp. 189-197.

HURBY, M.; HAMRE, M.L.; COON, C.N. Predicting amino acid requirements for broilers at 21.11 and 32.21C. **Journal Applied Poultry Research**, 4:395-401, 1995.

LEESON, S.; WALSH, T. Feathering in commercial poultry I. Feather growth and composition. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 01, p. 42-51, 2004.

MACARI M.; FURLAN R. L.; GONZALES E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. 2º. **Edição, editora FUNEP**, ISBN-8587632485, 9788587632487, p. 375, 2002.

MACKO, S. A.; ESTEP, M. L. F.; ENGEL, M. H.; HARE, P. E. Kinetic fractionation of stable nitrogen isotopes during amino acid transamination. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 50, n. 10, p. 2143-2146, 1986.

MACLEOD, M.G. Modelling the utilization of dietary energy and amino acids by poultry. In: THEODOROU, M.K.; FRANCE, J. (Ed.). Feeding systems and feed evaluation models. **CABI Publishing**, 2000. p.393-412.

MARCATO, S. M. et al. Growth and body nutrient deposition of two broiler commercial genetic lines. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 10, n. 2, p. 117-123, 2008.

MARTIN, P. A.; BRADFORD, G.; GOUS, R.M. A formal method of determining the amino acid requirements of laying-type pulleys during their growing period. **British Poultry Science**, v.35, p.709-724, 1994.

NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. L.; COX, M. M. Lehninger principles of biochemistry. **Macmillan**, 2008.

NEME, R.; SAKOMURA, N.K.; FUKAYAMA, E.H.; FREITAS, E.R.; FIALHO, F.B.; RESENDE, K.T.; FERNANDEZ, J.B.K Curvas de crescimento e deposição dos componentes corporais de aves de postura de diferentes linhagens. **Revista Brasileira Zootecnia**. Viçosa, v.35, p.1091-1100, 2006.

OLIVEIRA, R. F. M.; DONZELE, J. L.; ABREU, M. L. T.; FERREIRA, R. A.; VAZ, R. G. M. V.; CELLA, P. S. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 797-803, 2006.

ORIGIN. 8. About Origin Pro 8 SRO, V8. 0724 software, Copyright 1991-2007, **Origin Lab Corporation**. 2007.

RACETTE, S. B.; SCHOELLER, D. A.; SHAY, L. K.; HNILICKA, J.; KUSHNER, R. F. Relative dilution spaces of 2H-and 18O-labeled water in humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 267, n. 4, p. E585-E590, 1994.

RATHMACHER, J. A. Measurement and significance of protein turnover. Farm Animal Metabolism and Nutrition: Critical Reviews. JP F D'Mello, ed. **CAB International**, Wallingford, UK, p. 25, 2000.

RIEDIJK, M. A.; STOLL, B.; CHACKO, S.; SCHIERBEEK, H.; SUNEHAG, A. L.; VAN GOUDOEVER, J. B.; BURRIN, D. G. Methionine transmethylation and transsulfuration in the piglet gastrointestinal tract. **PNAS**, Illinois, v. 104, n. 9, p. 3408-3413, 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. **Viçosa**, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011.

SAKOMURA, N.K.; LONGO, F.; RONDON, E.O.; RABELLO, C.B.V.; FERRAUDO, A.S. Modeling energy utilization and growth parameter description for broiler chickens. **Poultry Science**, v.84, p.1363-1369, 2005.

SAKOMURA, N. K., & Rostagno, H. S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos (p. 283). **Funep**, 2007.

SANTOS, A.; SAKOMURA, N.K.; FREITAS, E.R.; FORTES, C.M.SÁ; CARRILHO, E.N.V.M.; FERNANDEZ, J.B.K. Estudos do crescimento, desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne de três linhagens de frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**. Viçosa, v. 34, p.1589-1598, 2005.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; VELOSO, M. E. C.; TRIVELIN, P. C. O. Aproveitamento do nitrogênio (^{15}N) da crotalária e do milheto pelo milho sob plantio direto em Latossolo Vermelho de Cerrado. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, 2006.

STEELE, K. W.; DANIEL, R. M. Fractionation of nitrogen isotopes by animals: a further complication to the use of variations in the natural abundance of ^{15}N for tracer studies. **The Journal of Agricultural Science**, v. 90, n. 01, p. 7-9, 1978.

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, n. 1-2, p. 32-37, 1983.

VANDER ZANDEN, M. J.; CLAYTON, M. K.; MOODY, E. K.; SOLOMON, C. T.; WEIDEL, B. C. Stable Isotope Turnover and Half-Life in Animal Tissues: A Literature Synthesis. **PloS one**, v. 10, n. 1, p. e0116182, 2015.

WOLFE, R. R. Radioactive and stable isotope tracers in biomedicine: principles and practice of kinetic analysis. 1992.

WOLFE, R. R.; CHINKES, D. L. Isotope tracers in metabolic research: principles and practice of kinetic analysis. **John Wiley & Sons**, 2005.

ZUANON, J. A. S. et al. Muscle $\delta^{13}\text{C}$ change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects of growth and carbon turnover. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: **Biochemistry and Molecular Biology**, v. 145, n. 1, p. 101-107, 2006.

CAPÍTULO 3 - CINÉTICA DO ^{15}N : UMA ABORDAGEM COM O USO DA ANÁLISE COMPARTIMENTAL PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO: Em um sistema biológico, os tecidos atuam em sinergismo para o bom funcionamento do metabolismo e, este conhecimento conjunto demonstra a grande complexidade que são os organismos vivos. Os modelos matemáticos por compartimentalização visam simplificar os processos cinéticos dos nutrientes como forma de ampliar o conhecimento fisiológico e nutricional. Portanto, esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de descrever a cinética do nitrogênio em frangos de corte em três idades, por meio da análise compartimental e determinar os parâmetros cinéticos teciduais. As aves (machos Cobb 500®, n=136) foram alimentadas com dietas naturalmente enriquecidas com ^{15}N durante três fases: Inicial (0 a 14 dias), crescimento (14 a 42 dias) e final (35 a 70 dias). Amostras de alimentos e excretas foram coletadas diariamente e, jejuno, fígado, plasma, peito e penas foram coletadas no momento dos abates sucessivos. A concentração de isótopos em função do tempo foi determinada por IRMS. Usando a simulação de análise e modelagem por software, um modelo com cinco compartimentos, cinco componentes e 19 parâmetros independentes foi desenvolvido. Os resultados confirmam o papel essencial do fígado e do plasma no metabolismo nitrogenado, com os respectivos tempos de trânsito de 42 minutos (min) e 22 min fase inicial; 10 horas (h) 48min e 5h 1min na fase de crescimento e 11h e 37min e 10h e 42min na fase final. A alta eficiência de frangos de corte na transformação proteína da dieta em proteína animal foi refletida com os tempos de permanência do nitrogênio de 10 dias (d) 4h e 5d 17h no músculo peitoral maior e penas, respectivamente para a fase inicial; 19d 2h 10d 21h na fase de crescimento e 29d 14h e 28d 19h na fase final. O “turnover” foi demonstrado nos dados do número de reciclagens de 31,91 e 36,16 vezes, respectivamente para o fígado e plasma na fase inicial, com uma redução subsequente no metabolismo com a idade (1,37 e 3,72 vezes na fase final). Esta descrição aumenta a compreensão da cinética do nitrogênio entre os tecidos de frangos de corte ao longo do crescimento.

PALAVRAS-CHAVE: Isótopos estáveis, metabolismo, modelagem, nutrição

ABSTRACT: In a biological system, tissues work in synergy for the proper functioning of metabolism and this knowledge demonstrates the high complexity of living organisms. Mathematical models for compartmentalization to simplify the kinetic processes of nutrients as a way to expand the physiological and nutritional knowledge. Therefore, this study was conducted with the aim of describe the kinetics of nitrogen in broiler chickens in three ages, through compartmental analysis and to determine tissue kinetic parameters. Broilers (Cobb 500® males; n = 136) were fed with diets enriched with ^{15}N course for three phases: initial (0 to 14 days), growth (14 to 42 days) and final (35 to 70 days). Feed samples and excreta were collected daily and jejunum, liver, plasma, breast and feathers were collected at the time of successive slaughter. The isotope concentration versus time was determined by IRMS. Using simulation analysis and modeling by software, a model with five compartments, five components and 19 independent parameters has been developed. The results confirm the essential role of the liver and plasma in nitrogen metabolism with the respective transit times of 42minutes and 22 min initial phase; 10 hours 42min and 5h 1min in the growth phase and 11h 37min and 10h 42min in the final phase. The high efficiency of broilers in processing protein diet in animal protein was reflected with nitrogen residence times of 10 days (d) 4h and 5d 17h in the pectoralis major muscle and feathers, respectively in the initial phase; 19d 2h and 10d 21h in the growth phase and 29d 14h and 28d 19h in the final phase. The turnover has been shown in recycling number data 31.91 and 36.16 times respectively to the liver and plasma in the initial phase, with a subsequent reduction in metabolism with age (1.37 and 3.72 times in the final phase). This description increases understanding of nitrogen kinetics between tissues of broiler chickens during growth.

KEYWORDS: Metabolism, modeling, nutrition, stable Isotopes

10.INTRODUÇÃO

Estudos que visam o conhecimento das transformações fisiológicas e bioquímicas dos nutrientes frente às variadas condições de criação para os animais de produção, não acompanham o rápido desenvolvimento das pesquisas nutricionais e genéticas em busca do aumento produtivo. Se contextualizarmos o mercado avícola brasileiro, produção de carne (12,69 mil toneladas, terceiro maior produtor mundial), exportação (4,09 mil toneladas, maior exportador mundial) e consumo (42,1 kg/pessoa/ano em 2014; ABPA 2015), contribuem para o direcionamento de pesquisas voltadas a produção e nutrição animal. Entretanto, o conhecimento mais profundo da fisiologia pode oferecer alternativas na inserção de técnicas experimentais auxiliando o incremento da produção animal.

Traçadores cinéticos podem ser utilizados usando a modelagem matemática compartimental para obter informações sobre o comportamento dinâmico de sistemas biológicos (ATKINS, 1969). Algumas pesquisas disponíveis sobre diferentes fluxos de nitrogênio são fragmentados e seus resultados parecem dispersos, porque os métodos clássicos de investigação se baseiam na administração de marcadores enriquecidos e foca a determinação de um tipo específico do fluxo nitrogenado, como a fenilalanina (WUTZKE 2012) e glicina (BAGGA *et al.*, 2014). Nestes estudos, é recorrente o uso de infusões de traçadores metabólicos (MURAMATSU *et al.*, 1987) diretamente na corrente sanguínea dos modelos animais, conferindo maior controle e certeza da quantidade do traçador. A utilização de nutrientes/fármacos para humanos (GALLO-NETO *et al.*, 2012), ratos (MÉNOCHET *et al.*, 2012), ruminantes (BUCKLEY 1991) são desenvolvidas, mas viabilidades práticas e metodológicas para a avicultura ainda são empecilhos no uso da ferramenta em estudos de produção (POUPIN *et al.*, 2014).

Julliet *et al.* (2006) reportaram que complexidade do modelo foi a fonte de diversos problemas encontrados durante as diferentes etapas do desenvolvimento, em particular durante a modelagem estrutural, pois a estimativa de parâmetros *a priori* constitui um dos passos mais limitantes e críticos no desenvolvimento do modelo.

Diante do exposto, a pesquisa foi desenvolvida com o objetivo principal de: 1) Descrever o primeiro modelo cinético do nitrogênio em frangos de corte para três idades em estado não estacionário, com o uso da análise compartimental e 2) Quantificar os parâmetros cinéticos referentes aos tecidos.

11.MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Ciências Avícolas na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal. Todos os procedimentos experimentais descritos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” *Campus* de Jaboticabal, sob o protocolo nº 9999/14.

Instalações

Os animais foram criados individualmente em gaiolas de metabolismo 50x50x50cm com comedouros e bebedouros “nipple” individuais, dispostas em galpões de alvenaria do tipo convencional e controle de temperatura por abertura e fechamento de cortinas laterais. Esta criação de maneira individual viabilizou o controle quanto a alimentação e excreção dos animais.

Dietas

As dietas foram formuladas segundo as recomendações nutricionais de Rostagno *et al.*, (2011) para cada fase de criação (Tabela 1), porém os alimentos base na nutrição animal, milho e farelo de soja, foram substituídos por quirera de arroz e farinha de vísceras (de ARAUJO *et al.*, 2011), com o

intuito de aumentar a concentração isotópica do ^{15}N nos tecidos do frango de corte.

Foram utilizados 136 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500[®], subdivididos em três ensaios de diferentes idades: Fase inicial (1 a 14 dias), fase de crescimento (14 a 42 dias) e fase de final de criação (35 a 70 dias).

Tabela 1. Composição das rações utilizadas na fase inicial, crescimento e final da criação de frangos de corte

INGREDIENTES	Inicial ¹	Crescimento ²	Final ³
	%	%	%
Quirera Arroz	63,03	66,16	70,39
Farelo de Soja	25,41	20,26	16,31
Farinha de Vísceras	7,00	8,00	8,00
Óleo	1,315	2,76	2,756
Cloreto de Sódio	0,439	0,402	0,389
Calcário	0,885	0,747	0,644
Fosfato Bicálcico	1,304	1,085	0,904
DL-Metionina	0,149	0,13	0,119
L-Lisina	0,268	0,258	0,291
Premix Min/Vit	0,201	0,202	0,203
Composição Nutricional			
Energia Metabolizável (Kcal/Kg)	3005	3150	3200
Proteína Bruta (%)	21,8	19,8	18,4
Cálcio (%)	0,88	0,76	0,66
Fósforo Digestível (%)	0,37	0,32	0,28
Lisina Digestível (%)	1,271	1,131	1,06
Metionina Digestível (%)	0,496	0,452	0,424
Treonina Digestível (%)	0,836	0,756	0,698
Assinaturas Isotópicas ($\delta^{15}\text{N}$)	3,19	3,26	3,67

¹Dieta inicial ofertada de 0 a 14 dias; ²Dieta crescimento ofertada de 14 a 34 dias; ³Dietas finais ofertadas de 35 a 70 dias de vida

⁴Premix Mineral e Vitamínico Inicial: Biotina 44mg, Colina 187.500mg, Vit A 4.687.500UI, Vit D3 1.187.500UI, Vit E, 17.500UI, Vit K3 940mg, Vit B1 1.250mg, Vit B2 3.125mg, Ác. Nicotínico 18.750mg, Ác. Pantotênico 6.250mg, Ác. Fólico 437,5mg, Vit B6 1.175mg, Vit B12 7,5mg, Cobre 6.250mg, Ferro 31.250mg, Iodo 625mg, Manganês 44.000mg, Selênio 187,5mg, Zinco 40.650mg. ⁵Premix Mineral e Vitamínico Crescimento: Biotina 36,75mg, Colina 157.500mg, Vit A 3.937.500UI, Vit D3 997.500UI, Vit E 14.750UI, Vit K3 787,5mg, Vit B1 1.050mg, Vit B2 2.625mg, Ác. Nicotínico 15.750mg, Ác. Pantotênico 5.250mg, Ác. Fólico 367,5mg, Vit B6 1.450mg, Vit B12 6,25mg, Cobre 5.250mg, Ferro 26.250mg, Iodo 525mg, Manganês 36.750mg, Selênio 157,5mg, Zinco 34.125mg. ⁶Premix Mineral e Vitamínico Final: Biotina 26,5mg, Colina 112.500mg, Vit A 2.812.500UI, Vit D3 712.500UI, Vit E 10.500UI, Vit K3 565mg, Vit B1 750mg, Vit B2 1.875mg, Ác. Nicotínico 11.250mg, Ác. Pantotênico 3.750mg, Ác. Fólico 262,5mg, Vit B6 1.050mg, Vit B12 4,5mg, Cobre 3.750mg, Ferro 18.750mg, Iodo 375mg, Manganês 26.500mg, Selênio 112,5mg, Zinco 24.400mg, Empresa Agrocere Multimix

Para a composição dos dados experimentais e deposição dos isótopos estáveis, foram realizados abates sucessivos de quatro aves por dias de coleta, no qual, cada ave representava uma unidade experimental (Tabela 2).

Tabela 2. Cronograma de abates para coleta tecidual de frangos de corte

Fases	Período Experimental	Dias de abates
Inicial	0 - 14	0, 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14
Crescimento	14 – 42	14, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 25, 28, 31, 35, 42
Final	35 - 70	35, 36, 37, 38, 40, 42, 45, 48, 51, 55, 59, 63, 70

Coleta e preparo das amostras

Para estudar a cinética de nitrogênio em frangos de corte, foi necessário quantificar o nitrogênio total consumido, depositado nos tecidos e excretado. Os pesos de ingestão e excreção total diária, e pesos dos órgãos foram multiplicados pelo percentual de nitrogênio total, para a determinação do nitrogênio em gramas em cada órgão. Os pesos do músculo peitoral maior, fígado, jejuno e penas, foram coletados nos dias de abates de acordo com os ensaios experimentais (Tabela 2).

O total de ração consumido foi realizado por pesagens diárias, quantificada no início do dia e subtraído no dia posterior a sobra. Para a coleta das excretas, aplicou-se o método de coleta total. As amostras de peito foram obtidas a partir de uma porção do terço médio longitudinal do músculo peitoral maior esquerdo; do fígado foi retirado um seguimento do lobo direito do órgão; do jejuno foi retirado uma amostra de cinco centímetros da parte medial do órgão, limpo da digesta com água deionizada; as penas foram compostas por duas amostras, uma coletada no dorso e outra nas asas da ave, as amostras de plasma sanguíneo foram extraídas por meio de punção cardíaca, centrifugado na presença de heparina sódica e separado por meio de pipeta volumétrica.

O plasma foi acondicionado em eppendorfs de 2 ml e as amostras dos outros tecidos e excretas, foram dispostas em potes plásticos devidamente identificados e imediatamente congeladas a -20°C, para posterior liofilização.

Os tecidos e dietas experimentais foram moídos em moinho criogênico, à temperatura de -196°C . Aproximadamente 2,0 g de amostra foram armazenadas para a pesagem em cápsulas de estanho (de 500 a 700 μg para tecidos e 2100 a 2200 μg para as dietas) para análises em espectrômetro de massa de razões isotópicas (“Delta V Advantage Isotope Ratio MS, Thermo Scientific”) acoplado ao Analisador Elementar (“Flash 2000 Organic Elemental Analyzer EA, IRMS”) do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, Campus de Botucatu.

Deposição do ^{15}N tecidual

Os valores fornecidos pelo Espectrômetro de Massas de Razão Isotópica (“Isotope Ratio Mass Spectrometer” - IRMS) em delta per mil para a construção inicial do modelo compartimental, foram transformados em dados referentes à incorporação por massa e não pela relação em abundância. Desta forma, os dados foram convertidos em miligramas de ^{15}N em relação ao tempo, a partir da equação adaptada descrita por Criss *et al.* (1999):

$$R_a = \left[\left(\text{Delta}^{\text{‰}} / 1000 \right) + 1 \right] \times R_p \quad (1)$$

O valor em Delta $^{\text{‰}}$ é fornecido pelo IRMS, que mostra o enriquecimento tecidual em função da concentração de ^{15}N relativo ao padrão internacional (ar atmosférico).

A relação isotópica, R, é a relação entre $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ presente na amostra (R_a), dividida pelo $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ do padrão (R_p), neste caso, o ar atmosférico. Esta transformação em átomos por cento (At%) é encontrada com o uso da razão da amostra.

$$\text{At}\% = 100 / \left[\left(2 / R_a \right) + 1 \right] \quad (2)$$

Para a conversão em gramas, é necessário utilizar o peso do órgão e respectivo percentual de nitrogênio total, obtida diretamente pelo IRMS.

$$^{15}\text{N} (g) = \text{At}\% \times \left[\frac{\text{Peso Órgão (g)} \times \% \text{Nit Órgão}}{100} \right] \quad (3)$$

Construção do Modelo teórico e matemático

A definição do modelo teórico é o passo inicial da análise compartimental, pois nele serão definidos os compartimentos e os fluxos dos “pools” (ATKINS 1969). A Figura 1 mostra o modelo teórico inicial para cinética do nitrogênio em frangos de corte a ser desenvolvido neste estudo.

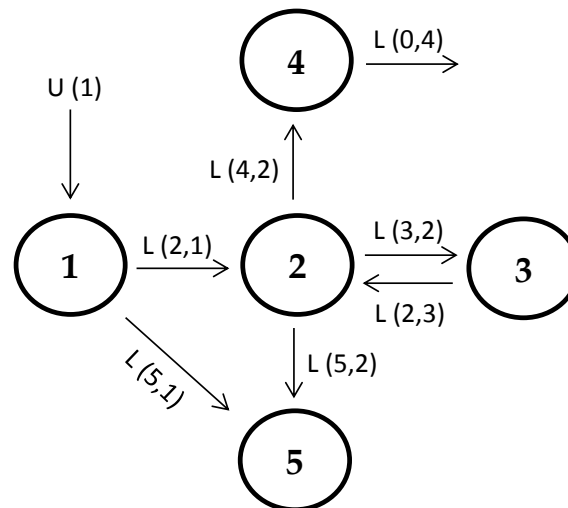


Figura 1. Modelo teórico inicial para cinética de nitrogênio em frangos de corte. A entrada do nutriente $U(1)$, em unidade de massa. O compartimento 1 é responsável pelo “pool” inicial do nitrogênio, sendo direcionado a metabolização (compartimento 2) ou a excreção, sinalizado pelo compartimento 5; o compartimento central 2 é composto pelos órgãos responsáveis pelo metabolismo e distribuição do nitrogênio; os tecidos periféricos são representados pelos compartimentos 3 e 4, sendo exemplificados neste caso como peito e penas, respectivamente. $L(i,j)$ é a fração da taxa de transferência da massa em função do tempo⁻¹ entre os compartimentos.

A partir do modelo teórico é definido um sistema de equações diferenciais ordinárias (EDO) lineares de primeira ordem. Este modelo descreve a cinética da massa (M) do nitrogênio em função do tempo para frangos de corte.

$$\frac{dM_1}{dt} = U(1) - L(2,1) \times M(1) - L(5,1) \times M(1) \quad (4)$$

$$\frac{dM_2}{dt} = L(2,1) \times M(1) + L(2,3) \times M(3) - (L(3,2) + L(4,2) + L(5,2)) \times M(2) \quad (5)$$

$$\frac{dM_3}{dt} = L(3,2) \times M(2) - L(2,3) \times M(3) \quad (6)$$

$$\frac{dM_4}{dt} = L(4,2) \times M(2) - L(0,4) \times M(4) \quad (7)$$

$$dM_5/dt = L(5,2) \times M(2) + L(5,1) \times M(1) \quad (8)$$

Parâmetros da análise compartimental

De acordo com o conceito de modelagem compartimental, foram utilizados parâmetros cinéticos (Tempo de trânsito [$t(i)$], tempo de residência [$T(i)$] e número de reciclagens [$\tilde{v}(i)$]) na compreensão mecanismo do nitrogênio (Green *et al.*, 1985).

Elaboração do modelo

O modelo foi desenvolvido por meio do software WinSAAM versão 3.0.8 University of Pennsylvania, New Bolton Center. As análises no modelo final para a cinética de utilização do nitrogênio foram realizadas segundo o critério de comparação dos modelos compartimentais, pelo método AIC (DISTEFANO e LANDAW, 1984).

12.RESULTADOS

Modelo compartimental

Um modelo compartimental mecanicista base foi desenvolvido com 5 compartimentos, 5 componentes e 19 frações independentes da taxa de transferência (parâmetros) para sustentar a cinética de nitrogênio para frangos de corte na fase de crescimento em três idades diferentes (Figura 2).

A Tabela 3 apresenta os valores da previsão do desvio padrão (PDP) para todos os parâmetros. É importante observar e comparar alguns pontos chave no metabolismo do nitrogênio, como os valores de $L(5,6)$ e $L(6,5)$, o qual representa a relação entre os compartimentos fígado e plasma para as três fases. Para $L(6,5)$ temos os valores: 33,48; 2,138; 1,522 e para $L(5,6)$ temos:

60,09; 0,052 e 0,524; respectivamente para a fase inicial (0 a 14), crescimento (14 a 42) e final (35 a 70 dias).

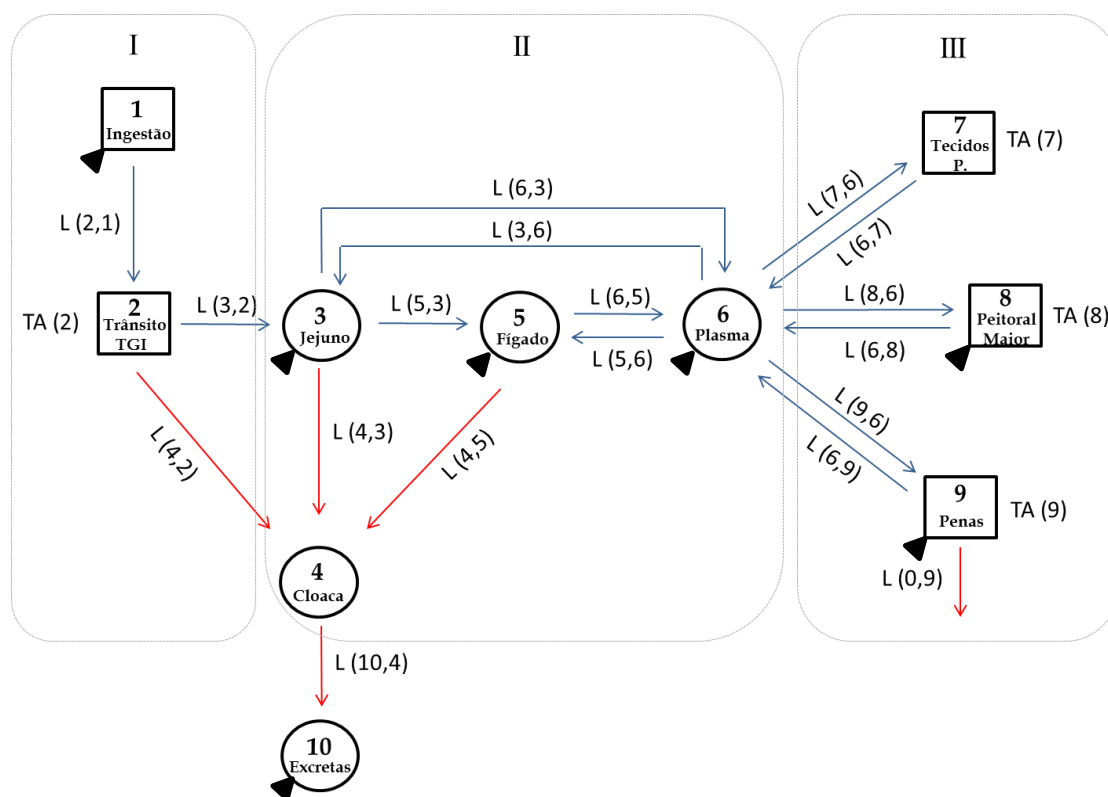


Figura 2. Modelo compartimental da cinética de nitrogênio em frangos de corte durante a fase de crescimento. O modelo é composto por componentes (quadrados): 1) Ingestão do alimento; 2) Tempo de atraso que está associado ao tempo de passagem do trato gastrointestinal; 7) Tempo de atraso associado ao componente periférico simulado; 8) Tempo de atraso associado ao músculo peitoral maior; 9) Tempo de atraso associado as penas; e compartimentos (círculos): 3) Jejuno; 4) Cloaca, simulado; 5) Fígado; 6) Plasma e 10) Excreta. Para a fração da taxa de transferência do nitrogênio são utilizados os “L”, associados ao destino “J” e a origem “I”, fornecidos em tempo⁻¹. O símbolo triangular ($\blacktriangle$) representa dados coletados durante o experimento em campo. As flechas vermelhas ($\rightarrow$) representam a direção no qual não há o retorno do nitrogênio para o sistema. As flechas azuis ($\rightarrow$) representam a manutenção da quantidade de nitrogênio no sistema. I – Local referente ao Trato Gastrointestinal até o momento que o nitrogênio é absorvido pelo corpo do animal; II – órgãos internos centrais do metabolismo que compreende o jejuno, fígado e plasma; III – Vias de deposição do nitrogênio absorvido, é caracterizado pelos órgãos periféricos (não coletados), músculo peitoral maior e penas.

Tabela 3. Fração das taxas de transferência e tempos de atraso associados aos compartimentos do nitrogênio para frangos de corte em três fases durante o crescimento

Fração de Transferência (J , I)	Destino	Origem	Inicial (0 a 14 dias)			Crescimento (14 a 42 dias)			Final (35 a 70 dias)		
	J	I	Valores	EP	PDP	Valores	EP	PDP	Valores	EP	PDP
L (2,1)	TG ¹	Ingestão	0,723	0,047	0,066	1,018	0,054	0,053	0,819	0,033	0,040
TA (2)	TG ¹	-	0,380	0,060	0,158	0,145	0,015	0,101	0,287	0,026	0,091
L (3,2)	Jejuno	TG ¹	0,059	0,015	0,248	1,670	0,160	0,095	1,430	0,275	0,193
L (3,6)	Jejuno	Plasma	-	-	-	0,025	0,007	0,272	0,437	0,095	0,217
L (6,3)	Plasma	Jejuno	0,902	0,354	0,393	0,189	0,037	0,197	1,880	0,516	0,275
L (5,3)	Fígado	Jejuno	13,200	0,877	0,066	9,007	0,640	0,071	8,483	0,610	0,072
L (4,3)	Cloaca	Jejuno	0,300	0,104	0,347	1,560	0,145	0,093	0,027	0,015	0,557
L (4,2)	Cloaca	TG ¹	0,005	0,001	0,204	0,158	0,022	0,141	0,059	0,017	0,293
L (6,5)	Plasma	Fígado	33,480	5,369	0,160	2,138	0,159	0,074	1,522	0,136	0,089
L (5,6)	Fígado	Plasma	60,090	10,240	0,170	0,052	0,011	0,220	0,524	0,118	0,225
L (7,6)	T. Periférico	Plasma	4,960	0,954	0,192	2,751	0,391	0,142	0,429	0,089	0,207
TA (7)	T. Periférico	-	2,941	0,170	0,058	8,335	0,366	0,044	14,920	1,249	0,084
L (8,6)	Peito	Plasma	1,078	0,055	0,051	1,061	0,047	0,045	0,566	0,025	0,045
TA (8)	Peito	-	10,200	2,080	0,204	19,120	0,768	0,040	29,580	0,536	0,018
L (9,6)	Penas	Plasma	1,730	0,086	0,050	0,899	0,049	0,055	0,288	0,017	0,060
TA (9)	Penas	-	5,714	0,407	0,071	10,900	0,575	0,053	28,800	1,521	0,053
L (0,9)	Queda de Penas	Penas	-	-	-	0,808	0,185	0,229	0,840	0,207	0,246
L (4,5)	Cloaca	Fígado	1,049	0,100	0,095	0,084	0,013	0,155	0,545	0,024	0,044
L (10,4)	Excreta	Cloaca	84,610	16,880	0,200	70,490	9,737	0,138	97,930	21,050	0,215

1. TG: componente que simula o trato gastrointestinal, realizado pelo software WinSAAM; EP: Erro padrão da média associado ao compartimento; PDP: predição do desvio padrão; TA: Tempo de atraso.

Interessante notar alguns parâmetros que não contemplam a primeira fase, como é o caso do L(0,9) e o L(3,6). Estes mesmos parâmetros, possuem valores crescentes para a segunda e terceira fase.

Outro parâmetro que merece destaque é o tempo de atraso (TA). Ele representa o tempo que o nitrogênio permanece no componente em questão. Os tempos de atraso dos componentes do tecido periférico (7), músculo peitoral maior (8) e penas (9) têm valores crescentes com o passar das idades. Como exemplo, o tempo de atraso do peito na fase inicial é de 10,2 dias. Na fase de crescimento, 19,1 e na fase final, 29,5 dias.

A distribuição dos valores referentes às frações das taxas de transferências em conjunto com os modelos compartimentais do nitrogênio, favorecem a compreensão da cinética desta molécula em frango de corte (Figura 3, 4 e 5).

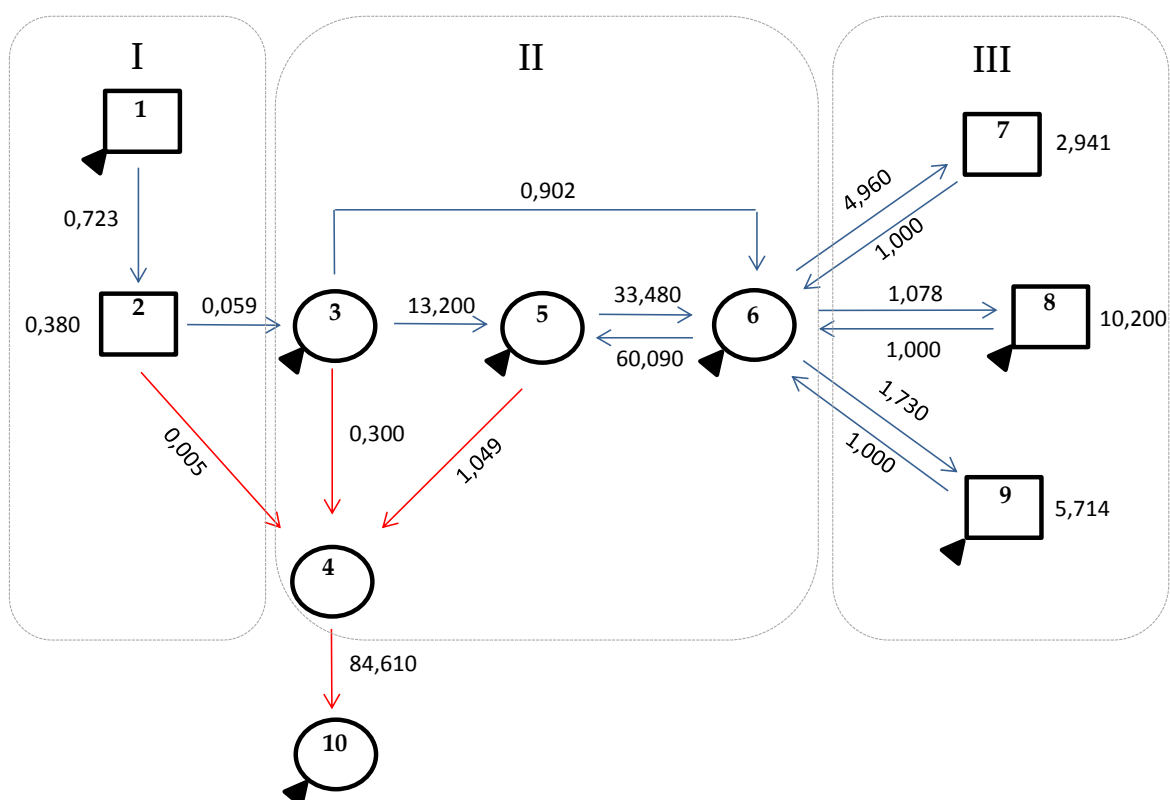


Figura 3. Representação do modelo compartimental para a fase inicial (0 a 14 dias) de frangos de corte com os valores das frações das taxas de transferência.

No modelo referente à primeira fase de vida (Figura 3) do animal (de 0 a 14 dias de vida), o valor do $L(i,j)$ que representa a perda de pena ($L(0,9)$, Tabela 3) foi identificado com valor igual a zero. Diferente dos modelos de crescimento (14 a 42 dias) e final (35 a 70 dias).

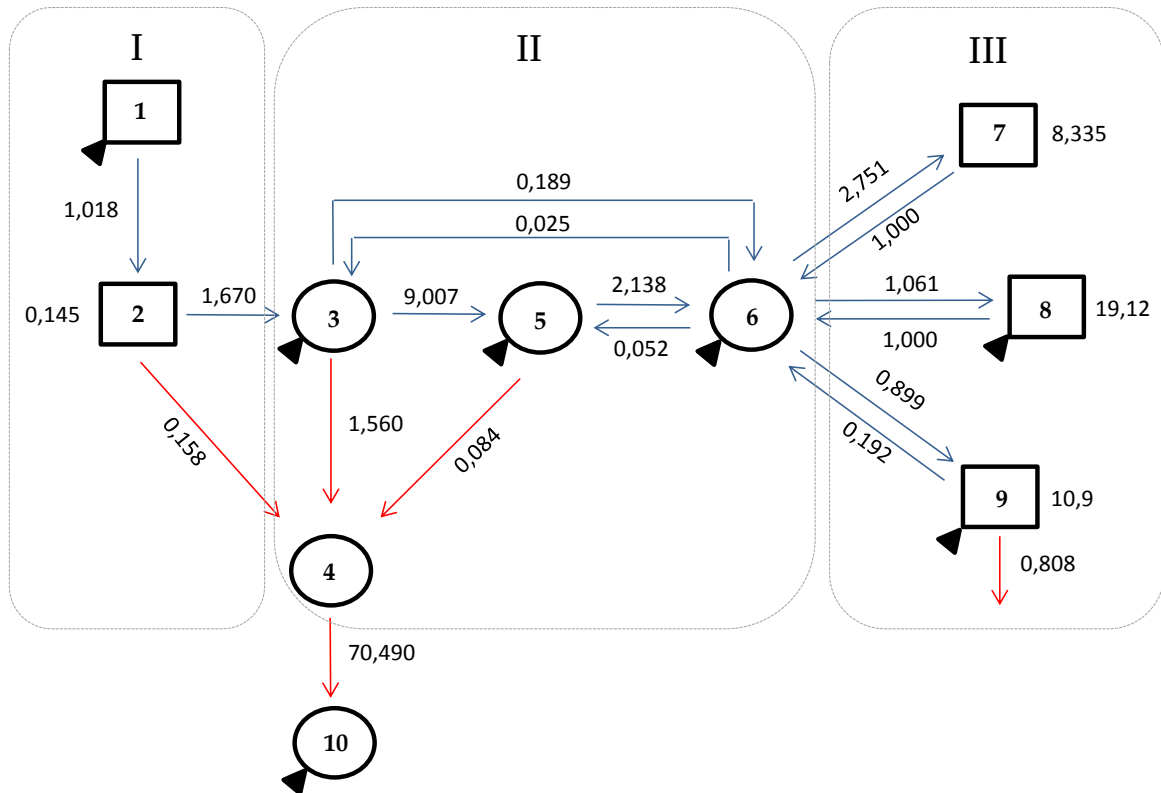


Figura 4. Representação do modelo compartimental para a fase de crescimento (14 a 42 dias) de frangos de corte com os valores das frações das taxas de transferência.

Nesta representação da fase de crescimento, de 14 a 42 dias (Figura 4), há o valor de $L(i,j)$ para a perda de penas (0,808). Outro parâmetro que aparece neste modelo é o $L(3,6)$, com valor igual a 0,025, representando um retorno do nitrogênio, vindo do plasma para o jejuno.

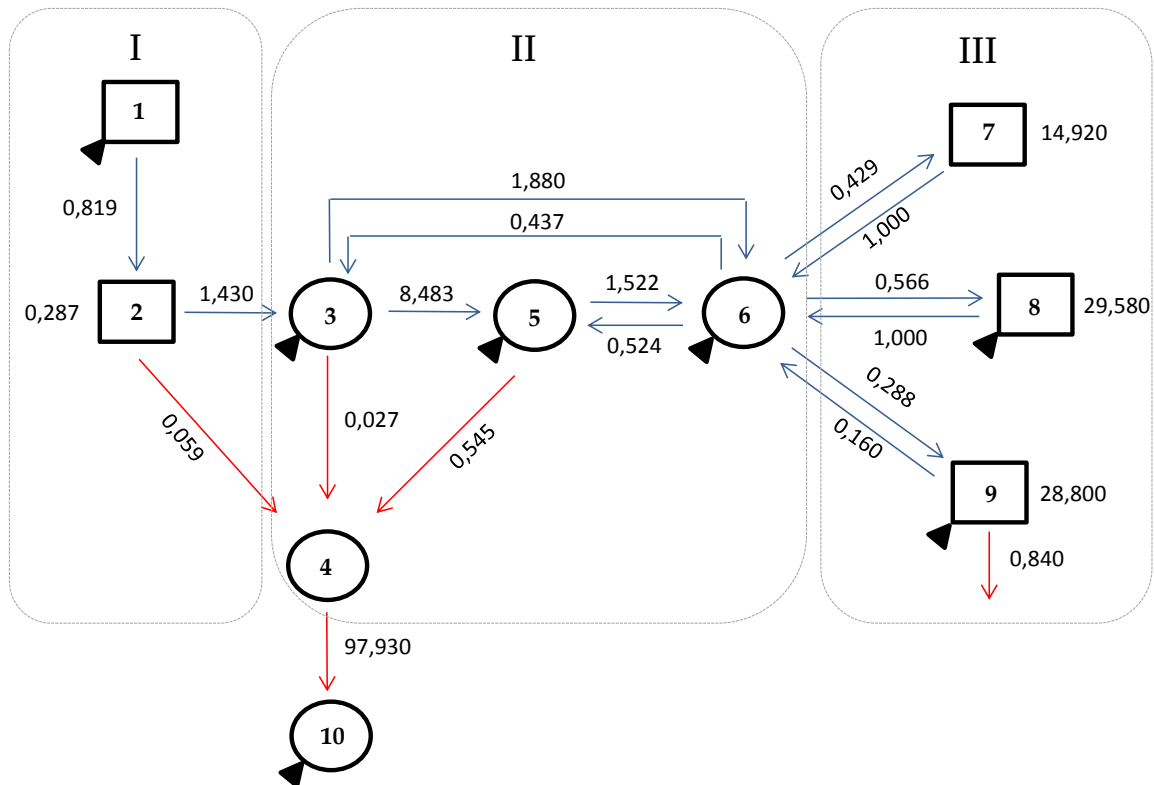


Figura 5. Representação do modelo compartimental para a fase final (35 a 70 dias) de frangos de corte com os valores das frações das taxas de transferência.

O valor da taxa de transferência do plasma para o jejuno ($L(3,6)=0,437$) indica o grande direcionamento do nitrogênio para este tecido visceral, comparado com a segunda fase ($L(3,6)=0,025$) e valor zero na primeira fase.

Parâmetros cinéticos

O tempo de trânsito médio (Tabela 4) faz alusão a uma única passagem do nitrogênio por um compartimento, antes de sair reversível ou irreversivelmente. Ele é expresso em tempo^{-1} , neste caso, em dias. O menor valor de tempo de trânsito é referente ao jejuno (compartimento 3), possuindo sempre valores inferiores 2h e 20min.

Tabela 4. Parâmetros cinéticos médios do nitrogênio para frangos de corte em crescimento

Compartimentos	N ⁶	Tempo de Trânsito (Tempo ⁻¹)			Tempos de Residência (Tempo ⁻¹)			Número de Reciclagens		
		0 a 14 dias ³	14 a 42 dias ⁴	35 a 70 dias ⁵	0 a 14 dias ³	14 a 42 dias ⁴	35 a 70 dias ⁵	0 a 14 dias ³	14 a 42 dias ⁴	35 a 70 dias ⁵
TG ¹	2	9h7min	3h29min	6h54min	9h7min	3h29min	6h54min	0,00	0,00	0,00
Jejuno	3	1h39min	2h14min	2h18min	1h18min	2h18min	3h59min	0,00	0,03	0,72
Fígado	5	42min	10h48min	11h37min	22h58min	11h50min	1d3h27min	31,91	0,10	1,37
Plasma	6	22min	5h1min	10h42min	13h42min	1d8h46min	2d2h30min	36,16	5,54	3,72
TP ²	7	2d22h35min	8d8h2min	14d21h58min	10d22h58min	39d15h9min	28d9h27min	2,72	3,75	0,90
Peitoral Maior	8	10d4h48min	19d2h46min	29d14h1min	16d5h1min	46d19h12min	64d19h41min	0,59	1,45	1,19
Penas	9	5d17h8min	10d21h43min	28d19h15min	11d3h15min	13d11h25min	31d14h1min	0,95	0,24	0,10

1.TG: Tempo referente ao Trato Gastrointestinal até o momento da absorção do nitrogênio pelo jejuno 2.TP: Tecidos Periféricos é média dos tecidos não coletados a campo, dados simulados pelo WinSAAM. 3. Fase inicial 4. Fase de crescimento 5. Fase final. 6. Número do compartimento

Em contrapartida, no peitoral maior (compartimento 8) encontra-se os maiores valores de tempo de trânsito, considerando um aumento de 87,35% do valor da fase de crescimento em comparação a fase inicial e de 54,22% do valor da fase final em comparação a fase de crescimento.

Com base na interpretação do tempo de trânsito, o tempo de residência (Tabela 4) compreende o somatório do período que uma substância permanece no compartimento durante suas sucessivas passagens até o momento em que o nitrogênio tem sua perda irreversível do sistema. Isso mostra que o nitrogênio permanece muito tempo dentro do organismo animal, valor este visível no período de tempo que o nitrogênio permanece no musculo peitoral maior (64d19h41min).

Quando o nitrogênio é liberado por um compartimento e, após determinado tempo, ele retorna para o mesmo compartimento, dá-se o nome de reciclagem. Quanto maior o número de reciclagens, mais vezes o nitrogênio passará pelo mesmo compartimento. O plasma sanguíneo é o tecido que possui os maiores valores neste parâmetro cinético (36 vezes na primeira fase). Em comparação com o jejuno, ao qual praticamente possui valores ínfimos (0 na primeira fase, 0,03 na segunda e 0,72 vezes na terceira fase de vida).

Infusão única

O modelo cinético de ingestão constante, apresentado anteriormente (Figura 2), foi utilizado como estrutura na simulação da infusão única (Figura 6). Este simula o comportamento de uma quantidade única de ^{15}N fornecido para frangos de corte nos diferentes compartimentos avaliados.

Nota-se que a maior utilização do nitrogênio pelos órgãos jejuno, fígado e plasma se dá antes do final do primeiro dia, com um máximo de utilização do fígado de $\approx 40\%$ (Figura 6).

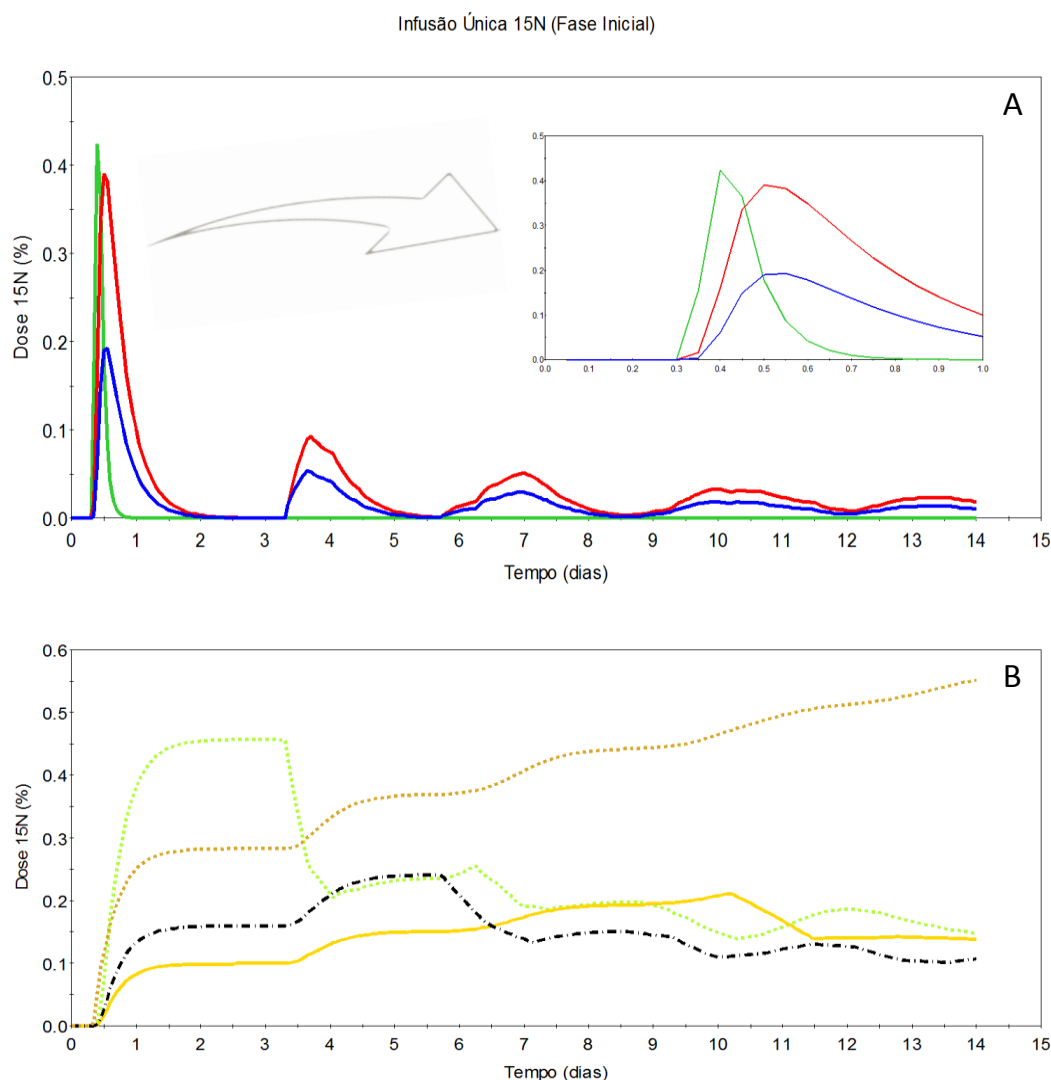


Figura 6. Comportamento do traçador de ^{15}N referente a infusão única durante a primeira fase de criação (0 a 14 dias de vida) para frangos de corte. A análise foi composta por dois gráficos complementares. O gráfico A representa o comportamento do nitrogênio nos compartimentos do grupo II do modelo cinético: Jejuno (■), fígado (■), plasma (■). O gráfico B, representa o comportamento dos compartimentos do grupo III do modelo cinético e o comportamento da excreta acumulada. Tecido Periférico, simulado pelo software WinSAAM (■■■■), penas (■■■■), músculo peitoral maior (■■■■) e excreta acumulada (■■■■).

Comparando a figura da fase inicial (Figura 6) com a fase de crescimento (Figura 7), podemos verificar que, com dez dias de vida, o ^{15}N nos fornece quatro enriquecimentos visíveis para o plasma, enquanto apenas duas para a fase que se compreende os 14 aos 42 dias de vida.

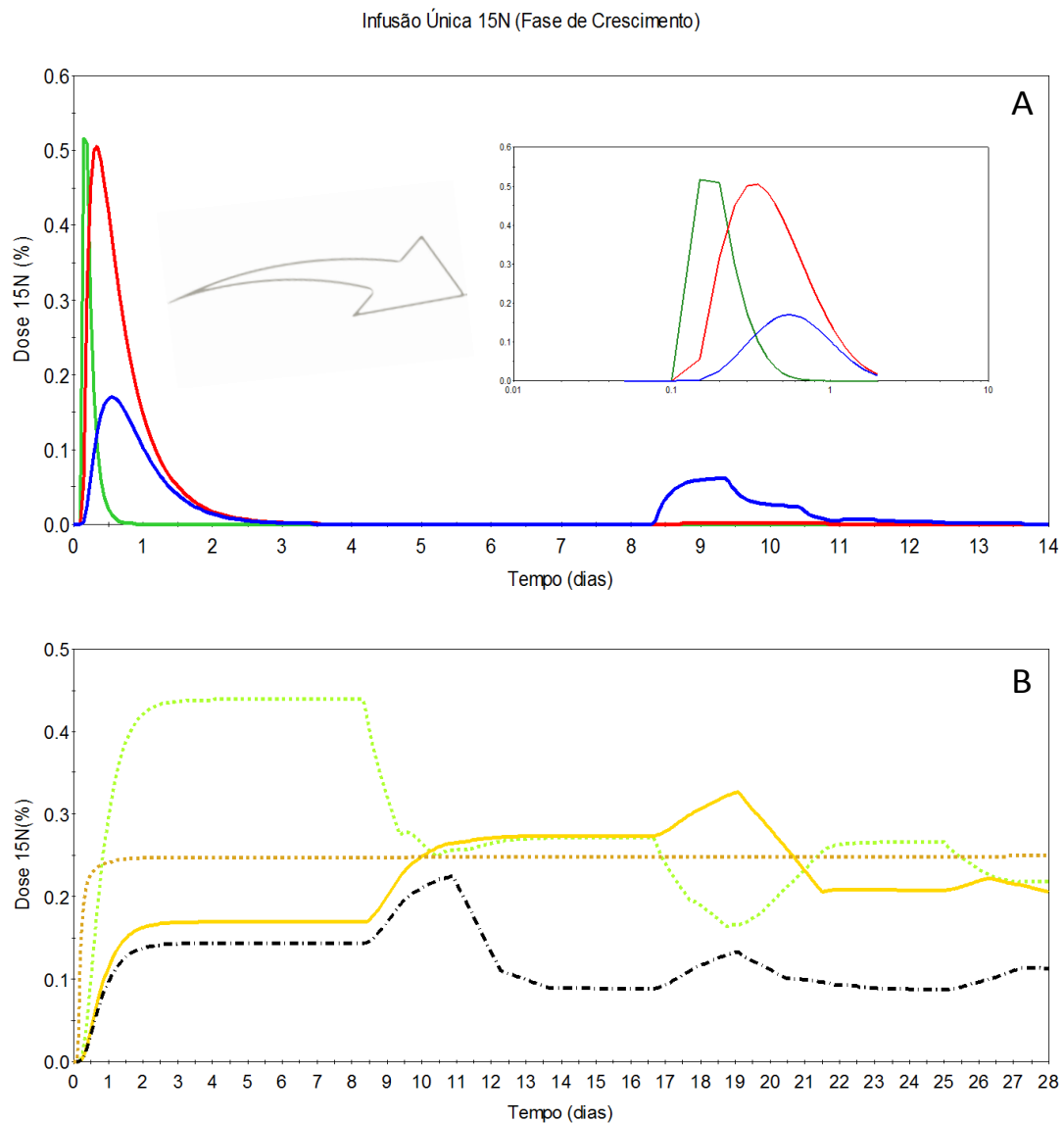


Figura 7. Comportamento do traçador de ^{15}N referente a infusão única durante a segunda fase de criação (14 a 42 dias de vida) para frangos de corte. A análise foi composta por dois gráficos complementares. O gráfico A representa o comportamento do nitrogênio nos compartimentos do grupo II do modelo cinético: Jejuno (■), fígado (■), plasma (■). O gráfico B, representa o comportamento dos compartimentos do grupo III do modelo cinético e o comportamento da excreta acumulada. Tecido Periférico, simulado pelo software WinSAAM (■■■■), penas (■■■■), músculo peitoral maior (■) e excreta acumulada (■■■■).

Uma correlação importante pode ser feita com estes gráficos e os valores de tempo de trânsito. Por exemplo: na fase final (Figura 8), o tempo de trânsito é de 29

dias e, correspondendo a primeira queda no enriquecimento do sinal para o músculo peitoral maior.

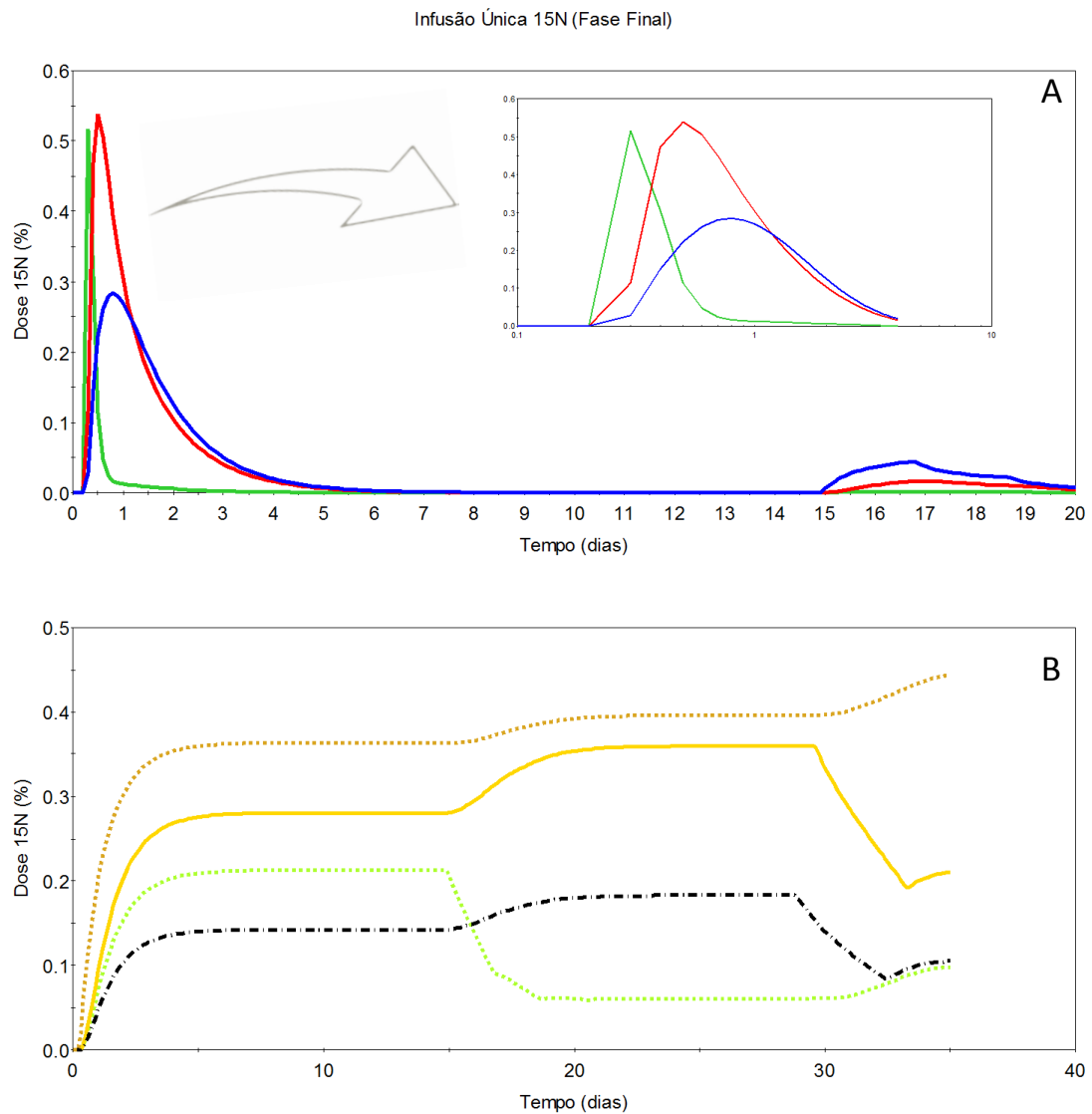


Figura 8. Comportamento do traçador de ^{15}N referente a infusão única durante a terceira fase de criação (35 a 70 dias de vida) para frangos de corte. A análise foi composta por dois gráficos complementares. O gráfico A representa o comportamento do nitrogênio nos compartimentos do grupo II do modelo cinético: Jejuno (■), fígado (■), plasma (■). O gráfico B, representa o comportamento dos compartimentos do grupo III do modelo cinético e o comportamento da excreta acumulada. Tecido Periférico, simulado pelo software WinSAAM (■), penas (■), músculo peitoral maior (■) e excreta acumulada (■).

13.DISSCUSSÃO

Modelos compartimentais

Após a construção do modelo teórico e a simulação do software por meio dos dados obtidos no experimento, o modelo pode ser considerado aceitável caso a Previsão do Desvio Padrão (PDP, Tabela 3) para as frações das taxas de transferências ($L(i,j)$) forem menores que 0,5. Este resultado indica 95% de confiança no valor do parâmetro (Watsney *et al.*, 1999). Este valor de PDP ("Forecast Standart Deviation", *FSD*) indica a confiança na estimativa de um modelo. O PDP é uma estatística que mede o intervalo provável ou dispersão de uma estimativa, com base na consistência da informação disponível dos dados observados.

Nota-se ainda que, tecidos com alto potencial para metabolizar o nitrogênio, seja ele na obtenção de energia, metabolizando substâncias ou alocando seus metabolitos, possuem valores menores do tempo de trânsito. É o caso do jejuno, fígado e plasma (grupo II da Figura 2) em comparação aos tecidos periféricos (grupo III da figura 2), os quais irão reter o nitrogênio por um período de tempo maior na formação tecidual, o que resultará no crescimento da ave.

Simulação da análise compartimental do crescimento

A inserção de componentes que irão auxiliar o desenvolvimento do modelo é importante no sentido de representação do sistema biológico, já que a coleta total dos órgãos não possui ordem prática. Este foi o caso do componente 2, referente ao tempo que o alimento passa do momento em que a ave ingere o alimento até a sua absorção no jejuno (compartimento 3).

Os compartimentos 3 (jejuno), 5 (fígado) e 6 (plasma) são o cerne do modelo, pois compreende as principais reações do metabolismo nutricional. A utilização do

nitrogênio via intestino como fonte energética (REEDS e BURIN 2000; VAN DER SCHOOOR *et al.*, 2002), o seu encaminhamento via sistema portal (BEQUETTE *et al.*, 2006) para a metabolização no fígado e posterior transporte aos tecidos periféricos pelo plasma, assim como o intenso ritmo do “turnover”, representam uma visão simplificada e de fácil visualização do sistema nitrogenado.

A alta eficiência de produção do frango de corte em converter o alimento em proteína animal nos indica que há tecidos que requerem aporte nutricional alto para o seu desenvolvimento. É o que podemos encontrar com dois dos principais tecidos periféricos descritos, o músculo peitoral maior (compartimento 8) e as penas (compartimento 9).

Como resposta, as perdas nitrogenadas, temos a estimativa de quatro principais rotas: 1) A perda referente a não absorção do intestino delgado e consequente excreção, sendo um indicativo de ineficiência do sistema frente ao alimento ofertado (L(4,2)); 2) Perdas metabólicas por meio de descamação epitelial e muco pelo intestino, representado pelo L(4,3); 3) Excreção nitrogenada pelo ciclo da ureia, principal rota de excreção no nitrogênio, representado pelo L(4,5) e 4) Perdas de nitrogênio por queda de penas diretamente pelo compartimento 9 (penas), simbolizado pelo L(0,9).

Parâmetros cinéticos

Sendo o tempo de trânsito uma variável relacionada ao tempo em que o nitrogênio permanece durante um ciclo no compartimento, temos destaque aos dados referentes ao músculo peitoral maior (Tabela.5). Entre os tecidos analisados para a cinética proteica, o nitrogênio possui maior tempo de permanência neste órgão, ponto principal da comercialização de frangos de corte. Desenvolvidos no campo do melhoramento genético animal direcionaram a característica de maior crescimento para este músculo (BENTO *et al.*, 2006). Órgãos com característica de metabolização do nitrogênio (jejuno, fígado e plasma) possuem baixos valores desta variável, sendo órgãos de preparação bioquímica e não de deposição do produto.

Por meio do tempo de residência do nitrogênio (Tabela 4), pode-se observar o tempo total que o nitrogênio permanece no músculo do peito até a sua perda irreversível, sendo um total de 64,8 dias no modelo da terceira fase (35 a 70 dias). Uma característica importante do tecido muscular é que este contribui com a maior parte do sistema de “turnover” proteico (LOBLEY 1980), já que o fluxo de aminoácidos livres está relacionado com o retorno de material nitrogenado para o plasma, multiplicado pela massa tecidual. Como maior representante percentual do peso total do corpo, a manutenção das proteínas circulantes no plasma na manutenção da homeostase é responsável por este tecido (MURRAY *et al.*, 2012).

Mesmo não havendo alto valor de “turnover” proveniente das penas, o seu tempo de permanência é reduzido devido a queda da estrutura de cobertura em determinadas fases do crescimento.

O número de reciclagens (Tabela 4) é referente a capacidade dos órgãos em reutilizar os elementos que compõem o corpo, isso nos faz referência a possíveis comparações sobre a eficiência do sistema. Quanto maior a quantidade de reciclagens do elemento, menor será a quantidade excretada e por mais tempo este elemento poderá ficar no corpo do animal. É interessante notar também a redução dos valores de reciclagens provenientes das penas com o avançar da idade, a qual chega quase a zero (0,10) na terceira fase.

Quanto maior a contribuição na metabolização das moléculas de nitrogênio e transporte destas substâncias, maior será o número de reciclagens que o órgão / tecido irá contribuir para o sistema. Desta forma, o fígado e o plasma se destacam no número de reciclagens médias (Tabela 4) do nitrogênio durante o desenvolvimento. Este parâmetro cinético se torna mais evidente na fase inicial (0 a 14 dias), ao qual o “turnover” possui ritmo intenso. Inversão total acontece na fase de crescimento (14 a 42), já que o objetivo principal está direcionado ao crescimento dos tecidos periféricos. Na fase final, temos uma atenção maior ao direcionamento do nitrogênio plasmático para o jejuno, indicando a necessidade energética para suprir a exigência de manutenção do trato gastrointestinal (O'DWYER *et al.*, 1989).

O modelo desenvolvido proporciona uma visão sobre os processos envolvidos na cinética do nitrogênio dietético e sua distribuição entre os órgãos. Porém, uma vantagem dos modelos que utilizam a metodologia baseada em infusão única

(“bolus injection”, TUVENDORJ *et al.*, 2014) é que o pesquisador consegue identificar o comportamento de uma quantidade conhecida do traçador, sem a sobreposição provinda da alimentação constante do animal e das respostas de entrada e saída do nitrogênio pelos compartimentos (número de reciclagens). Desta forma, a estrutura do modelo compartimental descrito acima será mantida (na programação do WinSAAM) e, simulações em estado estacionário mostraram o comportamento da infusão de um traçador.

Simulação de infusão única

Na utilização dos modelos compartimentais clássicos, normalmente utilizam-se animais em fase de estabilização do crescimento –“steady state”- (ZOU *et al.*, 2012), infusão única do traçador sintético (INGRISH *et al.*, 2013) ou perturbações do sistema (GETTO *et al.*, 2013) de compostos específicos. Nesta pesquisa, o animal encontra-se em fase de crescimento, ingestão constante do traçador presente na dieta e temos o uso de um composto inespecífico (^{15}N representando o nitrogênio total).

A magnitude do enriquecimento (visualizado por percentual da dose) faz referência à utilização do nitrogênio pelo compartimento. Na primeira fase (Figura 6) podemos verificar um alto enriquecimento do jejuno ($\approx 43\%$), fígado ($\approx 39\%$) e plasma ($\approx 20\%$) antes do final do primeiro dia de administração do isótopo. O tecido periférico (compartimento 7) possui o seu máximo enriquecimento logo depois do seu tempo de trânsito (2,9 dias), com um valor aproximado de 45%.

Com o decaimento do valor do tecido periférico há o aumento do valor isotópico via plasma e fígado, relacionado ao intenso “turnover” nesta fase; e consequentemente, enriquecimento dos outros tecidos, pena ($\approx 25\%$ próximo ao sexto dia) e músculo peitoral maior ($\approx 20\%$ próximo ao décimo dia).

Com aproximadamente 7 dias de vida (fase inicial, de 0 a 14 dias), o músculo peitoral ultrapassa em enriquecimento das penas, mostrando a inversão de direcionamento do nitrogênio para estes tecidos. Este maior enfoque do destino do nitrogênio para o peito será mantido para as fases subsequentes.

Na segunda fase (dia 14 aos 42 dias de vida), a utilização dos tecidos responsáveis pelo metabolismo alcançam maiores valores de enriquecimento, chegando a aproximadamente 50% para jejuno e fígado, ambos antes do final do primeiro dia de vida (Figura 7).

Na terceira fase (figura 8), o enriquecimento máximo do tecido periférico (compartimento 7) é reduzido a aproximadamente 20% do total da quantidade de ^{15}N fornecida. O tecido peitoral possui $\approx 35\%$ de enriquecimento máximo.

Poucos são os trabalhos com análise compartimental para o nitrogênio total em animais de produção na fase de crescimento. Com metodologia de análise dos dados semelhantes, mas visando a cinética da vitamina A em ratos, Tan *et al.*, (2015), descreve o comportamento dos modelos compartimentais com enfoque na degradação da vitamina A em neonatos e sua ingestão diária. Experimentos como este buscam descrever possíveis estratégias do sistema biológico em caso de necessidades do nutriente que foi traçado.

Muitos são os desafios e considerações necessários na condução experimental para cinética de nutrientes em qualquer espécie. Iresjö *et al.*, (2005) fazem um alerta sobre a possibilidade de resultados contraditórios quando baseados somente em aminoácidos enriquecidos. Resultados não esperados podem esbarrar nas incertezas provenientes da compartimentalização desconhecida, distribuições específicas de aminoácidos entre as vias de síntese e inter conversões metabólicas.

Portanto, métodos alternativos independentes da cinética de aminoácidos devem ser aplicados e, todos os tipos de medidas quantitativas para a síntese de proteínas devem ser vistos com cautela quando se baseia em cinética de aminoácidos marcados (IRESJÖ *et al.*, 2005).

Nesta pesquisa, o animal encontra-se em fase de crescimento, ingestão constante do traçador presente na dieta e composto inespecífico, evidenciando uma abordagem única na modelagem compartimental, mostrando que a metodologia de análise pode ser utilizada para a produção de aves. A investigação do metabolismo com o uso desta metodologia possibilita a ampliação de pesquisas nutricionais com o uso de traçadores metabólicos específicos, não somente para aminoácidos ou proteínas, mas a cinética de nutrientes que participam do metabolismo energético, mineral e vitamínico.

14.CONCLUSÕES

Conseguimos desenvolver um modelo-base compartimental que representa a cinética do nitrogênio em frangos de corte respeitando as coerências matemáticas e descrições fisiológicas de acordo com o período de rápido crescimento do animal. É importante salientar que, o uso do traçador isotópico ambiental utilizado diretamente na dieta promoveu bons resultados com a variação do ^{15}N em frangos de corte e favoreceu o baixo nível de invasão nos procedimentos metodológicos, sendo desta forma um avanço no uso de traçadores. O rápido desenvolvimento das aves nas primeiras semanas de vida permitiu modelar, com êxito, a cinética e uso no nitrogênio no período de crescimento, por se tratar de um modelo não estacionário, o que foi um desafio gratificante.

A magnitude do “turnover” na primeira fase de estudos (0-14dias) em comparação aos outros períodos nos fornece a real dimensão do metabolismo acelerado do frango de corte moderno, no preparo do corpo para uma futura deposição muscular e crescimento das penas.

Após a coerência do modelo proposto, a ferramenta matemática de análise compartimental permitiu a simulação de infusão única, fornecendo respostas fisiológicas de uma única ingestão do nitrogênio na descrição do comportamento de utilização deste nutriente essencial para o sistema biológico.

Estes achados direcionam pesquisas nutricionais para o uso eficiente das diferentes formas estruturais do nitrogênio, sejam eles aminoácidos essenciais ou não essenciais.

15.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL – ABPA. Relatório Anual 2015. São Paulo, SP, 2015. 248p. Disponível em: < <http://www.ubabef.com.br/> >. Acesso em: 28/11/15.

ATKINS, G. L. Multicompartment models for biological systems. **London: Methuen, 1969.**

BAGGA, Punnet.; BEHAR, K. L.; MASON, G. F.; DE FEYTER, H. M. Characterization of cerebral glutamine uptake from blood in the mouse brain: implications for metabolic modeling of ^{13}C NMR data. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 34, n. 10, p. 1666-1672, 2014.

BARRETT, P. H. R.; BELL, B. M.; COBELLI, C.; GOLDE, H.; SCHUMITZKY, A.; VICINI, P.; FOSTER, D. M. SAAM II: simulation, analysis, and modeling software for tracer and pharmacokinetic studies. **Metabolism**, v. 47, n. 4, p. 484-492, 1998.

BEQUETTE, B. J.; SUNNY, N. E.; EL-KADI, S. W.; OWENS, S. L. Application of stable isotopes and mass isotopomer distribution analysis to the study of intermediary metabolism of nutrients. **J. Anim. Sci**, v. 84, p. E50-E59, 2006

BUCKLEY, W. T. A kinetic model of copper metabolism in lactating dairy cows. **Canadian journal of animal science**, v. 71, n. 1, p. 155-166, 1991.

CRISS, R. E. Principles of stable isotope distribution. **New York: Oxford University Press.**, 1999. 254 p.

DE ARAUJO, P. C.; SARTORI, J. R.; CRUZ, V. C.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; STRADIOTTI, A. C.; PELÍCIA, V. C. Rastreabilidade de farinha de vísceras de aves por isótopos estáveis em penas de frangos de corte. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v. 46, n. 5, p. 538-545, 2011.

DISTEFANO, J. J.; LANDAW, E. M. Multiexponential, multicompartmental, and noncompartmental modeling. I. Methodological limitations and physiological interpretations. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 246, n. 5, p. R651-R664, 1984.

GALLO-NETO, M.; FERREIRA, M. S.; YANAGIHARA, J. I.. Development and validation of a pharmacokinetic model using linear system analysis for the prediction of medicaments distribution in the human body. **Proceedings of the ENCIT 2012**.

BENTO, L. D. G. G. J.; FERRAZ, S. Aspectos genético-quantitativos da qualidade da carne em frangos. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, 2006.

GETTO, P.; MARCINIAK-CZOCHRA, A; NAKATA, Y.; VIVANCO, M. Global dynamics of two-compartment models for cell production systems with regulatory mechanisms. **Mathematical biosciences**, v. 245, n. 2, p. 258-268, 2013.

GREEN, M. H.; UHL, L.; GREEN, J. B. A multicompartmental model of vitamin A kinetics in rats with marginal liver vitamin A stores. **Journal of lipid research**, v. 26, n. 7, p. 806-818, 1985.

INGRISCH, M.; SOURBRON, S. Tracer-kinetic modeling of dynamic contrast-enhanced MRI and CT: a primer. **Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics**, v. 40, n. 3, p. 281-300, 2013.

IRESJÖ, B.; SVANBERG, E.; LUNDHOLM, K. Reevaluation of amino acid stimulation of protein synthesis in murine-and human-derived skeletal muscle cells assessed by independent techniques. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 288, n. 5, p. E1028-E1037, 2005.

JUILLET, B.; SACCOMANI, M. P.; BOS, C.; GAUDICHON, C.; TOMÉ, D.; FOUILLET, H. Conceptual, methodological and computational issues concerning the compartmental modeling of a complex biological system: Postprandial inter-organ metabolism of dietary nitrogen in humans. **Mathematical biosciences**, v. 204, n. 2, p. 282-309, 2006.

LOBLEY, G. E; MILNE, V.; LOVIE, J. M.; REEDS, P. J.; PENNIE, K. Whole body and tissue protein synthesis in cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 43, n. 03, p. 491-502, 1980.

MÉNOCHET, K.; KENWORTHY, K. E.; HOUSTON, J. B.; GALETIN, A. Simultaneous assessment of uptake and metabolism in rat hepatocytes: a comprehensive mechanistic model. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 341, n. 1, p. 2-15, 2012.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A. Harpers Illustrated Biochemistry 29TH Edition. **McGraw Hill Professional**, 2012.

MURAMATSU, T.; HIRAMOTO, K.; TASAKI, I.; OKUMURA, J. Effect of protein starvation on protein turnover in liver, oviduct and whole body of laying hens. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Japan, v. 87(2), n. 2, p. 227-232, 1987.

NOVOTNY, J. A.; GREEN, M. H.; BOSTON, R. C. Mathematical modeling in nutrition and the health sciences. **Springer Science & Business Media**, 2003.

O'DWYER, S. T.; SMITH, R. J.; HWANG, T. L.; WILMORE, D. W. Maintenance of small bowel mucosa with glutamine-enriched parenteral nutrition. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 13, n. 6, p. 579-585, 1989.

POUPIN, N.; MARIOTTI, F.; HUNEAU, J.; HERMIER, D.; FOUILLET, H. Natural isotopic signatures of variations in body nitrogen fluxes: a compartmental model analysis. **PloS Comput Biol**, v. 10, n. 10, p. e1003865, 2014.

REEDS, Peter J.; BURRIN, Douglas G. The gut and amino acid homeostasis. **Nutrition**, v. 16, n. 7, p. 666-668, 2000.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. **Viçosa**, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011.

STEFANOVSKI, D.; MOATE, P. J.; BOSTON, R. C. WinSAAM: a windows-based compartmental modeling system. **Metabolism**, v. 52, n. 9, p. 1153-1166, 2003.

TAN, L.; GREEN, M. H.; ROSS, A. C. Vitamin A kinetics in neonatal rats vs. adult rats: comparisons from model-based compartmental analysis. **The Journal of nutrition**, v. 145, n. 3, p. 403-410, 2015.

TUVDENDORJ, D.; CHINKES, D. L.; HERNDON, D. N.; ZHANG, X.; WOLFE, R. R. A novel stable isotope tracer method to measure muscle protein fractional breakdown rate during a physiological non-steady-state condition. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 304, n. 6, p. E623-E630, 2013.

TUVDENDORJ, D.; CHINKES, D. L.; BAHADORANI, J.; ZHANG, X.; SHEFFIELD-MOORE, M.; KILLEWICH, L. A.; WOLFE, R. R. Comparison of bolus injection and constant infusion methods for measuring muscle protein fractional synthesis rate in humans. **Metabolism**, v. 63, n. 12, p. 1562-1567, 2014.

VAN DER SCHOOR, S. R. D.; REEDS, P. J.; STOLL, B.; HENRY, J. F.; ROSENBERGER, J. R.; BURRIN, D. G.; VAN GOUDOEVER, J. B. The high metabolic cost of a functional gut. **Gastroenterology**, v. 123, n. 6, p. 1931-1940, 2002.

WASTNEY, M. E. Investigating biological systems using modeling: strategies and software. **Academic Press**, 1999.

WUTZKE, K. D. Development and application of ¹⁵N-tracer substances for measuring the whole-body protein turnover rates in the human, especially in neonates: a review. **Isotopes in environmental and health studies**, v. 48, n. 2, p. 239-258, 2012.

ZOU, P.; ZHENG, N.; YANG, Y.; YU, L. X.; SUN, D.. Prediction of volume of distribution at steady state in humans: comparison of different approaches. **Expert opinion on drug metabolism & toxicology**, v. 8, n. 7, p. 855-872, 2012.