

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/07/2019.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E  
VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**BIODISPONIBILIDADE DE FONTES DE METIONINA E  
NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA EM DIETAS PARA  
FRANGOS DE CORTE**

**Fernando Andrés Prado Antayhua**

Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

**2018**

A627b Antayhua, Fernando Andrés Prado  
Biodisponibilidade de Fontes de Metionina e Níveis de Metionina  
+ Cistina em Dietas para Frangos de Corte / Fernando Andrés Prado  
Antayhua. -- Jaboticabal, 2018  
viii, 56 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017  
Orientadora: Nilva Kazue Sakomura  
Banca examinadora: Matheus de Paula Reis, Nei André Arruda  
Barbosa  
Bibliografia

1 Fontes de metionina. 2 Frangos de corte. 3 Aminoácidos  
sulfurados. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias.

CDU 636.087:636.5

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

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E  
VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**BIODISPONIBILIDADE DE FONTES DE METIONINA E  
NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA EM DIETAS PARA  
FRANGOS DE CORTE**

**Fernando Andrés Prado Antayhua**

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

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2018



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



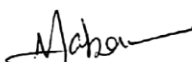
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: BIODISPONIBILIDADE DE FONTES DE METIONINA E NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**

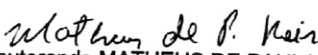
**AUTOR: FERNANDO ANDRES PRADO ANTAYHUA**

**ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA**

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

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

  
Dr. NEI ANDRÉ ARRUDA BARBOSA  
Guarulhos/SP / Evonik Degussa Brasil Ltda -

  
Pós-doutorando MATHEUS DE PAULA REIS  
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 26 de janeiro de 2018

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

FERNANDO ANDRÉS PRADO ANTAYHUA – filho de Valerio Prado Mendoza e Pilar Otilia Antayhua Cayo nasceu no dia 13 de janeiro de 1991, no município de Miraflores, Lima, Perú. Em janeiro de 2009 ingressou no curso de Zootecnia na Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima, Perú. De janeiro de 2011 a dezembro de 2013 foi bolsista da Unidad Experimental de Avicultura da Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima, Perú. Em Julho de 2015 obteve o título de Engenheiro Zootecnista sob orientação do Prof. Dr. Carlos Niceas Vilchez Perales. Em março de 2016 iniciou o curso de pós-graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”-Campus de Jaboticabal (FCAV/UNESP) com um projeto de pesquisa envolvendo frangos de corte e com bolsa CNPq sob orientação da Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura, defendendo a dissertação em janeiro de 2018.

## **DEDICATORIA**

Aos meus pais Pilar e Cesar pela força e compreensão nas decisões e momentos mais difíceis da vida e pelo amor e carinho em mim.

A minha avó e meu avô pelos ensinamentos quando eu era criança e que fizeram que eu ande pelo caminho certo e que desde o céu me cuidam.

A Helen pela paciência, amor e por sempre estar nos momentos felizes e de tristeza

## AGRADECIMENTOS

À Deus por ser a luz da vida.

À minha família pelo apoio incondicional e por estarem sempre ao meu lado mesmo estando longe.

À professora e minha orientadora Dra. Nilva Kazue Sakomura pela confiança em mim no desenvolvimento desta dissertação e em outras pesquisas em que estive envolvido.

Aos membros da banca de defesa da dissertação Dr. Nei André Arruda Barbosa, Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura e Dr. Matheus de Paula Reis pela contribuição na dissertação.

Ao professor Dr. Edney Pereira da Silva pela contribuição como membro da banca da qualificação do presente estudo e pelos ensinamentos da vida.

Aos membros de graduação, pós-graduação e pós-doutorandos do LAVINESP pela amizade e grande ajuda no presente trabalho e que fazem as coisas acontecer e cujo esforço se reflete em cada estudo desenvolvido.

Aos caros funcionários do setor de avicultura, Izildo, Robson e Vicente, pela grande ajuda durante o desenvolvimento da presente pesquisa e pela dedicação e esforço ao longo dos anos para fazer que as pesquisas aconteçam e o LAVINESP seja reconhecido no Brasil e no mundo inteiro.

Aos companheiros de outros grupos de pesquisa da UNESP-Jaboticabal pela amizade e companherismo.

A Erick, Hilda, Karla, Rony por fazerem me sentir em casa.

Aos moradores da República Amoribunda por fazer que os dias durante o mestrado sejam de convivência, respeito e confraternização.

Aos meus amigos e amigas brasileiros, colombianos, mexicanos, argentinos, venezuelanos, bolivianos e de outros países pela amizade e momentos de confraternização.

A agencia CNPq pela concessão da minha bolsa de estudos durante esses dois anos de mestrado.

A todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado por tudo.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.1 INTRODUÇÃO .....	1
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
1.2.1 Aminoácidos .....	3
1.2.2 Metionina .....	4
1.2.3 Precusores de metionina .....	5
1.2.4 Utilização de fontes de metionina .....	5
1.2.5 Metabolismo de precusores de metionina .....	6
1.2.6 Biodisponibilidade de nutrientes .....	7
1.2.6.1 Determinação da biodisponibilidade de nutrientes .....	8
1.2.6.2 Fatores envolvidos na utilização de fontes de metionina.....	9
1.2.7 Ótimo biológico e econômico de aminoácidos sulfurados .....	10
1.3 REFERÊNCIAS.....	11
CAPÍTULO 2 - METHIONINE SOURCES FOR BROILERS: RELATIVE BIOAVAILABILITY OF DL-METHIONINE HYDROXY ANALOGUE CALCIUM SALT VS. DL-METHIONINE .....	17
ABSTRACT .....	19
INTRODUCTION.....	20
MATERIALS AND METHODS .....	20
RESULTS .....	25
DISCUSSION.....	30
REFERENCES .....	33
CAPÍTULO 3 - BIOLOGICAL AND ECONOMICAL ASSESSMENT OF DIETARY LEVELS OF SULFUR AMINO ACIDS FOR BROILERS.....	37
ABSTRACT .....	39
INTRODUCTION.....	40
MATERIAL AND METHODS.....	41
RESULTS .....	44
DISCUSSION.....	49
REFERENCES .....	53
CAPÍTULO 4 - IMPLICAÇÕES.....	56

## LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
<b>Tabela 1.</b> Aminoácidos essenciais e não essenciais .....	3
CAPÍTULO 2 - METHIONINE SOURCES FOR BROILERS: RELATIVE BIOAVAILABILITY OF DL-METHIONINE HYDROXY ANALOGUE CALCIUM SALT VS. DL-METHIONINE.....	17
<b>Table 1.</b> Composition of the basal diet of starter and finisher broilers.....	22
<b>Table 2.</b> Growth performance of broilers fed diets with DL-Met or Ca-MHA in Experiment 1 from 1 to 21 days.....	25
<b>Table 3.</b> Growth performance of broilers fed diets with DL-Met or Ca-MHA in Experiment 2 from 21 to 42 days.....	27
CAPÍTULO 3 - BIOLOGICAL AND ECONOMICAL ASSESSMENT OF DIETARY LEVELS OF SULFUR AMINO ACIDS FOR BROILERS.....	37
<b>Table 1.</b> Composition of the basal diet of starter and finisher broilers.....	42
<b>Table 2.</b> Growth performance of broilers fed dietary levels of Met+Cys from 1 to 21 days.....	45
<b>Table 3.</b> Growth and carcass performance of broilers fed dietary levels of Met+Cys from 21 to 42 days. ....	45

## LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
<b>Figura 1.</b> Estrutura química da metionina (Wu, 2013) .....	4
<b>Figura 2.</b> Estrutura química das substâncias ativas das fontes de metionina ...	5
<b>Figura 3.</b> Representação matemática da resposta não linear de duas fontes, produto x e y, de um nutriente.....	9
CAPÍTULO 2 – METHIONINE SOURCES FOR BROILERS: RELATIVE BIOAVAILABILITY OF DL-METHIONINE HYDROXY ANALOGUE CALCIUM SALT VS. DL-METHIONINE.....	17
<b>Figure 1.</b> Body weight gain (A) and feed conversion ratio (B) of broilers fed diets with increasing supplementation of DL-Met (99%, DL-Met) and methionine hydroxy analogue calcium salt (84%, Ca-MHA) from 1 to 21 days. Values in parenthesis indicate 95% confidence interval.....	26
<b>Figure 2.</b> Body weight gain (A) and feed conversion ratio (B) of broilers fed diets with increasing supplementation of DL-Met (99%, DL-Met) and methionine hydroxy analogue calcium salt (84%, Ca-MHA) from 21 to 42 days. Values in parenthesis indicate 95% confidence interval.....	28
<b>Figure 3.</b> Carcass (A) and breast yield (B) of broilers fed diets with increasing supplementation of DL-Met (99%, DL-Met) and methionine hydroxy analogue calcium salt (84%, Ca-MHA) from 21 to 42 days. Values in parenthesis indicate 95% confidence interval .....	29
CAPÍTULO 3 – BIOLOGICAL AND ECONOMICAL ASSESSMENT OF DIETARY LEVELS OF SULFUR AMINO ACIDS FOR BROILERS.....	37
<b>Figure 1.</b> Performance of broilers from 1 to 21 days-old fed with increasing dietary levels of Met+Cys .....	46
<b>Figure 2.</b> Performance of broilers from 21 to 42 days-old fed with increasing dietary levels of Met+Cys .....	47
<b>Figure 3.</b> Carcass traits of broilers fed with increasing dietary levels of Met+Cys from 21 to 42 days old.....	48

<b>Figure 4.</b> Feed cost and gross margin per kilogram of live weight gain (A) or breast meat (B). .....	49
--	----

## **BIODISPONIBILIDADE DE FONTES DE METIONINA E NÍVEIS DE METIONINA + CISTINA EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE**

**RESUMO** – A avaliação de fontes de metionina e níveis de metionina + cistina (Met+Cis) em dietas para frangos de corte torna-se relevante para fazer ajustes nutricionais nas fórmulas. Foram conduzidos dois experimentos com frangos de corte macho. No experimento I, foi avaliada a biodisponibilidade relativa (BDR) da metionina hidróxi análoga cálcica (Ca-MHA) em relação a DL-metionina (DL-Met) em duas fases de criação de 1 até 21 dias e 21 até 42 dias. Em ambas as fases foram utilizadas 1890 aves macho da linhagem Cobb 500 que foram alimentadas com uma dieta basal com concentrações adequadas em todos os nutrientes com exceção da Met+Cis. Em cada fase, a dieta basal foi suplementada com níveis equimolares de cada fonte de metionina. Em ambas as fases, foram mensurados o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Na segunda fase de criação, aos 42 dias foi determinado o rendimento de carcaça e peito. Através do uso da regressão multi-exponencial foi estimada a BDR média para ambas as fases de 60 e 72% da Ca-MHA em relação à DL-Met na base produto-produto e na base equimolar, respectivamente. No experimento II, foi determinado a concentração ótima biológica e econômica de Met+Cis em dietas de frangos de corte macho em duas fases de 1 até 21 dias, e 21 até 42 dias. Desta forma foram utilizados 1050 aves da linhagem Cobb 500 para cada fase. Na primeira fase, foram avaliadas os níveis de 5.60, 6.08, 7.11, 8.65, e 10.71 g/kg de Met+Cis, em quanto que na segunda fase foram avaliados os níveis 5.40, 5.91, 6.94, 7.96, e 10.02 g/kg de Met+Cis. Para atender os níveis de Met+Cis foi utilizada a DL-metionina como fonte de metionina. Foi avaliado o ganho de peso e conversão alimentar em ambas as fases, já no caso da segunda fase aos 42 dias foi determinado o rendimento de peito e gordura abdominal dos frangos de corte. Em ambas as fases a resposta biológica aos níveis de Met+Cis foi exponencial e que não permitiu estimar uma máxima resposta, porém sim uma estimativa em relação à assíntota. Finalmente, a concentração ótima econômica não coincidiu com a concentração ótima biológica para as variáveis de desempenho e carcaça da segunda fase de criação. Desta forma, é possível ajustar as concentrações de Met+Cis de acordo com o preço da DL-metionina e objetivos de produção de cada criação de frangos de corte.

**Palabras-chave:** fontes de metionina, frangos de corte, aminoácidos sulfurados, modelo multi-exponencial

## **BIOAVAILABILITY OF METHIONINE SOURCES AND DIETARY LEVELS OF MET+CYS IN BROILER DIETS**

**ABSTRACT** – Methionine is the first limiting amino acid in poultry diets based on corn and soybean meal. Thus, the assessment of methionine sources and dietary levels of methionine plus cystine (Met+Cys) in broiler diets is important to adjust nutritional composition of broiler diets. It was conducted two experiments with male broilers. In experiment I, it was evaluated the relative bioavailability (RBA) of calcium salt of methionine hydroxy analogue (Ca-MHA) in relation to DL-methionine (DL-Met) in two broiler phases, 1 to 21 days and 21 to 42 days. In both of phases, it was used 1890 birds of Cobb 500 strain that were fed with a basal diet adequate in all nutrients with exception of Met+Cys. In each phase, the basal diet was supplemented with equimolar levels of each methionine source. In both of phases, it was measured body weight gain, feed intake and feed conversion ratio. In the second phase, at 42 days of age it was determined the carcass and breast yield of broilers. By the use of multi-exponential regression analysis it was estimated an average RBA of 60 and 72% of Ca-MHA in relation to DL-Met in a product-to-product basis and on an equimolar basis, respectively. Through the conduction of experiment II, it was determined a biological and economical concentration of Met+Cys of male broiler diets of both of phases 1 to 21 and 21 to 42 days. Thus, it was used 1050 birds of Cobb 500 strain in each phase. In the first phase, it was assessed dietary levels of 5.60, 6.08, 7.11, 8.65, and 10.71 g/kg of Met+Cys, whereas in the second phase it was assessed dietary levels of 5.40, 5.91, 6.94, 7.96, and 10.02 g/kg of Met+Cys. To meet dietary levels of Met+Cys, it was used DL-methionine as a methionine source. It was measured body weight gain, feed intake and feed conversion ratio for both of phases. In the case of the second phase, at 42 days of age it was determined breast and abdominal fat yield of broilers. In both of phases, response of all traits to dietary levels of Met+Cys was exponential and this did not lead to estimate a maximum response, however it was possible to estimate a concentration related to the asymptote. Finally, optimum dietary economic levels of Met+Cys did not coincide with optimum dietary biological levels for both performance and carcass traits of the second rearing phase. In this sense, it is possible to adjust dietary levels of Met+Cys according to DL-methionine price and broiler production goals.

**Keywords:** Methionine sources, broilers, sulfur amino acids, multi-exponential model

## **CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1.1 Introdução**

A nutrição e alimentação de frangos de corte recebe valor dentro da indústria por ser o componente com maior participação nos custos de produção de frangos de corte. Na região ocidental, as dietas são majoritariamente compostas por milho e farelo de soja uma vez que desde um ponto de vista logístico apresentam a vantagem de fácil acesso à compra, porém com a desvantagem nutricional por ser limitante em metionina o que conduz à suplementação de fontes deste aminoácido para atender as exigências nutricionais dos frangos de corte.

A nutrição de aminoácidos para frangos de corte visa expressar o máximo potencial genético através de uma adequada nutrição, no qual inclui o balanço de aminoácidos na dieta. Neste contexto, a metionina é um aminoácido essencial devido a limitada capacidade de síntese das aves, também é um aminoácido limitante pois é encontrado em baixa quantidade nos ingredientes que compõe a dieta dos frangos de corte. Desta forma, os nutricionistas se encontram frente a um cenário onde a suplementação de substâncias com atividade de metionina em dietas de frangos de corte torne-se uma opção acertada para garantir que o potencial genético das aves seja expresso.

A suplementação dessas substâncias com atividade de metionina em dietas para frangos de corte é uma prática contínua na indústria. Cada substância, possui estrutura e forma isomérica própria, é absorvida no intestino e metabolizada em diferentes tecidos. O produto final do metabolismo dessas substâncias será a forma levogira do aminoácido pelo fato dessa configuração se encontrar de forma natural na composição química do corpo. Desta forma, o conhecimento das reações químicas envolvidas no metabolismo de fontes de metionina permite dar valor econômico as mesmas, pois a transformação inclui processos mais ou menos eficientes de acordo com cada substância.

A atividade de metionina de cada substancia pode ser expressa em termos da biodisponibilidade e possui valor econômico para a indústria. De acordo com cada cenário nutricional e ambiência, a biodisponibilidade de uma substancia com atividade de metionina pode mudar, já que o metabolismo deste aminoácido envolve outros nutrientes que, em excesso ou deficiência, modificam o metabolismo da metionina. Diante do exposto, o valor da biodisponibilidade de diferentes fontes de metionina torna-se decisivo no ajuste de matrizes nutricionais e, conseqüentemente, na formulação de rações para frangos de corte.

## 1.2 Revisão de literatura

### 1.2.1 Aminoácidos

Desde um ponto de vista químico e biológico, os aminoácidos são substâncias orgânicas compostas por um grupo carbóxico e amino que conferem características aniônicas e catiônicas e que se unem através de ligações peptídicas para formar peptídeos, oligopeptídeos ou proteínas do corpo (Zubay et al., 1995). Aliás, pelo fato dos aminoácidos participarem de diversas funções como regulação da ingestão de alimento, síntese de enzimas, expressão gênica, fosforilação de proteína e síntese de hormônios (Wu, 2013), estes podem ser denominados substâncias multifuncionais.

Os aminoácidos podem ser classificados de acordo com a essencialidade ou não no animal, assim a essencialidade baseia-se no fato que certos aminoácidos não podem ser sintetizados ou não são sintetizados em quantidades suficientes nas células do corpo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Aminoácidos essenciais e não essenciais

Aminoácidos não sintetizados pelas aves	Aminoácidos sintetizados a partir de outros aminoácidos*	Aminoácidos não essenciais
Arginina	Valina	Hidroxiprolina
Lisina	Metionina	Alanina
Histidina	Treonina	Acido Aspártico
Leucina	Triptofano	Glicina**
Isoleucina	Fenilalanina	Asparagina
		Serina**
		Acido glutâmico
		Prolina***
		Glutamina

\* Tirosina é sintetizada da fenilalanina, cistina da metionina e hidroxilisina da lisina.

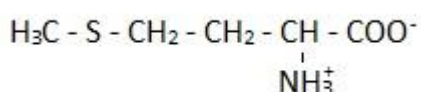
\*\*Nas primeiras semanas de vida a glicina e serina nas aves não é suficiente para acompanhar o rápido crescimento das aves.

\*\*\*Quando as dietas são purificadas, a suplementação de prolina pode ser necessária para atingir o máximo desempenho.

Adaptado de Leeson and Summers (2001).

### 1.2.2 Metionina

As fontes de metionina, sob a forma de pó ou líquido, são produzidas industrialmente para complementar nutricionalmente dietas limitantes em esse aminoácido. A metionina pode ser produzida sob a mistura racêmica de levogiras e dextrogiras, a onde a ave transformará a forma dextrogira para levogira. Além disso, a metionina é um dos aminoácidos essenciais que se caracteriza pela presença de enxofre na estrutura química (Figura 1) e cuja fórmula química é  $C_5H_{11}NO_2S$ .



**Figura 1.** Estrutura química da metionina (Wu, 2013)

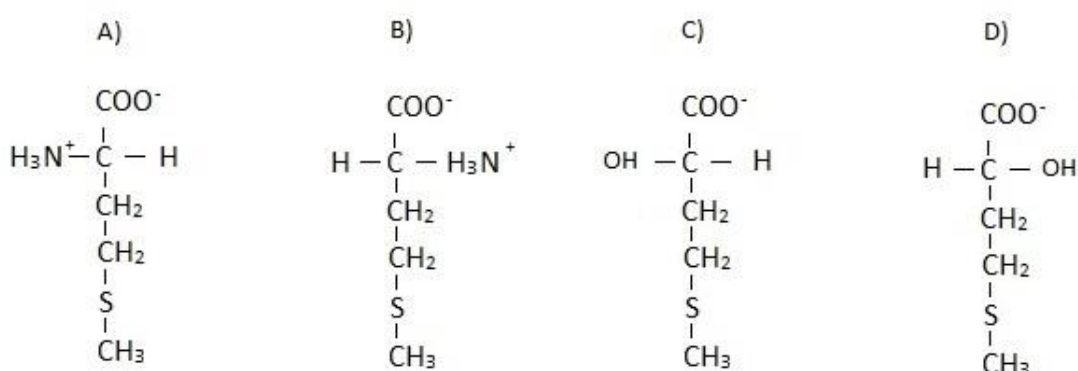
A importância deste aminoácido deve-se à iniciação na síntese de proteínas no processo de tradução de ADN. Essa função tem valor biológico e econômico pois em situação de insuficiente concentração de metionina nas células, a síntese de proteínas nos diferentes tecidos será limitada e será refletida no ganho de peso da ave.

O enxofre na estrutura da metionina confere propriedades devido às ligações de enxofre que estabilizam a estrutura terciária de proteínas estruturais como colágeno e queratina presentes na pele e penas das aves, respectivamente. Além do enxofre conferir propriedade estrutural, este pode participar na eliminação de substâncias reativas ao oxigênio devido à baixa eletronegatividade do enxofre através da formação de metionina sulfóxido que posteriormente será reduzida pela metionina sulfóxido redutase para retornar a metionina (Luo and Levine, 2009).

Parte do metabolismo da metionina, inclui a produção de S-adenosilmetionina e S-adenosilhomocisteína. Nessas reações, o grupo metilo é liberado e pode ser utilizado na metilação de ADN e síntese de carnitina e creatina (Simon, 1999).

### 1.2.3 Precursores de metionina

O estudo de substâncias com atividade de metionina para frangos de corte, galinhas poedeiras, matrizes, etc. é extenso (Carvalho et al., 2009; Elwert et al., 2008; Hoehler et al., 2005; Kluge et al., 2015; Xiao et al., 2017). Cada fonte de metionina possui características próprias como concentração de substâncias ativas, estrutura química ou processo de fabricação. Os principais precursores de metionina apresentam diferentes substâncias ativas como ácido DL-2-amino-4-metiltiobutanoico ou ácido DL-2-hidroxi-4-metiltio-butanoico cujas estruturas químicas se encontram na Figura 2.



**Figura 2.** Estrutura química das substâncias ativas das fontes de metionina. A) Ácido L-2-amino-4-metiltiobutanoico; B) Ácido D-2-amino-4-metiltiobutanoico; C) Ácido L-2-hidroxi-4-metiltio-butanoico; D) Ácido D-2-hidroxi-4-metiltio-butanoico.

**Fonte: Nelson et al. (2008)**

### 1.2.4 Utilização de fontes de metionina

A digestão de proteínas compreende a quebra de estruturas complexas em estruturas mais simples de um ingrediente, que no caso das aves começa no proventrículo sob a presença de ácido clorídrico e pepsina. Após a ação de enzimas exopeptidases e endopeptidases do pâncreas, a ação das enzimas ligadas à membrana celular e citosol dos enterócitos do intestino delgado produzirão moléculas menores como oligopeptídeos, tripeptídeos ou dipeptídeos que serão capazes de ser utilizadas para o metabolismo dos aminoácidos (Krehbiel and Matthews, in Mello 2003).

A absorção das substâncias ativas dos precursores de metionina tem sido pesquisada sob métodos *in vitro* (Knight and Dibner, 1984a; Richards et al., 2005), para simular a absorção que acontece *in vivo* e para entender o mecanismo de absorção dessas substâncias. Pesquisas feitas *in vivo* (Drew et al., 2003; Lingens and Molnar, 1996; Mitchell and Lemme, 2008) tem evidenciado que a absorção das substâncias ativas pode ser afetada pelas bactérias intestinais, condições ambientais ou nível de suplementação da fonte de metionina.

O avanço em pesquisas relacionadas à absorção de substâncias ativas das fontes de metionina continuam acrescentando para esclarecer melhor a utilização de precursores de metionina e assim explicar os mecanismos biológicos que influenciam a biodisponibilidade deles na nutrição de aves. Nesse sentido, Zhang et al. (2017) encontraram efeito da suplementação de fontes de metionina na expressão genica de transportadores de substâncias ATB<sup>+</sup> e MTC1 do duodeno e jejuno, respectivamente. Estudos ligados à expressão genica permitirão buscar entender os fatores biológicos envolvidos na absorção dos precursores de metionina sob diferentes condições nutricionais e ambiência.

#### **1.2.5 Metabolismo de precursores de metionina**

Uma vez que os precursores de metionina são absorvidos, a metabolização destes acontecerá de acordo com o estado fisiológico da ave. O ácido L-2-amino-4-metiltiobutanoico é a forma final que será disponível para a ave, pois a composição de metionina dos tecidos se encontra sob essa configuração química. Portanto, as formas ácido D-2-amino-4-metiltiobutanoico e ácido DL-2-hidroxi-4-metiltiobutanoico precisam ser metabolizadas até a forma ácido L-2-amino-4-metiltiobutanoico.

No caso do metabolismo da DL-2-hidroxi-4-metiltiobutanoico, o processo de conversão até ácido L-2-amino-4-metiltiobutanoico envolve processos metabólicos para cada forma isomérica. No metabolismo do L-isômero, está envolvida a enzima L-2-hidroxi-acido oxidase que se encontra nos peroxisomas do fígado e rins. Já no caso do D-isômero, o processo envolve a enzima D-2-hidroxi acido desidrogenase que tem atividade na mitocôndria da mucosa

intestinal, musculo esquelético, fígado, rins, cérebro e baço (KNIGHT and Dibner, 1984b). Desta forma, o produto final de ambas reações será o alfa-keto-gamma-metiltiobutirato que finalmente sofrerá uma reação de transaminação para produzir o ácido L-2 amino 4-metilbutanoico.

Já no caso do ácido D-2-amino-4-metiltiobutanoico, a conversão numa molécula com atividade de metionina acontece nos tecidos do fígado, rins, cérebro e coração e consiste na oxidação para produzir o alfa-keto-gamma-metiltiobutirato que posteriormente será convertido em ácido L-2-amino-4-metiltiobutanoico através da reação enzimática de transaminação (Wu, 2013).

### **1.2.6 Biodisponibilidade de nutrientes**

Uma vez que a proteína de um ingrediente foi digerida até as unidades fundamentais chamadas aminoácidos, estas passam a ser absorvidas e metabolizadas. Assim, o aminoácido torna-se biodisponível para ser utilizado em uma função como síntese proteica, doação de grupos metílicos, entre outras. Em contraste com o conceito de digestibilidade, a biodisponibilidade inclui o processo de metabolismo ou utilização do nutriente (Parsons, 2002). De acordo com essa distinção de termos, uma substância com atividade de metionina é absorvida e metabolizada por mecanismos específicos e diferentes a outra fonte de metionina, devido à estrutura química delas.

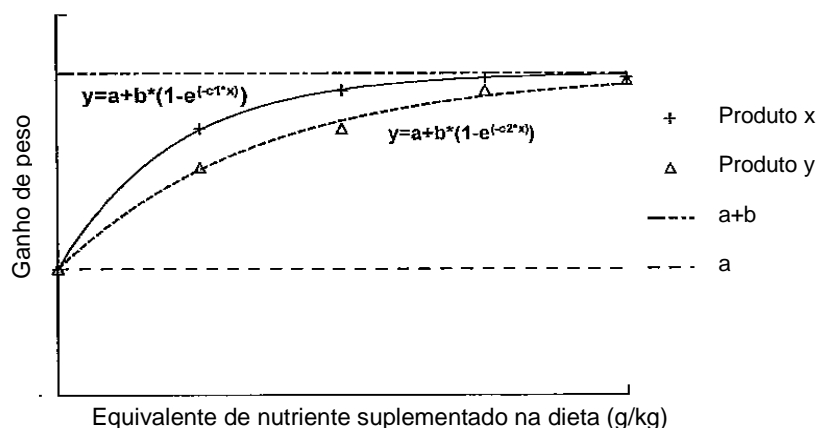
Por outro lado, para que os aminoácidos provenientes de fontes proteicas sejam metabolizados, é indispensável o processo de digestão química das proteínas dos ingredientes. Existem fatores que podem influenciar a biodisponibilidade dos aminoácidos dos ingredientes tais como condições de processamento, presença de anti-nutrientes, composição química e física da proteína e conteúdo de fibra do ingrediente (Sauer and Ozimek, 1985; Sibbald, 1987); isto permite que as matrizes nutricionais das rações sejam ajustadas e suplementadas com aminoácidos cristalinos com digestibilidade assumida de 99%, porém com biodisponibilidade relativa diferente entre as fontes de aminoácidos cristalinos.

### **1.2.6.1 Determinação da biodisponibilidade de nutrientes**

Sob o contexto que uma substância é biodisponível quando ela é utilizada para o metabolismo após ter sido absorvido (Ammerman et al., 1995), procura-se dar importância biológica e econômica aos precursores de nutrientes que possuem valor nutricional para o animal e ajudam a manter a homeostase.

Através de ensaios dose-resposta é possível estimar a biodisponibilidade relativa de precursores de nutrientes, a posterior aplicação da regressão linear ou não linear nos dados permite estimar o valor, geralmente expressado em porcentagem, da biodisponibilidade de uma substância em relação à outra. A utilização da regressão linear ou não linear dependerá da resposta e do ajuste dos dados em cada modelo, neste caso da resposta da variável dependente sob estudo à diferentes níveis de ingestão ou suplementação de um precursor de nutriente, como foi evidenciado por Vieira et al. (2004).

Devido à abordagem estatística envolvida no estudo da biodisponibilidade de precursores de nutrientes, precisa-se adotar certas exigências de índole estatística quando aplica-se a regressão dos dados. Já no caso da regressão linear, a resposta deve ser linear para fonte de nutriente, o intercepto deve ser o mesmo e a resposta ao zero nível de suplementação deve ser igual ao intercepto, no entanto, devido à variação própria dos dados, essas condições podem não ser cumpridas (Littell et al., 1997). No caso da regressão não linear, é assumida que a resposta dos precursores de nutrientes tem uma máxima resposta  $(a+b)$  para ambos precursores de um nutriente como expressado na Figura 3.



**Figura 3.** Representação matemática da resposta não linear de duas fontes, produto x e y, de um nutriente.

Adaptado do Jansman et al. (2003)

### 1.2.6.2 Fatores envolvidos na utilização de fontes de metionina

A regulação das vias metabólicas visa manter a homeostase do corpo diante um desafio nutricional ou ambiência. Conseqüentemente, qualquer desordem nutricional ou alteração na ambiência modifica o metabolismo dos nutrientes e é relevante ter em consideração as condições nutricionais em que as pesquisas são feitas como relação metionina: cistina, deficiências ou excessos desses aminoácidos ou outros nutrientes relacionados ao metabolismo da metionina.

Dilger and Baker (2008) estudaram o efeito da mudança da relação entre aminoácidos sulfurados sendo a utilização da DL-2-hidroxi-4-metiltiobutanoico mais sensível do que a DL-2-amino-4-metiltiobutanoico às concentrações de cisteína na ração de aves não comerciais. Por outro lado, a interação entre a relação arginina: lisina com a DL-2-hidroxi-4-metiltiobutanoico e DL-2-amino-4-metiltiobutanoico se reflete no consumo de ração e ganho de peso quando as aves são submetidas à condições de estresse térmico, desta forma se demonstram os efeitos dessa condição de ambiência na absorção de arginina e controle de saciedade quando as dietas de frangos de corte são suplementadas com o precursor da metionina DL-2-amino-4-metiltiobutanoico (Chen et al., 2003).

No caso dos minerais, tem sido demonstrado que o potássio tem interação com a substância DL-2-hidroxi-4-metiltiobutanoico quando suplementada em dose maior que 1%, em quanto que com o precursor DL-2-amino-4-metiltiobutanoico não foi reportada interação para consumo de ração de frangos de corte submetidos à estresse térmico, isto leva a pensar na interação desses precursores com outros nutrientes e processos metabólicos (Ribeiro et al., 2008).

Os fatores nutricionais e de ambiência mencionados acima são diretamente manejáveis pelo nutricionista e influenciam diretamente a utilização dos precursores de metionina. No entanto, Shen et al. (2015) encontrou que a utilização dos isômeros de DL-2-amino-4-metiltiobutanoico mudou com o decorrer da idade dos frangos de corte o que é possivelmente explicado pela limitada expressão da D-amino ácido oxidasa em animais jovens (D'Aniello et al., 1993). Como mencionado acima, o avanço de outros métodos de estudo permitirão entender melhor os fatores inerentes à ave e externos, como nutrição e de ambiência, envolvidos na utilização de precursores de metionina.

### **1.2.7 Ótimo biológico e econômico de aminoácidos sulfurados**

Estudos relacionados a avaliar diferentes concentrações de aminoácidos no desempenho de frangos de corte visam obter a máxima resposta da ave em ganho de peso ou menor conversão alimentar (Schutte and Pack, 1995; Vieira et al., 2004; Eits et al., 2005; Pesti, 2009; Ojediran et al., 2017). A avaliação da resposta dos frangos de corte à concentrações de metionina + cistina é ampla (Albino et al., 1999; Oliveira Neto et al., 2007; Rakangtong e Bunchasak, 2011) e continuamente feita pois a melhora genética em essas aves é constante e cada vez mais exigente aos nutrientes.

Desde um ponto de vista biológico, a concentração de um nutriente como exigência nutricional pode ser fixada na formulação de uma ração para frangos de corte e pode ser feita sem levar em conta os preços das matérias primas e do produto final, bem seja frango processado ou vivo. Já desde um ponto de vista econômico, precisa-se levar em conta os preços dos ingredientes a serem incluídos na dieta e os preços do produto final para definir uma concentração

ótima econômica que vise o máximo lucro por unidade de produto final produzido como descrito por Siqueira et al., (2011).

O uso de concentrações econômicas de um nutriente ajuda na quebra do paradigma de formulação ao mínimo custo pois sob esta abordagem visa-se uma concentração de um nutriente em função de preços e que garantam o maior retorno econômico por quilograma de produto final.

### 1.3 REFERÊNCIAS

Albino, L.F.T., Silva, S.H.M., Vargas JR., J.G., Rostagno, H.S., Silva, M.A. (1999) Níveis de metionina + cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia* 28:519-525

Ammerman C.B., Baker D.P., Lewis A.J. (1995) Bioavailability of nutrients for animals: Amino acids, minerals, vitamins Academic Press.

Carvalho D.C.d.O., Albino L.F.T., Rostagno H.S., Pinheiro S.R.F., Brito C.O., Viana M.T.d.S. (2009) Biodisponibilidade de fontes de metionina para poedeiras leves na fase de produção mantidas em ambiente de alta temperatura. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38:2383-2388.

Chen J., Hayat J., Huang B., Balnave D., Brake J. (2003) Responses of broilers at moderate or high temperatures to dietary arginine: lysine ratio and source of supplemental methionine activity. *Australian journal of agricultural research* 54:177-181.

D'Aniello A., D'Onofrio G., Pischetola M., D'Aniello G., Vetere A., Petrucelli L., Fisher G.H. (1993) Biological role of D-amino acid oxidase and D-aspartate oxidase. Effects of D-amino acids. *Journal of Biological Chemistry* 268:26941-26949.

Dilger R.N., Baker D.H. (2008) Cyst(e)ine imbalance and its effect on methionine precursor utilization in chicks. *J Anim Sci* 86:1832-40. DOI: 10.2527/jas.2007-0712.

Drew M., Van Kessel A., Maenz D. (2003) Absorption of methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutoanic acid in conventional and germ-free chickens. *Poultry Science* 82:1149-1153.

Eits, R. M., Kwakkel, R. P., Verstegen, M. W. A., Den Hartog, L. A. (2005) Dietary balanced protein in broiler chickens. 1. A flexible and practical tool to predict dose–response curves. *British poultry science* 46: 300-309.

Elwert C., Fernandes E., Lemme A. (2008) Biological effectiveness of methionine hydroxy-analogue calcium salt in relation to DL-methionine in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 21:1506-1515.

Hoehler D., Lemme A., Jensen S.K., Vieira S. (2005) Relative effectiveness of methionine sources in diets for broiler chickens. *Journal of applied poultry research* 14:679-693.

Jansman A., Kan C., Wiebenga J. (2003) Comparison of the biological efficacy of DL-methionine and hydroxy4-methylthiobutanoic acid (HMB) in pigs and poultry, Animal Sciences Group.

Kluge H., Gessner D., Herzog E., Eder K. (2015) Efficacy of DL-methionine hydroxy analogue-free acid in comparison to DL-methionine in growing male white Pekin ducks. *Poultry science* 95:590-594.

Knight C.D., Dibner J.J. (1984a) Comparative absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid and L-methionine in the broiler chick. *The Journal of nutrition* 114:2179-2186.

Knight J.J.D.A.D., Dibner J. (1984b) Conversion of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid to L-methionine in the chick: a stereospecific pathway. *J. Nutr* 114:1726-1723.

Leeson S., Summers J. (2001) *Scoot's Nutrition of the Chicken*. University Book. Guelph, Canada.

Lingens G., Molnar S. (1996) Studies on metabolism of broilers by using <sup>14</sup>C-labelled DL-methionine and DL-methionine hydroxy analogue Ca-salt. *Archives of Animal Nutrition* 49:113-124.

Littell R., Henry P., Lewis A., Ammerman C. (1997) Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. *Journal of Animal Science* 75:2672-2683.

Luo S., Levine R.L. (2009) Methionine in proteins defends against oxidative stress. *The FASEB Journal* 23:464-472.

Mitchell M., Lemme A. (2008) Examination of the composition of the luminal fluid in the small intestine of broilers and absorption of amino acids under various ambient temperatures measured in vivo. *International Journal of Poultry Science* 7:223-233.

Nelson D.L., Lehninger A.L., Cox M.M. (2008) *Lehninger principles of biochemistry* Macmillan.

Ojediran, T. K., Fasola, M. O., Oladele, T. O., Onipede, T. L., Emiola, I. A. (2017) Growth performance, flock uniformity and economic indices of broiler chickens fed low crude protein diets supplemented with lysine. *Archivos de Zootecnia* 66: 543-550.

Oliveira Neto, A.R., Oliveira, R.F.M., Donzele, J.L., Barreto, S.L.T., Vaz, R. G. M. V., Gasparino, E. (2007) Níveis de metionina+ cistina total para

frangos de corte de 22 a 42 dias de idade mantidos em ambiente termoneutro<sup>1</sup>. Revista Brasileira de Zootecnia 36:1359-1364

Parsons C. (2002) Digestibility and bioavailability of protein and amino acids. Poultry Feedstuffs: Supply, Composition and Nutritive Value (Eds. JM McNab and KN Boorman). Carfax Publishing Company, Oxfordshire, England:115-135.

Pesti, G.M., 2009. Impact of dietary amino acid and crude protein levels in broiler feeds on biological performance. J. Appl. Poult. Res. 18, 477-486.

Rakangtong, C., Bunchasak, C. (2011) Effect of total sulfur amino acids in corn–cassava–soybean diets on growth performance, carcass yield and blood chemical profile of male broiler chickens from 1 to 42 days of age. Animal production science 51: 198-203.

Ribeiro A.M.L., Kessler A.M., Viola T.H., Silva I.C.M., Rubin L., Raber M., Pinheiro C., Lecznieski L.F. (2008) Nutritional Interaction of Methionine Sources and Sodium and Potassium Levels on Broiler Performance Under Brazilian Summer Conditions. The Journal of Applied Poultry Research 17:69-78. DOI: 10.3382/japr.2007-00024.

Richards J., Atwell C., Vazquez-Anon M., Dibner J. (2005) Comparative in vitro and in vivo absorption of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid and methionine in the broiler chicken. Poultry science 84:1397-1405.

Sauer W., Ozimek L. (1985) The digestibility of amino acids in studies with swine and poultry. Tokyo: Ajinomoto Co.

Shen Y., Ferket P., Park I., Malheiros R., Kim S. (2015) Effects of feed grade-methionine on intestinal redox status, intestinal development, and growth performance of young chickens compared with conventional-methionine. Journal of animal science 93:2977-2986.

Schutte, J. B., Pack, M. (1995). Sulfur amino acid requirement of broiler chicks from fourteen to thirty-eight days of age. 1. Performance and carcass yield. *Poultry Science* 74: 480-487.

Sibbald I. (1987) Estimation of bioavailable amino acids in feedingstuffs for poultry and pigs: a review with emphasis on balance experiments. *Canadian Journal of Animal Science* 67:221-300.

Simon J. (1999) Choline, betaine and methionine interactions in chickens, pigs and fish (including crustaceans). *World's Poultry Science Journal* 55:353-374.

Siqueira, J.C., Sakomura, N.K., Dorigam, J.C.P., Mendonça, G.G., Costa, F.G.P., Fernandes, J.B.K., Dourado, L.R.B., Nascimento, D.C.N. (2011) Lysine levels in diets of broilers determined based on economic approach. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40: 2178-2185.

Vieira S., Lemme A., Goldenberg D., Brugalli I. (2004) Responses of growing broilers to diets with increased sulfur amino acids to lysine ratios at two dietary protein levels. *Poultry Science* 83:1307-1313.

Wu G. (2013) *Amino acids: biochemistry and nutrition* CRC Press.

Xiao X., Wang Y., Liu W., Ju T., Zhan X. (2017) Effects of different methionine sources on production and reproduction performance, egg quality and serum biochemical indices of broiler breeders. *Asian-Australasian journal of animal sciences* 30:828.

Zhang S., Saremi B., Gilbert E.R., Wong E.A. (2017) Physiological and biochemical aspects of methionine isomers and a methionine analogue in broilers. *Poult Sci* 96:425-439. DOI: 10.3382/ps/pew253.

Zubay G., Parson W., Vance D. (1995) Principles of Biochemistry, Vol III, Molecular Genetics. Wm. C. Brown Communications. Inc., Dubuque, IA.