

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/02/2020.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

**EFICIÊNCIA E INCORPORAÇÃO DE METIONINA E
CISTINA EM FRANGOS DE CORTE EM ENSAIOS DE
DOSE RESPOSTA E ISÓTOPOS ESTÁVEIS MARCADOS**

Letícia Grazielle Pacheco
Zootecnista

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

**EFICIÊNCIA E INCORPORAÇÃO DE METIONINA E
CISTINA EM FRANGOS DE CORTE EM ENSAIOS DE
DOSE RESPOSTA E ISÓTOPOS ESTÁVEIS MARCADOS**

Letícia Grazielle Pacheco

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura

Co-orientadores: Dr. Juliano César de Paula Dorigam

Trabalho de defesa apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia (Produção Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2018

Pacheco, Letícia Grazielle
P116e Eficiência e incorporação de metionina e cistina em frangos de corte em ensaios de dose resposta e isótopos estáveis marcados / Letícia Grazielle Pacheco. -- Jaboticabal, 2018
xv, 76 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018

Orientadora: Nilva Kazue Sakomura

Co-orientadores: Juliano César de Paula Dorigam; Allan Reis Troni.

Banca examinadora: Victor Naranjo Haro; Marcos Macari
Bibliografia

1. Metabolismo. 2. Isótopo estável. 3. Aminoácido marcado. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.5

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Letícia Grazielle Pacheco, filha de Luiz Alberto Pacheco e Marlene Balsi Pacheco, nascida no dia 21 de fevereiro de 1989 em Jaboticabal, São Paulo. Ingressou no curso de Zootecnia em 2011 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - campus de Jaboticabal, São Paulo – finalizando em 2015. Neste período, foi bolsista de iniciação científica pela FAPESP no período de 1 de novembro de 2011 a 30 de abril de 2013, sob orientação da prof^a. Dr^a. Lizandra Amoroso. Durante o período de 1 de dezembro de 2014 a 30 de novembro de 2015, foi bolsista de iniciação científica pela FAPESP sob orientação do prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura. Iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia no dia 10 de março de 2016 na mesma instituição e sob a orientação da prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura, defendendo sua dissertação no dia 23 de fevereiro de 2018.

“Um jedi usa a Força para conhecimento e defesa, nunca para o ataque.”

Yoda

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, por todo o amor, carinho e suporte, por muitas vezes serem as mãos a me guiarem pelo caminho que eu queria trilhar, mas sem eles eu não conseguiria.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Faculdade de Ciências Veterinárias e Agrárias (FCAV), Campus de Jaboticabal, por ter me acolhido desde a graduação.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela bolsa concedida (Processo FAPESP 2015/25717-0) e pelo financiamento da pesquisa (Processo FAPESP 2013/25761-4).

À Evonik pelo apoio com análises e aminoácidos que foram imprescindíveis para a realização do trabalho.

À Ajinomoto pela doação de aminoácidos.

Ao Stable Isotope Facilities, Universidade de Davis, Califórnia, por toda a agilidade e atenção em fornecer os resultados (em especial ao técnico Chris que, prontamente, sempre respondia às minhas questões).

À equipe de importação da FAPESP, especialmente ao Michael, pela ajuda e agilidade em resolver questões relacionadas ao experimento.

À Prof^a Dr^a Nilva Kazue Sakomura pela orientação e confiança, por ajudar no meu crescimento pessoal e profissional, por todas as oportunidades que me proporcionou, pela liberdade em expressar ideias e incentivo para a realização de todo o trabalho.

Ao Dr. Juliano César de Paula Dorigam, Evonik, em especial por todas as vezes que me socorreu e salvou a minha vida, e ao Prof. Dr. Allan Reis Troni, FAFRAM, pela co-orientação e também pelos ensinamentos, apoio, paciência e confiança.

Aos Prof. Dr. Carlos Ducatti *in memoriam*, do Centro de Isótopos Estáveis (IBB/UNESP), Tom Preston, Rob Gous e Jaap Van Milgen, pelos preciosos ensinamentos e apoio a nossa pesquisa. Aos professores Vladimir, Macari, Dorotéia, Euclides, Nelson e Hélio.

Aos membros das bancas de qualificação (Prof. Dr. Edney Pereira da Silva, Departamento de Zootecnia, Unesp e à Prof.^a Juliana Célia Denadai) e defesa (prof. Dr. Marcos Macari e Dr. Victor Naranjo Haro), pelos ensinamentos e contribuições ao presente trabalho. Em especial, à Prof.^a Juliana Célia Denadai por toda a paciência, conversas e amizade.

Aos amigos que carrego desde a graduação, em especial Maisa (Saquê), Vânia, Olivia, Heloisa e Velizie, vocês estão sempre nas melhores lembranças.

À equipe do aviário: Marllon, Larissa, Letícia (Pomba), Mariana, Mirella, Vinícius, Jefferson, Camila, Heloisa, Warley, Raian, Karla, Palloma, Fernando, Matheus, Nayara, Renata, Miryelle, Katiani, Thaysa, Felipe, Felipe, Guilherme e Renata.

Aos funcionários do aviário: Robson, Vicente e Izildo, pela ajuda cedida durante os experimentos e pela amizade.

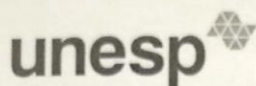
Aos irmãos que o aviário me deu, Rafael, por toda a amizade, paciência, discussões saudáveis e respeito pela minha sistemática, Bruno, pelo apoio, convivência e carinho e Gabriel (Macaé), por todos os conselhos, cumplicidade e ajuda. Sem vocês não teria experimento e talvez eu nem estivesse aqui ainda!

Aos irmãos que a vida me deu, Suelen e Gustavo, obrigada por serem meu escape, meu suporte e, muitas vezes, a voz da razão que me faltava.

Aos amigos que fiz ao longo dessa jornada em Piracicaba (Pingin, Elis, Jussara, Vanessa e Ana), em Botucatu (República Albergue, Ana, Michelli, Evandro, Cibele, Mariana, Juliana, Beatriz).

À toda minha família, principalmente aos meus pais, irmã e animaizinhos: Luiz Alberto Pacheco e Marlene Balsi Pacheco, Priscila Gabriele Pacheco, Pitty *in memoriam*, Tuna e Mick, por todo o amor, carinho e incentivo. Amo vocês!

Por fim, para todos aqueles que passaram pela minha vida e deixaram um pouco de si, levaram um pouco de mim.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

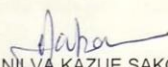


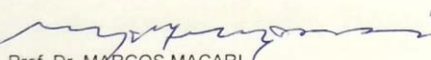
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

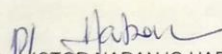
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFICIÊNCIA E INCORPORAÇÃO DE METIONINA E CISTINA EM FRANGOS DE CORTE EM ENSAIOS DE DOSE RESPOSTA E ISÓTOPOS ESTÁVEIS MARCADOS

AUTORA: LETÍCIA GRAZIELE PACHECO
ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA
COORIENTADOR: JULIANO CESAR DE PAULA DORIGAM
COORIENTADOR: ALLAN REIS TRONI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. MARCOS MACARI
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Dr. VICTOR NARANJO HARO
Gestão e Nutrição de Porcos, Aves e Gado Leiteiro / EVONIK - Alemanha

Jaboticabal, 23 de fevereiro de 2018



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 9999/14 do trabalho de pesquisa intitulado **“Modelagem da produção e das exigências nutricionais de aves e peixes - Metodologia para determinar a eficiência de utilização da proteína e de aminoácidos essenciais com uso do nitrogênio ¹⁵N”**, sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Nilva Kazue Sakomura está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 07 de julho de 2014.

Jaboticabal, 07 de julho de 2014.

Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	16
1.1 INTRODUÇÃO	17
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
1.2.1 AVICULTURA E NUTRIÇÃO.....	18
1.2.2 AMINOÁCIDOS SULFURADOS	19
1.2.3 DOSE RESPOSTA.....	21
1.2.4 ISÓTOPOS ESTÁVEIS	23
1.2.5 NITROGÊNIO.....	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
CAPÍTULO 2	34
PERFORMANCE AND STABLE ISOTOPE STUDIES TO UNDERSTAND THE METHIONINE TO CYSTINE RATIO IN THE TOTAL SULFUR AMINO ACID REQUIREMENTS OF BROILERS FROM TWO TO FOUR WEEKS OF AGE	35
ABSTRACT	35
INTRODUCTION.....	36
MATERIAL AND METHODS	37
RESULTS.....	43
DISCUSSION.....	48
REFERENCES.....	52
CAPÍTULO 3	57
MODELLING BROILERS REQUIREMENTS FOR METHIONINE AND CYSTINE ...	58
ABSTRACT	58
MATERIAL AND METHODS	59
RESULTS AND DISCUSSION	64
REFERENCES.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Exigência de metionina e cistina (%) ao longo da vida do frango de corte (EFG software, 2016).....	20
Figura 2. Resposta do animal à adição de um nutriente limitante na ração (SAKOMURA E ROSTAGNO, 2016).....	23
Figura 3. Ciclo do nitrogênio: quantidade total de nitrogênio fixada anualmente na biosfera excede 1011 kg. Reações com setas vermelhas ocorrem inteiramente em sua maior parte em ambientes anaeróbios. (LEHNINGER, 2011).....	27
Figura 4. Visão geral dos cinco estágios da síntese proteica. (LEHNINGER, 2011).	28
Figura 5. Met+Cys requirements according to the present Model (Imc), Brazilian Tables (BT) and Guideline strain (GL) for 1 to 7d (pre-starter), 8 to 21d (starter), 22 to 33d (grower), and 34 to 42d of age (finisher).....	68
Figura 6. Met requirements according to the present Model (Imet), Brazilian Tables (BT) and Guideline strain (GL) for 1 to 7d (pre-starter), 8 to 21d (starter), 22 to 33d (grower), and 34 to 42d of age (finisher).....	69
Figura 7. Cys requirements according to the present Model (Icys), Brazilian Tables (BT) and Guideline strain (GL) for 1 to 7d (pre-starter), 8 to 21d (starter), 22 to 33d (grower), and 34 to 42d of age (finisher).....	69

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Os isótopos estáveis dos elementos H, C, N, O e S e suas moléculas gasosas comumente utilizadas na espectrometria de massas (PRESTON, 1992)....	24
Table 2. Centesimal composition and nutritional of diets.....	39
Tabela 3. Body weight gain (BWG), feed intake (FI) and feed conversion ratio (FCR) from 14 to 28d of age for the different Met sources (L and DL).....	44
Tabela 4. Body weight gain (BWG), feed intake (FI) and feed conversion ratio (FCR) from 14 to 28d of age after combination of sources.....	44
Tabela 5. ¹⁵ N recoveries from stable nitrogen isotope analysis.	45
Tabela 6. Amino acid recoveries from aminogram analysis.	46
Tabela 7. ¹⁵ N-Met recoveries from compound-specific stable isotope (CSIA) analysis.....	46
Tabela 8. Methionine conversion to cystine and intermediates.	47
Tabela 9. Centesimal composition and nutritional of diets.....	60
Tabela 10. Met, Cys and Met+Cys efficiencies based on free-feathers body and feathers depositions.	65
Tabela 11. Comparision among the requirements (mg.d ⁻¹) estimated by factorial models and estimated by Brazilian Tables (BT) and Guideline (GL).	67

RESUMO: O objetivo deste estudo será determinar a relação entre metionina e cistina para otimizar o desempenho de frangos de corte usando ensaios de dose-resposta e isótopos estáveis. Para o ensaio de dose-resposta serão utilizados 600 machos da linhagem Cobb 500®, de 14 a 28 dias de idade, respeitando a exigência de aminoácidos sulfurados para a idade (0,851% de met+cis), as proporções de met:cis digestíveis de 60:40; 54:46; 48:52; 43:57; 37:63, serão obtidas através da inclusão de aminoácidos sintéticos (DL-metionina e L-cistina) à ração basal, nas proporções: 100:0; 75:25; 50:50; 25:75 e 0:100. Serão avaliados o desempenho (consumo, ganho de peso e conversão alimentar) e a composição aminoacídica do corpo depenado e penas será obtida pela técnica do abate comparativo. As eficiências de utilização serão obtidas pela inclinação da reta entre consumo e deposição do aminoácido e relacionadas aos valores obtidos no ensaio de isótopos para validação do método. A relação ótima entre metionina e cistina será determinada por uma análise de regressão entre as variáveis resposta e consumo dos aminoácidos. Para o ensaio com a técnica de isótopos estáveis, serão utilizados 60 machos da linhagem Cobb 500®. A ração enriquecida com L-(15N) metionina e L-(15N) cistina será administrada em função do peso corporal da ave. Serão 3 tratamentos em referência ao dose resposta com as proporções de met:cis digestíveis: 60:40; 48:52; 37:63, obtidas através da inclusão de aminoácidos sintéticos (L-metionina e L-cistina) à ração basal, nas proporções: 100:0; 50:50 e 0:100. Serão coletadas penas, corpo depenado e excreta, analisadas por um espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS) para quantificar o enriquecimento isotópico dos tecidos. Este estudo pretende promover o melhor entendimento do metabolismo da metionina e da cistina e contribuir com os métodos tradicionais de quantificação das exigências e a relação ideal entre estes aminoácidos na dieta de frangos de corte.

Palavras-chave: Aminoácido, L(15N) cistina, L(15N) metionina, penas.

ABSTRACT: The aim of this study is to determine the relationship between methionine and cystine to optimize the performance of broiler chickens using dose response and stable isotope assays. For the dose-response assay, 600 males, Cobb 500®, 14-28 days old, meeting the requirement for sulphurised amino acids for age (0.851% met+cys), digestible Of 60:40; 54:46; 48:52; 43:57; 37:63, will be obtained by adding synthetic amino acids (DL-methionine and L-cystine) to the basal diet, in the proportions: 100: 0; 75:25; 50:50; 25:75 and 0: 100. The performance (consumption, weight gain and feed conversion) will be evaluated and the amino acid composition of the plucked body and feathers will be obtained by comparative slaughter technique. The efficiency of utilisation will be obtained by sloping the line between consumption and deposition of the amino acid and related to the values obtained in the isotope test for validation of the method. The optimal ratio of methionine to cystine will be determined by a regression analysis between the response and consumption of amino acids. For the stable isotope technique, 60 males, Cobb 500®, will be used. The feed enriched with L-(15N) methionine and L-(15N) cystine will be administered as a function of the body weight of the bird. There will be 3 treatments in reference to the dose response with the ratios of digestible met: cis: 60:40; 48:52; 37:63, obtained by adding synthetic amino acids (L-methionine and L-cystine) to the basal diet, in the proportions: 100: 0; 50:50 and 0: 100. Feathers, plucked and excreted bodies will be collected, analyzed by na isotope ratio mass spectrometer (IRMS) to quantify isotopic enrichment of tissues. This study aims to promote a better understanding of the metabolism of methionine and cystine and contribute to the traditional methods of quantification of the requirements and the ideal relationship between these amino acids in the diet of broilers.

Key words: Amino acid, L (¹⁵N) cystine, L (¹⁵N) methionine, feathers

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

A avicultura de corte é uma das atividades produtivas mais expressivas no Brasil, que ocupa a liderança em exportação de carne de frango e segunda colocação em produção mundial; além da importância econômica permite que o setor se desenvolva, além de proporcionar maior desenvolvimento das tecnologias de produção já existentes, como o manejo nutricional e a ambiência (RODRIGUES et al., 2014; ABPA, 2016).

De todos os aspectos sobre a criação de animais, a nutrição é o item com maior possibilidade de alterações, podendo ser modificada para alcançar o objetivo desejado, logo torna-se indispensável conhecer a composição nutricional dos alimentos e também exigências nutricionais do animal.

O desempenho produtivo está ligado ao suprimento dos nutrientes, entre eles os aminoácidos e, a deficiência de qualquer um deles pode ocasionar queda no desempenho. O atendimento das exigências nutricionais torna a conversão alimentar mais eficiente, viabilizando a rentabilidade do setor e melhorando a qualidade do produto final (COSTA, 2011).

Os aminoácidos sulfurados são de grande importância para a nutrição de aves e a metionina ($C_5H_{11}NO_2S$) representa o primeiro aminoácido limitante nas dietas à base de milho e farelo de soja.

Os principais sistemas bioquímicos envolvidos na manutenção do equilíbrio da proteína e do aminoácido no organismo são: a captação e transporte; oxidação e catabolismo; síntese e degradação proteica (MARCHINI et al., 1998). É possível quantificar, pelo tempo, onde está o nitrogênio fornecido pela técnica de isótopos estáveis, importante para elucidação de questões sobre metabolismo, considerando diferenças fisiológicas teciduais e hierarquia de nutrientes para a formação e degradação do tecido, permitindo integrar as partes para fornecer uma resposta animal por completo.

Experimentos de dose resposta objetivam estimar exigências nutricionais através de parâmetros de desempenho (ganho de peso, conversão alimentar e deposição proteica no período avaliado) e consumo de nutrientes na dieta. Assim, a

exigência nutricional do animal é determinada pelo nível máximo de resposta dos parâmetros avaliados, como por exemplo, o ganho de peso máximo (ROSTAGNO et al., 2007).

O objetivo desse trabalho é relacionar os estudos de dose resposta e a técnica de isótopos estáveis para determinar a relação ótima e taxa de conversão entre metionina e cistina.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Avicultura e nutrição

As últimas décadas no Brasil permitiram à avicultura se destacar como atividade bastante intensiva, alcançando altos níveis produtivos através de tecnologias, manipulação de dietas e boas práticas de manejo. Com a disseminação de conhecimentos específicos quanto à nutrição, genética e manejo houve a possibilidade de se alcançar o que se aproxima do máximo desempenho animal.

Cerca de 34% da produção avícola se destina à exportação, in natura inteiro ou em cortes específicos, atendendo demanda internacional que, na maioria das vezes, é baseada em normas e leis específicas e completamente dissociada da realidade brasileira, o que exige maior empenho e adaptação quanto às exigências de mercado (ABPA, 2017; SILVA, 2012). Desde 2011, o Brasil tem a liderança na exportação de carne de frango e a segunda colocação em produção mundial (ABPA, 2017).

A nutrição é um pilar importante para o sucesso da produção avícola, tornando-se indispensável conhecer a composição nutricional dos alimentos e também as exigências nutricionais do animal. Os conceitos mais utilizados na formulação das dietas, com enfoque na nutrição proteica, são os aminoácidos digestíveis e proteína ideal, desta forma, é importante buscar informações atualizadas e modos mais precisos para determinar a necessidade desses componentes, a fim de reduzir os custos da alimentação e potencializar a produtividade (TAVERNARI, 2014).

Composição nutricional, digestibilidade dos ingredientes, exigências nutricionais do animal e resposta em relação à retenção e excreção de nutrientes são aspectos importantes para a produção animal (WHITTEMORE *et al.*, 2001), em função deles, a indústria propõe programas nutricionais com dietas estabelecidas por fases, atendendo as exigências do animal de acordo com a idade, peso vivo, sexo ou linhagem.

A exigência de um nutriente é definida como o mínimo necessário do que é ofertado para alcançar objetivos específicos de desempenho: maximizar ganho de peso, ganho de tecido magro e melhorar conversão alimentar (FULLER, 2004). As estimativas para as exigências nutricionais devem considerar linhagem, sexo, consumo de ração, nível energético da ração, disponibilidade de nutrientes, bem como temperatura, umidade, sanidade e outros fatores (ROSTAGNO *et al.*, 2011).

O desempenho produtivo está diretamente ligado ao suprimento de diversos nutrientes, entre eles os aminoácidos, que quando apresentam alguma deficiência acarreta na queda do desempenho (COSTA, 2011).

Observa-se que há diversos programas de alimentação utilizados na produção do frango de corte, bem como muitas metodologias de arraçamento e diferentes fases, onde o mais empregado no Brasil são as recomendações de Rostagno *et al.* (2011) que aconselha a adoção de quatro diferentes fases (pré-inicial, inicial, crescimento e final) até 42 dias de idade. As exigências nutricionais são determinadas por meio de experimentos dose-resposta compostos por tratamentos de níveis crescentes do nutriente de interesse.

1.2.2 Aminoácidos sulfurados

São quatro os aminoácidos sulfurados conhecidos: metionina, cist(e)ína, homocisteína e taurina, porém, apenas metionina e cist(e)ína são incorporadas às proteínas (BORGES-SANTOS, 2007).

A metionina é precursora dos outros aminoácidos sulfurados, cisteína e taurina, participando de sua síntese pela transferência do enxofre (S) para a formação dos mesmos por reações de transmetilação e rota catabólica da colina (STORCH *et al.*, 1990). A metionina desempenha um papel muito importante no metabolismo das aves como doador de grupos metil, reação que acontece após a

conversão em S-adenosilmetionina (D'MELLO, 2003), sob essa forma, participa da biossíntese de diversas substâncias importantes para crescimento e desenvolvimento, como a cisteína, carnitina, poliaminas, epinefrina, colina e melatonina (BAKER et al., 1996). Além de fornecer enxofre para a síntese de outros componentes químicos importantes como a taurina, um aminoácido que age como transmissor neuroinibidor juntamente à glicina (WU, 2003).

Quando a cisteína é oxidada, forma um aminoácido dimérico com ligação covalente, chamado cistina ($C_6H_{12}N_2O_4S_2$), onde duas moléculas ou resíduos de cisteína são ligadas por uma ligação dissulfeto e são fortemente hidrofóbicos (apolares) que atuam, principalmente na estabilização da estrutura de proteínas devido a essas pontes. (LEHNINGER, 2011). Por causa dessa formação peculiar, a cistina não entra no grupo conhecido de 20 aminoácidos, pois é considerado produto de oxidação e encontrado em diversas proteínas, principalmente em queratina capilar, insulina, penas e enzimas digestivas como estabilizadora da estrutura terciária dessas macromoléculas (CHAMPE et al., 2006).

A participação da metionina no desempenho é comprovada pela sua participação do crescimento e deposição proteica na carcaça. Por outro lado, a deficiência da metionina na dieta reduz ganho de peso, eficiência alimentar e estimula o consumo, levando a uma maior necessidade energética que, por sua vez,

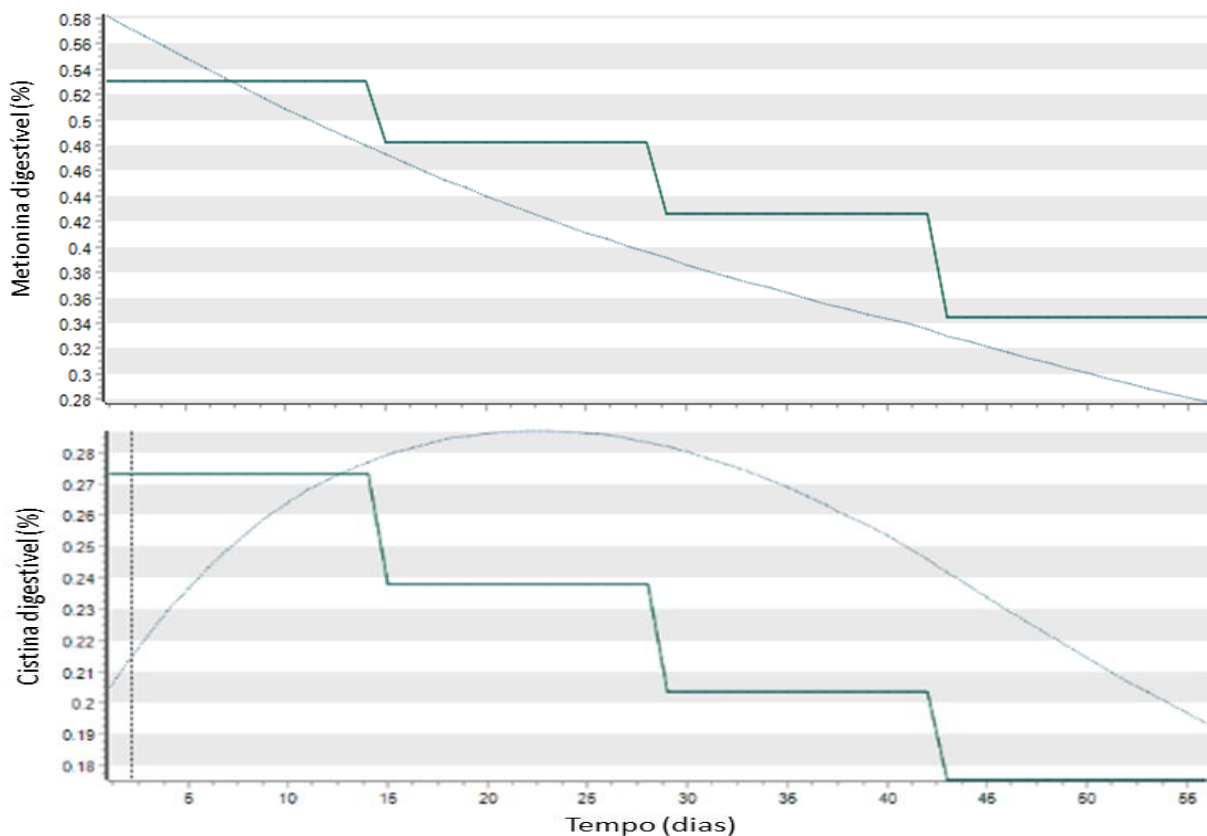


Figura 1. Exigência de metionina e cistina (%) ao longo da vida do frango de corte (EFG software, 2016).

ocasiona aumento na deposição de gordura corporal (MORAN, 1994; CAREW *et al.*, 2003). Cerca de 55% dos aminoácidos sulfurados da ração geralmente são fornecidos sob a forma de metionina para as aves em qualquer fase de criação (ROSTAGNO *et al.*, 1996). Na Figura 1 observa-se as exigências de metionina e cistina ao longo da vida do frango de corte.

A metionina, em teoria, poderia atender às exigências de enxofre do animal sem a suplementação da cistina, porém, a adição de cistina pode melhorar o aproveitamento do aminoácido principal para a deposição muscular, para tanto, é necessário conhecer a relação entre esses compostos e entender como eles se comportam no sistema biológico, questão essa que é proposta há muito tempo, mas ainda não elucidada (Lewis, 2003).

As dietas de frangos de corte geralmente são formuladas com cerca de 55% dos aminoácidos sulfurados (SAA) fornecidos sob a forma de met e cerca de 45% como cistina (cys) em qualquer fase de criação (Rostagno *et al.*, 1996). Contudo, quando cys representa mais de 50% na proporção dos SAA na dieta, pode exercer um impacto negativo sobre a ingestão alimentar voluntária em dietas deficientes ou limitantes em SAA (Finkelstein e Mudd, 1988; Dilger e Baker, 2007).

Em relação ao atendimento da exigência de cys, sua suplementação é igualmente eficiente comparada à cisteína, sua forma não oxidada, quando fornecida em dietas deficientes. No entanto, há relatos de toxicidade quando excede 2% da dieta em aves, mas não para suínos ou ratos (Graber e Baker, 1971; Baker, 2006; Dilger *et al.*, 2007).

Por outro lado, a suplementação de met (DL ou L met) é suficiente para atender às exigências de aminoácidos sulfurados do animal sem a suplementação da cys, porém, a adição de cys pode melhorar o aproveitamento do aminoácido principal para a síntese proteica, para tanto, é necessário conhecer a relação entre esses (Lewis, 2003).

1.2.3 Dose resposta

Os experimentos de dose resposta têm como objetivo estimar as exigências nutricionais através do desempenho animal, partindo da avaliação de parâmetros pré-definidos (ganho de peso, conversão alimentar, deposição de carne magra,

produção de ovos no período avaliado) através do consumo de diferentes concentrações de determinado nutriente na dieta, chamadas de níveis. A exigência nutricional do animal é determinada pelo nível máximo de resposta dos parâmetros avaliados, como por exemplo, o ganho de peso máximo (ROSTAGNO et al., 2007).

O método dose resposta é considerado bastante prático e de fácil execução, utilizado para a maior parte dos estudos de exigências de aminoácidos em aves, e serve como base para elaborar as tabelas nutricionais como o NRC (1994) e as Tabelas Brasileiras para aves e suínos (ROSTAGNO et al., 2011), que informam quantidades de aminoácidos que devem constar nas dietas para que não haja deficiências ou excessos nas fases de criação (SIQUEIRA, 2009).

A variação das concentrações ótimas dos aminoácidos é decorrente de diversos fatores, como potencial genético, idade, sexo, temperatura, qualidade dos nutrientes, sanidade do ambiente (BAKER & HAN, 1994; ROSTAGNO et al., 1999; LEMME, 2005; SAKOMURA & ROSTAGNO, 2016) e também da influência dos modelos matemáticos a ser utilizado para a interpretação dos dados e resultados obtidos (PESTI et al., 2009; SIQUEIRA et al., 2009).

Para a curva-resposta são consideradas quatro fases: ausência de resposta, resposta linear, estabilidade na resposta e toxidez, como demonstrado na Figura 2, onde na primeira fase é determinada a manutenção; na segunda, a melhor eficiência até a estabilidade; na terceira, onde os nutrientes não demonstram melhora ou piora e a quarta; toxidez, que mostra o nutriente em excesso prejudicando o sistema (SAKOMURA E ROSTAGNO, 2016).

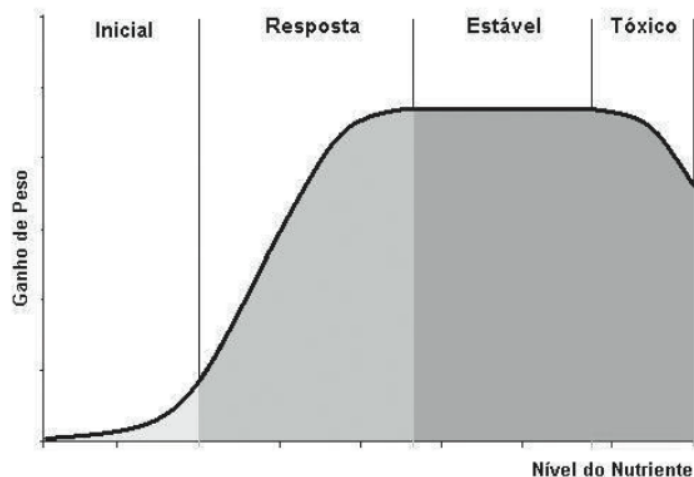


Figura 2. Resposta do animal à adição de um nutriente limitante na ração (SAKOMURA E ROSTAGNO, 2016).

Para determinar os níveis ótimos dos nutrientes na dieta, se utiliza os resultados estabelecidos nas fases de resposta e estável. Pode-se extrapolar os resultados para uma população, este último dependente do modelo matemático utilizado na interpretação e é afetado pelo formato da curva-resposta. Estudos como esse auxiliam na percepção e formulação de hipóteses do que realmente afeta a resposta das aves em relação aos aminoácidos da dieta, e auxiliam na compreensão de processos envolvidos no metabolismo proteico (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007).

1.2.4 Isótopos estáveis

Estudos com isótopos estáveis estão pautados em cinco elementos leve e de interesse biológico, são eles: carbono, nitrogênio, hidrogênio, oxigênio e enxofre e, embora pareçam poucos elementos disponíveis, existe uma grande variedade de tudo o que eles podem elucidar em relação à fisiologia e bioquímica de um sistema vivo (Kennedy e Krouse, 1990).

A palavra isótopos é originada do grego ISO (mesmo ou igual) e TOPOS (lugar), ou seja, são elementos que ocupam a mesma posição na tabela periódica. Isótopos são átomos do mesmo elemento, que possuem o mesmo número de prótons e camada eletrônica (elétrons), mas diferem no número de nêutrons,

aumentando ou diminuindo sua massa em função disso. A igualdade entre prótons e elétrons confere propriedades químicas semelhantes entre os homólogos, mas o valor de massa diferente confere diversas propriedades físicas, permitindo seu uso como traçador biológico em pesquisa. Esses elementos em questão podem ser instáveis ou estáveis, conferindo emissão ou não de radiação, respectivamente (DUCATTI, 2013).

A nomenclatura isotópica é expressa por A_ZX , onde X é o elemento químico em questão, A é o número de massas em unidade de massa atômica e Z é o número de prótons, assim, temos que $A=Z + N$, em que N representa o número de nêutrons. O nitrogênio, por exemplo, apresenta dois isótopos estáveis, ${}^{14}_7N$ e ${}^{15}_7N$, sendo o ${}^{14}N$ mais leve e abundante (99,633%) enquanto o ${}^{15}N$ mais pesado e menos abundante (0,367%). As moléculas compostas pelos dois isótopos têm, em geral, comportamento semelhante dentro de sistemas biológicos, o que torna o elemento importante ferramenta para questionamentos a respeito de ecologia e outros estudos.

Isótopos estáveis de Carbono, Hidrogênio, Oxigênio, Nitrogênio e Enxofre, comumente chamados de CHON'S ocorrem naturalmente em qualquer meio e sua utilização cresce cada vez mais no estudo das ciências da vida. Na tabela 1 há os isótopos leves e pesados desses elementos e o gás utilizado para sua determinação em análises.

Tabela 1. Os isótopos estáveis dos elementos H, C, N, O e S e suas moléculas gasosas comumente utilizadas na espectrometria de massas (PRESTON, 1992).

ISÓTOPOS ESTÁVEIS	ABUNDÂNCIA ÁTOMOS %	GÁS
1H	99,9844	H ₂
2H	0,0156	
${}^{12}C$	98,8890	CO ₂
${}^{13}C$	1,1110	
${}^{14}N$	99,6340	N ₂
${}^{15}N$	0,367	
${}^{16}O$	99,7628	CO ₂
${}^{17}O$	0,0372	
${}^{18}O$	0,2000	
${}^{32}S$	95,0180	SO ₂
${}^{34}S$	0,7500	
${}^{36}S$	4,2150	
${}^{38}S$	0,0170	

Esses bioelementos estão na estrutura dos carboidratos, proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e também compõem mais de 90% dos tecidos vivos e sua composição isotópica depende principalmente da alimentação, água e gases inalados (KENNEDY e KROUSE, 1990).

As propriedades químicas semelhantes do isótopo e seu análogo faz com que apresentem comportamentos também semelhantes, ou seja, não apresentam diferença quanto ao processo seletivo de membranas vegetais ou animais e participam igualmente do catabolismo, atuando como ótimos traçadores biológicos (Ducatti et al., 2011). As principais utilizações dos isótopos estáveis foram definidos por Wolf (1969) como: obter evidências da síntese e degradação; isolamento, purificação e identificação de intermediários desconhecidos numa cadeia de reações; ou como ferramenta analítica no acompanhamento de reações de compostos conhecidos.

Com o uso da técnica de isótopos estáveis é possível traçar o caminho metabólico realizado pelo composto, é um método que facilita o acompanhamento do elemento de interesse tem em relação à sua incorporação, proporcionando conhecimento nos sistemas bem como a participação dos nutrientes na composição dos tecidos (MC INTOSH *et al.*, 1990).

Essa técnica se mostra como importante ferramenta na elucidação de questões sobre metabolismo, considerando diferenças fisiológicas teciduais e hierarquia de nutrientes para a formação e degradação do tecido com diversas aplicações, em diferentes espécies de animais como frangos de corte (Gottmann et al., 2008), poedeiras (Carrijo et al., 2000), peixes (Ducatti, 2007), codornas (Móri et al., 2007) e ruminantes (Ducatti et al., 2011) e com objetivos variados como analisar o turnover dos tecidos (Mituo, 2008; Stradiotti, 2013), identificar preferência alimentar (Ducatti, 2007), rastrear a alimentação animal (Denadai et al., 2011) ou discriminar a origem geográfica do animal (Crittendem et al., 2007; Nakashita et al., 2008).

O uso de aminoácidos marcados com isótopos estáveis é uma vantagem sobre outros métodos para detalhar o metabolismo pois é possível trabalhar com dietas práticas e suporta também o fornecimento *ad libitum* das dietas, ainda que a

limitação seja que esses compostos são de alto custo, essa questão pode ser minimizada ao se trabalhar com a técnica no steady state (Cerrate et al., 2016).

A importância no uso de aminoácidos marcados está na determinação de rotas mais pontuais, o primeiro estudo com esses compostos foi de Schoenheimer, Ratner e Rittenberg (1939), utilizando DL-tirosina marcada em ^{15}N a fim de demonstrar as rotas do aminoácido quando o experimento é realizado em condições fisiológicas normais, diferente daqueles conduzidos com radioisótopos, cuja manipulação deve ser mais cuidadosa e o ambiente é mais estressante para o animal. Depois desse, vários estudos, com as mais variadas espécies e propostas foram realizados para determinar processos específicos (Raguso, Reagan e Young, 2000; Suzuki et al., 2017; DiBuono et al., 2003).

1.2.5 Nitrogênio

O nitrogênio é um elemento químico do grupo 15 da tabela periódica, representa cerca de 78% de todo o volume atmosférico e embora Lavoisier o tenha nomeado como azoto que remete à inerte, o elemento é componente vital em alimentos, fertilizantes e explosivos. O gás nitrogênio (N_2) é incolor, inodoro e geralmente inerte, sua forma líquida é incolor e inodora.

Durante o século XVIII era sabido que o ar contém pelo menos dois gases, um suportaria combustão e vida e o outro não, quando Daniel Rutherford, em 1772, descobriu o nitrogênio, acreditava-se que ele era nocivo, porém Scheele, Cavendish, Priestley e outros estudavam um ar “queimado” ou “desflogístico”, como era chamado o ar sem oxigênio (THORPE, 1914).

Em 1803, John Dalton conseguiu explicar os resultados de alguns estudos, assumindo que a matéria é composta por átomos e que toda e qualquer amostra consiste na combinação dos mesmos. Essa teoria dos átomos foi publicada por Thomas Thomson na 3ª edição da obra Sistema de Química em 1807 e no ano seguinte, Dalton publica as mesmas ideias no Novo Sistema de Filosofia Química, chamando o nitrogênio de azoto (THORPE, 1914).

O nitrogênio é um componente chave de moléculas biológicas, como as proteínas e o gás nitrogênio (N_2) corresponde a cerca de 78% do volume da atmosfera. A produtividade de muitos ecossistemas terrestres e marítimos estão

limitados ao fornecimento de nitrogênio disponível e, diferente do carbono, quase todo o nitrogênio relevante está em um único sistema (atmosfera), enquanto pequenas quantidades se encontram em oceanos, rochas e sedimentos (REEBURGH, 1997). O nitrogênio orgânico existe em quantidade minúscula em comparação ao atmosférico, mas o N_2 não se encontra disponível para a maioria dos organismos, visto que a disponibilidade se dá pela fixação do nitrogênio por bactérias em solos e sistemas aquáticos (CHAPIN, 2002).

Na Figura 3 observa-se o ciclo do nitrogênio, descrito por Lehninger (2011).

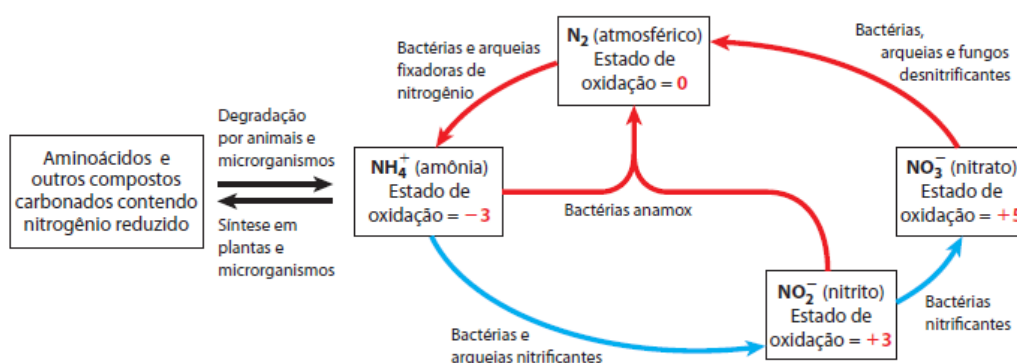


Figura 3. Ciclo do nitrogênio: quantidade total de nitrogênio fixada anualmente na biosfera excede 1011 kg. Reações com setas vermelhas ocorrem inteiramente em sua maior parte em ambientes anaeróbios. (LEHNINGER, 2011).

O nitrogênio perde apenas para os elementos carbono, hidrogênio e oxigênio na contribuição para a massa dos sistemas vivos e a maior parte desse elemento encontra-se na estrutura de aminoácidos e nucleotídeos (Chapin, 2002).

As proteínas são substâncias complexas, com peso molecular elevado, proveniente de unidades polimerizadas de aminoácidos. Na digestão ocorre o desdobramento até os aminoácidos, unidades de absorção. A composição da maior parte dos tecidos é proteica, bem como pele, pelos, penas, unhas e outras estruturas presentes no corpo (Lehninger, 2011).

A síntese proteica, principal processo envolvendo os aminoácidos é subdividida em 5 estágios como demonstrado na figura 4.

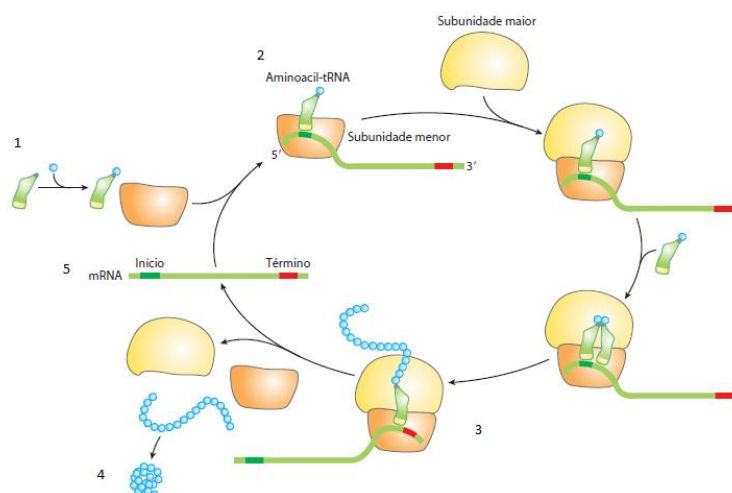


Figura 4. Visão geral dos cinco estágios da síntese proteica. (LEHNINGER, 2011).

O início (1) se dá quando os tRNAs são aminoacilados, em um segundo momento (2) é o início da tradução que ocorre quando um mRNA e um tRNA aminoacilado ligam-se ao ribossomo. No alongamento (3) o ribossomo caminha pelo mRNA combinando tRNAs com os códons e catalisando a ligação peptídica. Ao fim da tradução (4), com o códon de parada, as subunidades ribossomais são liberadas e a fim de se reciclarem para o próximo ciclo de síntese proteica. Depois de sintetizada (5), é necessário que a proteína seja dobrada para atingir conformação ativa enquanto os componentes ribossomais são reciclados (LEHNINGER, 2011).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. Relatório anual sobre produção avícola. Publicação da União Brasileira de Avicultura, p. 20. 2016.

BAKER, D. H. Comparative species utilization and toxicity of sulfur amino acids. *The Journal of nutrition*, v. 136, n. 6, p. 1670S-1675S, 2006.

BAKER, D. H., & HAN, Y. Ideal amino acid profile for chicks during the first three weeks posthatching. *Poultry Science*, 73(9), 1441-1447, 1994.

BAKER, D.H.; FERNANDEZ, S.R.; WEBEL, D.M. and PARSONS, C.M. Sulfur amino acid requirement and cystine replacement value of broiler chicks during the period three to six weeks post-hatching. *Poultry Sci*, 75: 737-42. 1996.

BENDASSOLLI, A. J.; TRIVELIN, P. C. O.; IGNOTO, R. de F. Produção de amônia anidra e aquamônia enriquecida em ^{15}N a partir de $(^{15}\text{NH}_2)_2\text{SO}_4$. **Scientia Agricola**, v.59, n.3, 2002.

BORGES-SANTOS, M.D. Efeito da suplementação de cisteína ou glutamina sobre o metabolismo dos aminoácidos sulfurados e glutatona de pacientes infectados pelo HIV nas condições de jejum e pós-sobrecarga de metionina. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 2007.

CAMPOS, D. M. B. Efeito do sorgo sobre o desempenho zootécnico, características da carcaça e o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos. 2006. 50p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

CAREW, L. B.; MCMURTRY, J. P.; ALSTER, F. A. Effects of methionine deficiencies on plasma levels of thyroid hormones, insulin-like growth factors-I and-II, liver and body weights, and feed intake in growing chickens. *Poultryscience*, v. 82, n. 12, p. 1932-1938, 2003.

CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C. *Avaliação do metabolismo nutricional em poedeiras pela técnica dos isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)*. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.3, 2000.

CARVALHO, T. A. *Avaliação de dietas com glutamina e glicina para pintos de corte contendo diferentes relações treonina:lisina*. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 105p., 2009.

CERRATE, S., VIGNALE, S. K., EKMAI, R., ENGLAND, J., & COON, C. Effect of dietary nutrients on ileal endogenous losses of threonine, cysteine, methionine, lysine, leucine and protein in broiler chicks. *animal*, 1-8, 2017.

CHAMPE, P., & Harvey, R. F. 2006. DR Bioquímica ilustrada. 3a. ed. Porto Alegre: Artmed.

CHAPIN, F.S.; MATSON, P.A.; MOONEY, H.A. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer-Verlag, New York, 398p., 2002.

COSTA, F. B. Análogos de metionina e balanço eletrolítico em dietas de frango. 2011. 81p. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)** - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

COSTA, F.B. Análogos de metionina e balanço eletrolítico em dietas de frango. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

CRITTENDEN, R. G.; ANDREW, A. S.; LEFOURNOUR, M.; YOUNG, M. D.; MIDDLETON, H.; STOCKMANN, R. *Determining the geographic origin of milk*

in Australasia using multi-element stable isotope ratio analysis. International Dairy Journal, v.17, p.421-428, 2007.

D'MELLO, J.P.F. Amino acid in farm animal nutrition. 2^a ed. Cabi. Wallingford. 440 pp. 2003.

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

DI BUONO, M., WYKES, L. J., COLE, D. E., BALL, R. O., & PENCHARZ, P. B. Regulation of sulfur amino acid metabolism in men in response to changes in sulfur amino acid intakes. *The Journal of nutrition*, 133(3), 733-739, 2003.

DILGER, R. N.; BAKER, D. H. DL-Methionine is as efficacious as L-methionine, but modest L-cystine excesses are anorexigenic in sulfur amino acid-deficient purified and practical-type diets fed to chicks. *Poultry science*, v. 86, n. 11, p. 2367-2374, 2007.

DILGER, R.N.; TOUE, S.; KIMURA, T.; SAKAI, R.; BAKER, D.H. Excess dietary L-cysteine, but not L-cystine, is lethal for chicks but not for rats or pigs. *J. Nutr.* 137:331–338. 2007.

DUCATTI, C. Isótopos estáveis ambientais [Apostila]. 105p. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

DUCATTI, C. *Isótopos Estáveis Ambientais*. Centro de Isótopos Estáveis Ambientais Depto. De Física e Biofísica - IB, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brasil, **Apostila**, pg. 205, 2007.

DUCATTI, C.; MARTINS, C. L.; ARRIGONI, M. de B.; MARTINS, M. B.; JÚNIOR, L. C. V.; DENADAI, J. C. *Utilização de isótopos estáveis em ruminantes. Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, suplemento especial, p.68-75, 2011.

EFG Software, 2016. Efg software.

FINKELSTEIN, J.D.; MUDD, S.H. Trans-sulfuration in Mammals The Methionine-Sparing Effect Of Cystine. *Journal of Biological Chemistry*, v. 242, n. 5, p. 873-880, 1967.

FULLER, M. F.; CHAMBERLAIN, A. G. Protein requirements of pigs. In: HARESIGN, W. (Ed.). *Recent advances in animal nutrition*. London, UK: Butterwoths, p. 175 - 186. 1982.

GOTTMANN, R.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; DENADAI, J. C.; MÓRI, C.; MITUO, M. A. O.; SARTORI, J. R. *Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.12, p.1641-1647, 2008.

GRABER, G.; BAKER, D.H. Sulfur amino acid nutrition of the growing chick: quantitative aspects concerning the efficacy of dietary methionine, cysteine and cystine. *Journal of animal science*, v. 33, n. 5, p. 1005-1011, 1971.

KENNEDY, B.V.; KROUSE, H.R. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*, v.68, p.960-972, 1990.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de bioquímica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 975p., 2011.

LEMME, A. Optimum dietary amino acid level for broiler chicken. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS, 2., Viçosa, MG. Anais. Viçosa, MG: UFV, 2005. p.117-144. 2005.

LEWIS, A.J. Methionine–Cystine Relationships in Pig Nutrition, in: *Aminoacid in animal nutrition*, 2nd edition. Cambridge, 2003.

MARCHINI, J.S. Métodos atuais de investigação do metabolismo protéico: Aspectos básicos e estudos experimentais e clínicos. *Medicina (Ribeirão Preto)* (Online), v. 31, n. 1, p. 22-30, 1998.

MCINTOSH, Lawrence P.; DAHLQUIST, Frederick W. Biosynthetic incorporation of ^{15}N and ^{13}C for assignment and interpretation of nuclear magnetic resonance spectra of proteins. *Quarterly reviews of biophysics*, v. 23, n. 01, p. 1-38, 1990.

MITUO, M. A. O. *Turnover do carbono-13 nos diferentes tecidos de frangos de corte em diferentes fases de crescimento*. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 59p, 2008.

MORAN, E.T. Response of broiler strains differing in body fat to inadequate methionine: live performance and processing yields. *Poultry Science*, Savoy, v.73, p. 1116-26, 1994.

MÓRI, C.; GARCIA, E. A.; DUCATTI, C.; DENADAI, J. C.; PELÍCIA, K.; GOTTMANN, R.; MITUO, M. A. O.; BORDINHON, A. M. *Traceability of animal byproducts in quail (*Coturnix coturnix japonica*) tissues using carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) stable isotopes*. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.9, n.4, p.263-269, 2007.

NAKASHITA, R.; SUZUKI, Y.; AKAMATSU, F.; IIZUMI, Y.; KORENAGA, T.; CHIKARAISHI, Y. *Stable carbon, nitrogen, and oxygen isotope analysis as a*

potential tool for verifying geographical origin of beef. Analytica Chimica Acta, v.617, p.148-152, 2008.

NASCIMENTO, D. C. N.; SAKOMURA, N.K.; SIQUEIRA, J.C. de; FREITAS, S.R.F.; FERNANDES, J.B.K. Exigências de metionina + cistina digestível para aves de corte ISA Label criadas em semiconfinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 38, n. 5, p. 869-878, 2009.

NRC - National Research Council, Nutrient requirements of poultry, Washington: National Academy Press, 9th revised ed., 1994.

PESTI, G.M. Impact of dietary amino acid and crude protein levels in broiler feeds on biological performance. *The Journal of Applied Poultry Research*, 18(3), 477-486, 2009.

PRESTON T. The measurement of stable isotope natural abundance variations. *Plant Cell Environ* 15:1091–1097. 1992

RAGUSO, C.A.; REGAN, M.M.; YOUNG, V.R. Cysteine kinetics and oxidation at different intakes of methionine and cystine in young adults. *The American journal of clinical nutrition*, 71(2), 491-499., 2000.

REEBURGH, W.S. Figures summarizing the global cycles of biogeochemically important elements. *Bulletin of the Ecological Society of America* 78: 260–267. 1997.

RODRIGUES, WOP, GARCIA, RG; NAAS, IA, ROSA, CO, CALDARELLI, CE. Evolução da avicultura de corte no Brasil. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; p. 2014

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F. de; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. de T.; EUCLIDES, R. F. Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais, 3 ed., Viçosa, 2011.

ROSTAGNO, H.S., BÜNZEN, S., SAKOMURA, N.K., & ALBINO, L.F. Avanços metodológicos na avaliação de alimentos e de exigências nutricionais para aves e suínos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 295-304, 2007.

ROSTAGNO, H.S., NASCIMENTO, A.H., & ALBINO, L.F.T. Aminoácidos totais e digestíveis para aves. *SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES*, 65-83, 1999.

ROSTAGNO, H.S.; BARBARINO JR., P.; BARBOSA, W.A. Exigências nutricionais das aves determinadas no Brasil. In: *Simpósio Internacional Sobre Exigências Nutricionais de Aves e Suínos*, Viçosa, MG, 1996. Anais...Viçosa, p.361-388, 1996.

SAKOMURA, N.K., & ROSTAGNO, H.S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos (p. 283p). Jaboticabal: Funep, 2016.

SCHOENHEIMER, R.; RATNER, S.; RITTENBERG, D. Studies in protein metabolism VII. The metabolism of tyrosine. Journal of biological chemistry, v. 127, n. 1, p. 333-344, 1939.

SILVA JR., R.G.C.; LANA, G.R.Q.; RABELLO, C.B.; BARBOZA, W.A. E LANA, R.V.L. Exigências de metionina + cistina para frangos de corte machos de 1 a 21 e de 22 a 42 dias de idade, em clima tropical. Rev Bras Zootecn, 34: 2399-2407. 2005.

SIQUEIRA, J.C.D. Estimativas das exigências de lisina de frangos de corte pelos métodos dose resposta e fatorial, 2009.

STORCH, K.J.; WAGNER, D.A.; BURKE, J.F. AND YOUNG, V.R. Quantitative study in vivo of methionine cycle in humans using [methyl-2h3]- and [1-13c] methionine. Amer J Physiol, 255: 322-331. 1988.

STRADIOTTI, A. C. *Técnica dos isótopos estáveis na incorporação de 13C proveniente da L-metionina nos tecidos de frangos de corte em fases de crescimento. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 82p., 2013.*

SUZUKI, R.M. ; SAKOMURA, N. K. ; DENADAI, J. C. ; PACHECO, L. G. ; TRONI, A.R ; GONCALVES, C. A. ; SOARES, L. ; FABRI, F. J. F. . Growth and metabolic turnover rates of l-[15n] threonine in broiler tissues. In: 54^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2017, Foz do Iguaçu. 54^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2017.

TAVERNARI, F.C., BERNAL, L.E.P., ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., VIEIRA, R.A. Relação metionina + cistina/lisina digestível para frangos de corte Cobb. Rev. Ceres Viçosa, v. 61, n.2, p.193-201, 2014.

THORPE, E. História da Química. Vol. 1, Watts & Co, Londres, 1914.

WANG, S. et al. Uptake of DL-2-hydroxy-4-methylthio-butanoic acid (DL-HMB) in the broiler liver in vivo. Poultry Science, Champaign, v. 80, p. 1619-1624, 2001.

WHITTEMORE, R.; CHASE, S.K.; MANDLE, C.L. Validity in qualitative research. Qual Health Res. 2001

WOLF, G. **Isotopes in biology**. New York: Academic Press, 1969. 173p.

WU, G. Interrelationship among methionine, choline and betaine in channel catfish – *Ictalurus punctatus*. Dissertação (Mestrado). Auburn University. Alabama, USA. 45 pp. 2003.