

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LUCAS WACHHOLZ

**USO DE MEXILHÃO DOURADO CONTAMINADO COM METAIS TÓXICOS EM
DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LUCAS WACHHOLZ

**USO DE MEXILHÃO DOURADO CONTAMINADO COM METAIS TÓXICOS EM
DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção Animal, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes

Coorientador: Prof. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

W113u

Wachholz, Lucas

Uso de mexilhão dourado contaminado com metais tóxicos em dietas para frangos de corte .Lucas Wachholz. Marechal Cândido Rondon, 2016. 64 f.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes

Coorientador: Prof. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2016

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Zootecnia

1. *Limnoperna fortunei*. 2. Cálcio. 3. Contaminantes. 4. Metais pesados tóxicos. I. Nunes, Ricardo Vianna. II. Gonçalves Junior, Affonso Celso. III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 21.ed. 636.5
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

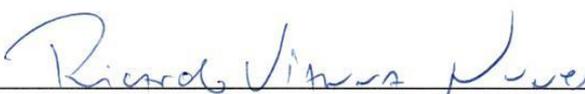
LUCAS WACHHOLZ

**USO DE MEXILHÃO DOURADO CONTAMINADO COM METAIS TÓXICOS EM
DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", para a obtenção do título de "Mestre em Zootecnia".

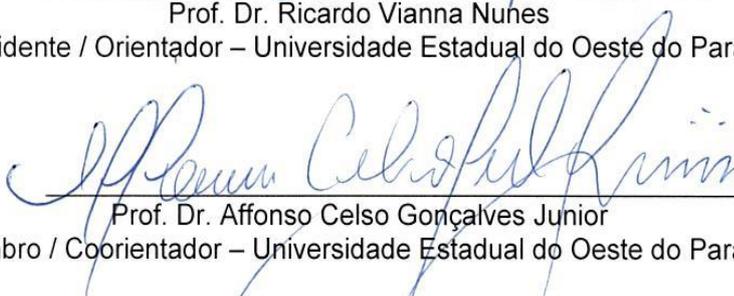
Marechal Cândido Rondon, 18 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes

Presidente / Orientador – Universidade Estadual do Oeste do Paraná



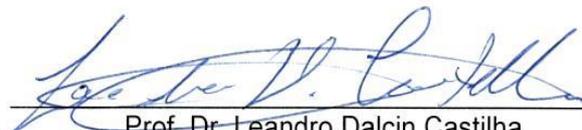
Prof. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior

Membro / Coorientador – Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Dr. Marcelo Angelo Campagnolo

Membro – Universidade Estadual do Oeste do Paraná / PPGA-PNPD



Prof. Dr. Leandro Dalcin Castilha

Membro – Universidade Estadual de Maringá

Agradecimentos

À minha família, que me ajudou da melhor maneira possível, principalmente nos momentos mais difíceis, não me deixando desanimar nunca diante dos obstáculos.

Ao meu orientador, professor Ricardo Vianna Nunes, pela amizade, atenção e auxílio na elaboração deste trabalho.

Ao meu coorientador, professor Affonso Celso Gonçalves Junior, pela amizade, atenção e auxílio.

Aos membros da banca, pelas observações e correções.

Aos amigos e técnicos do Laboratório de Química Ambiental e Instrumental, Gilmar e Emerson e a técnica do laboratório de Nutrição Animal, Luana.

Aos amigos do Grupo de Estudos GEMADA, Idiana, Jomara, Israel, Douglas, Cleison, Heloise, Edinan, Mariana, Guilherme, Andriel, Caio, Marina, Gabriela, Fernanda, Larissa, Maiara, Valéria e Emanuelle.

Aos meus amigos: Jonas, Rodrigo e Josias pela convivência e valiosa amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigado!

RESUMO

WACHHOLZ, LUCAS. Mestrado em Zootecnia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro de 2016. **Uso de Mexilhão Dourado contaminado com metais tóxicos em dietas para frangos de corte.** Orientador: Doutor Ricardo Vianna Nunes.

O presente estudo objetivou avaliar a utilização de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb e Cd como fonte de Ca em substituição ao calcário calcítico em dietas para frangos de corte dos 14 aos 42 dias de idade e seus efeitos sobre desempenho, parâmetros sanguíneos, digestibilidade de metais e qualidade óssea. Foram realizados dois experimentos semelhantes onde foram utilizados 60 frangos de corte, machos de 14 a 42 dias de idade, alojados em gaiolas, com quatro níveis de contaminação de Pb (71,33; 147,55; 223,78 e 300,00 mg kg⁻¹) ou Cd (6,94; 14,55; 22,40 e 30,00 mg kg⁻¹) e cinco repetições. O mexilhão dourado foi adicionado à dieta como fonte de cálcio em substituição total ao calcário calcítico. Aos 42 dias de idade, foram pesadas as aves para avaliação do desempenho e foram coletadas amostras de sangue para determinação dos parâmetros séricos e após foi realizado o abate e coleta dos tecidos para análise das concentrações dos metais e a coleta dos ossos para realizar as avaliações dos parâmetros de qualidade óssea. No estudo com Pb, pode-se observar que o aumento nas concentrações de Pb no mexilhão eleva a digestibilidade e metabolismo deste metal e provoca aumento na produção de AST pelo fígado. Níveis de Pb no mexilhão dourado acima de 214,11 mg kg⁻¹ prejudicam a resistência e a flexibilidade óssea. E no experimento com Cd as concentrações acima de 20 mg kg⁻¹ de Cd presentes no mexilhão dourado são suficientes para provocar os valores máximos de contaminação por Cd nos animais. A utilização de concentrações de até 22,40 mg kg⁻¹ de Cd na farinha de mexilhão dourado para o músculo *Pectoralis major* e de 6,94 mg kg⁻¹ no caso do fígado proporcionam concentrações de Cd que podem ser utilizadas na alimentação humana, porém para os demais tecidos avaliados a concentração de 6,94 mg kg⁻¹ acarreta em concentrações de Cd acima das permitidas. A elevação nas concentrações de Cd provoca aumento na produção de bilirrubina pela bile, aumenta a metabolização e digestibilidade de Cd e as concentrações séricas de Ca. A produção de AST pelo fígado e flexibilidade óssea são aumentados pelas concentrações de Cd na farinha de mexilhão.

Palavras chaves: *Limnoperna fortunei*, cálcio, contaminantes, metais pesados tóxicos.

ABSTRACT

WACHHOLZ, LUCAS. Masters in Animal Science. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, February 2016. **Use of Golden Mussel contaminated with toxic metals in diets for broilers.** Advisor: Dr. Ricardo Vianna Nunes.

This study aimed to evaluate the use of golden mussels contaminated with levels of Pb and Cd as a source of Ca replacing limestone in diets for broilers from 14 to 42 days and its effect on performance, blood parameters, digestibility metals and bone quality. two similar experiments were carried out where they were used 60 broilers, males 14-42 days of age were housed in cages of four Pb contamination levels (71.33; 147.55; 223.78 and 300.00 mg kg⁻¹) or Cd (6.94; 14.55; 22.40 and 30.00 mg kg⁻¹) and five replications. The golden mussel was added to the diet as a source of calcium in total replacement of limestone. At 42 days of age were weighed birds for performance evaluation and blood samples were collected for determination of serum parameters and after we carried out the slaughter and collection of tissues for analysis of concentrations of metals and collecting the bones to perform the evaluations of bone quality parameters. In the study of Pb can be seen that the increase in the Pb concentrations in the mussel increases the digestibility and metabolism of metal and causes an increase in production by the liver AST. Pb levels mussel above 214.11 mg kg⁻¹ impair bone strength and flexibility. And experiment with Cd concentrations above 20 mg kg⁻¹ of Cd from the golden mussel are sufficient to cause the maximum values of Cd contamination in animals. The use of concentrations of up to 22.40 mg kg⁻¹ of Cd in the mussel flour for the pectoralis major muscle and 6.94 mg kg⁻¹ in the case of liver provide Cd concentrations that can be used in human food, but for the other tissues evaluated the concentration of 6.94 mg kg⁻¹ brings in Cd concentrations above the permitted. The increase in the concentrations of Cd causes increased production of bilirubin in bile, metabolism and increases the digestibility of Cd and serum concentrations of Ca. AST production by the liver and bone flexibility are increased by Cd levels mussel flour.

Key words: *Limnoperna fortunei*, calcium, contaminants, toxic heavy metals

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição e valores nutricionais das dietas experimentais	30
Tabela 2. Desempenho de frangos de corte alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminados com níveis de Pb	32
Tabela 3. Concentrações de Pb nos tecidos de frangos de corte alimentados com mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb	33
Tabela 4. Teores de ALT, AST, GGT e Bilirrubina em frangos de corte alimentados com mexilhão dourado com níveis de contaminação de Pb.....	35
Tabela 5. Digestibilidade de Pb de dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb.....	36
Tabela 6. Valores de rigidez, resistência e flexibilidade óssea de animais alimentados com dietas contendo mexilhão dourado contendo níveis de Pb.....	37
Tabela 7. Concentrações séricas de Ca e P de animais alimentados com dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com diferentes níveis de Pb	38
Tabela 8. Composição e valores nutricionais das dietas experimentais	49
Tabela 9. Desempenho de frangos de corte alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com Cd na dieta	52
Tabela 10. Concentrações de Cd nos tecidos de frangos de corte alimentados com mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd	53
Tabela 11. Teores de ALT, AST, GGT e Bilirrubina em frangos de corte alimentados com mexilhão dourado com níveis de contaminação de Cd	55
Tabela 12. Digestibilidade de Cd de dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd	57
Tabela 13. Valores de rigidez, resistência e flexibilidade óssea de animais alimentados com dietas contendo mexilhão dourado contendo níveis de Cd.....	58
Tabela 14. Concentrações séricas de Ca e P de animais alimentados com dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com diferentes níveis de Cd.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Teores de AST no plasma de frangos de corte alimentados com níveis de contaminação com Pb.....	35
Figura 2. PbMA (a) e CDA Pb (b) de dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb.....	36
Figura 3. Resistência (a) e flexibilidade (b) óssea de animais alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb.....	37
Figura 4. Teores de Cd na pele (a), fígado (b), osso (c), penas (d) e soro (e) em animais alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd	54
Figura 5. Teores de ALT (a) e bilirrubina total (b) plasmáticos em animais alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd	56
Figura 6. CdMA (a) e CDACd (b) de dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd	57
Figura 7. Resistência óssea de animais alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd	58
Figura 8. Teores de Ca no plasma de frangos de corte alimentados com níveis de contaminação com Cd	59

SUMÁRIO

1. Introdução.....	10
2. Revisão de Literatura	12
2.1 Mexilhão dourado	12
2.2 Impactos ambientais causados pelo mexilhão dourado	13
2.3 Potencial de utilização de mexilhão dourado em dietas para animais	13
2.4 Importância do cálcio na alimentação animal.....	14
2.5 Presença de contaminantes no mexilhão dourado	15
2.6 Legislação referente ao controle de metais pesados tóxicos em dietas e contaminação de produtos de origem animal.....	16
2.7 Chumbo (Pb).....	16
2.8 Cádmio (Cd)	17
3. Referências Bibliográficas:	20
4. UTILIZAÇÃO DE FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO CONTAMINADA COM CHUMBO COMO FONTE DE CÁLCIO EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE.....	25
4.1 Introdução	27
4.2 Material e métodos.....	29
4.3 Resultados e discussão	32
4.4 Conclusões	40
4.5 Referências bibliográficas:	41
5. FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO (<i>Limnoperna fortunei</i>) CONTAMINADA COM CÁDMIO COMO FONTE DE CÁLCIO PARA FRANGOS DE CORTE.....	45
5.1 Introdução	47
5.2 Material e métodos.....	48
5.3 Resultados e discussão	52
5.4 Conclusões	61
5.5 Referências bibliográficas:	62

1. INTRODUÇÃO

A avicultura possui grande relevância para o agronegócio brasileiro, sendo, atualmente, o principal exportador de carne de frango do mundo, com 4,3 milhões de toneladas exportadas no ano de 2015, sendo que o país também é o segundo maior produtor, ficando atrás apenas dos da China, produzindo 13,146 milhões de toneladas e apresentando um consumo *per capita* de 43,25 kg por ano (ABPA, 2016).

Aproximadamente 70% dos custos de produção de frangos de corte está relacionado à alimentação das aves e, neste contexto, há a necessidade de promover o uso de ingredientes alternativos aos comumente utilizados nas dietas para animais. Entre os ingredientes possíveis de serem utilizados se encontra o mexilhão dourado, o qual, quando transformado em farinha, pode ser usado como fonte do mineral cálcio (Ca) em dietas de animais não ruminantes.

O mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) é um molusco bivalve originário de rios asiáticos que está invadindo grande parte dos rios da América do Sul (DARRIGRAN, 2010), estando também instalado nos rios brasileiros, sobretudo na represa da usina hidrelétrica de ITAIPU (PESTANA et al., 2008). Este molusco tem sido responsável por gerar prejuízos ao se incrustar em cascos de embarcações, tanques redes e também povoar grande parte da superfície do alagada da represa.

Não é possível eliminar este invasor dos rios nos quais está instalado e, de acordo com o descrito por Darrigran e Damborenea (2006), o que se procura nestes casos é encontrar alternativas de controle para o invasor, portanto possíveis utilizações deste molusco em atividades produtivas se tornam de grande valia.

Estes organismos aquáticos podem gerar contaminações aos animais presentes no ecossistema no qual se encontram, pelo fato de possuir hábito filtrador e por isso podem possuir em seu organismo alguns contaminantes presentes na água, os quais podem ser inseridos nas dietas dos outros animais por meio da cadeia trófica. Entre os contaminantes presentes, pode-se destacar os metais tóxicos como cádmio (Cd) e chumbo (Pb) (MARENGONI et al., 2013). Muitas vezes o mexilhão presente nos rios encontra-se contaminado por Cd e Pb, metais tóxicos conhecidamente causadores de problemas de ordem oncológica entre outros. Assim, para a utilização deste molusco em rações para animais, é necessário avaliar se os mesmos quando contaminados com metais pesados tóxicos podem ocasionar danos à saúde do animal bem como deixar resíduos nos produtos gerados.

Perante o exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da utilização de farinha de mexilhão dourado contaminada com Pb e Cd, como substituinte do calcário calcítico

em dietas de frangos de corte de 14 a 42 dias de idade, sobre o desempenho, os parâmetros sanguíneos, a digestibilidade de Pb e Cd e a qualidade óssea.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mexilhão dourado

O mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) é um molusco bivalve filtrador de água doce pertencente à família *Mytilidae*. Caracteriza-se por ser uma espécie de caráter invasor e exótica, sendo originária da China e sudeste asiático (XU et al., 2015; DARRIGRAN e EZCURRA de DRAGO, 2000).

Na América do Sul, o mexilhão dourado é a espécie invasora que está mais amplamente distribuída pelo território (BOLTOVSKOY et al., 2006). O molusco chegou no continente provavelmente na água de lastro de navios (PASTORINO et al., 1993) e a chegada do mesmo no continente foi constatada em 1991, este, inicialmente, se espalhou pela bacia do Rio Prata, sendo que em menos de dez anos este molusco já havia se espalhado a uma distância de 2500 quilômetros (DARRIGRAN e MANSUR, 2006; OLIVEIRA et al., 2006) e assim colonizou boa parte dos rios do continente (DARRIGRAN, 2010) e também a maioria dos rios brasileiros.

O mexilhão dourado é encontrado em toda a extensão do reservatório da usina hidrelétrica de ITAIPU (PESTANA et al., 2008), o qual é considerado o maior reservatório de água de usina hidrelétrica do mundo. De acordo com Darrigran (2002), este molusco pode ser encontrado em outras usinas e reservatórios pertencentes a bacia do Rio Paraná, responsável por causar diversos prejuízos de ordem econômica e ecológica.

Segundo Calazans et al. (2013), o mexilhão já se propagou até a fronteira norte do Pantanal e apresenta riscos de chegar até o Rio Amazonas e representa séria ameaça para a biodiversidade aquática dos rios.

De acordo com Simone (2006), os mexilhões medem em torno de três a quatro cm de comprimento quando adultos. Apresentam crescimento populacional elevado, devido às características do ciclo reprodutivo e à alta capacidade de adaptação às mais diferenciadas condições ambientais (DARRIGRAN e EZCURRA de DRAGO, 2000).

As características desta espécie como fixação aos mais variados tipos de substratos e superfícies, alta fecundidade, adaptação às variações climáticas, fazem com que o *Limnoperna fortunei* colonize novos ambientes e se distribua nos mais diversos ecossistemas aquáticos (LUMMATO et al., 2013). Este invasor mostra muita semelhança com os membros marinhos da família *Mytilidae* (DARRIGRAN et al., 2007).

2.2 Impactos ambientais causados pelo mexilhão dourado

O controle das populações do mexilhão dourado e sua eliminação dos rios é considerado impossível (CALAZANS et al., 2013), e, segundo Darrigran e Damborenea (2006), o que se busca no caso é apenas o controle da invasão da espécie afim de diminuir o impacto ambiental, pois este invasor já se estabeleceu na América do Sul. O mexilhão dourado é responsável pela causa de graves impactos sobre o ambiente, provocando alterações na biodiversidade nativa, desestruturação do ecossistema, causando perdas naturais e econômicas nas regiões infestadas (DARRIGRAN et al., 2012).

Esta espécie tem causado muitos problemas devido a sua incrustação em cascos de embarcações e tanques rede, ocorrendo também a entrada deste molusco nos dutos das turbinas nas usinas hidroelétricas, gerando assim gastos com a limpeza e manutenção destes locais e equipamentos (DARRIGRAN, 2010).

Segundo Silva (2006), a colonização dos ambientes pelo mexilhão dourado pode ser considerada prejudicial, por reduzir a biomassa e modificar a comunidade fitoplanctônica. Estes moluscos podem causar danos à fauna bentônica e aos peixes (MAROÑAS et al., 2003). De acordo com Giordani et al. (2005), a presença destes organismos pode acarretar uma redução na quantidade de sólidos suspensos da água aumentando a penetração da luz na coluna d'água.

A infestação com mexilhão dourado é a causa de um problema relevante no reservatório da usina hidroelétrica de ITAIPU, devido ao alto grau de infestação e à dificuldade que o controle do mesmo tem ocasionado (CANZI et al., 2014).

Estes moluscos fazem parte da dieta de várias espécies de peixes que compõem a fauna aquática da área onde ocorrem, sendo que os peixes são os maiores responsáveis pela predação deste invasor, porém, apesar dos peixes conseguirem predação boa parte do mexilhão dourado a atividade dos mesmos, não é suficiente para controlar a infestação em corpos hídricos pelo invasor (BARTSCH et al., 2005).

Lozano et al. (2001) relataram que os peixes planctívoros podem ser prejudicados pela infestação do molusco em questão, pois os mesmos são responsáveis pela diminuição de fitoplâncton e zooplâncton, que servem como alimento dessas espécies, e, também, pelo fato de que com a diminuição planctônica conseqüentemente há diminuição na transparência da água, aumentando, assim, a predação incidente sobre as larvas e alevinos de peixes.

2.3 Potencial de utilização de mexilhão dourado em dietas para animais

A agropecuária tem se consolidado como o setor mais produtivo no Brasil, estando em constante desenvolvimento, sendo cada vez mais observado um aumento na produtividade animal e para dar suporte ao crescimento nacional da produção pecuária, os custos de produção devem ser reduzidos. De acordo com Mathias et al. (2015), atualmente os custos de alimentação para a alimentação são responsáveis por representar o maior percentual dos custos totais com a produção animal, cerca de 70% destes, por isso a comunidade científica tem se voltado a pesquisar sobre a inclusão de alimentos alternativos nas dietas para animais, visando reduzir os custos com a alimentação destes (CANCHERINI et al., 2005).

O mexilhão dourado é um produto de origem animal, assim não podendo ser utilizado na alimentação de ruminantes devido à legislação vigente (Instrução Normativa nº8 de 2004, BRASIL (2004), a qual foi criada com a finalidade de evitar a transmissão da encefalopatia espongiforme entre os ruminantes, assim proibindo o uso de produtos de origem animal na alimentação dos mesmos, podendo ser utilizado apenas em dietas para animais não ruminantes.

2.4 Importância do cálcio na alimentação animal

Os minerais para a nutrição animal são divididos em duas classes, a dos micronerais, ou como também podem ser chamados, minerais traço; e a dos macrominerais, os quais são exigidos em maior quantidade pelos animais, sendo que o cálcio pertence à classe dos macrominerais devido à sua importância e exigência na nutrição dos animais (SAKOMURA et al., 2014).

O Ca é o mineral mais abundante no organismo dos animais e cerca de 99% deste elemento é encontrado na forma de hidroxiapatita $[3Ca_3(PO_4)_2Ca(OH)_2]$. Sabe-se que o Ca participa como o principal constituinte de ossos e dentes. Uma pequena parte e não menos importante de 1% do Ca está distribuído nos tecidos moles, nos quais possui papel essencial na regulação das funções nervosas e musculares, atua no processo de coagulação sanguínea através da ativação da protrombina em trombina. O Ca também atua na ativação de diversas enzimas, sendo necessário para a manutenção da permeabilidade de membrana. Além disso, está envolvido no controle das contrações musculares e transmissão de impulsos nervosos (UNDERWOOD, 1999).

Os níveis sanguíneos de cálcio são mantidos pela ação dos hormônios calcitonina, paratormônio e estrógeno. O mecanismo de controle e absorção de Ca é realizado por dois hormônios, o paratormônio é responsável pela ativação da calbindina, que é a proteína responsável pelo transporte de cálcio no organismo, sendo, também, responsável pela ativação

dos osteoclastos que são responsáveis pela reabsorção óssea de Ca e redução da eliminação renal, processo esse antagônico ao realizado pela calcitonina que diminui a ativação de osteoclastos e aumenta eliminação renal de Ca (SAKOMURA et al., 2014). Já os estrógenos são responsáveis por incrementar os níveis séricos de Ca durante o processo de maturação sexual e vida adulta das aves, devido à alta necessidade deste elemento na formação da casca de ovos e conseqüentemente na reprodução (WHITEHEAD, 1995).

Deve-se destacar a importância do papel exercido pela vitamina D no metabolismo e regulação do cálcio para o organismo dos animais. A forma 1,25 dihidroxicolecalciferol [1,25-(OH)₂-D₃] atua na regulação do metabolismo do Ca, fazendo com que aumente a absorção de Ca nos intestinos, aumentando as concentrações do mineral no sangue e diminuindo a excreção deste (SAKOMURA et al., 2014).

Os animais podem produzir a vitamina D, isto ocorre pela ação da radiação solar sobre o 7- dehidrocolesterol e isto ocorre no tecido epitelial (NELSON e COX, 2008). Em animais de produção, que em muitos casos são criados confinados e com baixa radiação solar aliado ao rápido crescimento e alta metabolização de Ca, necessitam de suplementação de vitamina D na dieta. A vitamina D pode ser fornecida para os animais sob duas formas, a D₃ (origem animal) e a D₂ (origem vegetal), porém as aves têm a particularidade de absorver apenas a vitamina na a forma D₃ (SAKOMURA et al., 2014).

2.5 Presença de contaminantes no mexilhão dourado

A grande quantidade de Ca presente nas “conchas” do mexilhão dourado é o fator principal no interesse da utilização deste na alimentação animal, porém o principal empecilho da utilização destes em dietas para animais é o fato destes moluscos serem pertencentes à espécie filtradora, pois segundo Marengoni et al. (2013), o mexilhão tem como característica bioacumular em seus tecidos os contaminantes presentes nos corpos hídricos nos quais estão instalados os metais tóxicos, agrotóxicos e toxinas.

O fato deste molusco apresentar em muitos casos presença de contaminantes prejudiciais aos animais quando presentes na dieta pode causar um entrave na utilização do mexilhão dourado na alimentação animal (ALMEIDA et al., 2006).

Para utilizar o mexilhão na alimentação animal é necessário se ater a legislação existente, que estabelece o conceito de boas práticas de fabricação, sendo regularizado pela lei nº 6198, de 26 de dezembro de 1974 modificada pelo decreto 6296 de 2007 (BRASIL, 2007), onde se estabelece as normas gerais sobre inspeção e fiscalização da produção, comércio e do uso de

produtos destinados à alimentação animal, a qual diz respeito aos procedimentos higiênicos, sanitários e operacionais usados durante todo o processo de produção, desde a obtenção da matéria-prima até a distribuição do produto final.

Os produtos de origem animal também estão sujeitos à contaminação microbiana, podendo ameaçar a saúde e a conservação dos alimentos, além de deteriorar e diminuir a qualidade nutricional dos ingredientes.

2.6 Legislação referente ao controle de metais pesados tóxicos em dietas e contaminação de produtos de origem animal

A presença de contaminantes no mexilhão dourado e em especial dos metais pesados tóxicos Cd e Pb pode ser o principal fator limitante da utilização dos mesmos. Existe regulamentação quanto às quantidades permitidas de metais pesados tóxicos nas dietas administradas para animais, sendo que atualmente as indústrias brasileiras se baseiam na Diretiva 2005/87/CE da união europeia, relativa às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais, em especial chumbo, flúor e cádmio.

Já para as concentrações de Cd e Pb nos produtos de origem animal a ANVISA, por meio do decreto nº55.871 de 1965 (BRASIL, 1965), permite concentrações de até 1 mg kg⁻¹ de Cd nos alimentos em geral, de 0,5 mg kg⁻¹ de Pb em carnes e de 0,2 mg kg⁻¹ em carnes de aves.

2.7 Chumbo (Pb)

Este metal é descrito pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como prejudicial à saúde humana (MARTINS et al., 2003), pois quando o Pb atinge concentrações elevadas, em animais e nos seres humanos, causa problemas de toxicidade, também sendo responsável por causar doenças como o câncer, que podem levar à morte.

O Pb é amplamente distribuído no meio ambiente, possuindo como principais fontes as erupções vulcânicas, porém são as atividades antropogênicas, como no caso da mineração, produção de baterias, fundição, fungicidas e pigmentos, considerados os maiores responsáveis por promover a contaminação do meio ambiente através da presença desse metal tóxico (FATMA, 1999).

O Pb ainda é utilizado em projéteis de armamentos, solda de equipamentos eletrônicos e como lastro de embarcações (GOYER e CHERIAN, 1995). Hoet (2005) e Hill (2010), relataram que este metal possui ótimas propriedades, as quais justificam seu uso há milhares de

anos estendendo-se até o momento, porém este fato fez com que este contaminante se distribuísse amplamente no ecossistema. No ambiente, o Pb está geralmente associado a algum elemento químico ou a uma substância.

Segundo Hoet (2005), durante décadas ocorreu a adição de Pb tetraetila na gasolina com a finalidade de aumentar a octanagem, e esta aplicação gerou grande contaminação ambiental. Atualmente esta substância foi substituída por outras menos poluentes.

Em seres humanos expostos à contaminação por Pb, podem haver inúmeros problemas graves de saúde, sendo a toxicidade do Pb conhecida há séculos. Os sintomas da exposição crônica a este elemento são: fadiga, desconfortos, irritabilidade, anemias e problemas no desenvolvimento intelectual (WHO, 1995). Segundo Hoet (2005), o Pb é absorvido geralmente pela ingestão e no interior do organismo se associa aos tecidos ósseo, renal e sanguíneo. No sangue, está geralmente associado às hemoglobinas, sendo que quando há exposição a altas concentrações deste metal, podem ocorrer problemas que afetam a produção de hemoglobinas, causando danos aos sistemas nervosos, nefropatia e problemas vasculares.

Em humanos, o Pb ataca o sistema nervoso central, afetando principalmente crianças em desenvolvimento, sendo responsável pela diminuição da capacidade de aprendizado. Já em adultos, causa dor nas articulações, problemas musculares, problemas renais que acarretam em acúmulo de ácido úrico no sangue e degeneração do sistema nervoso, que leva a ocorrência de problemas mentais (MARECEK, 1986).

2.8 Cádmio (Cd)

O Cd é um dos elementos químicos que apresenta maior toxicidade aos seres vivos, apresentando assim um grande potencial impactante ao meio ambiente e é responsável por causar grande número de enfermidades em seres humanos (ATSDR, 2012).

O Cd é classificado como cancerígeno, sendo que os principais sintomas associados a este elemento são câncer de próstata, de pulmão e testículos (ATSDR, 2012). Nas células, o Cd afeta a proliferação, diferenciação e pode causar destruição celular, além de estar associado a danos renais, desde pequenas disfunções a insuficiências graves, também sendo apontado como causador de anemias, hipertensão e disfunções gástricas (FRIBERG, 1984).

As concentrações deste elemento nos meios aquáticos fazem com que haja perigo a diversos seres vivos e isso ocorre, principalmente, nos que se encontram no topo da cadeia alimentar. Este metal, assim como os demais, é acumulado em vários níveis da cadeia trófica (LIMA e LOPES, 2007). Os principais locais de acumulação em organismos de seres vivos são

nas estruturas ricas em cálcio, como ossos e conchas. Nos ossos, este elemento tóxico é responsabilizado por causar aumento de porosidade e de inibição do mecanismo de reparo ósseo (BRAGA, 2002). Também de acordo com Goyer e Cherian (1995), este metal tóxico possui efeitos carcinogênicos, de nefrotoxicidade e prejudica os sistemas endócrino e reprodutivo. Segundo Higging (1975), o Cd embora apresente toxicidade similar a do mercúrio (Hg), se destaca por apresentar maior diversidade de efeitos deletérios aos animais.

Nos seres humanos, o cádmio apresenta alto índice de contaminação em fumantes, nos quais é absorvido pelas vias respiratórias, mas a alimentação é o principal vetor de contaminação. Se especula que o ser humano absorva entre 3 e 7% do Cd presente na dieta apenas, tendo como principal sítio de absorção o duodeno, o qual apresenta pH alcalino (ATSDR, 2012).

Este elemento tóxico não apresenta papel fisiológico conhecido no organismo dos animais e humanos e apresenta toxicidade à maioria dos seres vivos (FARIA, et al 2008). Em seres humanos, este elemento se caracteriza por atingir os rins, ossos e pulmões, esse último ocorre principalmente por contaminação pela via aérea (DELLA ROSA e GOMES, 1988).

O organismo animal apresenta como principal defesa à contaminação uma proteína composta por 30% do aminoácido cisteína, chamada de metalotioneína. Esta possui baixo peso molecular e capacidade de se ligar com até sete átomos de Cd, os quais são transformados em forma biologicamente inativa e acumulados no organismo. Atualmente, esta proteína é o principal mecanismo de defesa dos animais em relação ao Cd (CHEN et al., 2006).

Este elemento tóxico é um componente natural de solos, rios e mares, porém a expansão da sua utilização ocorre por parte das indústrias, onde é componente na produção de pigmentos para tintas, indústria de plásticos e ligas metálicas (RAMIREZ, 2002), porém, de acordo com Hill (2010), a maior utilização deste metal é na fabricação de baterias recarregáveis à base de níquel e Cd, atividade que é responsável pela utilização de mais de 80% do Cd utilizado na indústria. Estas utilizações fazem com que a emissão deste contaminante no meio ambiente seja bastante aumentada em relação à emissão por fontes naturais (MARECEK et al., 1986).

Este metal é adicionado ao ambiente por meio da deposição de lixos industriais e urbano, esgoto e fertilizantes fosfatados entre outros, sendo facilmente absorvido e translocado pelos animais, apresentando, assim, grande potencial de adentrar a cadeia alimentar humana, podendo acarretar problemas de saúde (RAMIREZ, 2002).

Os principais fatores que afetam a absorção de Cd pelo organismo humano são

semelhantes nas outras espécies animais, como pela presença de outros elementos que possuam efeito antagônico, forma química em que o elemento se encontra, idade e composição da dieta (HILL, 2010; SATARUG et al., 2010).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ABPA-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Produção de carne de frango totaliza 13,146 milhões de toneladas em 2015**. Disponível em: < <http://abpa-br.com.br/noticia/artigos/todas/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146-milhoes-de-toneladas-em-2015-1545>> Acesso em: 29 jan. 2016.
- ALMEIDA, H.C.; SUSZEK, A.P.C.; MENDONÇA, S.N.T.G.C.; FLAUZINO, R.S.C. Estudo do *Limnoperna fortunei* (mexilhão dourado) como ingrediente na ração animal, através das características físico-químicas, microbiológicas e presença de mercúrio. **Higiene Alimentar**, v.20, n.145, p.61-65, 2006.
- ATSDR- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for cadmium**. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2012.
- BARTSCH, M.R.; BARTSCH, L.A.; GUTREUTER, S. Strong effects of predation by fishes on an invasive macroinvertebrate in a large floodplain river. **Journal North American Benthological Society**, v.24, n.1, p.168-77, 2005.
- BRAGA, E. S. Bioquímica Marinha - efeitos da poluição nos processos bioquímicos. Bioquímica. 2ª ed. Fundespa: São Paulo. 2002, 108p.
- BRASIL. Leis, etc. Decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 abr. 1965. Seção 1, pt. 1, p. 3611.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Decreto Nº 6.296, de 11 de Dezembro de 2007. Aprova o Regulamento da Lei Nº 6.198, de 26 de dezembro de 1974, que dispõe sobre a inspeção e a fiscalização obrigatórias dos 36 produtos destinados à alimentação animal, dá nova redação aos arts. 25 e 56 do Anexo ao Decreto Nº 5.053, de 22 de abril de 2004, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 2007; 12 de dezembro de 2007.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 8. **Diário Oficial do União**, Seção 1, p. 5. 2004.
- BOLTOVSKOY, D.; CORREA, N.; CATALDO, D.; SYLVESTER, F. Dispersion and ecological impact of the invasive fresh water bivalve *Limnoperna fortunei* in the Río de la Plata Waters He dand beyond. **Biological Invasion**, v.8, p.947-963, 2006.
- CALAZANS, S.H.C.; AMERICO, J.A.; FERNANDES, F.D.C.; ALDRIDGE, D.C.; REBELO, M.D.F. Assessment of toxicity of dissolved and microencapsulated biocides for control of

- the Golden Mussel *Limnoperna fortunei*. **Marine Environmental Research**, v.91, p.104–108, 2013.
- CANCHERINI, L.C; JUNQUEIRA, O.M; OLIVEIRA, M.C; ANDRIOTTI, M.O; BARBOSA, M.J.B. Utilização de subprodutos de origem animal em dietas formuladas com base na proteína bruta e proteína ideal para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2 p.525-540, 2005.
- CANZI, C.; FIALHO, N.S.; BUENO, G.W., Monitoramento e ocorrência do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) na hidrelétrica da Itaipu binacional, Paraná (BR). **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.5, n.2, p.117-122, 2014.
- CHEN, L.; LEI, L.; JIM, T.; NORDBERG, M.; NORDBERG, G.F. Plasma metallothionein antibody, urinary cadmium, and renal dysfunction in a Chinese type 2 diabetic population. **Diabetes Care**, v.29, p.2682–2687, 2006.
- DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. **Bio-invasión del mejillón dorado em el continente americano**. Buenos Aires: EDULP, 2006, 226p.
- DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C.; DRAGO, E.C.; EZCURRA de DRAGO, I.; PAIRA, A.; ARCHUBY, F. Invasion process of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae): the case of Uruguay River and emissaries of the Esteros del Iberá Wetland, Argentina. **Zoologia**, v.29, n.6, p.531-539, 2012.
- DARRIGRAN, G.; EZCURRA De DRAGO, I. Invasion of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in America. **Nautilus**, v. 2, n.3, p. 69-74, 2000.
- DARRIGRAN, G.; MANSUR C.D. Distribución, abundancia y dispersión: In: **Bio-invasión Del mejillón dorado en el continente Americano**, Darrigran G.; Damborenea C. Ed. Universidad de La Plata. 2006, p 94 -112.
- DARRIGRAN, G. **Summary of the distribution and impact of the golden mussel in argentina and neighboring countries**. 2010. In: MACKIE, G. L.; CLAUDI, R. **Monitoring and Control of Macrofouling Mollusks in Fresh Water Systems**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press. 508 p., 2010.
- DARRIGRAN, G.; Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland fresh water environments. **Biological Invasions**, v.4, p.145–156, 2002.
- DARRIGRAN, G. **Summary of the distribution and impact of the golden mussel in Argentina and neighboring countries**, p. 389-396. In: CLAUDI R.; MACKIE G. (Eds). **Practical Guide for the Monitoring and Control of Aquatic Invasive Molluscs in Freshwater Systems**. Boca Raton, Taylor & Francis Group, 2010, 527p.

- DELLA ROSA, H.; GOMES, J.R. Cádmio: Efeitos Patológicos. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v.16, n.61, p.43-48, 1988.
- FARIA, Carlos Antônio Rodrigues; SUZUKI, Fábio Akira. Avaliação dos limiares auditivos com e sem equipamento de proteção individual. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.74, n.3, p.417-422, 2008.
- FATMA-Fundação do Meio Ambiente. **Relevância dos parâmetros de qualidade de água aplicados a águas correntes. Parte I: características gerais, nutrientes, elementos traço e substâncias nocivas e inorgânicas, características biológicas**. Florianópolis: Fundação de Meio Ambiente de Santa Catarina, 1999.
- FRIBERG, L. Cadmium and the kidney. **Environmental Health Perspectives**, v.54, p.1-11, 1984.
- GIORDANI, S.; NEVES, P. S.; ANDREOLI, C. V. *Limnoperna fortunei* ou Mexilhão Dourado: Impactos causados, métodos de controle passíveis de serem utilizados e a importância do controle de sua disseminação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 23, 2005, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: ABES, 17p.
- GOYER, R.A.; CHERIAN, M.G. **Toxicology of Metals – biochemical aspects**. New York, Springer-Verlag, 1995, p.229-266.
- HIGGING, I. J.; BURNS, R. G. **The chemistry and microbiology of pollution**. Academic Press. London. 1975, 256p.
- HILL, M. K. **Understanding Environmental Pollution**. 3ªed. New York, EUA: Cambridge University Press, 2010, 585 p.
- HOET, P. Speciation of Lead in Occupational Exposure and Clinical Health Aspects. In: CORNELIS, R.; CARUSO, J.; CREWS, H.; HEUMANN, K. **Handbook of Elemental Speciation II – Species in the Environment, Food, Medicine and Occupational Health**. Chichester: Wiley, 2005, p. 252 – 272.
- LOZANO, S. J.; SCHAROLD, J.V.; NALEPA, T.F. Recent declines in benthic macro invertebrate densities in Lake Ontario. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.58, p.518–529, 2001.
- LUMMATO M.M.; DI FIORI, E.; SABATINI, S.E.; CACCIATORE, L.C.; COCHÓN, A.C.; RÍOS DE MOLINA, M.C.V.; BEATRIZ, A. Evaluation of biochemical markers in the golden mussel *Limnoperna fortunei* exposed to glyphosate acid in outdoor microcosms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 95, n.5, p.123–129, 2013.

- MARECEK, V.; JANCHENOVA, Z.; SAMEC, Z.; BREZINA, M. Voltammetric determination of nitrate, perchlorate and iodite at a hanging electrolyte drop electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 185, n.2, p. 359-362, 1986.
- MARENGONI, N. G.; KLOSOWSKI, E. S.; OLIVEIRA, K. P.; CHAMBO, A. P. S.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu binacional. **Química Nova**, v.36, n.3, p.359-363, 2013.
- MAROÑAS, M.E., DARRIGRAN, G.A, SENDRA, E.D.; BRECKON G. Shell growth of the golden mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), in the Río de la Plata, Argentina. **Hydrobiologia**, v.495, p.41–45, 2003.
- MARTINS, A.L.C; BATAGLIA, O.C; CAMARGO, O.A.; CANTARELLA, H. Produção de grãos e absorção de Cu, Fe, Mn e Zn pelo milho em solo adubado com lodo de esgoto, com e sem calcário. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.27, n.3, p.563-574, 2003.
- MATIAS, C.F.Q.; ROCHA, J.S.R.; POMPEU, M.A.; BAIÃO, R.C.; BAIÃO, N.C.; LARA, L.J.C.; CLÍMACO, W.L.S.; PEREIRA, L.F.P.; CALDAS, E.O.; TEIXEIRA, M.P.F.; CARDEAL, P.C. Efeito da protease sobre o coeficiente de metabolizabilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.2, p.492-498, 2015.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger principles of biochemistry**. New York: W.H. Freeman, 2008, 1158p.
- OLIVEIRA, M.D.; TAKEDA, A.M.; BARROS, L.F.; BARBOSA, D.S.; RESENDE, E. Invasion by *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) of Pantanal wetland, Brasil. **Biological Invasions**, v.8, n.2, p.97-104, 2006.
- PASTORINO, G.; DARRIGRAN, G.; MARTIN, S.; LUNASCHI, L. *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del Rio de La Plata. **Neotropica**, v.39, n.101, p.171-175, 1993.
- PESTANA, D.; PIE, M.; OSTRENSKY, A.; BOEGER, W.; ANDREOLI, C.; FRANCESCHI, F.; LAGOS, P. Seasonal Variation in Larval Density of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) in the Iguaçú and Paraná Rivers, in the Region of Foz do Iguaçú, Paraná, Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n.3, p.607-612, 2008.
- RAMÍREZ, A. Toxicología del cadmio conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. **Anales de la Facultad de Medicina**, v.63, n.1. p.51-64, 2002.

- SAKOMURA, N.K., VILAR DA SILVA, J.H., PERAZZOCOSTA, F.G., FERNANDES, J.B.K., HAUSCHILD, L. **Nutrição de não-ruminantes**, Jaboticabal: FUNEP, 2014. p.313-329.
- SATARUG, S.; GARRETT, S. H.; SENS, M. A.; SENS, D. A. Cadmium, Environmental Exposure, and Health Outcomes. **Environmental Health Perspectives**. v.118, n.2, p.182-190, 2010.
- SILVA, D. P. **Aspectos bioecológicos do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae)**. 2006. 123p. Tese de Doutorado – (Pós-Graduação em Engenharia Florestal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- SIMONE, L. R. L. **Land and freshwater molluscs of Brazil**. São Paulo: FAPESP, 2006, 390 p.
- XU, M.; DARRIGRAN, G.; WANG, Z.; ZHAO, N.; LIN, C.C.; PAN, B. Experimental study on control of *Limnoperna fortunei* biofouling in water transfer tunnels. **Journal of Hydro-environment Research**, v.9, n.2, p.248–258, 2015.
- UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA - UBABEF. Relatório anual de 2014. Disponível em:
<<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/732e67e684103de4a2117dda9ddd280a.pdf>>.
Acesso em: 05/11/2015.
- UNDERWOOD, E. J. M. In: Underwood and Suttle. **The mineral nutrition of livestock**. 3 ed Ed. CAB international. 1999. 614p.
- WHITEHEAD, C.C. Plasma Oestrogen and the regulation off egg weight in laying hens by dietary fats. **Animal Feed Science and Tecnology**, Amsterdan, v.53, n.1, p.91-98, 1995.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION-WHO. **Environmental Health Criteria 165, Inorganic Lead**. Geneva: World Health Organization, 1995.

4. UTILIZAÇÃO DE FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO CONTAMINADA COM CHUMBO COMO FONTE DE CÁLCIO EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a utilização de mexilhão dourado contaminado com níveis de chumbo (Pb) como fonte de cálcio (Ca) em substituição ao calcário calcítico em dietas para frangos de corte dos 14 aos 42 dias de idade. Foram utilizados 60 frangos de corte, machos, de 14 a 42 dias de idade, alojados em gaiolas de metabolismo, com quatro níveis de contaminação de Pb no mexilhão e cinco repetições. O mexilhão dourado foi adicionado à dieta como fonte de cálcio em substituição total ao calcário calcítico. As aves foram pesadas para avaliação do desempenho, aos 42 dias, e, após, os animais foram deixados em jejum e foram coletadas amostras de sangue para determinação dos teores séricos de AST, ALT, GGT, Bilirrubina Total, cálcio e Fósforo, sendo realizado o abate e coleta dos tecidos para análise das concentrações de Pb nos mesmos e a coleta dos ossos para realizar as avaliações da qualidade óssea. Os níveis de contaminação com Pb no mexilhão dourado não alteraram o desempenho dos animais ($P \geq 0,05$), assim como nos teores de Pb no músculo *Pectoralis major*, pele, fígado, pena, ossos e soro e nos teores séricos de ALT, GGT e bilirrubina total, porém houve efeito dos níveis de Pb ($P < 0,01$) sobre as concentrações de AST. Os níveis de Pb alteram os valores ($P < 0,01$) de Pb digestível aparente e coeficiente de digestibilidade aparente de Pb, havendo efeito linear crescente. Não ocorreu efeito ($P \geq 0,05$) sobre a rigidez óssea, mas a flexibilidade e resistência óssea foi alterada ($P < 0,05$). As concentrações séricas de Ca e P não mostraram alterações ($P \geq 0,05$) pelo uso de níveis de Pb no mexilhão dourado. Neste estudo, pode ser observado que a utilização de mexilhão dourado contaminado com Pb em até 300 mg kg^{-1} como fonte de Ca em dietas de frangos de corte não altera o desempenho, porém a utilização de mexilhão contaminado com Pb acima de $73,33 \text{ mg kg}^{-1}$ promove contaminações dos tecidos dos animais com Pb altas, impossibilitando assim o consumo das aves. O aumento nas concentrações de Pb no mexilhão aumenta a digestibilidade e metabolismo deste metal e provoca aumento na produção de AST pelo fígado. Níveis de Pb no mexilhão dourado acima de $214,11 \text{ mg kg}^{-1}$ prejudicam a resistência e a flexibilidade óssea.

Palavras chaves: *Limnoperna fortunei*, alimentação, contaminantes, efeito

MUSSEL MEAL USE OF GOLDEN CONTAMINATED WITH LEAD AS CALCIUM SOURCE IN BROILER DIETS

SUMMARY

This study aimed to evaluate the use of mussel contaminated with levels of lead (Pb) as a source of calcium (Ca) replacing limestone in diets for broilers from 14 to 42 days. 60 broilers were used, males between 14 and 42 days of age were housed in metabolism cages, with four Pb contamination levels in mussels and five replications. The golden mussel was added to the diet as a source of calcium in total replacement of limestone. The birds were weighed to assess the performance, at 42 days, and after the animals were fasted and blood samples were collected for determination of serum levels of AST, ALT, GGT, total bilirubin, calcium and phosphorus and was carried slaughter and collection of tissues for analysis of Pb concentrations in them and collecting the bones to make bone quality assessments. The levels of contamination with Pb on the golden mussel did not affect animal performance ($P \geq 0,05$) and the Pb content in the pectoralis major muscle, skin, liver, feather, bone and serum and serum levels of ALT, GGT and total bilirubin, but was no effect of Pb levels ($P < 0.01$) on the AST concentrations. Pb levels change values ($P < 0.01$) apparent digestible Pb and Pb ratio of apparent digestibility, having a linear increase. There was no effect ($P \geq 0,05$) on bone rigidity but flexibility and bone strength was affected ($P < 0.05$). Serum concentrations of Ca and P showed no change ($P \geq 0,05$) by the use of Pb levels in the golden mussel. In this study it can be seen that the use of mussel contaminated with Pb to 300 mg kg^{-1} as a source of Ca in broiler diets does not alter the performance, but the use of mussel contaminated with Pb up 73.33 mg kg^{-1} promotes contamination of tissues of animals with high Pb, thereby preventing the consumption of poultry. The increase in the Pb concentrations in the mussel increases the digestibility and metabolism of metal and causes an increase in production by the liver AST. Pb levels mussel above $214.11 \text{ mg kg}^{-1}$ impair bone strength and flexibility.

Key words: *Limnoperna fortunei*, food, contaminants, effect

4.1 Introdução

O mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) é um molusco bivalve pertencente à família Mytilidae, sendo uma espécie de caráter exótico, a qual foi acidentalmente introduzida no Brasil e tem invadido grande parte dos rios. Esta espécie tem causado diversos problemas devido a sua incrustação em cascos de embarcações, em dutos de turbinas das usinas hidroelétricas e tanques rede, gerando elevados gastos com sua remoção destes locais e com a manutenção dos equipamentos.

A infestação do mexilhão dourado atinge o reservatório da usina hidroelétrica de ITAIPU (PESTANA et al., 2008), provocando sérios problemas devido ao alto grau de infestação e a dificuldade de controle que o mesmo tem ocasionado.

Estes moluscos atuam filtrando a água para utilizar o fitoplâncton como alimento, assim acabam acumulando em seu interior metais tóxicos e outros contaminantes presentes no meio ambiente onde vivem (DARRIGRAN, 2002; MARIANO et al., 2006).

De acordo com Simkiss (1993), a concha do mexilhão dourado é um depósito natural de metais pesados e a constituição rica em cálcio desta faz com que exista maior afinidade com alguns metais, destacando-se o chumbo (Pb). Esta afinidade é devida a proximidade dos raios atômicos dos dois elementos e pelo fato de ambos possuírem a mesma carga elétrica. Isto pode ser atribuído a distribuição semelhante dos elétrons na camada mais externa, favorecendo assim a competição pelos mesmos sítios de ligação (WANG et al., 2015).

Com a finalidade de reduzir o impacto ambiental ocasionado pelo mexilhão dourado, estuda-se a transformação deste molusco em uma farinha, podendo representar um ingrediente para a alimentação animal, substituindo o calcário calcítico nas formulações de rações.

Segundo Almeida (2006), a farinha de mexilhão dourado apresenta alto teor de Ca. Este elemento é considerado um macronutriente, o qual é requerido para a formação do tecido ósseo, sendo assim importante na fase de crescimento, contração muscular, ativador de sistemas enzimáticos, envolvido na secreção de hormônios, transmissão de impulsos nervosos e coagulação sanguínea.

A presença de contaminantes no mexilhão dourado e, em especial do metal pesado tóxico Pb, pode ser o principal fator limitante da utilização dos mesmos nas dietas de animais. Outro fator agravante que dificulta a utilização deste é a falta de regulamentação quanto às quantidades permitidas Pb nas dietas administradas para animais.

Para a implementação de um novo ingrediente nas dietas de frangos de corte, é necessário realizar avaliações para verificar a presença de contaminantes que porventura

possam ser prejudiciais aos animais e conseqüentemente ao consumidor final. Sendo assim, existe a necessidade da realização de estudo com a finalidade de avaliar a possibilidade da utilização do mexilhão dourado na alimentação de frangos de corte sem que ocorra contaminação das aves com metais tóxicos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb em dietas para frangos de corte dos 14 aos 42 dias de idade sobre desempenho, contaminação de tecidos, parâmetros sanguíneos, digestibilidade de Pb e qualidade óssea.

4.2 Material e Métodos

O mexilhão dourado foi coletado às margens do reservatório da Usina Hidrelétrica de ITAIPU, no município de Marechal Cândido Rondon- PR. Este foi seco ao sol, moído em moinho martelo (peneira 4 mm) e armazenado em ambiente fechado e seco. Amostras da farinha de mexilhão foram retiradas para realização das determinações de chumbo (Pb), cálcio (Ca) e fósforo (P), a qual foi realizada no Laboratório de Química Ambiental e Instrumental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* de Marechal Cândido Rondon – PR, utilizando de digestão nitroperclórica (AOAC, 2005) e determinação por técnicas de espectrometria de absorção atômica modalidade chama (FAAS) (WELZ e SPERLING, 1999), encontrando valores de 71,33 mg kg⁻¹ de Pb; 3,98 mg kg⁻¹ de P e 30,64 mg kg⁻¹ de Ca.

Após a quantificação dos teores de Ca, P e Pb, foi realizado um ensaio experimental no Laboratório de Fisiologia e Metabolismo de Aves localizado na fazenda experimental Professor Doutor Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias, da UNIOESTE. Todos os procedimentos foram autorizados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e aulas práticas da UNIOESTE.

De 1 a 14 dias de idade, as aves foram criadas no Aviário Experimental da UNIOESTE, sob piso com cama de maravalha, recebendo ração inicial formulada à base de milho e farelo de soja, e recebendo ração e água à vontade.

Foram utilizados 60 frangos de corte machos, Cobb 500, com 14 dias de idade com peso médio de 393,95 ± 14,12g, vacinados no incubatório para as doenças de Marek, Gumboro, Boubá Aviária e Bronquite Infecciosa, alojados em gaiolas de 50cm², com três aves por unidade experimental. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (71,33; 147,55; 223,78 e 300 mg kg⁻¹ de Pb no mexilhão dourado utilizado como fonte de Ca) e cinco repetições. As concentrações de Pb acima de 71,33 mg kg⁻¹ de Pb foram obtidas adicionando nitrato de chumbo [Pb(NO₃)₂] na farinha de mexilhão dourado.

Foram utilizadas duas dietas experimentais de acordo com a fase dos animais (crescimento e terminação), e o mexilhão dourado foi a principal fonte de cálcio das dietas. Os animais receberam dietas visando atender às exigências nutricionais propostas por Rostagno et al. (2011) (Tabela 1), para machos de desempenho superior. Durante as fases de crescimento e terminação das aves e alimentação e água, foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento e a iluminação foi do tipo 24 h luz, com auxílio de lâmpadas.

Tabela 1. Composição e valores nutricionais das dietas experimentais

Ingrediente	Composição (%)	
	Crescimento (14-28 dias)	Terminação (28-42 dias)
Milho grão	55,608	57,197
Farelo de soja	36,498	33,028
Óleo de soja	3,800	4,854
Fosfato Monobicálcico	1,528	1,653
Mexilhão Dourado	1,185	1,096
Sal Comum	0,483	0,478
DL- Metionina (99%)	0,307	0,252
Biolys (54,6%)	0,338	0,266
L-Treonina (98%)	0,068	0,036
Premix vitaminico ¹	0,010	0,010
Premix mineral ²	0,050	0,050
Cloreto de Colina (60%)	0,060	0,060
Antioxidante ³	0,010	0,010
Surmax	0,005	0,005
Coxistac	0,050	0,050
Celite	0,000	1,000
Nutriente	Composição calculada	
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.050	3.150
Proteína Bruta (%)	21,182	19,780
Lisina digestível (%)	1,217	1,099
Metionina+Cistina digestível (%)	0,876	0,791
Treonina	0,273	0,714
Triptofano	0,897	0,222
Cálcio (%)	0,841	0,837
Fósforo disponível (%)	0,401	0,418
Sódio (%)	0,210	0,208
Potássio (%)	0,830	0,776

¹Premix Vitaminico para aves (Lote BR00014639), Níveis de Garantia por Quilograma produto: Vit. A (min) 9000000,00 UI, Vit. D3 (min) 2500000,00 UI, Vit. E (min) 20000,00 UI, Vit. K3 (min) 2500,00 mg, Vit. B1 (min) 1500,00 mg, Vit. B2(min) 6000,00 mg, Vit. B6(min) 3000,00 mg, Vit. B12 (min) 12000,000 mg. Ácido Pantotênico (min) 12 g, Niacina (min) 25g, Ácido Fólico(min) 800,00 mg, Biotina (min) 60,0 mg, Selênio(min) 250,0 mg. ²Premix Mineral para aves (Lote BR00013863), Níveis de Garantia por Quilograma do Produto: Cobre (min) 20g, Ferro (min) 100g, Manganês (min) 160g, Cobalto (min) 2000,0 mg, Iodo (min) 2000,0 mg, Zinco (min) 100g.

Aos 28 e 42 dias de idade, todas as aves e a ração foram pesadas para a determinação do ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.

Aos 42 dias de idade, as aves foram mantidas em jejum por seis horas, para coleta de sangue via punção braquial. Após este processo, o sangue foi centrifugado e o soro separado e congelado para as análises de aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), bilirrubina total, cálcio e fósforo. As determinações foram realizadas com a utilização de “kits” comerciais (Elitech), utilizando espectrofotômetro automático, com calibração automática e leitura de alta performance (Elitech EL 200).

Após a coleta de sangue, todas as aves foram abatidas por meio de deslocamento cervical e posterior sangria para coleta de pele (ao redor do peito), músculo (*Pectoralis major*) carne do peito, penas, ossos (tíbia e fêmur) e fígado para a determinação do conteúdo de Pb, sendo que para a quantificação deste metal nestes tecidos e no soro, foi utilizada a metodologia citada anteriormente para o mexilhão.

A coxa foi desossada para obtenção da tíbia. Para determinar a rigidez e resistência óssea, foi utilizado o equipamento analisador de Textura CT3 da Brookfield, com uma base que apoia as regiões das epífises ósseas, e a aplicação da força de 5mm s com carga de 200 kgf se deu na região central do osso (diáfise) e os valores foram expressos em milímetros (mm) e quilograma de força (kgf) respectivamente, já a flexibilidade é dada em kgf cm e calculada pela relação entre resistência óssea e rigidez (resistência/rigidez).

Foi determinada a concentração de chumbo na ração e nas fezes (mg kg^{-1}), e, para calcular o fator de indigestibilidade, foi utilizada a cinza ácida insolúvel (Celite®). Os dados obtidos foram utilizados nas fórmulas descritas para determinação do Pb metabolizável aparente (PbMA) e Coeficiente de digestibilidade aparente de Pb (CDA Pb) e os valores foram expressos com base na matéria seca.

Cálculo de chumbo metabolizável (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007)

$$\text{PbMA (mg kg}^{-1}\text{)} = \text{Pb/kg ração (mg kg}^{-1}\text{)} - (\text{Pb /kg excretado (mg kg}^{-1}\text{)} \times \text{FI})$$

Em que: FI = CAI na dieta/CAI na excreta

Coeficiente de digestibilidade aparente do Pb (CDA Pb) - (adaptado de ROSTAGNO e FEATHERSTON, 1977).

$$\text{CDA Pb (\%)} = \frac{(\text{Pb na dieta (mg kg}^{-1}\text{)} - (\text{Pb nas fezes (mg kg}^{-1}\text{)} \times \text{FI}))}{\text{Pb na dieta}} \times 100$$

Como procedimento estatístico, foi realizada análise de variância e posterior regressão polinomial entre os níveis de inclusão de mexilhão dourado. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SISVAR - Sistema de Análise da Variância (FERREIRA, 2000).

4.3 Resultados e Discussão

No Brasil, não existem leis que regulamentem as quantidades do metal Pb que podem estar presentes nos alimentos e aditivos alimentares fornecidos aos animais. Perante isto, deve-se dar destaque a este fato, uma vez que o teor de chumbo no mexilhão sem a contaminação induzida obtido neste estudo foi de 71,33 mg kg⁻¹, valor este acima do permitido pela União Europeia segundo a Diretiva 2005/87/CE, de 5 de Dezembro de 2005 (EUROPEAN COMMISSION REGULATION, 2005), o qual altera o anexo I da Diretiva 2002/32/CE (EUROPEAN COMMISSION REGULATION, 2002) do Parlamento Europeu e do Conselho, referente às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais, como chumbo, flúor e cádmio, sendo o valor limite para Pb de 10 mg kg⁻¹.

O desempenho das aves de 14 a 42 dias de idade não foi influenciado ($P \geq 0,05$) pelo uso da farinha de mexilhão dourado contaminado com níveis crescente de Pb (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho (\pm DP) de frangos de corte alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminados com níveis de Pb

Pb (mg kg ⁻¹)	PV (g)	GP (g)	CR (g)	CA (g g ⁻¹)
71,33	2677 \pm 147	2252 \pm 147	3794 \pm 192	1,688 \pm 0,06
147,55	2765 \pm 130	2373 \pm 124	3897 \pm 125	1,648 \pm 0,04
223,78	2563 \pm 370	2265 \pm 98	3826 \pm 126	1,684 \pm 0,07
300,00	2737 \pm 70	2336 \pm 78	3955 \pm 105	1,696 \pm 0,04
Média	2686,0	2307,0	3868,4	1,679
EPM	35,73	24,00	29,20	0,01
P	0,560	0,145	0,823	0,739

PV (peso vivo); GP (ganho de peso); CR (consumo de ração); CA (conversão alimentar); EPM (Erro padrão da média); P (Valor P).

Em trabalho realizado por Wang et al. (2015), utilizando níveis de 1,03 a 1000 mg kg⁻¹ de contaminação por Pb em dietas fornecidas a pepinos do mar, não foi observado efeito significativo dos níveis de contaminação sobre o desenvolvimento dos animais.

As altas concentrações de metais presentes na farinha de mexilhão dourado não foram suficientes para provocar toxidez nas aves e afetar negativamente o desempenho dos frangos de corte. Provavelmente, como a inclusão desta farinha é de aproximadamente de 1,00% na diluição com os outros ingredientes da ração, isto torna a concentração de chumbo relativamente baixa, não sendo suficiente para ocasionar lesões nas aves e nem comprometer seu desempenho, pois o desempenho obtido neste estudo está de acordo com o preconizado para a linhagem Cobb 500, utilizada neste estudo (COBB, 2009).

Não houve efeito ($P \geq 0,05$) dos níveis de Pb no mexilhão sobre as concentrações deste metal nos tecidos estudados (Tabela 3). As concentrações de Pb em todos os tecidos estudados foram superiores a permitida pela ANVISA (BRASIL, 1965), que é de $0,20 \text{ mg kg}^{-1}$. É importante destacar que o músculo *Pectoralis major* (peito), fígado e pele são tecidos comestíveis e todos os tratamentos apresentaram concentrações de Pb acima da permitida pela ANVISA, impossibilitando assim a sua utilização para o consumo humano. Também deve ser levado em consideração o fato de que os ossos e penas, apesar de não serem comestíveis, são transformados em ingredientes para ração animal, podendo assim entrar na cadeia alimentar humana também.

Tabela 3. Teores de Pb (\pm DP) nos tecidos de frangos de corte alimentados com mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb

Pb (mg kg^{-1})	Concentrações de Pb em mg kg^{-1}					
	<i>Pectoralis major</i>	Pele	Fígado	Ossos	Penas	Soro
71,33	7,73 \pm 0,89	15,46 \pm 1,30	5,44 \pm 1,85	22,47 \pm 2,31	13,18 \pm 0,99	10,20 \pm 0,84
147,55	7,99 \pm 0,82	15,36 \pm 0,35	5,22 \pm 1,44	21,88 \pm 1,64	10,81 \pm 0,61	10,20 \pm 1,30
223,78	8,87 \pm 1,17	14,80 \pm 0,48	5,35 \pm 1,65	23,57 \pm 1,19	10,64 \pm 0,95	12,75 \pm 1,09
300,00	8,26 \pm 0,38	14,17 \pm 0,65	5,26 \pm 1,58	21,48 \pm 2,73	11,54 \pm 0,56	13,40 \pm 1,52
Média	8,14	14,95	5,32	22,35	11,54	11,64
EPM	0,176	0,231	0,038	0,335	0,409	0,719
P	0,160	0,150	0,997	0,877	0,144	0,432

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P).

A ingestão de 1 a 2 mg de Pb durante uma semana, de acordo com Coutinho et al. (2004), é suficiente para causar a intoxicação crônica por Pb, a qual é denominada de Saturnismo. Deste modo, ao observar que a menor concentração de Pb encontrada no presente estudo foi de $5,22 \text{ mg kg}^{-1}$, conclui-se que a utilização de mexilhão na alimentação animal nas condições do presente estudo não deve ser realizada, pois promove condições nos produtos provenientes das aves que causam intoxicação para os humanos.

Considerando também que a menor concentração de Pb presente na farinha de mexilhão dourado proporcionou valores de Pb no músculo das aves de $7,73 \text{ mg kg}^{-1}$, a farinha de mexilhão com estes valores ou superiores a este não pode ser utilizado na ração de aves pois mesmo sendo sua utilização de 1% ele contamina a carcaça, mostrando ter um poder elevado de bioacumulação.

A inclusão de 1% de mexilhão na dieta contaminada com $71,33 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb equivale à adição de $0,71 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb na ração proveniente do mexilhão dourado. Ao analisarmos o

consumo de ração médio obtido no presente estudo, chega-se ao valor de 2,70 mg de Pb consumido por ave, proveniente do mexilhão dourado utilizado na dieta.

A concentração de Pb no fígado pode ser explicada pelo fato deste ser o principal órgão atuante no metabolismo de nutrientes nos animais. Sendo assim, as substâncias tóxicas como os metais pesados vão ter contato com este órgão e conseqüentemente gerar contaminação do mesmo.

Os ossos são os principais locais de acumulação de minerais nos animais e devido a isso estes apresentaram concentração mais elevada de Pb que os demais tecidos dos frangos.

Animais com alta quantidade do metal Pb presente, nos tecidos não devem ser destinados à alimentação humana, pois segundo Khalil et al. (2009), este metal apresenta efeito acumulativo e carcinogênico, provocando assim danos à saúde.

Os metais pesados tóxicos apresentam efeito acumulativo no organismo dos animais (GONÇALVES et al., 2008), e mesmo este estudo sendo realizado com aves de 14 a 42 dias de idade, esse período é suficiente para gerar contaminação elevada nos animais por este elemento tóxico. Por isso, é importante a realização de estudos para avaliar o potencial de contaminação do mexilhão contaminado com Pb.

Os níveis de Pb na dieta não foram suficientes para provocar alterações ($P \geq 0,05$) sobre os teores de ALT, GGT e bilirrubina total no sangue (Tabela 4). Foi encontrado neste estudo um valor médio de $8,6 \text{ U L}^{-1}$ de ALT, valor este que se encontra dentro do preconizado por Borsa et al. (2006), para frangos de corte aos 42 dias de idade, o qual relata como normais para frangos de corte de 42 dias de idade valores entre 4 a 14 U L^{-1} . Já para GGT foi encontrado neste trabalho um valor médio de $11,35 \text{ U L}^{-1}$, valor este abaixo da faixa média da idade relatada por Borsa et al. (2006) que é de 17 a 24 U L^{-1} . Portanto os valores de GGT encontrados neste estudo devem ser considerados normais, pois quanto menor a concentração sanguínea desta enzima, menores são as chances de existirem distúrbios hepáticos.

Os teores de Pb no mexilhão dourado provocaram alterações nos valores de AST, havendo efeito linear crescente ($P < 0,05$) das concentrações de Pb presentes na farinha de mexilhão dourado, sobre a concentração de AST (Figura 1). O aumento desta variável, corrobora o relatado por Omobowale et al. (2014), em estudo realizado com ratos, provocada por intoxicação por Pb. A elevação nas concentrações de AST no sangue das aves pode ser associada à intoxicação por Pb presente na farinha de mexilhão dourado, sendo indicio de danos hepáticos (CAMPBELL, 2007; SCHMIDT, 2007), ou musculares (CARDINET, 1997).

Tabela 4. Teores de ALT, AST, GGT e Bilirrubina (\pm DP) em frangos de corte alimentados com mexilhão dourado com níveis de contaminação de

Pb (mg kg ⁻¹)	AST (U L ⁻¹)	ALT (U L ⁻¹)	GGT (IU L ⁻¹)	Bilirrubina total (mg dL ⁻¹)
71,33	176,6 \pm 42	9,0 \pm 2,10	10,2 \pm 3,76	0,30 \pm 0,14
147,55	265,2 \pm 25	7,2 \pm 1,72	10,4 \pm 3,01	0,39 \pm 0,15
223,78	206,8 \pm 49	8,0 \pm 3,85	12,2 \pm 1,72	0,60 \pm 0,25
300,00	316,6 \pm 47	10,2 \pm 2,79	12,6 \pm 0,80	0,54 \pm 0,13
Média	241,3	8,6	11,35	0,46
EPM	22,182	0,447	0,470	0,050
P	0,015	0,464	0,464	0,104
Equações de Regressão				R ²
AST	153,224160 + 0,474380Pb			0,55

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (coeficiente de determinação).

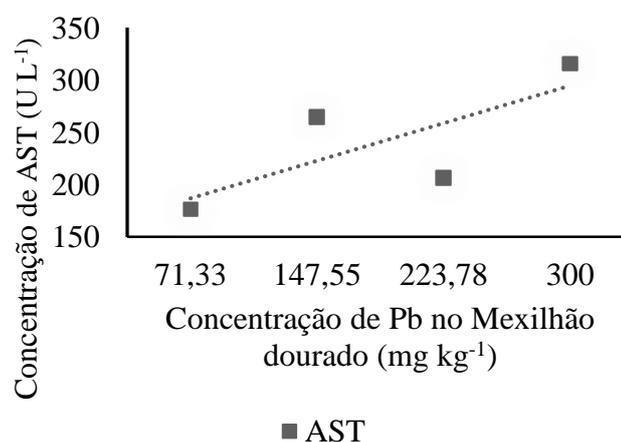


Figura 1. Teores de AST no plasma de frangos de corte alimentados com níveis de contaminação com Pb

As concentrações médias de AST encontradas neste trabalho (241,3 U L⁻¹) estão dentro da faixa de normalidade para frangos de corte aos 42 dias de idade (BORSA et al., 2006), sendo também próximo ao resultado obtido por Gonçalves et al. (2014), que foi de 251,6 U L⁻¹.

De acordo com Silva et al. (2007), a bilirrubina total em frangos de corte média é de 0,41 mg dL⁻¹, valor este que se comparado ao obtido no presente estudo que foi de 0,46 mg dL⁻¹ pode ser considerado semelhante, mostrando assim que este se encontra dentro da normalidade.

Quando observados os valores de coeficiente de digestibilidade aparente de Pb (CDA Pb) e Pb metabolizável aparente (PbMA) (Tabela 5), pode-se observar que houve efeito significativo dos níveis de inclusão de Pb (P<0,01) havendo para ambos os casos efeito linear crescente (Figura 2). Isso indica que o aumento das concentrações de Pb no mexilhão dourado

aumentou a metabolização de Pb e a digestibilidade do mesmo de forma linear ao aumento do conteúdo deste metal pesado tóxico na ração.

O fato de o Pb presente no mexilhão dourado ter-se apresentado com alta digestibilidade é responsável pelas altas concentrações de Pb encontradas nos tecidos dos frangos (Tabela 4).

Tabela 5. Digestibilidade de Pb (\pm DP) de dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb

Pb (mg kg^{-1})	Digestibilidade de Pb	
	PbMA(mg kg^{-1})	CDA Pb (%)
71,33	8,52 \pm 3,14	31,98 \pm 4,16
147,55	14,44 \pm 1,51	45,65 \pm 4,79
223,78	15,82 \pm 1,72	61,11 \pm 6,64
300,00	23,36 \pm 1,58	78,20 \pm 5,28
Média	15,53	54,23
EPM	4,055	15,420
P	<0,01	<0,01
	Equações de regressão	
PbMA	4,060758 + 4,5892Pb	
CDA Pb	16,696647 + 0,2021Pb	
		R ²
PbMA	0,94	
CDA Pb	0,99	

PbMA (Chumbo Metabolizado Aparente); CDA Pb (Coeficiente de Digestibilidade Aparente de Pb); EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (Coeficiente de determinação).

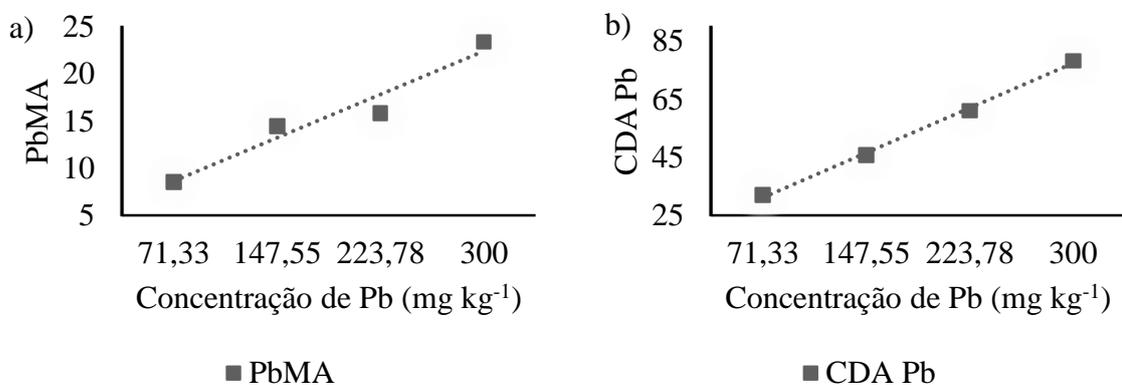


Figura 2. PbMA (a) e CDA Pb (b) de dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb

Conforme exposto na Tabela 6, os níveis de contaminação com Pb presentes no mexilhão dourado não provocaram efeito na rigidez óssea ($P \geq 0,05$). Este fato deve ser destacado pois de acordo com Currey (2003), quanto maior a rigidez óssea, mais susceptível a quebras o osso estará. Porém, houve efeito quadrático para resistência e flexibilidade óssea ($P < 0,05$) (Figura 3). Para resistência óssea, o ponto de máxima se apresenta com a inclusão de mexilhão dourado com 218,16 mg kg^{-1} de Pb e para flexibilidade óssea o mesmo se apresentou

com a inclusão de mexilhão contaminado com 214,11 mg kg⁻¹ de Pb (Figura 3), sendo que a partir destas concentrações de Pb há uma piora nos valores destas variáveis.

Tabela 6. Valores de rigidez, resistência e flexibilidade óssea (\pm DP) de animais alimentados com dietas contendo mexilhão dourado contendo níveis de Pb

Pb (mg kg ⁻¹)	Rigidez (mm)	Resistência (Kgf)	Flexibilidade (Kgf cm ⁻¹)
71,33	3,97 \pm 0,32	8,69 \pm 0,25	21,01 \pm 0,39
147,55	4,06 \pm 0,20	9,05 \pm 0,43	23,45 \pm 0,42
223,78	3,96 \pm 0,27	9,63 \pm 0,34	24,29 \pm 0,31
300,00	3,97 \pm 0,09	9,14 \pm 0,25	23,03 \pm 0,52
Média	3,99	9,13	22,95
EPM	0,035	0,257	0,967
P	0,880	<0,01	<0,01
Equações de regressão			R ²
Resistência	7,664203 + 0,016114Pb - 0,000037Pb ²		0,82
Flexibilidade	16,937423 + 0,068090Pb - 0,000159Pb ²		0,99

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (Coeficiente de determinação).

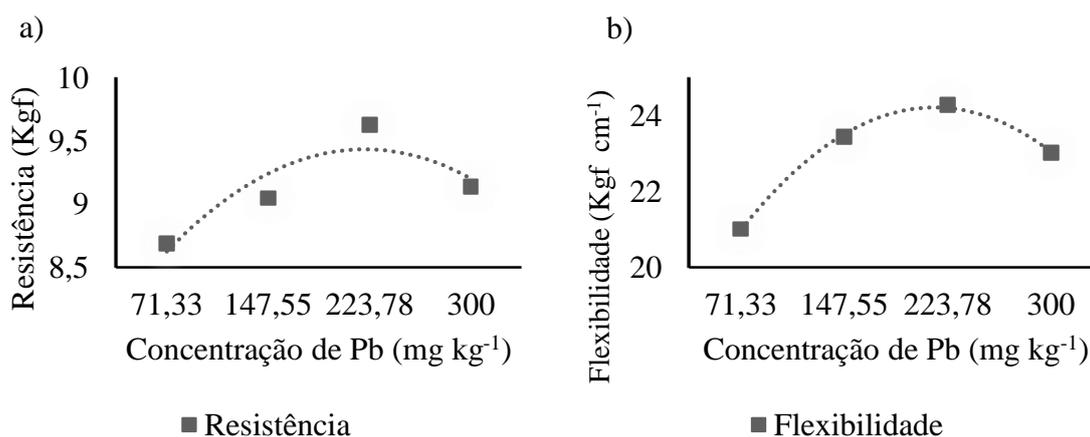


Figura 3. Resistência (a) e flexibilidade (b) óssea de animais alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb no município de Marechal Cândido Rondon-Pr

De acordo com Penz Júnior (2002), as substâncias minerais conferem ao osso rigidez, as fibras colágenas que fazem parte da composição do mesmo lhe dão certa flexibilidade, o que, segundo Rath et al. (2000), vem a ser essencial pois dificulta a ocorrência de fraturas ósseas. Resistência e flexibilidade são os fatores mais importantes para que não ocorram casos de fraturas ósseas.

O Ca é o mineral que está em maior quantidade nos ossos dos animais, sendo que este tecido representa de 98 a 99% do Ca encontrado no organismo (VARGAS et al., 2003). Se associarmos a importância desse elemento para a estruturação do tecido ósseo ao fato de haver forte interação entre Pb e Ca, assim sabe-se que o Pb tem a capacidade de participar dos

processos fisiológicos que envolvem Ca (WANG et al., 2015), sendo isto atribuído ao fato de os dois elementos químicos em questão possuírem valência semelhante.

Esta afirmação justifica a diferença estatística na resistência óssea e flexibilidade, resultado que permite afirmar que a utilização do mexilhão dourado como fonte de Ca contaminado com Pb, contribuiu para a ocorrência de descalcificação nos ossos das aves. Devido a ocorrência da mobilização de Ca da estrutura óssea, em função das concentrações de Ca disponíveis na corrente sanguínea não suportarem a exigência demandada pelo organismo do mineral, essa situação pode comprometer a estrutura óssea, deixando os ossos frágeis.

Problemas de descalcificação ou sintomas de deficiência de cálcio na estruturação óssea podem ocasionar nas aves problemas como o raquitismo, que possui, como característica, juntas entumecidas e inchadas, alargamento das terminações ósseas e bicos emborrachados (DINEV, 2012). Outras doenças como a osteomalacia são um indicativo de deficiência de cálcio que pode comprometer o desenvolvimento das aves mais velhas (RICHARD, 2005). Entretanto, não foram observados nos frangos de corte ao decorrer deste experimento sintomas relacionados com a deficiência de cálcio.

As concentrações séricas de Ca e P não foram influenciadas ($P > 0,05$) pela inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Pb na dieta (Tabela 7).

A importância da avaliação do cálcio sanguíneo se dá também pelo fato de que o Pb durante a sua distribuição nos animais segue a via metabólica do cálcio (O'FLAHERTY, 1995). Além disso, o Pb afeta reações enzimáticas onde o Ca desempenha papéis importantes (CHIU et al., 2009), levando a problemas nos animais, tais como afetar a resistência dos ossos, sendo associado à osteoporose (BUCHEIM et al., 1998).

Tabela 7. Concentrações séricas de Ca e P (\pm DP) de animais alimentados com dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com diferentes níveis de Pb

Pb (mg kg ⁻¹)	Ca (mg dL ⁻¹)	P (mg dL ⁻¹)
71,33	4,44 \pm 0,64	3,65 \pm 0,80
147,55	4,54 \pm 0,95	3,43 \pm 0,40
223,78	5,64 \pm 1,21	3,71 \pm 0,57
300,00	5,54 \pm 1,07	3,91 \pm 0,88
Média	5,04	3,67
EPM	0,550	0,135
P	0,215	0,803

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P).

O Pb está diretamente ligado a alterações no desenvolvimento, metabolismo de vitamina D e na protoporfirina eritrocitária (ZPP), a qual possui ligação diretamente com a formação de

grupos heme (ATSDR, 1999; SKERFVING, 1993), e esses são responsáveis pelo transporte de minerais como o Ca e o P e também podem interferir no transporte de Pb.

A falta de legislação brasileira com o intuito de limitar as concentrações de metais pesados tóxicos (Pb) em ingredientes utilizados na formulação de dietas para animais, o que faz com que as empresas não deem tanta importância ao controle de contaminação por este elemento de alto potencial de contaminação ambiental e de alto risco quando introduzido na cadeia alimentar dos animais, e conseqüentemente na cadeia alimentar humana. Assim, o chumbo pode ocorrer geralmente em fontes de minerais utilizadas nas dietas para animais, como no caso deste estudo onde o mesmo está presente na fonte de Ca.

Sabe-se que o controle de Pb nas dietas ocorre, mesmo que em pequena escala, apenas pelo fato de o mesmo ser facilmente absorvido pelos animais e assim conseqüentemente vindo a acarretar em contaminação dos produtos de origem animal, pois esses sim têm limite de concentração de Pb estabelecido pela ANVISA (BRASIL, 1965), o que pode acarretar em prejuízos.

4.4 Conclusões

A presença de níveis de até 300 mg kg^{-1} de Pb no mexilhão dourado não afeta o desempenho dos animais, entretanto a concentração de $71,33 \text{ mg kg}^{-1}$ proporciona níveis elevados de chumbo na carcaça das aves.

Quanto mais elevada a concentração de Pb, maior a digestibilidade, a metabolização e maior produção de AST pelo fígado.

A flexibilidade e resistência óssea são afetadas pelo Pb presente na dieta e níveis acima de $214,11 \text{ mg kg}^{-1}$ prejudicam o tecido ósseo.

4.5 Referências Bibliográficas:

- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY- ATSDR- **Toxicological Profile for Lead**. Atlanta: Department of Health e Human Services, 1999.
- ALMEIDA, H.C. Estudo do *Limnoperna Fortunei* (mexilhão dourado) como ingrediente na ração animal, através de características físico-químicas, microbiológicas e presença de mercúrio. **Higiene Alimentar**, v.20, p.61-65, 2006.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS- AOAC. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- BRASIL. Leis, etc. Decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 abr. 1965. Seção 1, pt.1, p.3611.
- BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L.P.; SAITO, M.E.; KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.675-677, 2006.
- BUCHHEIM, K.; STOLTENBURG-DIDINGER, G.; LILIENTHAL, H.; WINNIKE, G. Miopathy: A possible effect of chronic low level lead exposure. **Neuro Toxicology**, v.19, n.4-5, p.539-546, 1998.
- CARDINET, G.H. **Skeletal muscle function**. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical Biochemistry of domestic animals. 5th ed. London: Academic Press, 1997. p.407-440.
- CAMPBELL, T.W. Bioquímica clínica de aves. In: THRALL, M.A.; WEISER, G.; ALLISON, R.B.; CAMPBELL, T.E. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p.415-435.
- CHIU, T.Y.; TENG, H.C.; HUANG, P.C.; KAO, F.J.; YANG, D.M. Dominant role of Orail with STIM1 on the cytosolic entry and cytotoxicity of lead ions. **Toxicological Sciences**, v.110, n.2, p.353-362, 2009.
- COBB (2009). **Suplemento de Crescimento e Nutrição para Frangos de Corte**. Disponível em:
http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/zootecnia/NILVAKAZUESAKOMURA/suplemento_cobb_500.pdf. Acessado em: 21 de janeiro de 2016.
- COUTINHO, F. M. B, GOMES, A. S., TEIXEIRA, V. G.; Resinas poliméricas para separação e pré-concentração de chumbo. **Química Nova**, v. 27, n.2, p.754-762, 2004.

- CURREY, J.D. The many adaptation of bone. **Journal of Biomechanics**, v.36, p.1487–1495, 2003.
- DINEV, I. Clinical and morphological investigations on the incidence of forms of rickets and their association with other pathological states in broiler chickens. **Research in Veterinary Science**. v.92, n.2, p.273-277, 2012.
- DARRIGRAN, G. Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. **Biological Invasions**, v.4, n.1-2, p.145-156, 2002.
- EUROPEAN COMMISSION REGULATION. DIRECTIVE 2002/32/EC. On undesirable substances in animal feed. **Official Journal of the European Communities**, p. 01-21, maio, 2002.
- EUROPEAN COMMISSION. Directive n 2005/87/Ce of Commission of December. **Official Journal of European Union**, 1318/19–1318/24, 2005.
- FERREIRA, D.F. **Manual do sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras: UFV, 2000, 66p.
- GONÇALVES, F.G.; ZANINI, S.R.; GUERRA, A.F.Q.G.; GONÇALVES, E.P.; COLNAGO, G.L.; FEITOSA, M.L. Utilização de pimenta rosa como um aditivo natural na dieta sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.1, p.28-38, 2014.
- GONÇALVES, J.R.; MESQUITA, A.J.; GONÇALVES, R.M.; Determinação de metais pesados em leite integral bovino pasteurizado no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.365-374, 2008.
- KHALIL, N.; WILSON, J.A.; TALBOTT, E.O.; MORROW, L.A.; HOCHBERG, M.C.; HILLIER, J.A.; MULDOON, S.B.; CUMMINGS, S.R.; CAULEY, J.A. Association of blood lead concentrations with mortality in older women: a prospective cohort study. **Environmental Health**, v.1, n.8, p.15, 2009.
- MARIANO, B.; OLIVER, C.; PILOFF, M.; ANDRÉS, P. Evaluation of a biomarker of Cd (II) exposure on *Limnoperna fortunei*. **Environmental Pollution**. v.144, n.1, p.280–288, 2006.
- O'FLAHERTY, E.J. Physiologically based models for bone-seeking elements. V. Lead absorption and disposition in childhood. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 131, n.2, p.297-308, 1995.
- OMOBOWALE, T.O.; OYAGBEMI, A.A.; AKINRINDE, A.S.; SABA, A.B.; DARAMOLA, O.T.; OGUNPOLU, B.S.; OLOPADE, J.O. Failure of recovery from lead induced hepatotoxicity and disruption of erythrocyte antioxidant defence system in winstar rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.37, n.3, p.1202-1211, 2014.

- PENZ JÚNIOR, A.M. **Estrutura e função do tecido ósseo**. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte, cap.19, p.247-265, 2002.
- PESTANA, D.; PIE, M.R.; OSTRENSKY, A.; BOEGER, W.A.; ANDREOLI, C.; FRANCESCHI, F.; LAGOS, P. Seasonal variation in larval density of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) in the Iguaçu and Paraná rivers, in the region of Foz do Iguaçu, Paraná, Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.5, n.3, p.607-612, 2008.
- RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, E.W. BALOG, J.M. Factors regulating bone maturing and strenght in poultry. **Poultry Science**. 79:1024-1032, 2000.
- RICHARD, J.J. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry – A review. **The Veterinary Journal**, v.169, n.3, p.350–369, 2005.
- 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. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2011. p.252.
- ROSTAGNO, H.S.; FEATHERSTON, W.R. Estudos de métodos para determinação de disponibilidade de aminoácidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.6, n.1, p.64-75, 1977.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 283p.
- SCHMIDT, E.M.S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO, A.C. Patologia clínica em aves de produção - uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola - revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.3, p.9-20, 2007.
- SILVA, P.R.L.; FREITAS NETO O.C.; LAURENTIZ A.C.; JUNQUEIRA O.M.; FAGLIARI J.J. Blood serum components and serum protein test of Hybro-PG broilers of different ages. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.9, n.4, p.229-232, 2007.
- SIMKISS, K. Amorphous minerals in biology. **Bulletin Institute Oceanographic**, v.14, n.especial, p.49-54, 1993.
- SKERFVING, S., Inorganic lead. In: LUNDBERG, B.B. (ed). **Criteria Documents from the Nordic Expert Group**, Stockholm: International Labour Organisation, 1993, p.125-238.
- VARGAS JR.,J.G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; CUPERTIN, E.S., CARVALHO, D.C.O., NASCIMENTO, A.H. Níveis Nutricionais de Cálcio e Fósforo Disponível para Aves de Reposição Leves e Semipesadas de 0 a 6 Semanas de Idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.32, n.6, p.1919-1926, 2003.

WELZ, B.; SPERLING, M.; **Atomic Absorption Spectrometry**, 3rd ed., Wiley-VCH: Weinheim, 1999, p.941.

WANG, H.; WANG, Z.; JIAO, P.; ZHOU, X.; YANG, D.; YOUNG, Z.W.; WANG, L. Redistribution of subcellular calcium and its effect on apoptosis in primary cultures of rat proximal tubular cells exposed to lead. **Toxicology**. v.333, n.3, p.137-146, 2015.

5. FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO (*Limnoperna fortunei*) CONTAMINADA COM CÁDMIO COMO FONTE DE CÁLCIO PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da utilização da farinha de mexilhão dourado contaminada com níveis de Cd em substituição ao calcário calcítico como fonte de cálcio (Ca) em frangos de corte dos 14 aos 42 dias de idade. Foram alojados 60 animais em gaiolas de metabolismo distribuídos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto por quatro níveis de contaminação (6,94; 14,55; 22,40 e 30,00 mg kg⁻¹) e cinco repetições. As aves foram pesadas aos 42 dias de idade para avaliação do desempenho, foram coletadas amostras de sangue para a avaliação das concentrações séricas de AST, ALT, GGT, bilirrubina total, Ca, fósforo (P) e Cd, sendo, após, realizado abate para a coleta de tecidos para mensurar as concentrações de Cd nestes e ossos para a análise de Cd e parâmetros de qualidade óssea. O desempenho das aves não foi alterado pelos níveis de Cd presentes no mexilhão ($P \geq 0,05$), assim como os teores de Cd no peito. Porém, houve efeito ($P < 0,05$) dos níveis de contaminação sobre os teores de Cd na pele, fígado, ossos, penas e soro e nos teores de ALT e bilirrubina total. Não houve efeito ($P \geq 0,05$) dos níveis de Cd sobre os teores de AST e GGT. O mesmo ocorreu para rigidez e resistência óssea. A flexibilidade óssea apresentou efeito quadrático ($P < 0,01$). Os teores séricos de Ca apresentaram efeito linear crescente ($P < 0,05$) e para os teores de P não houve efeito ($P \geq 0,05$). Concentrações acima de 20 mg kg⁻¹ de Cd presentes no mexilhão dourado são suficientes para provocar os valores máximos de contaminação por Cd nos animais. A utilização de concentrações de até 22,40 mg kg⁻¹ de Cd na farinha de mexilhão dourado para o músculo *Pectoralis major* e de 6,94 mg kg⁻¹ no caso do fígado proporcionam concentrações de Cd que podem ser utilizadas na alimentação humana, porém para os demais tecidos avaliados a concentração de 6,94 mg kg⁻¹ acarreta em concentrações de Cd acima das permitidas. A elevação nas concentrações de Cd provoca aumento na produção de bilirrubina pela bile, aumenta a metabolização e digestibilidade de Cd e as concentrações séricas de Ca. A produção de AST pelo fígado e flexibilidade óssea são aumentados pelas concentrações de Cd na farinha de mexilhão.

Palavras chaves: Molusco, metal tóxico, avicultura, nutrição

FLOUR GOLDEN MUSSEL (*Limnoperna fortunei*) CONTAMINATED WITH CADMIUM AS CALCIUM SOURCE FOR BROILER

SUMMARY

This study aimed to evaluate the effects of the use of contaminated mussel meal with Cd levels replacing limestone as a source of calcium (Ca) in broilers from 14 to 42 days. 60 animals were housed in metabolic cages in a completely randomized design (CRD), consisting of four levels of contamination (6.94; 14.55; 22.40 and 30.00 mg kg⁻¹) and five repetitions. The birds were weighed at 42 days of age for evaluation of performance, were collected blood samples for evaluation of serum AST, ALT, GGT, total bilirubin, Ca, phosphorus (P) and Cd, and after accomplished slaughter for collection of tissues to measure the concentrations of Cd and these bones for Cd analysis and bone quality parameters. The performance of the birds was not changed by Cd levels present in the mussel ($P \geq 0,05$) and Cd concentrations in the chest. However was no effect ($P < 0.05$) levels of contamination on Cd concentrations in the skin, liver, bones, feathers and serum and ALT levels and total bilirubin. There was no effect ($P \geq 0,05$) of Cd levels on the levels of AST and GGT. The same was true for stiffness and bone strength. Bone flexibility showed a quadratic effect ($P < 0.01$). Serum levels of Ca showed linear increase ($P < 0.05$) and the P levels had no effect ($P \geq 0,05$). Concentrations above 20 mg kg⁻¹ of Cd from the golden mussel are sufficient to cause the maximum values of Cd contamination in animals. The use of concentrations of up to 22.40 mg kg⁻¹ of Cd in the mussel flour for the pectoralis major muscle and 6.94 mg kg⁻¹ in the case of liver provide Cd concentrations that can be used in human food, but for the other tissues evaluated the concentration of 6.94 mg kg⁻¹ brings in Cd concentrations above the permitted. The increase in the concentrations of Cd causes increased production of bilirubin in bile, metabolism and increases the digestibility of Cd and serum Ca. AST production by the liver and bone flexibility are increased by Cd levels mussel flour.

Key words: Mollusk, toxic metal, poultry, nutrition

5.1 Introdução

A produção de frangos de corte possui grande importância no setor agropecuário e isto se deve pela evolução genética, sanitária, técnica e nutricional ocorrida nas últimas décadas e no intuito de manter esta atividade com o mínimo de impacto ambiental e com custos baixos de produção existe a necessidade da introdução de alimentos e ingredientes alternativos nesta cadeia.

O baixo custo acompanhado, quase sempre, da diminuição de impactos ambientais que trazem os alimentos alternativos dá a estes a competitividade necessária para que ganhem importância como ingredientes nas dietas para animais de produção (SILVA, et al., 2015; CAMELO, et al., 2015). Neste contexto, pode-se inserir o mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) que possui estrutura rica em cálcio (ALMEIDA, 2006), o qual é uma espécie de caráter exótico originária do continente asiático (XU, et al., 2015), e que vem invadindo a maioria dos rios da América do Sul (DARRIGRAN e DAMBORENEA, 2006), causando impactos ambientais consideráveis.

O principal entrave na utilização deste molusco na alimentação animal é o fato do mesmo possuir hábito filtrador, o que faz com que absorva e tenha em sua constituição níveis altos dos poluentes presentes nas águas em que habita, podendo se destacar, entre estes, os metais tóxicos (MARENGONI et al., 2013; MARIANO, et al., 2006)), como o Cádmiio (Cd), o qual é um metal tóxico altamente prejudicial aos animais e humanos e que possui efeito carcinogênico (HILL, 2010). Portanto, apesar dos riscos deste contaminante entrar na cadeia alimentar humana, não existe legislação no Brasil quanto à imposição de limite de contaminação com Cd permitido nos alimentos fornecidos aos animais.

Existe a necessidade de realização de estudos com a finalidade de aferir qual quantidade de Cd no mexilhão dourado pode ser viável para a utilização na alimentação de frangos de corte sem que afete a produção e sem que gere contaminação nos tecidos dos animais ao ponto que impossibilite a utilização dos produtos destes animais na alimentação humana.

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da utilização de mexilhão dourado contaminado com diferentes níveis de Cd na dieta de frangos de corte dos 14 aos 21 dias de idade sobre desempenho, contaminação dos tecidos, digestibilidade de Cd, qualidade óssea e teores séricos de Ca e P.

5.2 Material e Métodos

O mexilhão dourado foi coletado nas margens do reservatório da Usina Hidrelétrica de ITAIPU, no município de Marechal Cândido Rondon- PR, o qual foi seco ao sol, e, após, moído em moinho martelo (peneira 4 mm) e armazenado em ambiente fechado e seco. Foram retiradas amostras de farinha de mexilhão para a realização das análises químicas dos conteúdos de cádmio (Cd), cálcio (Ca) e fósforo (P), que foram realizadas no Laboratório de Química Ambiental e Instrumental da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *campus* de Marechal Cândido Rondon, utilizando de digestão nitroperclórica (AOAC, 2005) e determinação por técnicas de espectrometria de absorção atômica modalidade chama (FAAS) (WELZ E SPERLING, 1999), encontrando valores de 6,94 mg kg⁻¹ de Cd, 3,98 mg kg⁻¹ de P e 30,64 mg kg⁻¹ de Ca.

Após a quantificação de Ca, P e Cd, foi realizado um ensaio experimental no Laboratório de Fisiologia e Metabolismo de Aves, localizado na fazenda experimental Professor Doutor Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Todos os procedimentos foram autorizados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e aulas práticas.

De 1 a 14 dias de idade as aves foram criadas no Aviário Experimental, sob piso com cama de maravalha de pinus, recebendo ração inicial formulada à base de milho e farelo de soja, e água à vontade.

Foram utilizados 60 frangos de corte machos, Cobb 500, com 14 dias de idade e peso médio de 393,95 ± 14,12g, vacinados para as doenças de Marek, Gumboro, Bouda Aviária e Bronquite Infecciosa, alojados em gaiolas de 50cm², com três aves por unidade experimental. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos (níveis de Cd na farinha de mexilhão utilizada como fonte de Ca) e cinco repetições. As concentrações de Cd acima de 6,94 mg kg⁻¹ foram obtidas adicionando nitrato de Cd [Cd(NO₃)₂·4(H₂O)] na farinha de mexilhão dourado.

Os tratamentos utilizados estão representados a seguir:

- ✓ Mexilhão com 6,94 mg kg⁻¹ de Cd (sem contaminação induzida);
- ✓ Mexilhão com 14,55 mg kg⁻¹ de Cd;
- ✓ Mexilhão com 22,40 mg kg⁻¹ de Cd;
- ✓ Mexilhão com 30 mg kg⁻¹ de Cd.

Foram utilizadas duas dietas experimentais de acordo com a fase das aves (crescimento e terminação), sendo o mexilhão dourado a principal fonte de cálcio das dietas. Os animais

receberam dietas visando atender às exigências nutricionais propostas por Rostagno et al. (2011) (Tabela 8), para machos de desempenho superior, durante as fases de crescimento e terminação e alimentação e água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento, sendo a iluminação de 24 horas de luz.

Tabela 8. Composição e valores nutricionais das dietas experimentais

Ingrediente	Composição (%)	
	Crescimento (14-28 dias)	Terminação (28-42 dias)
Milho grão	55,608	57,197
Farelo de soja	36,498	33,028
Óleo de soja	3,800	4,854
Fosfato Monobicálcico	1,528	1,653
Mexilhão Dourado	1,185	1,096
Sal Comum	0,483	0,478
DL- Metionina (99%)	0,307	0,252
Biolys (54,6%)	0,338	0,266
L-Treonina (98%)	0,068	0,036
Premix vitamínico ¹	0,010	0,010
Premix mineral ²	0,050	0,050
Cloreto de Colina (60%)	0,060	0,060
Antioxidante ³	0,010	0,010
Surmax ⁴	0,005	0,005
Coxistac ⁵	0,050	0,050
Celite	0,000	1,000
Nutriente	Composição calculada	
Energia metabolizável (kcal kg ⁻¹)	3.050	3.150
Proteína Bruta (%)	21,182	19,780
Lisina digestível (%)	1,217	1,099
Metionina+Cistina digestível (%)	0,876	0,791
Treonina	0,897	0,714
Triptofano	0,273	0,222
Cálcio (%)	0,841	0,837
Fósforo disponível (%)	0,401	0,418
Sódio (%)	0,210	0,208
Potássio (%)	0,830	0,776

¹Premix Vitamínico para aves (Lote BR00014639), Níveis de Garantia por Quilograma produto: Vit. A (min) 9000000,00 UI, Vit. D3 (min) 2500000,00 UI, Vit. E (min) 20000,00 UI, Vit. K3 (min) 2500,00 mg, Vit. B1 (min) 1500,00 mg, Vit. B2(min) 6000,00 mg, Vit. B6(min) 3000,00 mg, Vit. B12 (min) 12000,000 mg. Ácido Pantotênico (min) 12 g, Niacina (min) 25g, Ácido Fólico(min) 800,00 mg, Biotina (min) 60,0 mg, Selênio(min) 250,0 mg; ²Premix Mineral para aves (Lote BR00013863), Níveis de Garantia por Quilograma do Produto: Cobre (min) 20g, Ferro (min) 100g, Manganês (min) 160g, Cobalto (min) 2000,0 mg, Iodo (min) 2000,0 mg, Zinco (min) 100g; ³BHT; ⁴Avilamicina; ⁵Salinomicina 12%;

Aos 42 dias de idade, todas as aves e a ração foram pesadas para a determinação do ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA).

Aos 42 dias de idade, as aves foram mantidas em jejum por seis horas, para coleta de sangue via punção braquial. Após este processo, o sangue foi centrifugado e o soro separado e congelado para as análises de aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT), bilirrubina total, cálcio (Ca) e fósforo (P). As leituras foram realizadas com a utilização de “kits” comerciais (Elitech), utilizando espectrofotômetro automático, com calibração automática e leitura de alta performance (Elitech EL 200).

Após a coleta de sangue, todas as aves foram abatidas por meio de deslocamento cervical e posterior sangria para coleta de pele (ao redor do peito), músculo (*Pectoralis major*) carne do peito, penas, ossos (fêmur) e fígado para a determinação do conteúdo de Cd, sendo que, para a quantificação deste metal nestes tecidos e no soro, foi utilizada a metodologia citada anteriormente para o mexilhão.

A coxa foi desossada para obtenção da tíbia e do fêmur. Foi determinada a rigidez e resistência óssea das tíbias utilizando o equipamento analisador de Textura CT3 da Brookfield, com uma base que apoia as regiões das epífises ósseas, e aplicação da força de 5mm s com carga de 200 kgf se deu na região central do osso (diáfise) e os valores foram expressos em milímetros (mm) e quilograma de força (kgf) respectivamente, já a flexibilidade é dada em kgf cm e calculada pela relação entre resistência óssea e rigidez (resistência/rigidez).

Foi determinada a concentração de Cd na ração e nas fezes (mg kg^{-1}), e para calcular o fator de indigestibilidade foi utilizada a cinza ácida insolúvel (CAI) (Celite®). Os dados obtidos foram utilizados nas fórmulas descritas para determinação do Cd metabolizável aparente (CdMA) e coeficiente de digestibilidade aparente de Cd (CDA Cd) e os valores foram expressos com base na matéria seca.

Cálculo de Cd metabolizável (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007)

$$\text{CdMA (mg kg}^{-1}\text{)} = \text{Cd/kg ração (mg kg}^{-1}\text{)} - (\text{Cd /kg excretado (mg kg}^{-1}\text{)} \times \text{FI})$$

Em que: FI = CAI na dieta/CAI na excreta

Coeficiente de digestibilidade aparente do Cd (CDA Cd) - (adaptado de ROSTAGNO e FEATHERSTON, 1977).

$$\text{CDA Cd (\%)} = \frac{(\text{Cd na dieta (mg kg}^{-1}\text{)} - (\text{Cd nas fezes (mg kg}^{-1}\text{)} \times \text{FI}))}{\text{Cd na dieta}} \times 100$$

Como procedimento estatístico foi realizada análise de variância e posterior regressão polinomial entre os níveis de inclusão de mexilhão dourado. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SISVAR - Sistema de Análise da Variância (FERREIRA, 2000).

5.3 Resultados e Discussão

Existe a falta de regulamentação brasileira quanto às quantidades permitidas de Cádmio (Cd) no alimentos e aditivos fornecidos aos animais. O mexilhão dourado utilizado neste estudo apresentou contaminação de $6,94 \text{ mg kg}^{-1}$, valor este que se encontra acima do permitido pela União Europeia segundo a Diretiva 2005/87/CE, de 5 de Dezembro de 2005 (EUROPEAN COMMISSION REGULATION, 2005), o qual altera o anexo I da Diretiva 2002/32/CE (EUROPEAN COMMISSION REGULATION, 2002) do Parlamento Europeu e do Conselho, referente às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais, como chumbo, flúor e Cd, sendo o valor limite para Cd de 2 mg kg^{-1} .

As variáveis de desempenho, peso vivo (PV), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) não foram afetados pelos níveis de Cd presentes no mexilhão dourado ($P \geq 0,05$) (Tabela 9).

Tabela 9. Desempenho de frangos de corte (\pm DP) alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com Cd na dieta

Cd (mg kg^{-1})	14-42 dias			
	PV	GP	CR	CA
6,94	2677 \pm 58	2263 \pm 55	3834 \pm 55	1,695 \pm 0,05
14,55	2784 \pm 50	2319 \pm 46	3867 \pm 46	1,668 \pm 0,04
22,40	2626 \pm 15	2232 \pm 82	3796 \pm 14	1,702 \pm 0,06
30,00	2648 \pm 67	2240 \pm 36	3814 \pm 82	1,703 \pm 0,05
Média	2682	2284	3809	1,668
EPM	29,06	13,88	24,22	0,01
P	0,3804	0,173	0,287	0,753

PV (Peso vivo); GP (Ganho de peso); CR (Consumo de ração); CA (Conversão alimentar); EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (coeficiente de determinação).

Driessnack et al., (2015) em estudo utilizando a espécie de peixe vairão (*Pimephales promelas*) não obteve efeito da adição de Cd sobre o desenvolvimento dos animais, semelhante ao que ocorreu nas aves do presente estudo.

Em estudo com ratos Winstar machos, Adaramoye e Akanni (2016), também não obtiveram efeito do Cd sobre o desenvolvimento dos animais.

Os altos níveis de contaminação presentes nos tratamentos não foram suficientes para provocar toxidez nos animais, a ponto de ocorrer redução no desempenho. Isto ocorreu, provavelmente, pela baixa inclusão da farinha na dieta que é de aproximadamente 1%, o que torna a concentração de Cd relativamente baixa, não sendo assim suficiente para provocar danos ao organismo ou desenvolvimento, pois o desempenho apresentado pelos animais está dentro do preconizado para a linhagem utilizada no estudo, Cobb 500 (COBB, 2009).

Não foi encontrado efeito significativo ($P \geq 0,05$) das concentrações de Cd no mexilhão sobre o músculo *Pectoralis major*, (Tabela 10). A legislação Brasileira (ANVISA) permite que sejam comercializados produtos para a alimentação humana com até 1 mg kg^{-1} de Cd (BRASIL, 1965), e na carne de peito apenas a adição de mexilhão contaminado com 30 mg kg^{-1} promoveu concentração de Cd que excedeu a permitida.

Houve efeito da utilização de mexilhão para todos os tratamentos ($P < 0,05$) sobre os teores de Cd na pele, fígado, osso, penas e soro, ocorrendo em todos os casos um melhor ajuste para equação quadrática (Figura 4). A explicação para tal comportamento é o fato de que existe um limite de Cd acima do qual o organismo não corresponde mais com aumento da deposição do metal nos tecidos. Isto pode ser representado pelos pontos de máxima que foram calculados com a finalidade de representar a concentração de Cd, na qual os animais apresentam a maior deposição do metal nos referidos tecidos, sendo eles os seguintes: pele: $21,30 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd; fígado: $20,30 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd; osso: $21,67 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd; penas: $23,04 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd. Os valores supracitados foram obtidos por meio da derivação das equações de regressão ajustadas para cada variável.

Tabela 10. Concentrações de Cd (\pm DP) nos tecidos de frangos de corte alimentados com mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd

Cd (mg kg^{-1})	Concentrações de Cd em mg kg^{-1}					
	<i>Pectoralis major</i>	Pele	Fígado	Ossos	Penas	Soro
6,94	0,53 \pm 0,16	1,30 \pm 0,09	0,76 \pm 0,08	1,91 \pm 0,13	1,40 \pm 0,10	1,60 \pm 0,49
14,55	0,74 \pm 0,03	2,56 \pm 0,69	1,55 \pm 0,23	2,30 \pm 0,26	2,71 \pm 0,56	3,40 \pm 0,49
22,40	0,74 \pm 0,24	2,57 \pm 0,40	1,55 \pm 0,38	2,97 \pm 0,44	2,98 \pm 0,61	3,40 \pm 0,49
30,00	1,03 \pm 0,48	2,70 \pm 0,55	1,19 \pm 0,58	2,98 \pm 0,34	2,41 \pm 0,58	3,40 \pm 0,49
Média	0,76	2,18	1,26	2,79	2,38	2,95
EPM	0,068	0,22	0,145	0,219	0,243	0,338
P	0,164	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	Equações de Regressão					R ²
Cd na pele	$0,297995 + 0,283476\text{Cd} - 0,006653\text{Cd}^2$					0,99
Cd no fígado	$-0,360925 + 0,198602\text{Cd} - 0,004934\text{Cd}^2$					0,98
Cd no osso	$0,538293 + 0,252988\text{Cd} - 0,005837\text{Cd}^2$					0,81
Cd nas penas	$-0,539816 + 0,336893\text{Cd} - 0,007962\text{Cd}^2$					0,99
Cd no soro	$-0,386185 + 0,352766\text{Cd} - 0,007656\text{Cd}^2$					0,93

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (coeficiente de determinação).

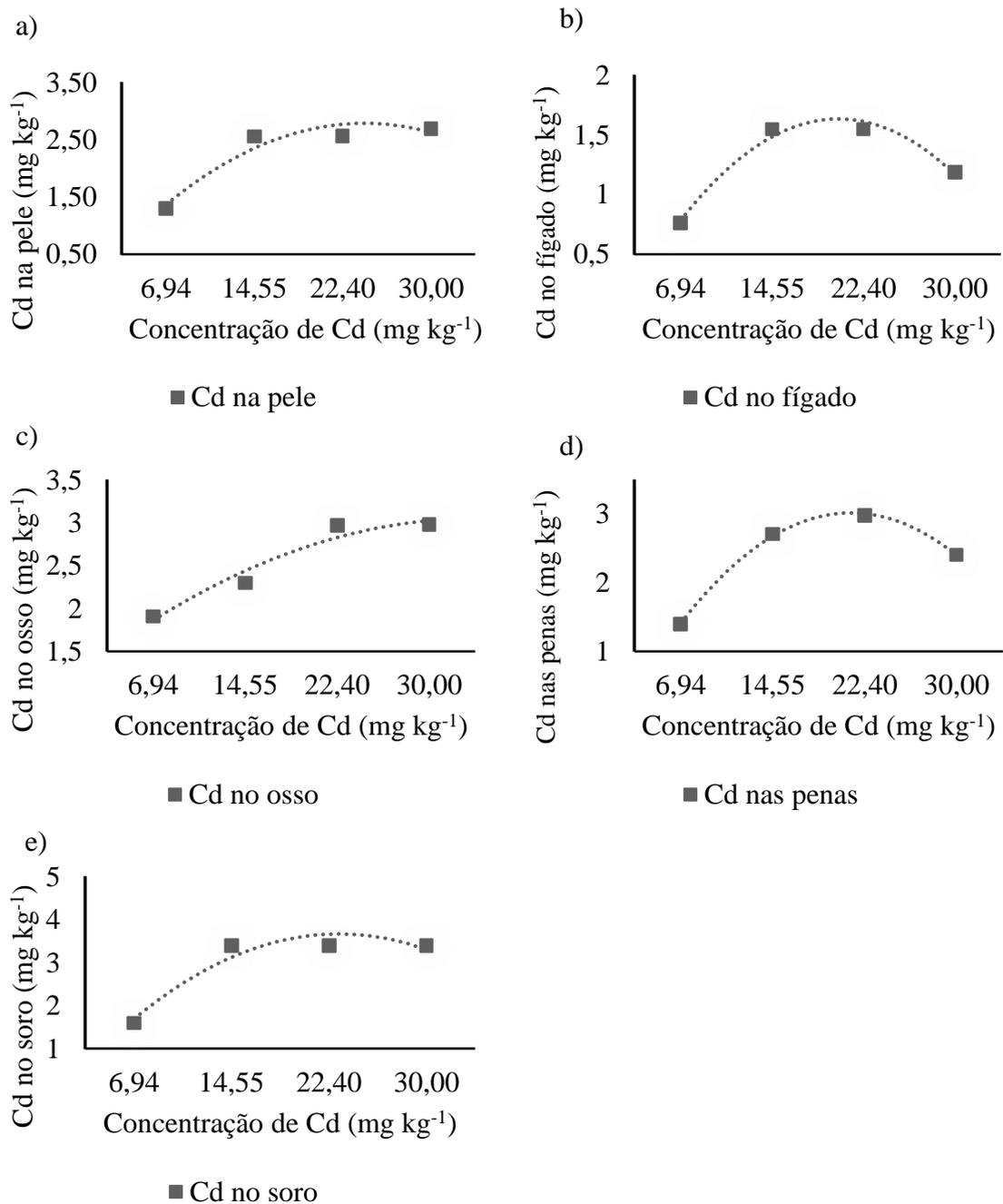


Figura 4. Teores de Cd na pele (a), fígado (b), osso (c), penas (d) e soro (e) em animais alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd

Os metais pesados tóxicos apresentam efeito acumulativo no organismo dos animais (GONÇALVES et al., 2008), sendo que deve ser levado em conta o fato de que o presente experimento foi executado em um curto período (28 dias), e já foi suficiente para ocorrer concentrações altas deste elemento tóxico nos tecidos dos animais.

A utilização de 1% de mexilhão contaminado com Cd na dieta dos animais equivale a uma adição de 0,07 mg kg⁻¹ de Cd proveniente da farinha de mexilhão na ração e se utilizarmos

o valor médio de CR deste estudo, chega ao valor de 0,27 mg de Cd consumido por animal proveniente do mexilhão dourado contaminado com Cd.

A concentração de Cd no fígado pode ser explicada pelo fato deste ser o principal órgão atuante no metabolismo dos animais, sendo assim as substâncias tóxicas como os metais pesados vão ter contato com este órgão e conseqüentemente gerar contaminação do mesmo.

Os ossos são os principais locais de acumulação de minerais nos animais e, devido a isso, estes apresentaram concentração mais elevada de Cd que os demais tecidos dos frangos.

Como pode ser observado na Tabela 11, para as variáveis AST e GGT não houve efeito significativo ($P \geq 0,05$) dos níveis de inclusão de Cd no mexilhão dourado. Isto pode ter ocorrido porque apesar das concentrações de metais pesados utilizadas no experimento serem consideradas altas, o mexilhão dourado foi utilizado em pequena quantidade na dieta, em torno de 1,20%.

Tabela 11. Teores de ALT, AST, GGT e Bilirrubina (\pm DP) em frangos de corte alimentados com mexilhão dourado com níveis de contaminação de Cd.

Cd (mg kg ⁻¹)	AST (U L ⁻¹)	ALT (U L ⁻¹)	GGT (IU L ⁻¹)	Bilirrubina total (mg dL ⁻¹)
6,94	176,6 \pm 42,01	9,0 \pm 2,10	10,2 \pm 3,76	0,32 \pm 0,14
14,55	187,0 \pm 52,66	5,8 \pm 0,75	12,4 \pm 1,85	0,29 \pm 0,03
22,40	186,0 \pm 42,71	5,4 \pm 0,80	12,2 \pm 1,94	0,54 \pm 0,23
30,00	185,8 \pm 34,63	8,6 \pm 1,74	12,6 \pm 3,20	0,69 \pm 0,22
Média	183,9	7,2	11,4	0,45
EPM	1,813	0,800	0,413	0,078
P	0,985	<0,01	0,532	0,013
Equações de Regressão				R ²
ALT	15,60 – 8,160Cd + 1,60Cd ²			0,99
Bilirrubina total	0,1030+0,4110Cd			0,88

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (coeficiente de determinação).

As concentrações médias de AST encontradas neste trabalho (183,9 U L⁻¹) estão dentro da faixa de normalidade para frangos de corte aos 42 dias de idade (BORSA et al., 2006), sendo pouco abaixo aos resultados obtidos por Gonçalves et al. (2014), que foi de 251,6 U L⁻¹.

Houve efeito significativo dos tratamentos ($P < 0,01$) com efeito quadrático sobre as concentrações sanguíneas de ALT (Figura 5), com ponto de mínima com utilização de 10,2mg kg⁻¹ de Cd na dieta, isto quer dizer que a partir desta concentração de Cd no mexilhão tende a provocar aumento nos teores de AST. Este resultado corrobora o relatado por Adaramoye e Akanni (2016), em estudo com ratos, onde a contaminação dos animais com Cd provoca alterações nas concentrações séricas da enzima ALT.

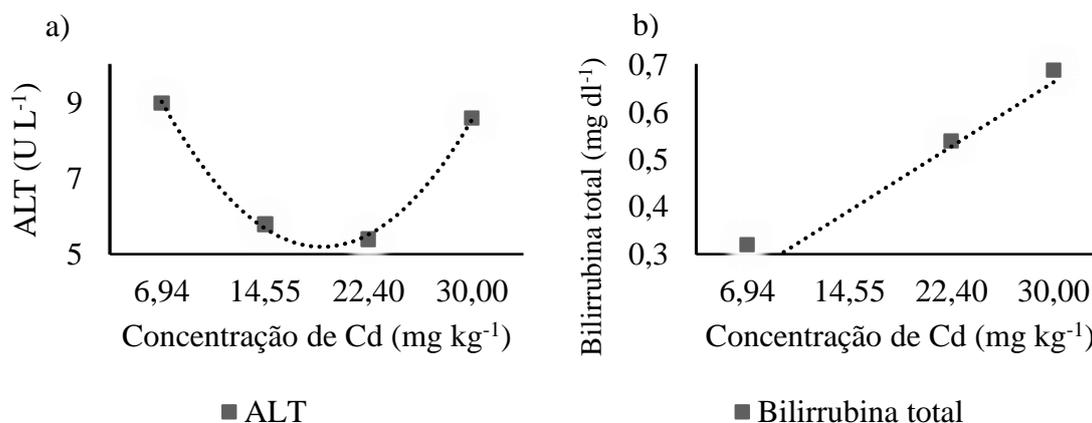


Figura 5. Teores de ALT (a) e bilirrubina total (b) séricos em frangos alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd.

Foi encontrado, neste estudo, um valor médio de $7,2 \text{ U L}^{-1}$ de ALT, valor que se encontra dentro do preconizado por Borsa et al. (2006), para frangos de corte aos 42 dias de idade, o qual relata como normais para frangos de corte de 42 dias de idade valores entre 4 a 14 U L^{-1} .

Já para GGT, foi encontrado, neste trabalho, um valor médio de $11,40 \text{ U L}^{-1}$, valor abaixo da faixa média da idade relatada por Borsa et al. (2006) que é de 17 a 24 U L^{-1} . Portanto os valores de GGT encontrados neste estudo devem ser considerados normais, pois quanto menor a concentração sanguínea desta enzima, menores são as chances de existirem distúrbios hepáticos.

Para a variável bilirrubina total, houve efeito ($P < 0,05$) apresentando comportamento linear crescente. Aumentos nas concentrações sanguíneas de bilirrubina são associados à disfunções no fígado, pois este órgão é responsável pela eliminação desta através da absorção pelos hepatócitos e secreção na bile (SCHINONI, 2006).

De acordo com Silva et al. (2007), a bilirrubina total em frangos de corte média é de $0,41 \text{ mg dL}^{-1}$, valor este que se comparado ao obtido no presente estudo ($0,45 \text{ mg dL}^{-1}$) pode ser considerado semelhante, mostrando assim que este se encontra dentro da normalidade.

A digestibilidade do Cd presente na farinha de mexilhão é alterada pelos níveis dos elementos presentes. O Cd metabolizável apresentou efeito linear crescente ($P < 0,01$) assim como a CDA Cd ($< 0,01$) (Tabela 12). Assim, o aumento das concentrações de Cd na dieta faz com que a digestibilidade do metal seja também aumentada.

A alta digestibilidade do Cd na dieta é responsável pelos altos teores de Cd nos tecidos dos animais (Tabela 11).

Tabela 12. Digestibilidade de Cd (\pm DP) de dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd.

Cd (mg kg^{-1})	Digestibilidade de Cd	
	CdMA(mg kg^{-1})	CDA Cd (%)
6,94	1,13 \pm 0,12	41,88 \pm 4,56
14,55	3,12 \pm 0,45	67,91 \pm 9,88
22,40	3,88 \pm 0,28	73,82 \pm 5,29
30,00	4,58 \pm 0,34	78,67 \pm 5,83
Média	3,18	65,57
EPM	0,526	5,923
P	<0,01	<0,01
	Equações de regressão	
CdMA	0,510976 + 0,144216Cd	
CDA	31,711855 + 1,50806Cd	
		R ²
CdMA	0,93	
CDA	0,84	

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (coeficiente de determinação).

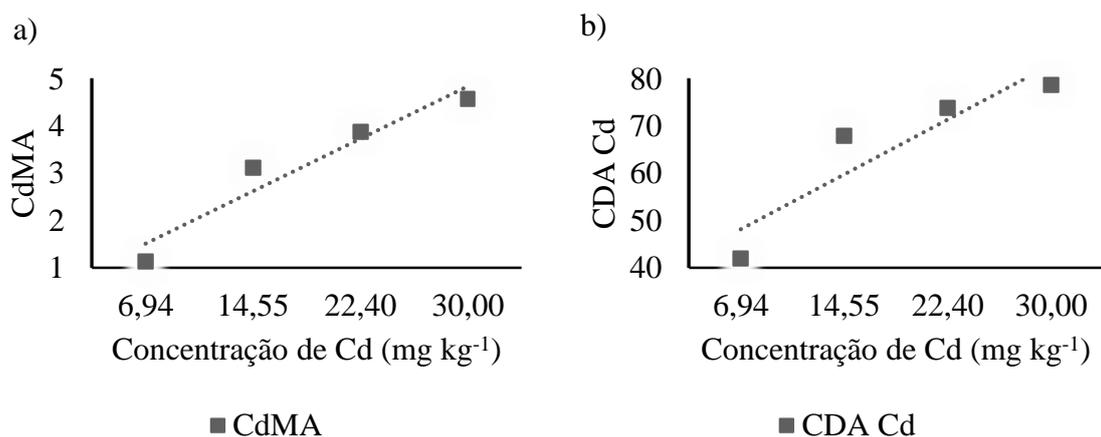


Figura 6. CdMA (a) e CDACd (b) de dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd

Os parâmetros ósseos rigidez e resistência não foram alterados ($P \geq 0,05$) pelos níveis de contaminação com Cd presentes no mexilhão dourado (Tabela 13), porém a flexibilidade apresentou variação significativa ($P < 0,01$), apresentado efeito quadrático (Figura 7), com ponto de máxima de 19,16 mg kg^{-1} de Cd no mexilhão dourado, ou seja, a partir desta concentração de Cd no mexilhão começa a acarretar diminuição da flexibilidade óssea.

Segundo Currey (2003), quanto maior a rigidez óssea, mais susceptível o osso estará a possíveis quebras. E, de acordo com Penz Júnior (2002), as substâncias minerais conferem ao osso rigidez, as fibras colágenas que fazem parte da composição do mesmo lhe dão certa flexibilidade, o que, segundo Rath et al. (2000), vem a ser essencial pois dificulta a ocorrência

de fraturas ósseas. Resistência e flexibilidade são os fatores mais importantes para que não ocorram casos de fraturas ósseas.

Fato semelhante é descrito por Brzóska et al. 2010 em experimentos com níveis de Cd na dieta de ratos, que também obtiveram efeitos significativos da adição de Cd na dieta dos animais, havendo assim diminuição na qualidade óssea dos mesmos.

Em estudo avaliando a contaminação de Cd em humanos e relacionando com a qualidade óssea, Birr et al. (2015) observaram que o aumento na concentração do metal tóxico no organismo prejudica a qualidade óssea, o mesmo é relatado por Chen et al. (2014) em estudo com que relacionaram a quantidade de Cd presente no organismo a problemas ósseos e obtiveram piora na qualidade óssea em pessoas com maior contaminação por Cd.

Tabela 13. Valores de rigidez, resistência e flexibilidade (\pm DP) óssea de animais alimentados com dietas contendo mexilhão dourado contendo níveis de Cd

Cd (mg kg^{-1})	Deformação (mm)	Resistencia (Kgf)	Flexibilidade (Kgf mm)
6,94	3,97 \pm 0,32	8,69 \pm 0,25	21,01 \pm 0,39
14,55	3,67 \pm 0,21	9,33 \pm 0,56	24,57 \pm 0,55
22,40	3,92 \pm 0,14	9,07 \pm 0,45	23,38 \pm 0,63
30,00	4,07 \pm 0,07	8,33 \pm 0,35	22,14 \pm 0,07
Média	3,91	8,98	22,77
EPM	0,059	0,173	0,600
P	0,077	0,189	<0,01
Equações de regressão			R ²
Flexibilidade	18,806977 + 0,781672Cd – 0,020397Cd ²		0,84

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (coeficiente de determinação).

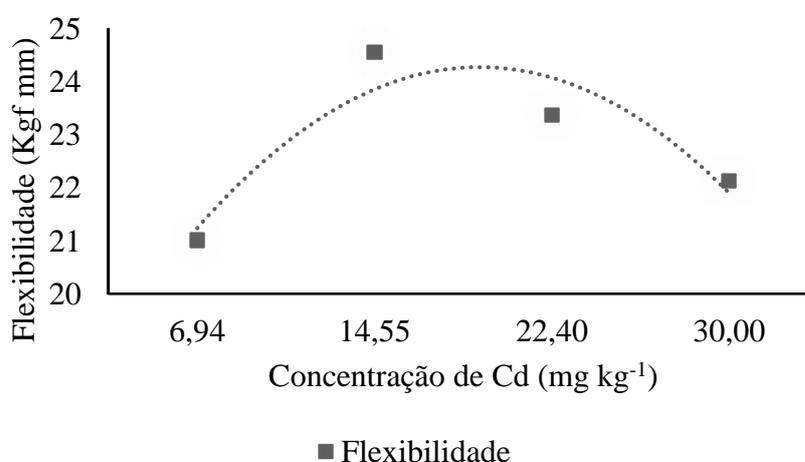


Figura 7. Flexibilidade óssea de frangos alimentados com inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd

A concentração sérica de P não foi influenciada ($P \geq 0,05$) pela inclusão de mexilhão dourado contaminado com níveis de Cd na dieta (Tabela 14), já a concentração de Ca foi alterada ($P < 0,05$) e apresentou efeito linear crescente.

O aumento linear dos teores sanguíneos de Ca pode ter relação com o fato deste mineral ser absorvido em alta quantidade pelos tecidos, pois segundo Choong et al. (2014) este mineral possui afinidade pelos mesmos sítios de ligação utilizados pelo Ca e assim o aumento na absorção tecidual faz com que aumente a concentração sérica de Ca.

Tabela 14. Concentrações séricas de Ca e P (\pm DP) de animais alimentados com dietas com inclusão de mexilhão dourado contaminado com diferentes níveis de Cd

Cd (mg kg^{-1})	Ca (mg dL^{-1})	P (mg dL^{-1})
6,94	4,44 \pm 0,64	3,65 \pm 0,80
14,55	4,66 \pm 0,34	3,26 \pm 0,42
22,40	5,04 \pm 0,55	3,86 \pm 0,78
30,00	5,96 \pm 0,71	3,85 \pm 0,76
Média	5,03	3,66
EPM	0,237	0,100
P	0,043	0,607
Equações de regressão		R ²
Ca	3,8441079 + 0,064091Cd	0,90

EPM (Erro padrão da média); P (Valor P); R² (coeficiente de determinação).

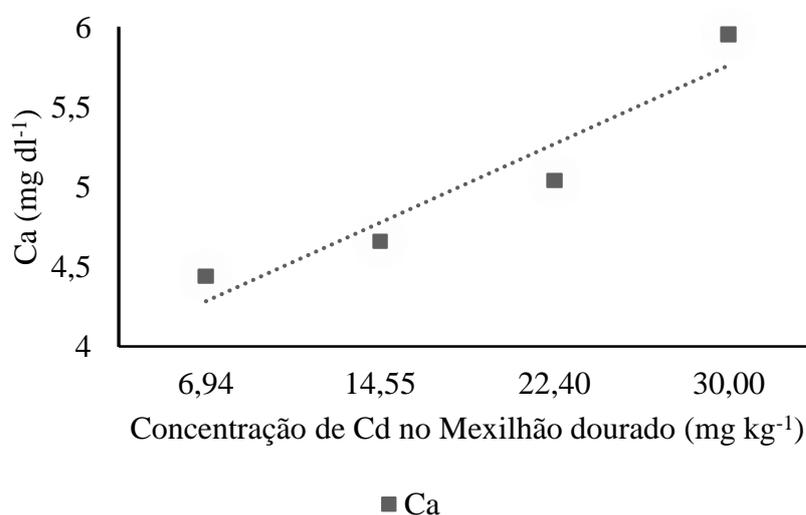


Figura 8. Teores de Ca no plasma de frangos de corte alimentados com níveis de contaminação com Cd

Existe a necessidade de criação de legislação brasileira que limitem as concentração de metais tóxicos (Cd) permitidas em ingredientes utilizados nas dietas para animais, pois atualmente não existe nenhuma lei com esta finalidade, fazendo com que as empresas não tenham preocupação com a contaminação com este elemento que possui alta toxicidade e alto

poder de provocar impactos ambientais, pois sabe-se que o Cd entra geralmente na alimentação animal nas fontes de minerais como ocorre no presente estudo em que o mesmo está presente na fonte de Ca.

Sabe-se que ocorre pouco controle do Cd nas dietas fornecidas para animais de produção e que este ocorre mesmo que em pequena escala, pois este contaminante é altamente absorvido pelos animais e pode acontecer contaminação aos produtos de origem animal levando a uma contaminação acima da estabelecida pela ANVISA (BRASIL, 1965), o que pode acarretar prejuízo econômico por parte das empresas.

5.4 Conclusões

O uso de mexilhão dourado como fonte de Ca contaminado com até 30 mg kg⁻¹ de Cd não provoca alteração no desempenho dos animais.

Concentrações acima de 20 mg kg⁻¹ de Cd presentes no mexilhão são responsáveis por provocar os valores máximos de contaminação por Cd.

A utilização de concentrações de até 22,40 mg kg⁻¹ de Cd na farinha de mexilhão dourado para o músculo *Pectoralis major* e de 6,94 mg kg⁻¹ no caso do fígado proporcionam concentrações de Cd que podem ser utilizadas na alimentação humana, porém para os demais tecidos avaliados a concentração de 6,94 mg kg⁻¹ do metal tóxico já foi responsável por acarretar em concentrações do contaminantes acima das permitidas e concentrações de Cd acima de 10,20 mg kg⁻¹ provocam elevação no AST.

A elevação nas concentrações de Cd provoca gradativo aumento na produção de bilirrubina pela bile, aumenta a metabolização e digestibilidade de Cd e aumenta as concentrações séricas de Ca.

A produção de AST pelo fígado e flexibilidade óssea são aumentados pelas concentrações de Cd na farinha de mexilhão.

5.5 Referências bibliográficas:

- ADARAMOYE, O.A.; AKANNI, O.O. Modulatory effects of methanol extract of *Artocarpus altilis* (Moraceae) on cadmium-induced hepatic and renal toxicity in male Wistar rats. **Pathophysiology**, v.846, p. 1-8, 2016.
- ALMEIDA, H.C. Estudo do *Limnoperna Fortunei* (mexilhão dourado) como ingrediente na ração animal, através de características físico-químicas, microbiológicas e presença de mercúrio. **Higiene Alimentar**, v.20, p.61-65, 2006.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS- AOAC. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- BIRR, E.; HO, M.; KWON, H. Association between blood cadmium level and bone mineral density reduction modified by renal function in young and middle-aged men. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. v.32, p.60-65, 2015.
- BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L.P.; SAITO, M.E.; KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.675-677, 2006.
- BRASIL. Leis, etc. **Decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965**. Diário Oficial da União, Brasília, 9 abr. 1965. Seção 1, pt.1, p.3611.
- BRZÓSKA, M.M.; MAJEWSKA, K.; KUPROSEWICZ, E. **Toxicologia e Farmacologia Ambiental**. v.29, n.3, p.235-245, 2010.
- CAMELO, L.C.L.; LANA, G.R.Q.; SANTOS, M.J.B.; CAMELO, Y.A.R.P.; MARINHO, A.L.; RABELLO, C.B. **Ciência Animal Brasileira**. v.16, n.3, p. 343-349. 2015.
- CHEN, X.; WANG, K.; WANG, Z.; GAN, C.; ELE, P.; LIANG, Y.; JIN, T.; ZHU, G. Effects of lead and cadmium co-exposure on bone mineral density in a Chinese population. **Bone**. v.63, p.76-80, 2014.
- CHOONG, G.; LIU, Y.; LIU, Y.; TEMPLETON, D.M. Interplay of calcium and cadmium in mediating cadmium toxicity. **Chemico-Biological Interactions**. v.211, n.25, p.54-65, 2014.
- COBB. **Suplemento de Crescimento e Nutrição para Frangos de Corte**. 2009. Disponível em: http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/zootecnia/NILVAKAZUESAKOMURA/suplemento_cobb_500.pdf. Acessado em: 21 de janeiro de 2016.
- CURREY, J.D. The many adaptation of bone. **Journal of Biomechanics**, v.36, p.1487–1495, 2003.
- DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. **Bio-invasión del mejillón dorado em el continente americano**. Buenos Aires: EDULP, 2006, 226p.

- DRIESSNACK, M.K.; MATTHEUS, A.L.; RAINE, J.C.; NIYOGI, S. Interactive effects of chronic waterborne copper and cadmium exposure on tissue-specific metal accumulation and reproduction in fathead minnow (*Pimephales promelas*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v.179, n.1, p.165–173, 2016.
- EUROPEAN COMMISSION REGULATION. DIRECTIVE 2002/32/EC. **On undesirable substances in animal feed**. Official Journal of the European Communities, p. 01-21, maio, 2002.
- EUROPEAN COMMISSION. **Directive n 2005/87/Ce of Commission of December**. Official Journal of European Union, l318/19–l318/24, 2005.
- FERREIRA, D.F. **Manual do sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras: UFV, 2000, 66p.
- GONÇALVES, F.G.; ZANINI, S.R.; GUERRA, A.F.Q.G.; GONÇALVES, E.P.; COLNAGO, G.L.; FEITOSA, M.L. Utilização de pimenta rosa como um aditivo natural na dieta sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.1, p.28-38, 2014.
- GONÇALVES, J.R.; MESQUITA, A.J.; GONÇALVES, R.M.; Determinação de metais pesados em leite integral bovino pasteurizado no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.365-374, 2008.
- HILL, M. K. **Understanding Environmental Pollution**. 3^aed. New York, EUA: Cambridge University Press, 2010, 585 p.
- MARENGONI, N. G.; KLOSOWSKI, E. S.; OLIVEIRA, K. P.; CHAMBO, A. P. S.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu binacional. **Química Nova**, v.36, n.3, p.359-363, 2013.
- MARIANO, B.; OLIVER, C.; PILOFF, M.; ANDRÉS, P. **Evaluation of a biomarker of Cd (II) exposure on *Limnoperna fortunei***. **Environmental Pollution**. v.144, n.1, p.280–288, 2006.
- SILVA, M.C.; SIQUEIRA, J.C.; VAZ, R.G.M.V.; RODRIGUES, K.F.; NEIVA, A.C.G.R.; SILVA, G.F.; FONSECA, F.L.R.; SOUSA, J.P.L.; ALVES, C.F.; CUNHA, L.P.N. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 36, n. 2, p. 1099-1110, 2015.
- PENZ JÚNIOR, A.M. **Estrutura e função do tecido ósseo**. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte, cap.19, p.247-265, 2002.
- 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. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2011. p.252.

- ROSTAGNO, H.S.; FEATHERSTON, W.R. **Estudos de métodos para determinação de disponibilidade de aminoácidos**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.6, n.1, p.64-75, 1977.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 283p.
- SILVA, P.R.L.; FREITAS NETO O.C.; LAURENTIZ A.C.; JUNQUEIRA O.M.; FAGLIARI J.J. Blood serum components and serum protein test of Hybro-PG broilers of different ages. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.9, n.4, p.229-232, 2007.
- SCHINONI M.I. **Fisiologia hepática**. Gazeta Médica. Bahia. v.76, n.1, 2006.
- XU, M.; DARRIGRAN, G.; WANG, Z.; ZHAO, N.; LIN, C.C.; PAN, B. Experimental study on control of *Limnoperna fortunei* biofouling in water transfer tunnels. **Journal of Hydro-environment Research**, v.9, n.2, p.248–258, 2015.
- WELZ, B.; SPERLING, M.; **Atomic Absorption Spectrometry**, 3rd ed., Wiley-VCH: Weinheim, 1999, p.941.