

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DA ESSENCIALIDADE DA METIONINA E LISINA  
EM FRANGOS DE CORTE PELO *TURNOVER* DE ISÓTOPOS  
ESTÁVEIS DE CARBONO**

**MARIANA KIYOMI MARUNO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia como parte das  
exigências para obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU – SP

Fevereiro, 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DA ESSENCIALIDADE DA METIONINA E LISINA  
EM FRANGOS DE CORTE PELO *TURNOVER* DE ISÓTOPOS  
ESTÁVEIS DE CARBONO**

**MARIANA KIYOMI MARUNO**  
Zootecnista

Orientador: Prof. Ass. Dr. ANTONIO CELSO PEZZATO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia como parte das  
exigências para obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU – SP  
Fevereiro, 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

M389a Maruno, Mariana Kiyomi, 1986-  
Avaliação da essencialidade da metionina e lisina em frangos de corte pelo turnover de isótopos estáveis de carbono / Mariana Kiyomi Maruno. - Botucatu : [s.n.], 2013 xi, 57 f. : il., grafs., tabs.

Dissertação (mestrado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013

Orientador: Antonio Celso Pezzato  
Inclui bibliografia

1. Aminoácidos. 2. Carbono-13. 3. Frango-de-corte. 4. Isótopos estáveis. 5. Metionina. 6. Lisina na nutrição animal. 7. Animais - Crescimento. I. Pezzato, Antonio Celso. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

*“O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,  
mas na intensidade com que acontecem.  
Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis  
e pessoas incomparáveis.”*

**Fernando Pessoa**

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais Raimundo Kazuya Maruno e Marilene Crivellari Maruno, pilares da minha vida. Exemplos de força, coragem, superação, amizade e amor.*

*À minha vovó Yolanda Rossetto Crivellari pelo carinho e amor incondicional.*

## AGRADECIMENTOS

*À Deus, por me proteger e fortalecer em momentos em que a superação foi o meu maior desafio.*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização desse curso.*

*Ao Prof. Ass. Dr. Antonio Celso Pezzato pela orientação, confiança, atenção e auxílio durante o desenvolvimento deste estudo. O ensinamento proporcionado foi fundamental para a realização desse trabalho.*

*Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti, pelos ensinamentos e sugestões para a condução do projeto.*

*Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, pelo incentivo e colaboração que foram fundamentais para a realização desse curso.*

*Aos docentes Margarida Maria Barros, Luiz Edivaldo Pezzato, Juliana Célia Denadai e Maria Márcia Pereira Sartori pelos ensinamentos, colaboração e incentivo, sendo muito importantes para meu aprendizado.*

*Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação em Zootecnia da FMVZ/UNESP-Botucatu, Posto de Serviço Lageado, Seila Cristina Cassinelli Vieira e Carlos Pazini Júnior, aos funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ/UNESP – Botucatu, Luis Carlos Fernandes e Silene Vittorati Mamede, e aos funcionários do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do IB/UNESP-Botucatu, Cibele Regina de Souza Kruliski, Silvia Regina Américo Maschette e Evandro Tadeu da Silva pela prestação de serviços.*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.*

*À Fundação de Amparo e Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro concedido.*

*À VACCINAR - Nutrição e Saúde Animal®, pela doação dos suplementos vitamínico-minerais.*

*Aos meus tios Eduardo Montoro Júnior e Marli Crivellari Montoro, Aimar Omero Sansão e Marilda Crivellari Sansão e, Santino Guerino Zaize Júnior e Márcia Aparecida Crivellari Zaize, pelo carinho, amor e incentivo recebidos durante todo curso.*

*Aos primos Vanessa Cristina Zaize Felizi e Luiz Gustavo Zaize pelo companheirismo, amizade e por estarem tão presentes em minha vida. Aos demais primos por me apoiarem sempre.*

*À equipe do Laboratório de Nutrição de Aves da FMVZ - UNESP/Botucatu Vitor Barbosa Fascina, Vanessa Cristina Pelícia, Priscila Cavalca Araujo, Carolina Miranda de Carvalho, Francine Vercese, Fabiana Golin Luiggi, Everton Moreno Muro, Jéssica Conteçote Russo, Ivan Mailinch Gonçalves Pereira de Souza, Guilherme Aguiar Mateus Pasquali, Guilherme Emygdio Mendes Pimenta, Natani Cruz Alexandre, Daniella Aparecida Berto e Estela Valéria Siloto pela amizade, convivência, momentos de descontração. A troca de experiências proporcionado por vocês foram fundamentais tanto para meu crescimento pessoal, quanto profissional.*

*Aos pós-graduandos Thaila Cristina Putarov, Caroline Peregrina Teixeira, Alessandro Amorim e Lúcio Vilela Carneiro Girão por estarem sempre prontos a ajudar.*

*Aos estagiários Renata Sena de Souza Gomes de Oliveira, Livia Carrasco Dornelas, Nathália Monteiro, Fernanda Uhlmann de Godoy, Gabriel Martineli, Paola Gentile Serpa, Perterson Dante Gavasso Pacheco, Fabíola Martinez da Silva, Mônica Megumi Aoyagi e Ricardo Fassanaro pela colaboração na condução do experimento. Em especial, à Nathália Martins Guerra Causso pela ajuda em todo período experimental, a sua amizade e paciência foram de grande importância na condução deste trabalho.*

*Às amigas e companheiras de pós-graduação, Ana Cristina Stradiotti e Juliana Cristina Ramos Rezende pela amizade acima de tudo. A presença de vocês ao meu lado proporcionou incentivo e conforto nos momentos em que mais precisei.*

*À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse projeto.*

## SUMÁRIO

	Página
<b>CAPÍTULO I</b> .....	01
Considerações iniciais .....	02
1. Introdução .....	02
2. Isótopos estáveis .....	03
3. <i>Turnover</i> .....	06
4. Aminoácidos .....	07
4.1. Metionina e lisina .....	09
5. Exigências nutricionais .....	13
6. Determinação de exigências nutricionais .....	14
6.1. Método dose-resposta .....	14
6.2. Método fatorial .....	16
7. Tecidos corporais .....	17
7.1. Tecido muscular .....	17
7.2. Plasma sanguíneo .....	18
7.3. Fígado .....	18
8. Justificativa e objetivo .....	20
9. Referências bibliográficas .....	21
 <b>CAPÍTULO II</b> .....	 28
Avaliação da essencialidade da metionina e lisina em frangos de corte pelo <i>turnover</i> de isótopos estáveis de carbono .....	 29
Resumo .....	29
Abstract .....	30
1. Introdução .....	31
2. Material e métodos .....	32
3. Resultados e discussão .....	38
4. Conclusões .....	51
5. Referências bibliográficas .....	52



<b>CAPÍTULO III</b> .....	56
Implicações .....	57

<b>LISTA DE TABELAS</b>	Página
<b>CAPÍTULO II</b> .....	28
Avaliação da essencialidade da metionina e lisina em frangos de corte pelo <i>turnover</i> de isótopos estáveis de carbono.....	29
<b>Tabela 1.</b> Composição percentual, níveis nutricionais calculados e sinal isotópico das rações experimentais .....	36

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>Página</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	01
Considerações iniciais .....	02
<b>Figura 1.</b> Fórmulas estruturais dos aminoácidos metionina e lisina .....	09
 <b>CAPÍTULO II</b> .....	 28
Avaliação da essencialidade da metionina e lisina em frangos de corte pelo <i>turnover</i> de isótopos estáveis de carbono.....	29
<b>Figura 1.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do plasma sanguíneo em frangos de corte com consumo de dieta basal (deficiente em aminoácidos) dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) .....	38
<b>Figura 2.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do plasma sanguíneo em frangos de corte com consumo de dieta basal com suplementada com metionina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) .....	39
<b>Figura 3.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do plasma sanguíneo em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) .....	39
<b>Figura 4.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do plasma sanguíneo em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina e lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) .....	40
<b>Figura 5.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do fígado em frangos de corte com consumo de dieta basal (deficiente em aminoácidos) dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) .....	41
<b>Figura 6.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do fígado em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina) dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) .....	41
<b>Figura 7.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do fígado em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) .....	42
<b>Figura 8.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do fígado em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina e lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ) .....	42
<b>Figura 9.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do músculo peitoral em frangos de corte com consumo de dieta basal (deficiente em aminoácidos) dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) .....	43

<b>Figura 10.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do músculo peitoral em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina) dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) .....	44
<b>Figura 11.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do músculo peitoral em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) .....	44
<b>Figura 12.</b> Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do músculo peitoral em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina e lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) .....	45

# **CAPÍTULO I**

## Considerações iniciais

### 1. Introdução

Atualmente, no cenário mundial de produção de frangos de corte, o Brasil é considerado o terceiro maior produtor e o maior exportador (UBABEF, 2011). Apesar desta atividade apresentar importante papel no setor agropecuário, os produtores trabalham com reduzida margem de lucro, sendo a eficiência produtiva essencial para a rentabilidade deste setor.

Na avicultura o progresso genético exige constante adequação do ponto de vista nutricional. Para frangos de corte a alimentação representa cerca de 70% do custo de produção, sendo fundamental o fornecimento de dietas balanceadas de acordo com as necessidades das aves, para proporcionar máxima eficiência alimentar e desempenho dos animais (NASCIMENTO et al., 2009).

Devido à alimentação representar alto custo na produção das aves, então, objetiva-se atender as exigências de aminoácidos, tornando a escolha dos ingredientes a serem utilizados nas dietas, de fundamental importância. Os aminoácidos sintéticos tem sido utilizados como ferramenta de ajuste na formulação de rações, possibilitando assim, atender os níveis exigidos em aminoácidos essenciais.

Os aminoácidos ingeridos pelos animais são absorvidos no trato gastrointestinal sendo destinados tanto para repor as perdas obrigatórias endógenas como para síntese de substâncias não protéicas, deposição de tecidos e formação de produtos (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

A regulação do metabolismo protéico no músculo esquelético das aves associada a ingestão de aminoácidos, tem sido estudada com objetivo de melhorar o crescimento muscular, qualidade da carne e promover redução da perda muscular em condições fisiopatológicas. Sabe-se que o consumo de dietas com deficiência protéica compromete a síntese de proteínas, enquanto o efeito na proteólise é vista como dependente da severidade desta deficiência (TESSERAUD et al., 2011).

A metionina e a lisina são os aminoácidos essenciais que possuem maior impacto no desempenho das aves, por serem incapazes de sintetizá-los em velocidade e quantidade suficiente para suprir sua exigência, sendo importante o conhecimento da

composição desses aminoácidos nos alimentos, bem como o seu aproveitamento pelos animais.

A disponibilização dos aminoácidos lisina e metionina sob forma sintética torna-se necessária na formulação de dietas para frangos de corte, devido às rações a base de milho e farelo de soja possuírem baixo teor desses aminoácidos. Com a finalidade de reduzir impacto ambiental têm-se diminuído o teor de proteína nas dietas, porém com a manutenção dos níveis dos aminoácidos essenciais mais próximos as necessidades das aves (ROSTAGNO et al., 2011).

Frangos de corte alimentados com carência ou com proteínas de baixa qualidade podem ter síntese protéica muscular prejudicada (MORAN JR e BILGILI, 1990; BAKER, 1991). A qualidade da proteína dietética influencia a taxa de síntese protéica no tecido muscular, sendo então, o tecido mais representativo ao considerar síntese e deposição de proteínas (TESSEREUD et al., 2011).

A técnica de isótopos estáveis tem sido aplicada como indicadores dietéticos por possibilitar a detecção das dietas fornecidas aos animais. Esta ferramenta proporciona o conhecimento, não só das dietas consumidas atualmente, como também, das dietas ingeridas a um período anterior as análises isotópicas. Hoje, o principal foco do uso dos isótopos estáveis, envolve pesquisas relacionadas ao *turnover* tecidual, alocação de nutrientes e balanço protéico.

## **2. Isótopos estáveis**

O termo isótopo é originado do grego, *iso* significa mesmo ou igual e, *topos* significa lugar, e refere-se ao fato de dois ou mais elementos ocuparem a mesma posição na tabela periódica. Já o vocábulo estável é referente à sua não emissão de radiação.

Os isótopos são átomos de um mesmo elemento químico, mas se diferem em números de nêutrons e, conseqüentemente, em números de massa. O diferente número de massa possibilita quantificar os diferentes isótopos de um mesmo elemento através da espectrometria de massa (CLARK e FRITZ, 1997).

Os elementos carbono, nitrogênio, hidrogênio, oxigênio e enxofre possuem isótopos de ocorrência natural na biosfera, sendo os principais elementos dos ciclos biológicos, hidrológicos e geológicos (CLARK e FRITZ, 1997). Cada elemento possui um isótopo

leve dominante, carbono-12 ( $^{12}\text{C}$ ), hidrogênio-1 ( $^1\text{H}$ ), nitrogênio-14 ( $^{14}\text{N}$ ) e oxigênio-16 ( $^{16}\text{O}$ ), e um ou mais isótopos estáveis pesados, carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ), hidrogênio-2 ( $^2\text{H}$ ), nitrogênio-15 ( $^{15}\text{N}$ ), oxigênio-17 ( $^{17}\text{O}$ ) e oxigênio-18 ( $^{18}\text{O}$ ) com abundância expressa em átomos % (CRISS, 1999). A abundância natural para os isótopos estáveis de carbono-12 e carbono-13 é de aproximadamente 98,89 e 1,11 átomos %, respectivamente (PRESTON, 1992).

A espectrometria de massas de razão isotópica permite mensurar a concentração de um determinado elemento sob forma gasosa ( $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ). Após sua combustão e passagem por fonte de ionização, há formação de feixes de íons os quais são separados por campo magnético de acordo com relação massa/carga. A medida da relação entre os isótopos estáveis mesurados é obtida através da expressão (1) de enriquecimento isotópico relativo:

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

A simbologia da expressão (1) indica que (i) refere-se ao isótopo pesado do elemento químico em consideração e (R) refere-se a razão entre o elemento pesado e o leve. A terminologia  $\delta$  reflete o enriquecimento relativo da razão isotópica da amostra expresso em ‰, comparativamente à razão isotópica do padrão internacional (DUCATTI, 2004).

O padrão internacional para carbono-13 é expresso em padrão *Peedee Belemnite* (PDB) e trata-se de um carbonato sólido na formação *Peedee* da Carolina do Sul, Estados Unidos (BARRIE e PROSSER, 1996).

A técnica dos isótopos estáveis que ocorrem naturalmente como indicadores dietéticos proporciona estimar a quantidade do alimento ingerido, que foi assimilado pelo organismo animal, de modo que informações de dietas consumidas por longos períodos possam ser obtidas (HOBSON e CLARK, 1992b). Os isótopos de um elemento possuem propriedades químicas semelhantes, por isso as moléculas isotópicas apresentam a mesma probabilidade de entrar em um meio biológico, apesar de possuírem diferentes números de massa, presente no núcleo. Como a eletrosfera do átomo é comum a todos os isótopos, ela mascara o conteúdo do núcleo, enganando o processo seletivo das membranas biológicas sendo utilizadas como traçadores (DUCATTI, 2004).



As plantas do ciclo fotossintético  $C_3$  e  $C_4$  apresentam assinaturas isotópicas distintas devido ao fracionamento durante a fixação de carbono. A via fotossintética de fixação de  $CO_2$  pelas plantas é o mecanismo que determina se a planta é  $C_3$  ou  $C_4$ . Esta classificação está de acordo com o número de átomos de carbono presente no primeiro composto orgânico a ser formado, no caso, um ácido carboxílico. Nas plantas  $C_3$  este ácido é constituído por três átomos e nas plantas  $C_4$  por quatro átomos de carbono (SMITH e EPSTEIN, 1971; KENNEDY e KROUSE, 1990; VOGEL, 1993). Como exemplo de plantas  $C_3$  tem-se a soja, o arroz, o trigo, a cevada e o algodão. Já as forrageiras tropicais, o milho, a cana e o sorgo, são exemplos de plantas  $C_4$ .

As plantas  $C_3$ , durante a assimilação fotossintética, realizam o ciclo de Calvin-Benson para a fixação do  $CO_2$  atmosférico e apresentam valores de  $\delta^{13}C$  na faixa de -22 a -34‰. As plantas  $C_4$  fixam o  $CO_2$  através do ciclo Hatch-Slack e apresentam valores de  $\delta^{13}C$  entre -9 a -16‰. O valor negativo apresentado indica que as plantas ou seus subprodutos apresentam valores menores que o padrão internacional. A diferença ao redor de 14‰ entre as plantas  $C_3$  e  $C_4$  proporciona a utilização dessas plantas e de seus subprodutos como marcadores em animais, sem a necessidade do uso de compostos marcados (DUCATTI, 2004).

Apesar de cada tecido do animal apresentar assinatura isotópica, fator de fracionamento, taxa de troca isotópica e *turnover* distintos, o animal é aquilo que consome isotopicamente  $\pm 2,0‰$  para  $^{13}C$  (HOBSON e CLARK, 1992a; 1992b).

A utilização dos isótopos estáveis através da razão isotópica de carbono ( $^{13}C/^{12}C$ ) também tem favorecido a autenticação de produtos como suco de frutas (KOZIET et al., 1993), méis (WHITE et al., 1993), vinhos (MARTIN et al., 1988) e óleos vegetais (KELLY et al., 1997). Também permite em associação com a razão isotópica de nitrogênio ( $^{15}N/^{14}N$ ), diferenciar o regime alimentar de um animal que foi submetido por um período determinado a essa dieta e caracterizar o local de origem desses animais (GONZÁLEZ-MARTÍN et al., 2001; PIASENTIER et al., 2003).

A técnica de isótopos estáveis vem sendo empregada com sucesso na Universidade Estadual Paulista, no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, na rastreabilidade da inclusão de farinha de origem animal na alimentação de frangos de corte (CARRIJO et al., 2006; GOTTMANN et al., 2008; GOTTMANN, 2010), aves de postura (DENADAI et al., 2006; DENADAI et al., 2008) e codornas (MÓRI et al., 2007; SERNAGIOTTO,

2009), através da análise do sangue, plasma, vísceras, penas e tecido muscular, cartilaginoso e ósseo desses animais. Atualmente tem-se focado o uso dos isótopos estáveis em pesquisas envolvendo *turnover* tecidual, alocação de nutrientes e balanço protéico.

### 3. *Turnover*

Todos os constituintes do organismo, incluindo as proteínas, não são permanentes, encontrando-se em processo contínuo de degradação e síntese. Determinadas proteínas são degradadas e outras tantas são sintetizadas continuamente. A manutenção da concentração de determinada proteína é obtida pela síntese da mesma em quantidade equivalente a da sua degradação, embora existam flutuações transitórias, a concentração protéica geral mantém-se constante no animal adulto hígido (MARZZOCO e TORRES, 2010).

Como a composição de aminoácidos das proteínas varia, o conjunto de aminoácidos originado das proteínas que estão sendo degradadas, não é igual aquele necessário para compor as proteínas que estão sendo sintetizadas. Os aminoácidos excedentes não podem ser armazenados, sendo oxidados e seu nitrogênio excretado (MARZZORCO e TORRES, 2010).

Todas as substâncias presentes no organismo animal sejam metabólitos orgânicos ou inorgânicos, estão sujeitas ao *turnover*. O processo de *turnover* decorre através da renovação contínua dos elementos químicos que constituem os tecidos corporais como um todo, sendo um procedimento dinâmico e contínuo (HETENYI et al., 1983).

A renovação contínua dos elementos químicos e, conseqüentemente, dos isótopos que compõe os tecidos corporais ou o organismo como todo, é denominado *turnover* isotópico. Este processo é resultado da renovação tecidual decorrente da síntese, degradação dos tecidos adultos ou pelo crescimento de tecidos em formação (diluição isotópica) (ZUANON et al., 2007).

A mensuração do *turnover* de componentes corporais e órgãos dos animais é possível através da utilização de dietas com assinaturas isotópicas distintas. A escolha do tecido para análise isotópica dependerá do interesse em questão, pois após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica do tecido determinado dependerá da velocidade de constituição deste (TIESZEN et al., 1983). Para verificação de dietas

consumidas recentemente, deve-se escolher tecidos metabolicamente mais ativos (sangue, fígado, pâncreas), pois apresentam rápida taxa de troca isotópica. Para investigar dietas consumidas em longo prazo, prioriza-se a análise de tecidos metabolicamente menos ativos (colágenos de ossos, penas) devido a mais lenta taxa de troca isotópica (HOBSON e CLARK, 1992a).

#### **4. Aminoácidos**

Os aminoácidos além de fazerem parte da constituição de proteínas, são precursores de muitos compostos nitrogenados que apresentam funções fisiológicas importantes como as moléculas de porfirinas, hormônios, neurotransmissores e pirimidinas (CHAMP et al., 2009).

Os aminoácidos não são armazenados pelo organismo, pois não possuem uma proteína cuja única função seja o suprimento de aminoácidos para serem utilizados posteriormente, diferentemente das gorduras e carboidratos. Portanto, os aminoácidos devem ser obtidos da dieta, da degradação protéica normal ou sintetizados “de novo”. A presença de aminoácidos excessivos em relação às necessidades biossintéticas celular ocasiona rápida degradação (CHAMP et al., 2009).

A absorção dos aminoácidos se dá no intestino delgado e são hidrolisados superficial e intracelularmente, sendo o íleo o principal sítio de absorção via, quase inteiramente, na forma livre. Os aminoácidos livres são absorvidos pelos enterócitos contra gradiente de concentração, através de um sistema de transporte secundário ligado ao Na<sup>+</sup>. Os dipeptídeos e tripeptídeos são captados por um sistema de transporte ligado ao H<sup>+</sup> e hidrolisados no citosol das células do intestino, produzindo aminoácidos, que são liberados para o sistema porta. Sendo assim, após uma refeição contendo aminoácidos, são encontrados na via porta aminoácidos livres (RUTZ, 2002; CHAMP et al., 2009).

O catabolismo dos aminoácidos encontrados nas proteínas envolve a remoção dos grupos  $\alpha$ -amino seguido por oxidação do esqueleto carbônico remanescente (CHAMP et al., 2009; MARZZOCO e TORRES, 2010). O processo de catabolismo forma produtos intermediários como  $\alpha$ -cetogluturato, fumarato, acetil Co-A, oxalacetato, piruvato, succinil Co-A e, acetoacetato. Esses produtos atuam nas vias do metabolismo intermediário, os quais resultam tanto na síntese de glicose e lipídios, como na produção

de energia por oxidação a dióxido de carbono e água, no ciclo do ácido cítrico (CHAMP et al., 2009).

A capacidade de transporte de aminoácidos do lúmen para o citosol do enterócito depende da disponibilidade e afinidade de transportadores para com o substrato e da concentração de aminoácidos dentro e fora da célula. Como o transporte dos aminoácidos depende de transportadores (proteínas de membrana), há fatores que interferem em sua síntese, podendo assim, prejudicar o transporte de aminoácidos. Baixos níveis de vitamina D, vitamina E, vitamina B6 e tiamina reduzem a velocidade de transporte de aminoácidos em aves (RUTZ, 2002).

Segundo Rutz (2002), a absorção dos aminoácidos é influenciada pela estereoespecificidade. Ao aminoácidos D e L são transportados ativamente, mas com diferentes taxas de absorção. Os L-aminoácidos possuem maior especificidade química e afinidade com o sítio de absorção e são absorvidos contra um gradiente de concentração, sendo a absorção mais rápida que os D-isômeros.

Ao se fornecer alimento às aves após restrição alimentar não severa observa-se aumento na capacidade de absorção de aminoácidos devido a elevação do número de transportadores disponíveis. Caso a restrição alimentar seja severa, poderá ocorrer redução no número de vilos intestinais e, conseqüentemente, perda por descamação dos enterócitos, principalmente no terço apical dos vilos, os quais possuem capacidade absorptiva. Neste caso, o fornecimento de alimento deverá ser gradativo para que haja tempo para a mucosa absorptiva se recompor (RUTZ, 2002).

De acordo com Leclercq (1998), a proteína em excesso na alimentação das aves é catabolizada resultando na excreção de ácido úrico. Baseado no princípio que o custo metabólico estimado na incorporação do aminoácido na cadeia protéica é de 4 mols de ATP e, o custo estimado da excreção do nitrogênio resultante do catabolismo é na faixa de 6 a 18 mols de ATP, conclui-se que a excreção de nitrogênio em excesso possui alto custo metabólico ou calórico. Como consequência, pode-se observar prejuízo no desempenho de aves alimentadas com excesso de proteína ou aminoácidos, pois a energia destinada para acréscimo de massa muscular poderá ser desviada para a excreção de nitrogênio.

Os aminoácidos além de serem constituintes das proteínas, fornecem energia por conter carbono, também podem ser substratos para a neoglicogênese, pois a maioria dos

aminoácidos podem ser convertidos em glicose quando a sua disponibilidade for limitada. Apesar de não existir local de armazenamento de aminoácidos no corpo, a proteína do músculo esquelético pode ser prontamente degradada em uma situação de deficiência, tanto protéica quanto energética (CHAMP et al., 2009).

#### 4.1- Metionina e Lisina

Os aminoácidos são classificados conforme a propriedade do grupo radical (R). A metionina é classificada como grupo R não-carregado, mas polar, pois seu grupo R forma pontes de hidrogênio com a água. A lisina é classificada como grupo R carregado positivamente, básico, com capacidade de receber prótons (Figura 1) (LEHNINGER et al., 1995; CHAMP et al., 2009). Metionina e lisina são aminoácidos essenciais para aves e mamíferos porque são incapazes de sintetizá-los em velocidade e quantidade suficiente para suprir sua exigência, sendo então, fornecidos através dos alimentos ou sob forma sintética, com o objetivo de suprir a necessidade específica dos mesmos (ANDRIGUETTO et al., 1990).



**Figura 1.** Fórmulas estruturais dos aminoácidos metionina e lisina (LEHNINGER et al. 2002).

A metionina é sintetizada naturalmente por plantas e microrganismos a partir do aspartato (LEHNINGER et al., 2002). É essencial à nutrição das aves por ser um dos principais doadores de grupo metil, na forma de S-adenosilmetionina, necessário à todas as reações biológicas de metilação. Os grupos metil lábeis participam da síntese de aminoácidos, creatina, poliaminas, fosfolipídeos, epinefrina, colina, melatonina, DNA e RNA (TESSERAUD et al., 2011).

Um grupo metil é formado por três átomos de hidrogênio e um átomo de carbono. É chamado de grupo metil lábil ou grupo metil lábil pré-formado, quando é possível transferir esta molécula de uma célula para outra no organismo animal (PESTI, 1989).

A metionina, além de ser substrato para síntese protéica, também é intermediária nas reações de transmetilação, da rota catabólica da colina e precursora de outros aminoácidos sulfurados, como a cisteína e a taurina (STORCH et al., 1990). A metionina interrelaciona-se com o ácido fólico, ambos geram grupos metil lábeis utilizados na re-metilação da homocisteína, formando metionina *in vivo*. Este processo torna-se importante devido à melhoria no desenvolvimento corporal de frangos de corte em idade inicial de criação (RYU et al., 1995). A colina somente pode substituir a metionina na síntese protéica, se a homocisteína estiver presente na dieta (BERTECHINI, 2006).

De acordo com Champ (2009), a metionina é considerada aminoácido glicogênico por produzir succinil Co-A. Quando convertida em S-adenosilmetionina (SAM), principal doador de grupos metila no metabolismo dos compostos de carbono. O SAM através da perda do grupo metil e de hidrólise forma a homocisteína. Então em quadro de deficiência de metionina, a homocisteína pode ser novamente metilada resultando em metionina. Quando os níveis de metionina se encontram adequados a homocisteína pode entrar na via de transulfuração e ser convertida em cisteína (CHAMP et al., 2009).

Os aminoácidos sulfurados participam do sistema antioxidante. Resíduos de metionina são suscetíveis à oxidação por espécies reativas de oxigênio e como resultado produz a metionina sulfóxido. Níveis de metionina presentes da dieta de frangos de corte influenciam a atividade da enzima metionina sulfóxido redutase, a qual restabelece a metionina sulfóxido em metionina (MOSKOVITIZ et al. 1995; LEVINE et al., 1996). Esta enzima também recupera proteínas oxidadas, prevenindo assim, o acúmulo celular de proteínas danificadas, com implicações potenciais na saúde animal, no desenvolvimento tecidual e na qualidade de produtos (carne) (STADMAN et al., 2007).

A metionina pode ser utilizada no controle de enterite necrótica. Em aves desafiadas com *Clostridium perfringens* e *Streptococcus* houve um menor desenvolvimento bacteriano no íleo e ceco nas aves que tiveram sua dieta suplementada com excesso de metionina. O efeito tóxico da metionina nestas espécies bacterianas é

observado pela diminuição das lesões intestinais causadas pela enterite necrótica decorrente do aumento do consumo deste aminoácido (DAHIYA et al., 2007).

Altos níveis de metionina no período de 21 a 42 dias de idade influenciaram positivamente o ganho de peso, consumo, conversão alimentar e o rendimento de peito (SCHUTTE e PACK, 1995; PESTI et al., 1999; ALBINO et al., 1999). Porém o excesso de metionina causou maior deposição de gordura abdominal, diminuição do ganho de peso, inibição na utilização da treonina e aumento no tamanho de fígado (KATZ e BAKER, 1975; MENDES et al., 1993; GOUS et al., 1999 ; WHITAKER et al., 2002).

A suplementação de metionina aumentou a síntese de proteína, reduziu o catabolismo dos demais aminoácidos não-limitantes, reduzindo a excreção de ácido úrico, produto final do catabolismo dos aminoácidos. Dessa forma a excreção de ácido úrico pode ser aplicada na determinação dos níveis nutricionais da metionina (BROWN e CLINE, 1974; MILES e FEATHERSTON, 1974).

Nos pintos em crescimento a deficiência de metionina+cistina proporcionou maior efeito no crescimento das aves e balanço de nitrogênio, enquanto a deficiência de lisina ocasionou efeito menos pronunciado no crescimento (KINO e OKUMORA, 1986).

A lisina possui grande importância na composição de tecido muscular esquelético, sendo o aminoácido mais abundante no músculo do peito de frangos de corte (TESSERAUD et al., 2001).

Estudos realizados com dietas deficientes em lisina tem revelado que as taxas fracionais de proteólises mensuradas no músculo *Pectoralis major* em aves (valores expressos em %/dia) são maiores em animais com restrição de lisina na dieta, independente da idade ou genótipo da ave (TESSERAUD et al., 1996, 2001).

Nos músculos das aves as variações diárias no conteúdo de lisina na dieta afetam a via proteolítica ubiquitina-proteossomo, influenciando a enzima E3 (também conhecida como ubiquitina ligase), a qual é responsável pela ativação da ubiquitina. A via ubiquitina-proteossomo promove degradação seletiva de proteína (TESSERAUD et al., 2011). A ubiquitina marca a proteína a ser degradada e o proteossomo fragmenta a proteína em aminoácidos, porém esse processo requer trifosfato de adenosina (ATP), ou seja, requer energia (CHAMP et al., 2009; TESSERAUD et al., 2011). Também possui influência na expressão gênica da atrogina-1, também participante da via

proteolítica ubiquitina-proteossomo, cuja função é evitar a atrofia muscular e proliferação de tecido conjuntivo em músculo lesionado (TESSERAUD et al., 2011).

A lisina é aminoácido exclusivamente cetogênico. Nenhum dos seus grupos amino sofre transaminação como primeiro passo de seu catabolismo, sendo convertida em acetoacetil Co-A diretamente, sem a formação intermediária de piruvato (CHAMP et al., 2009).

Nota-se que a lisina é um dos aminoácidos que exerce o mais específico efeito na composição da carcaça e crescimento muscular. Importante efeito particular tem sido observado no desenvolvimento do músculo do peito das aves (TESSERAUD et al., 1996). É provável que o músculo do peito das aves represente a principal reserva de lisina que pode ser mobilizada em condição de deficiência.

O efeito da lisina no desenvolvimento do músculo do peito pode ser atribuído ao fato de ser o aminoácido essencial mais abundante nas proteínas presentes no músculo esquelético (TESSERAUD et al., 1996). Berri et al. (2008) observaram que o aumento da lisina pode melhorar a qualidade do músculo peitoral, aumentando o pH e a capacidade de retenção de água, mas os mecanismos que proporcionam isto ainda são desconhecidos.

A elevação do consumo de lisina proporciona maior ganho de peso em pintos na fase inicial (CONHALATO, 1998). O aumento dos níveis de lisina, sem considerar os demais aminoácidos, pode resultar em desempenho limitado por deficiência de algum outro aminoácido, além de influenciar na redução de ingestão de alimentos pelas aves (VALERIO et al., 1999). A elevação da relação lisina/proteína acima de 5% contribui para redução da eficiência da lisina para ganho de peso (CELLA et al., 2001).

Altos níveis de lisina são necessários para minimizar a porcentagem de gordura abdominal, melhorar a conversão alimentar e maximizar rendimento de peito e ganho de peso corporal (LECLERCQ, 1998).



## 5. Exigências Nutricionais

Sakomura e Rostagno (2007) definem que a exigência de um nutriente pode ser a quantidade do mesmo a ser fornecido na dieta para atender as necessidades do animal em condições ambientais compatíveis com boa saúde animal, mas, pode ser interpretada como sendo a quantidade indispensável para atender determinado nível de produção. Geralmente é expressa em termos de valor absoluto (quantidade mínima do nutriente por animal ou produção) ou quantidade relativa (concentração de nutriente na dieta).

As recomendações nutricionais propostas, atualmente utilizadas, baseiam-se no NRC (1994) e nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2011). O NRC divide o período de criação em duas fases (da eclosão aos 21 dias, dos 22 dias de idade ao abate), já as Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2011), divide em cinco fases (1 a 7 dias; 8 a 21 dias; 22 a 33 dias; 34 a 42 dias, 43 a 46 dias de idade). Assume-se que a digestão e absorção de nutrientes, pelas aves, dentro de cada faixa etária sejam iguais (POHAL, 2004).

A redução da proteína bruta da dieta abaixo das recomendações comerciais, somente é possível, quando as exigências por aminoácidos essenciais forem supridos pela adição dos mesmos sob a forma sintética, porém a quantidade de proteína bruta presente deve fornecer a quantidade de aminoácidos não-essenciais exigidos. A exigência de proteína é determinada pela composição aminoacídica das proteínas formadas no organismo animal. A soma de cada aminoácido exigido para manutenção e produção constitui a exigência diária de aminoácidos, como exemplo, a formação de penas é um processo que exige elevada quantidade de aminoácidos sulfurados (POHAL, 2004).

A resposta a níveis protéicos em frangos de corte varia na dieta de acordo com a fase de criação, linhagem, sexo, presença de fibra na dieta, níveis de energia, entre outros (VIOLA et al., 2008).

As exigências de aminoácidos para manutenção diferem de acordo com as funções de cada aminoácido, composição das secreções e excreções endógenas. Aves alimentadas com dietas deficientes em isoleucina ou valina perdem peso rapidamente, seguida de mortalidade precoce, mas aquelas alimentadas com dietas deficientes em lisina ou histidina perderam peso vagarosamente e sobrevivem por mais tempo (OUSTERHOUT, 1960). Esta observação é decorrente do baixo *turnover* de lisina em comparação aos aminoácidos de *turnover* mais rápido como a metionina, treonina e triptofano

(TESSERAUD et al., 1996; BERRI et al., 2008). A importância dos aminoácidos sulfurados na manutenção é enfatizada pela participação da queratina na formação da pele e penas (BAKER, 1991).

## **6. Determinação de exigências nutricionais**

Os métodos de dose-resposta e fatorial são as metodologias mais utilizadas para determinação das exigências nutricionais de aminoácidos. A determinação através do método de dose-resposta se dá por meio da avaliação do desempenho das aves ao serem utilizadas dietas com diferentes níveis do aminoácido estudado, enquanto o método fatorial baseia-se na quantidade de aminoácido necessário para manutenção, crescimento protéico e produção (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

### **6.1. Método de dose-resposta.**

A metodologia mais utilizada tem sido a de dose-resposta por ser de fácil execução. Esse método deve ser abordado em diversas condições devido aos diferentes ambientes, genéticas e climas, na qual a criação de frangos de corte está submetida, para adequada determinação da exigência nutricional de aminoácidos. Geralmente é aplicado em ensaios aonde o desempenho das aves é avaliado (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

A metodologia de dose-resposta baseia-se na resposta das aves ao aumento da ingestão de determinado aminoácido. A adição do aminoácido na ração deve se manter em níveis adequados em relação aos demais nutrientes, promovendo assim, o crescimento animal até que sua exigência seja atendida. O resultado do acréscimo do aminoácido da ração pode ser observado em quatro fases distintas: inicial, resposta, estável e tóxica. Na fase inicial, o acréscimo do aminoácido garante apenas a manutenção do animal, pois os níveis são insuficientes para permitir o crescimento. Na fase resposta, o crescimento é iniciado com melhor eficiência alimentar e estabilização da produção. Na fase estável não é verificada resposta na produção ou toxicidade proveniente de excesso de aminoácido, porém economicamente estes níveis não são recomendados. Na fase tóxica há redução de produção decorrente de antagonismo ou interação entre aminoácidos (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

As dietas são formuladas pela técnica da diluição ou suplementação. Segundo Sakorura e Rostagno (2007), na técnica de suplementação as dietas são formuladas para

atender as exigências de todos os nutrientes, exceto no aminoácido estudado, o qual é suplementado a partir da dieta basal. A técnica de diluição consiste na formulação de duas dietas: uma com alto nível de aminoácido a ser estudado juntamente com os demais aminoácidos, conforme o estabelecido pelo conceito de proteína ideal, e a outra dieta será isenta de proteínas e aminoácidos, mas com os mesmos teores de energia, vitamina e minerais. As dietas são misturadas a fim de obter a mesma relação de aminoácidos em todas as dietas, mantendo assim, o mesmo perfil de aminoácidos, contudo as restrições dessa técnica são as variações de proteína conforme as misturas.

O aumento sucessivo de um aminoácido limitante acarreta o desbalanceamento dos demais aminoácidos, podendo afetar a resposta do animal. Nestes ensaios o consumo do aminoácido em questão deve ser considerado e não a sua concentração na dieta. Caso o aminoácido avaliado tenha relações antagônicas com outro, ambos devem ser suplementados para evitar esse efeito. A metodologia de dose-resposta é a mais utilizada por ser de fácil execução, barata e os resultados dos experimentos correspondem razoavelmente bem com os dados de campo observados pela indústria de rações (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

Nos ensaios dose-resposta avaliam-se parâmetros de desempenho dos animais, sendo as características mais avaliadas o ganho de peso, conversão alimentar e rendimento de carcaça, com ênfase no rendimento de peito. A excreção de ácido úrico pelas aves também é considerada na estimativa da exigência de aminoácido (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

Como critério para avaliação dos ensaios de dose resposta pode-se usar a comparação das médias dos tratamentos, modelo linear *broken line*, modelo quadrático e modelo não linear (modelo exponencial). A aplicação dos modelos dependerá da relação entre os níveis de aminoácidos estudados e a resposta dos mesmos (rendimento de carcaça, conversão alimentar e ganho de peso) (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

## 6.2. Método fatorial

O método fatorial estima as exigências nutricionais considerando diferenças de peso, composição corporal, potencial de crescimento e produção, assim como as condições ambientais em que os animais se encontram. Esta metodologia estabelece que o consumo de alimento deva ser fracionado para manutenção (*turnover* de proteína corporal, perda de aminoácidos pela pele e penas, perda endógena pelo trato gastrointestinal, síntese de componentes de nitrogênio não protéico e perda através de excreção de ácido úrico), crescimento (acréscimo de proteína corporal) e produção. Este método é considerado uma ferramenta para compreensão do metabolismo energético e protéico dos animais (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

A manutenção é definida como o estado em que o animal se encontra em equilíbrio com nitrogênio, quando sua ingestão é igual à soma das perdas permanecendo constante o conteúdo de nitrogênio do corpo (FULLER et al., 1994). Para manter o equilíbrio do nitrogênio, deve haver suprimento de aminoácidos na mesma taxa em que são perdidos pelo metabolismo, secreção e excreção do corpo. As perdas obrigatórias incluem a excreção endógena, fecal e urinária, perdas irreversíveis durante a síntese protéica, síntese de substâncias não protéica, taxa de oxidação dos aminoácidos e perdas do epitélio (FULLER et al., 1994).

A eliminação de ácido úrico resultante do catabolismo do excesso de aminoácidos através da excreção endógena não deve ser considerada nas necessidades de manutenção. Porém a excreção de creatina pela urina deve ser incluída na exigência de manutenção, por ser um produto essencial ao metabolismo energético e necessitar de arginina e metionina como parte do metabolismo endógeno de nitrogênio (FULLER et al., 1994).

Para o animal reter um grama de proteína corporal, a dieta deve suprir a necessidade de aminoácido para formação desta proteína, como também para suprir as perdas, as quais resultam em diminuição da eficiência de utilização desses aminoácidos. A determinação dessa eficiência é importante para aplicação do método fatorial para estimar exigência dos aminoácidos (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

Neste método as aves adultas recebem dieta purificada contendo apenas 40% das exigências de aminoácidos, com exceção do aminoácido estudado, o qual será fornecido em cinco níveis, variando de 0,0 a 40% da recomendação. Após o período analisado as aves são sacrificadas, autoclavadas, moídas, liofilizadas, desengorduradas e

homogenizadas. A composição de aminoácidos é determinada por hidrólise em HCL (6mol/l), por 24 horas, por cromatografia de troca iônica. Os resultados são avaliados por regressão polinomial da proteína retida ou do aminoácido corporal retido em função dos níveis ingeridos (SAKOMURA e COON, 2003).

Outro método para se determinar estimativas de aminoácidos para manutenção baseia-se na relação de deposição protéica com a suplementação do aminoácido limitante na dieta. As análises de proteína bruta, além de serem mais facilmente executadas, possuem custo inferior aos aminogramas. As exigências são expressas, por ave, por quilograma de peso metabólico ou por quilograma de peso protéico. Já, a eficiência de utilização do aminoácido é estimada pelo seu acréscimo na deposição corporal em função do consumo, ou seja, é a proporção do aminoácido ingerido que foi depositado no corpo da ave (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

A metodologia utilizada pelas Tabelas Brasileiras (ROSTAGO et al., 2011) que estimaram a exigência de lisina para aves, baseia-se no conhecimento prévio do desempenho do animal (peso corporal, ganho de peso e consumo alimentar). Estas informações são aplicadas sob a forma de equações para estimar a exigência de lisina disponível (g/dia) para manutenção, ganho e peso. As exigências dos outros aminoácidos essenciais são calculadas a partir do conceito de proteína ideal, considerando a lisina como padrão (100%) (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

Em estudos para exigência de manutenção de aminoácidos há muitas variações de resultados indicando a necessidade de se padronizar um método para esta estimativa. A utilização de diferentes critérios para interpretar os resultados, tem levado a variações nas conclusões dos níveis recomendados.

## **7. Tecidos corporais**

### **7.1. Tecido muscular**

A maior quantidade de proteínas contidas no corpo do animal está presente nos tecidos musculares. O tecido muscular é considerado uma mistura de proteína diluída em solução aquosa, por conter aproximadamente 70% de água. Água e proteína estão presentes em uma razão aproximada de 4:1. A quantidade de carboidrato é pequena, sendo o glicogênio a forma predominante encontrada, e em quantidades mínimas, ácido láctico e ácido cítrico. Contém fosfolipídios e colesterol em quantidade variável. Os

compostos inorgânicos predominantes são o potássio, fósforo e enxofre e em menores teores, também são encontrados, magnésio, cálcio, ferro, cobalto, cobre, zinco e manganês (GONZÁLES e SARTORI, 2002).

O tecido muscular é influenciado diretamente pela quantidade e balanceamento de aminoácidos presentes nas dietas. Em situação de deficiência ou desbalanço de aminoácidos, este tecido é prontamente degradado para suprir outros tecidos considerados mais vitais (TESSERAUD et al., 2011).

### **7.2. Plasma sanguíneo**

O volume do plasma corresponde à parte líquida do sangue e equivale a cerca de 5% do peso corporal das aves. O plasma é uma solução aquosa formada por compostos de pequeno e elevado peso molecular, que correspondem a 10% do seu volume. As proteínas plasmáticas correspondem a 7% (globulinas, albumina e fibrinogênio), os compostos inorgânicos a 0,9% (sódio, potássio, cálcio, magnésio e cloro), e o restante composto por elementos orgânicos diversos como aminoácidos, vitaminas, hormônios (insulina, epinefrina e tiroxina), glicose e resíduos do metabolismo (creatinina, ácido úrico e bilirrubina). O plasma é considerado indicador da composição do líquido extracelular, pois os componentes de baixo peso molecular estão em permanente equilíbrio através das paredes dos capilares e das vênulas com o líquido intersticial dos tecidos (MACARI et al., 2002).

O plasma sanguíneo possui rápida taxa de troca isotópica incidindo em ligeira adequação a alimentação fornecida às aves, possibilitando a verificação de alterações metabólicas (FERNÁNDEZ-FÍGARES et al., 1997).

### **7.3. Fígado**

O fígado é, por excelência, o órgão de escolha para se conhecer a condição de saúde geral e nutricional dos animais. Alterações causadas por problemas decorrentes de, principalmente, mau manejo alimentar, além de falhas nos manejos sanitário e zootécnico, ou da presença generalizada de agentes infecciosos refletem em sua estrutura e função (TIRAPEGUI e ROGERO, 2007).

No metabolismo protéico, o fígado exerce funções importantes como: formação de proteína plasmática, remoção da amônia nos líquidos corporais, desaminação de aminoácidos e, interconversões entre diferentes aminoácidos e outros compostos importantes para o metabolismo do organismo. É responsável pela síntese de cerca de 90% das proteínas plasmáticas (TIRAPEGUI e ROGERO, 2007).

O fígado também apresenta elevada taxa de troca isotópica, respondendo rapidamente a alterações nutricionais, sendo um órgão essencial às alterações e necessidades metabólicas (HOBSON e CLARK, 1992a).

## 8. Justificativa e objetivo

O fornecimento de dieta com desbalanço protéico ou com proteínas de baixo valor biológico, além de interferir negativamente no desempenho produtivo do animal, acarreta também danos ambientais e financeiros. Observa-se comprometimento do desenvolvimento do animal através da síntese e/ou catabolismo do tecido muscular podendo influenciar negativamente no rendimento de carcaça.

Na alimentação de frangos de corte, a lisina e a metionina são aminoácidos limitantes, devendo ser suplementados por meio de suas formas sintéticas, tendo em vista que as rações a base de milho e farelo de soja são deficientes nestes aminoácidos. Dessa forma, estudos com diferentes concentrações de aminoácidos poderão auxiliar na compreensão dos processos de nutrição que envolvem os frangos de corte, contribuindo para a eficácia do balanceamento nutricional.

Utilizando a abundância natural do carbono-13, objetivou-se avaliar a taxa de troca isotópica do carbono nos tecidos de frangos de corte perante suplementação dos aminoácidos metionina e lisina.

O Capítulo II, denominado “**Avaliação da essencialidade da metionina e lisina em frangos de corte pelo turnover de isótopos de carbono**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Revista Brasileira de Ciência Avícola – Brazilian Journal of Poultry Science*, publicada pela Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de metionina e lisina sobre a taxa de troca isotópica do carbono em tecidos de frangos de corte e seu processo de renovação, utilizando-se a variação natural do carbono-13.



## 9. Referências bibliográficas

- ALBINO, L. F. T.; SILVA, S.H.M.; VARGAS JR, J. G. V.; ROSTAGNO, H. S.; SILVA, M. A. Níveis de metionina mais cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.28, n.3, p.519-525, 1999.
- ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A. **Nutrição animal**. v1. As bases e os fundamentos da nutrição animal. Os alimentos. 4ed. São Paulo: Nobel, 395p., 1990.
- BAKER, D. H. Partitioning of nutrients for growth and other metabolic functions. **Poultry Science**, Champaign, v.70, p.1797-1805, 1991.
- BERRI, C.; BESNARD, J.; RELANDEAU, C. Increasing dietary lysine increases final pH and decreases drip loss of broiler breast meat. **Poultry Science**, Champaign, v.87, p.480-488, 2008.
- BARRIE, A.; PROSSER, S. S. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T. W.; YAMASAH, S. **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996, p.1-46.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 301p., 2006.
- BROWN, J.A.; CLINE, T.R. Urea excretion on the pig: an indicator of protein quality and amino acid requirement. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.104, p.542-545, 1974.
- CARRIJO, A.S.; PEZZATO, A.C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J.R.; TRINCA, L.; SILVA, E.T. Traceability of Bovine Meat and Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.8, n.1, p.37-42, 2006.
- CHAMP, P.C.; HARVEY, R.A.; FERRIER, D.R. **Bioquímica ilustrada**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 528p., 2009.
- CELLA, P. S.; DONZELE, J. L.; OLIVEIRA, R. F. M.; ALBINO, L. F. T.; FERREIRA A.S.; GOMES, P.C.; VALERIO, S.R. Níveis de lisina mantendo a relação aminocídica para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade em diferentes ambientes térmicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.2, p.433-439, 2001.
- CLARK, I.; FRITZ, P. **Environmental isotopes in hydrogeology**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1997. 328 p.
- CONHALATO, G. S. **Exigência de lisina digestível para frangos de corte machos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 79p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- CRISS, R. E. **Principles of stable isotopes distribution**. New York Oxford University Press, 1999, 254p.

DAHIYA, J. P.; HOEHLER, D.; VAN KESSEL, A. G.; DREW, M. D. Effect of different dietary methionine sources on intestinal microbial populations in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p.2358–2366, 2007.

DENADAI, J.C.; DUCATTI, C.; PEZZATO, A.C. CARRIJO, A.S; CALDARA, F.R.; OLIVEIRA, R.P Studies on carbon-13 turnover in eggs and blood of commercial layers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 8, p. 251-256, 2006.

DENADAI, J.C.; DUCATTI, C.; SARTORI, J.R.; PEZZATO, A.C.; MÓRI, C.; GOTTMANN, R.; MITUO, M.A.O; BORDINHON, A.M The traceability of animal meals in layer diets as detected by stable carbon and nitrogen isotope analysis of eggs. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 10, p. 189-194, 2008.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. [apostila]. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 184 p. 2004.

FERNÁNDEZ-FÍGARES, I.; PRIETO, C.; NIETO, R.; AGUILERA, J.F. Free amino acids concentration in plasma, muscle and liver as indirect measures of protein adequacy in growing chickens. **Animal Science**, Cambridge, v.64, p.529-539, 1997.

FULLER, M.F.; DARCY, B.V.; LAPLACE, J.P. The measurement of dietary amino acid digestibility in pigs, rats and chickens: a comparison of methodologies. **Animal Feed Science and Technology**, London, v.48, p.305-324, 1994.

GONZÁLEZ-MARTIN, I.; GONZÁLEZ-PÉREZ, C.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J.; SÁNCHEZ GONZÁLEZ, C. Differentiation of dietary regimen of Iberian swine by means of isotopic analysis of carbon and sulphur in hepatic tissue. **Meat Science**, London, v.58, p.25-30, 2001.

GONZALES, E.; SARTORI, J.R. Crescimento e metabolismo muscular. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, UNESP, p.135-141, 2002.

GOTTMANN, R.; PEZZATO, A.C.; DUCATTI, C.; DENADAI, J.C.; MITTUO, M.A.O.; MÓRI, C.; SARTORI, J.R. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Revista Agropecuária Brasileira-PAB**, Brasília, v.43, n.12, p1641-1647, 2008

GOTTMANN, R. **Deteção de farinha de vísceras nas fases de alimentação em frangos de corte pela técnica dos isótopos estáveis**. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2010.

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

HETENYI, G. J. R.; PEREZ, G.; VRANIC, M. Turnover and precursor-product relationships of non lipid metabolites. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 63, n. 2, p. 606-667, 1983.

HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of  $^{13}\text{C}$  in tissues. **The Condor**, Los Angeles, v.94, p.181-188, 1992a.

HOBSON, K.A.; CLARK, R.G. Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. **The Condor**, Los Angeles, v.94, p.189-197, 1992b.

KATZ, R. S.; BAKER, D. H. Methionine toxicity in the chicks: Nutritional and metabolic implications. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.105, p.1168-1175, 1975.

KELLY, S.; PARKER, I.; SHARMAN, M.; DENNIS, J.; GOODALL, I. Assessing the authenticity of single seed vegetable oils using fatty acid stable carbon isotope ratios ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ). **Food Chemistry**, London, v.59, n.2, p.181-186, 1997.

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

KINO, K.; OKUMURA, J. The effect of single essential amino acid deprivation on chick growth and nitrogen and energy balances at ad-libitum and equalized-food intakes. **Poultry Science**, Campaing, v.65, p.1728-173, 1986.

KOZIET, J.; ROSSMANN, A.; MARTIN, G.J.; ASHURST, P.R. Determination of carbon-13 content of sugars of fruit and vegetable juices. **Analytica Chimica Acta**, London, v.271, p.31-38, 1993.

LECLERCQ, B. Specific effects of lysine on broiler production: Comparison with threonine and valine. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.118-123, 1998

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M.; **Principios de bioquímica**. Traduzido por Arnaldo Antônio Simões e Wilson Roberto Navega Lodi. 2ed, São Paulo: Savier, 1995.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 975p., 2002.

LEVINE, R.I.; MONOSI, I.; BERLETT, B.S.; STADTMAN, E.R. Methionine residues as endogenous antioxidants in proteins. **Proceeding of the Natural Academy of Sciences of the United States of America**, London, vol.93, p.15036-15040, 1996.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, UNESP, 375p., 2002.

- MARTIN, G.J.; GUILLOU, C.; MARTIN, M.L.; CABANIS, M.T.; TEP, X.; AERNY, J. Natural factors of isotope fractionation and the characterization of wines. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v.36, p.316-322, 1988.
- MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica básica**. 3ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 386p., 2010.
- MENDES, A. A.; GONZALES, E.; GARCIA, E. A.; VAROLI, J. C. Efeitos do nível nutricional da dieta e do sexo sobre o rendimento de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.22, n.3, p.473-480, 1993.
- MILES, R. D. FEATHERSTON, W. R. Uric acid excretions as an indicator of the amino acid requirement of chicks. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**. Malden, v.145, p 686-689, 1974.
- MORAN JR, E. T.; BILGILI, S. F. Processing losses, carcass quality and meat yields for broiler chicken, receiving diets marginally deficient to adequate in lysine prior to marketing. **Poultry Science**, Champaign, v.69, p.702-710, 1990.
- MÓRI, C.; GARCIA, E.A.; DUCATTI, C.; DENADAI, J.C.; PELICIA, 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. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.9, n. 4, p.263 - 269, 2007.
- MOSKOVITZ, J.; RAHMAN, M.A.; STRASSMAN, J.; YANCEY, S.O.; KUSHNER, S.R.; BROT, N.; WEISSBACH, H. Escherichia coli peptide methionine sulphoxide reductase gene: regulation of expression and role in protecting against oxidative damage. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.177, p.502-507, 1995.
- NASCIMENTO, D. C. N.; SAKOMURA, N. K.; SIQUEIRA, J. C.; PINHEIRO, S. R. F.; FERNANDES, J. K. B.; FURLAN, R. L. Exigência de metionina+cistina digestível para aves de corte ISA Label criadas em semi-confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.5, p.869-878, 2009.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9 ed. Washington: National Academic Press. 155p., 1994.
- OUSTERHOUT, L.E. Survival time and biochemical changes in chicks fed diets lacking different essential amino acids. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, vol.70; p.226-234; 1960.
- PESTI, G. M. The nutrition of labile methyl group donors in broiler chickens. **Georgia Nutrition Conference**. Georgia, p. 145–150, 1989.
- PESTI, G. M.; BAKALI, R. I.; CERVANTES, H. M.; BAFUNDO, K. W. Studies on senduramicin na nutritional responses: 2. Methionine levels. **Poultry Science**, Champaign, v. 78, p.1170-1176, 1999.

PIASSENTIER, E.; VALUSSO, R.; CAMIN, F.; VERSINI, G. Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat. **Meat Science**, London, v.64, p.239-247, 2003.

POPHAL, S. **Características de crescimento de dois cruzamentos de frangos de corte recebendo dietas com diferentes níveis de lisina na primeira semana de vida**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 174p., 2004.

PRESTON, T. The measurement of stable isotope natural abundance variations. **Plant, Cell and Environment**, Montana, v.15, n.9, p.1091-1097, 1992

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, RF. **Tabelas brasileiras para aves e suínos** (composição de alimentos e exigências nutricionais). 3ed, Viçosa, MG, Editora UFV, 252p., 2011.

RUTZ, F. Proteína: digestão e absorção. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, UNESP, p.279-297, 2002.

RYU, K. S. et al. The folic acid requirements of starting broiler chicks fed diets based on practical ingredients. 2. Interrelationships with dietary methionine. **Journal of Poultry Science**, Georgia, v. 74, n.9, p.1456-62, 1995.

SAKOMURA, N.K.; COON, C. Amino acid requirements for maintenance of broiler breeder pullets. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON POULTRY NUTRITION, n.14, p.280-281, 2003.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal, SP, Funep, 2007, 283p.

SCHUTTE, J. B.; PACK M. Sulphur amino acid requirement of broiler chicken from fourteen to thirty-eight days of age. 1. Performance and carcass yield. **Poultry Science**, Champaign, v.74, n.3, p.480-487, 1995.

SERNAGIOTTO, E.S. **Rastreabilidade da farinha de vísceras e aves em codornas submetidas a longo período de criação utilizando a técnica dos isótopos estáveis  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$** . Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. 2009.

SMITH, B.N.; EPSTEIN, S. Two categories of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios of higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.47, p.380-384, 1971.

STADTMAN, E.R.; VAN REMMEN, H.; RICHARDSON, A.; WEHR, N.B.; LEVINE, R.I. Methionine oxidation and aging. **Biochimica et Biophysica Acta**, London, vol,1703, p.135-140, 2007.

STORCH, K. J. et al. [1-13C; methyl-2H3] methionine kinetics in humans: methionine conservation and cystine sparing. **American Journal the Physiology**, Cambridge, v. 258, n. 5, p. 790-798, 1990.

TESSERAUD, S.; PERESSON, R.; LOPES, J.; CHAGNEAU, A.M. Dietary lysine deficiency greatly affects muscle and liver protein turnover in growing chickens. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, vol.75, p.853-865, 1996.

TESSERAUD, S.; TEMIM, L.E.; BIHAN-DUCAL, E.; CHANGNEAU, A.M.; Increased responsiveness to dietary lysine deficiency of pectoralis major muscle protein turnover in broilers selected on breast development. **Journal of Animal Science**, vol.79.; p.927-933, 2001.

TESSERAUD, S.; EVERAERT, N.; BOUSSAID-OM EZZINE, S.; COLLIN, A.; MÉTAYER-COUSTARD, S; BERRI, C. Manipulating tissue metabolism by amino acids. **World's Poultry Science Journal**, vol.67, n.2, p.243-251, 2011.

TIESZEN, L. L. et al. Fractionation and turnover of stable carbon isotope in animal tissues: implication for  $\delta^{13}C$  analysis of diet. **Oecologia**, Heidelberg, v. 57, p. 32-37, 1983.

TIRAPEGUI, J; ROGERO, M.M. Metabolismo de proteínas. In: ANGELIS, R. C.; TIRAPEGUI, J. **Fisiologia da nutrição humana**. Aspectos básicos, aplicados e funcionais. 2ed. São Paulo: Atheneu, p.69-109. 2007.

UBABEF – União Brasileira de Avicultura. **Relatório anual 2010/2011**. Disponível em [www.abef.com.br](http://www.abef.com.br). Acesso em 08 de agosto de 2011.

VALERIO, R. S.; OLIVEIRA, R. F. M.; DONZELE, J. L. Níveis de lisina digestível mantendo a relação para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade mantidos em ambientes de estresse térmico. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, v.36, n.1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre:SBZ, 1999b, p.196.

VIOLA, T. A.; RIBEIRO, A. M. L.; BERETTA NETO, C.; KESSLER, A. M. Formulação com aminoácidos totais ou digestíveis em rações com níveis decrescentes de proteína bruta para frangos de corte de 21 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.2, p. 303-310, 2008.

VOGEL, J.C. Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis. In: EHLERINGER, J. R.; HALL; A. E.; FAQUHAR, G. D. (ed). **Stable isotopes and plant carbon-water relations**. San Diego: Academic Press Inc., p.29-46, 1993.

WHITAKER, H. M. A.; MENDES, A. A.; GARCIA, E. A.; ROÇA, R. O.; VAROLLI JR, J. C.; SALDANHA, E. P. B. Efeito da suplementação de metionina sobre o desempenho e avaliação de carcaça de frangos de corte. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.4, n.1, p.01-09, 2002.

WHITE, J.W.; WINTERS, K.; MARTIN, P.; ROSSMANN, A. Stable carbon isotope ratio analysis of honey: validation of internal standard procedure for worldwide application. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, Gaithersburg, v.81, p.610-619, 1998.

ZUANON, J. A. S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. ; PASSOS, J. R. S. Muscle  $\delta^{13}\text{C}$  change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings fed C3 or C4-cycle plants grain based diets. **Comparative Biochemistry and Physiology. A Molecular Integrative Physiology**, v.147, n.3, p.761-766, 2007.

## **CAPÍTULO II**



## **Avaliação da essencialidade da metionina e lisina em frangos de corte pelo *turnover* de isótopos de carbono**

**Resumo** – O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de metionina e lisina sobre a taxa de troca isotópica do carbono em tecidos de frangos de corte e seu processo de renovação, utilizando-se a variação natural do carbono-13. Foram utilizados 206 pintos, os quais do 1 a 20 dias de idade, receberam dieta basal compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C<sub>4</sub> e a partir de 20 dias de idade passaram a receber as dietas experimentais compostas por plantas do C<sub>3</sub> possuindo sinal isotópico de <sup>13</sup>C diferentes da dieta na fase inicial. O ensaio consistiu em quatro tratamentos: dieta Basal (sem suplementação de aminoácidos); B+ 0,47Met (dieta basal com suplementação de metionina); B+1,18Lys (dieta basal com suplementação de lisina) e B+0,<sup>47Met</sup>+1,18Lys (dieta basal com suplementação de metionina e lisina). Os animais que receberam dieta B+1,18Lys apresentaram a taxa de troca isotópica mais rápida de carbono nos tecidos analisados em relação às outras dietas, o que evidencia a importância desse aminoácido na formação desses tecidos analisados. O tecido mais representativo foi o tecido muscular, seguido do fígado e do plasma. Ficou evidente a função da lisina como primeiro aminoácido limitante na formação dos tecidos analisados dos frangos de corte no período de 20 a 43 dias de idade e como o principal constituinte plástico do tecido muscular. A técnica dos isótopos estáveis demonstrou ser eficiente na mensuração da taxa de troca isotópica tecidual em frangos de corte e pode demonstrar a importância da metionina e lisina como aminoácidos limitantes na alimentação de frangos de corte.

**Palavras-chave:** aminoácidos essenciais, carbono-13, exigência nutricional, isótopos estáveis, taxa de troca isotópica.

## **Evaluation of the methionine and lysine essentiality in broiler chickens by turnover of carbon isotopes**

**Abstract** – The goal of the current study was to evaluate the effect of methionine and lysine supplementation on carbon turnover in broiler chickens tissues and its renewal process using carbon-13 natural variation. Two hundred and six one-d-old chicks were used, of which 1-20 d old were fed with a basal diet composed predominantly for C<sub>4</sub> photosynthetic plants cycle and from 20 d old started receiving the experimental diets consisting of C<sub>3</sub> plants having different <sup>13</sup>C isotopic signal compared to the initial phase diet. The trial was consisted of 4 treatments: Basal diet (without amino acid supplementation), B+0.47Met (basal diet supplemented with methionine), B+1.18Lys (basal diet supplemented with lysine), and B+0.47Met+1.18Lys (basal diet supplemented with methionine and lysine). The animals fed with B+1.18Lys diet showed the carbon turnover faster in those analyzed tissues compared to other diets, which highlights the importance of this amino acid in the formation of these tissues. The most representative was the muscle tissue, followed by liver and blood plasma. It was evident the lysine function as the first limiting amino acid in the tissue formation analyzed in broilers within 20-43 d old and as the main plastic constituent of muscle tissue. The stable isotope technique proved to be efficient in measurement of tissue turnover, and can demonstrate the methionine and lysine importance as limiting amino acids in the broiler chickens diets.

**Key-words:** carbon-13, essential amino acids, isotopic exchange rate, nutritional requirements, stable isotopes

## 1. Introdução

Atualmente, no cenário mundial de produção de frangos de corte, o Brasil é considerado o terceiro maior produtor e o maior exportador (UBABEF, 2011). Apesar desta atividade apresentar importante papel no setor agropecuário, os produtores trabalham com reduzida margem de lucro, sendo a eficiência produtiva essencial para rentabilidade deste setor.

Na avicultura o progresso genético exige constante adequação do ponto de vista nutricional. Para frangos de corte a alimentação representa cerca de 70% do custo de produção, sendo fundamental o fornecimento de dietas balanceadas de acordo com as necessidades das aves, para proporcionar máximo desempenho dos animais (NASCIMENTO et al., 2009).

O fornecimento de aminoácidos sintéticos tem sido utilizado como ferramenta de ajuste na formulação de rações, possibilitando assim, atender os níveis exigidos em aminoácidos essenciais. Os aminoácidos das dietas são absorvidos no trato gastrintestinal sendo destinados tanto para repor as perdas obrigatórias endógenas como para síntese de substâncias não proteicas, deposição de tecidos proteicos e formação de produtos (SAKOMURA e ROSTAGNO, 2007).

A regulação do metabolismo protéico no músculo esquelético das aves associados a ingestão de aminoácidos, tem sido estudada com objetivo de melhorar o crescimento muscular, a qualidade da carne e promover redução da perda muscular em condições fisiopatológicas. Sabe-se que o consumo de dietas com deficiência protéica compromete a síntese de proteínas, enquanto o efeito na proteólise é visto como dependente da severidade desta deficiência (TESSERAUD et al., 2011).

A disponibilização dos aminoácidos lisina e metionina sob forma sintética torna-se necessária formulação de dietas para frangos de corte, devido aos baixos teores presentes nas rações a base de milho e farelo de soja. Com a finalidade de reduzir impacto ambiental têm-se diminuído o teor de proteína nas dietas, porém com a manutenção dos níveis dos aminoácidos essenciais mais próximos das necessidades das aves (ROSTAGNO et al., 2011).

Frangos de corte alimentados com dietas apresentando deficiência ou proteína de má qualidade podem ter síntese protéica muscular prejudicada (MORAN JR e BILGILI, 1990; BAKER, 1991). A qualidade da proteína dietética influencia a taxa de síntese

protéica no tecido muscular, sendo então, o tecido mais representativo ao considerar síntese e deposição de proteínas (TESSEREUD et al., 2011).

A técnica de isótopos estáveis tem sido aplicada como indicadores dietéticos por possibilitar a detecção das dietas fornecidas aos animais. É uma ferramenta que proporciona resultados bastante precisos, sendo usada na rastreabilidade da inclusão de farinha de origem animal com sucesso. Atualmente, também tem-se focado a sua utilização em estudos envolvendo metabolismo animal.

A metionina e a lisina são os aminoácidos essenciais que possuem maior impacto no desempenho animal, sendo importante o conhecimento da composição desses aminoácidos nos alimentos, bem como o seu aproveitamento pelos animais. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de metionina e lisina sobre a taxa de troca isotópica do carbono e nitrogênio em tecidos de frangos de corte e seu processo de renovação, utilizando-se a variação natural do carbono-13.

## **2. Material e métodos**

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, no Laboratório de Nutrição de Aves.

Foram utilizados 206 pintainhos da linhagem Cobb com um dia de idade. No incubatório, receberam vacina contra as doenças Gumboro, Marek e Bouda Aviária. As aves foram alojadas em duas câmaras bioclimáticas, compostas por 36 gaiolas por câmara, sobrepostas em três fileiras, com 18 gaiolas de cada lado, 6 gaiolas por andar com corredor central. Foram utilizadas apenas 16 gaiolas por câmara, onde as aves permaneceram até o final do experimento aos 43 dias de idade. As câmaras foram reguladas de modo que a temperatura proporcionasse conforto térmico. As gaiolas de arame galvanizado possuíam dimensões de 0,45 x 0,50 x 0,61m (altura x largura x comprimento), munidas de comedouro tipo calha e bebedouro tipo nipple. O programa de luz foi constante, com fornecimento de 24 horas de luz durante todo período experimental. O protocolo experimental (nº162/2010-CEUA) foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) por estar de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

O período de criação foi dividido em duas fases: pré-experimental (1 a 19 dias) e experimental (20 a 43 dias de idade), como o trabalho possui finalidade de avaliar o efeito dos aminoácidos na taxa de troca isotópica de carbono no período de crescimento, foram fornecidas dietas com sinais isotópicos distintos entre cada fase. As aves foram criadas em apenas duas fases para evitar uma possível variação nos sinais isotópicos das dietas, dentro da mesma fase. As exigências nutricionais das aves foram estabelecidas de acordo com as tabelas de exigências nutricionais de Rostagno et al. (2005). Efetuou-se análise de perfil de aminoácidos dos ingredientes quirera de arroz, milho moído e farelo de soja no Lab Tec – Laboratório de Alta Tecnologia, Campinas, São Paulo, para obtenção dos teores de aminoácidos das rações experimentais. A composição das rações foi analisada na Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, no Laboratório de Bromatologia (Tabela 1).

Os pintainhos foram obtidos de matrizes que consumiram dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C<sub>4</sub>. Estes, ao nascerem, possuíam em seus tecidos corporais sinais isotópicos de <sup>13</sup>C semelhantes ao destas dietas, ao redor de -18,00%.

De 1 a 19 dias as aves foram alimentadas com dieta à base de plantas do ciclo fotossintético C<sub>3</sub> (quirera de arroz) e a partir dos 20 dias de idade as aves passaram a receber dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C<sub>4</sub> (milho). A utilização de diferentes ingredientes (quirera de arroz e milho) na composição das rações teve como finalidade formular dietas com sinais isotópicos distintos para captar a velocidade na taxa de troca isotópica tecidual. (Tabela 1). A partir do 20º dia de idade, as aves foram divididas em 4 tratamentos de 48 aves/cada. Os tratamentos consistiam em: Basal – dieta basal deficiente (Met: 0,36% e Lys: 1,04%); B+1,18Lys – dieta basal com suplementação de lisina (Met: 0,36% e Lys: 1,18%); B+0,47Met – dieta basal com suplementação de metionina (Met: 0,47% e Lys: 1,04%); B+1,18Lys+0,47Met – dieta basal com suplementação de metionina e lisina (Met: 0,47% e Lys: 1,18%).

O teor de metionina total presente na ração Basal e nas rações com suplementação desse aminoácido conforme recomendações de Rostagno et al. (2005) foram respectivamente, de 0,36% e 0,47%. O nível de lisina total presente na ração

basal e nas rações com suplementação desse aminoácido conforme as recomendações de Rostagno et al. (2005), foram respectivamente, de 1,04 % e 1,18%.

Nos dias 1 e 20 dias de idade foram abatidas 8 e 6 aves, respectivamente, com objetivo expressar a composição e modificação isotópica tecidual dos animais antes do início dos tratamentos. Aos 21, 22, 23, 25, 28, 32, 37 e 43 dias de idade, foram escolhidas ao acaso para abate e coleta, 6 aves por tratamento. Para obtenção de amostras de plasma sanguíneo, músculo do peito (*Pectoralis major*) e fígado, as aves foram abatidas por deslocamento da articulação crânio-cervical.

Para obtenção das amostras de plasma, coletou-se sangue da veia jugular das aves em tubos de vidro com anticoagulante (Heparina), seguida por centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos. As amostras de plasma, na quantidade de 1mL, foram acondicionadas em microtubos plásticos graduados com tampa devidamente identificadas e imediatamente congeladas a -20 °C até serem liofilizadas.

Para o processo de liofilização do plasma, os microtubos plásticos foram congelados em freezer a -80 C° por um período de 30 minutos. Posteriormente as amostras foram acomodadas nas prateleiras da câmara de vácuo do aparelho ThermoFisher Scientific® modelo micro modulo 115, iniciando-se o processo de liofilização. Após 30 minutos de aplicação de vácuo constante foi iniciado o processo de aquecimento das amostras, por meio da fonte de calor do equipamento. Ao final de 24 horas do processo de liofilização as amostras foram retiradas.

Para obtenção de amostra de tecido muscular foi retirada parte do músculo do peito (*Pectoralis major*) do lado esquerdo das aves, bem como o fígado em sua totalidade para obtenção das amostras de fígado. As amostras foram devidamente acondicionadas, identificadas e imediatamente congeladas a -20 °C, até o preparo para as análises isotópicas.

Todas as amostras de músculo e fígado foram descongeladas em temperatura ambiente e lavadas com água destilada para retirada de qualquer contaminação de penas ou sangue e após, foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 56 °C por 72 horas. Posteriormente, as amostras de músculo, fígado e as rações, foram moídas em moinho criogênico a -195 °C a fim de se obter um material homogêneo de finíssima granulometria (menor que 60µm). Porém as amostras de fígado secas, antes de serem moídas, foram desengorduradas via Soxhlet. Tanto para amostras (plasma sanguíneo,

fígado e tecido muscular) quanto para rações, aproximadamente 50 µg de material foi pesado e acondicionado em cápsulas de estanho para análise do isótopo estável de carbono.

As análises isotópicas, tanto das rações como do músculo, fígado e plasma, foram realizadas na Universidade Estadual Paulista – Campus de Botucatu, no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais. Para determinação da composição isotópica das amostras com abundância natural, foi utilizado o espectrômetro de massa de razões isotópicas (Delta S-Finnigan Mat, Bremen, Alemanha) acoplado ao Analisador Elementar (EA 1108 – CHN – Fisons Instruments, Rodano, Itália) no qual, em presença de oxigênio (O<sub>2</sub>) e óxido de cobre (CuO), a amostra é queimada quantitativamente para obtenção de CO<sub>2</sub>. Os gases formados foram separados em coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massas.

Os resultados das análises foram expressos em delta (δ) relativos aos padrões internacionais: *Peedee Belemnite* (PDB) para o <sup>13</sup>C, de acordo com a seguinte equação geral:

$$\delta X (\text{amostra, padrão}) = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) / R_{\text{padrão}}] \times 1000$$

Onde:

δ X = enriquecimento do isótopo mais pesado do elemento químico X (C) da amostra em relação ao respectivo padrão internacional.

R = razão isotópica entre o isótopo menos e o mais abundante, <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C.

**Tabela 1.** Composição percentual, níveis nutricionais calculados e sinal isotópico das rações experimentais.

Ingrediente (%)	Ração Inicial	Basal	B+0,47 Met	B+1,18 Lys	B+1,18Lys +0,47Met
Arroz, quirera	58,300	-	-	-	-
Milho, moído	-	61,080	61,290	61,440	61,650
Soja, farelo	34,290	31,630	31,360	31,170	30,880
Óleo, soja	3,150	3,650	3,545	3,530	3,420
Calcário calcítico	0,810	0,830	0,830	0,830	0,830
Fosfato bicálcico	1,900	1,670	1,670	1,670	1,670
Sal comum	0,500	0,480	0,480	0,480	0,480
DL-Metionina	0,155	-	0,170	-	0,175
L-Lisina	0,195	-	-	0,220	0,230
L-Treonina	0,100	0,050	0,055	0,055	0,055
Supl.vit-min	0,600 <sup>1</sup>	0,600 <sup>2</sup>	0,600 <sup>2</sup>	0,600 <sup>2</sup>	0,600 <sup>2</sup>
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
<b>Níveis Nutricionais calculados</b>					
EM, kcal/kg	3000	3100	3100	3100	3100
PB, %	20,79	19,41	19,41	19,41	19,41
Ca, %	0,88	0,82	0,824	0,82	0,82
K, %	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
Na, %	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Cl, %	0,19	0,18	0,18	0,18	0,18
Lys total, %	1,26	1,04	1,04	1,18	1,18
Met total, %	0,49	0,36	0,47	0,36	0,47
Met+Cys total, %	0,90	0,62	0,85	0,62	0,85
Ter total, %	0,86	0,80	0,80	0,80	0,80
<b>Sinal isotópico</b>					
Sinal isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ <sup>(3)</sup>	-28,33	-18,83	-17,85	-18,75	-18,99

<sup>1</sup>Premix para aves de corte inicial por kg de ração Vaccinar: Ácido fólico (0,125mg); ácido pantotênico (2mg); BHT (1mg); biotina (0,004mg); cobre (0,002mg); colina(0,05g); ferro (0,01mg); fitase (0,083ftu); iodo (0,142mg); manganês (12mg); niacina (0,006mg); selênio (0,05mg); vitamina A (13335UI); vitamina B1 (0,250mg); vitamina B12 (2µg); vitamina B2 (0,833mg); vitamina B6 (0,467mg); vitamina D3 (333,5UI); vitamina E (2,5UI); vitamina K3 (0,300mg); zinco (10mg).

<sup>2</sup>Premix para aves de corte em crescimento por kg de ração Vaccinar: Ácido fólico (0,117mg); ácido pantotênico (1,667mg); BHT (1mg); biotina (0,002mg); cobre (0,002mg); colina(42mg); ferro (0,008mg); fitase (0,083ftu); iodo (0,142mg); manganês (11mg); niacina (5000mg); selênio (30mg); vitamina A (1133330UI); vitamina B1 (167mg); vitamina B12 (1,667µg); vitamina B2 (0,667mg); vitamina B6 (0,333mg/kg); vitamina D3 (250UI/kg); vitamina E (2UI/kg); vitamina K3 (0,266mg/kg); zinco (0,001g).

<sup>3</sup>Sinal isotópico expresso em  $\delta^{13}\text{C}$  em relação ao padrão *Pee Dee Belemnite* (PDB).



### Taxa de troca isotópica do $\delta^{13}C$

As concentrações isotópicas do carbono-13 nas amostras submetidas aos tratamentos dietéticos, foram determinadas através do modelo exponencial descrito por Zuanon et al. (2003), adequada para animais em crescimento, por considerar a taxa de troca do isótopo ( $k$ ), o efeito do novo tecido adicionado (crescimento) e *turnover* metabólico.

$$\delta_{(t)} = \delta_{(f)} + [\delta_{(i)} - \delta_{(f)}] e^{-kt}$$

Onde:

$\delta_{(t)} = {}^{13}C_{(t)}$  é o enriquecimento isotópico do carbono nos tecidos em um dado tempo  $t$ ;

$\delta_{(i)} = {}^{13}C_{inicial}$  é a concentração isotópica do carbono nos tecidos no dia 20 (antes das trocas de dietas);

$\delta_{(f)}$  = assíntota da expressão, que representa os valores de  $\delta^{13}C$  para um infinito tempo de alimentação alcançado com a mesma dieta, em ‰;

$k$  = é a taxa de incorporação (*turnover*) do carbono no tecido, por unidades de tempo;

$t$  = é o tempo em dias.

Baseado nos valores de  $k$ , a meia-vida do carbono nos tecidos, expressando a condição de 50% de cada fonte isotópica (dietas) no tecido, foi calculada de acordo com a fórmula descrita por Ducatti et al. (2002).

$$T = \text{Ln } 2 / k$$

Onde:

$T$  é o valor de meia-vida, em dias;

$k$  é a taxa de troca isotópica do carbono no tecido, em  $\text{dia}^{-1}$ .

$$T_{(f)} = (-1/k) \ln (1-f)$$

O tempo ( $T_{(f)}$ ) necessário para que ocorra a substituição dos átomos iniciais pelos átomos finais pode ser determinada pela seguinte equação, onde o valor de  $f$  (átomos trocados) pode variar de 0 (zero) a 0,99.

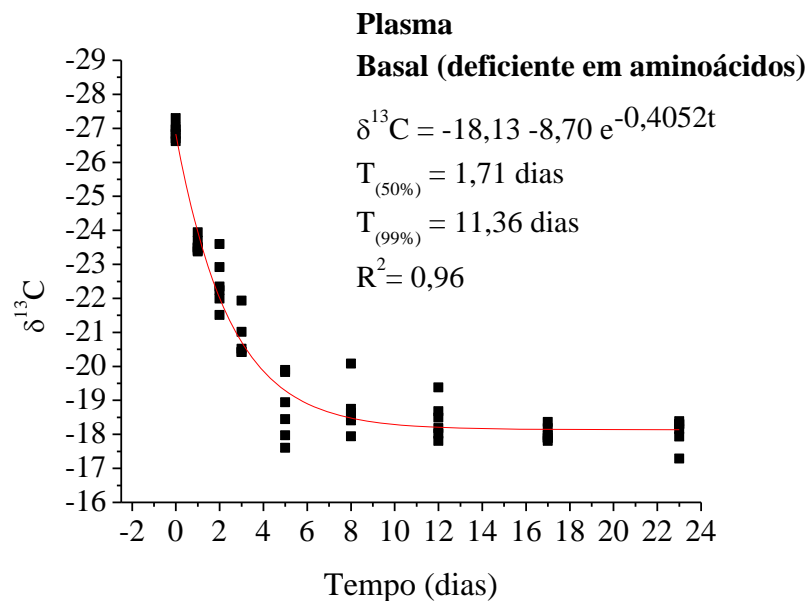
Os dados obtidos pela análise isotópica foram analisados utilizando-se o método de equações exponenciais de primeira ordem do *software Origin<sup>®</sup> 6.0 Professional* (Microcal Software, 1999).

### 3. Resultados e discussão

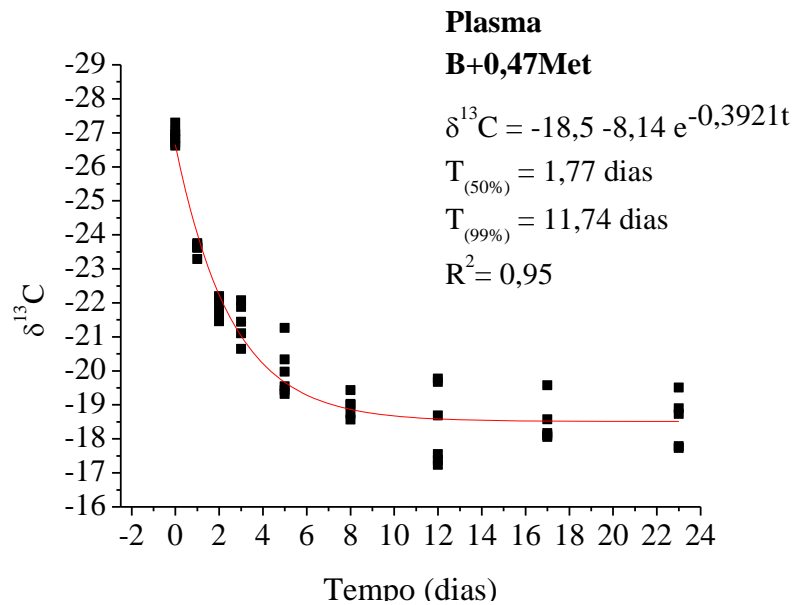
A ração basal formulada conforme recomendações de Rostagno et al (2005) sem a suplementação com os aminoácidos sintéticos apresentou valor de 0,36% para metionina total e 1,04% para lisina total, proporcionando uma deficiência de 13% e 23% para lisina e metionina, respectivamente, em relação às exigências nutricionais das aves na fase de crescimento.

O valor isotópico  $\delta^{13}\text{C}$  do plasma sanguíneo das aves com 1 dia de idade foi de -19,73‰. Aos 20 dias de idade, após consumirem dieta predominantemente  $\text{C}_3$  desde o primeiro dia de vida, o plasma possuía valor isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  de -26,91‰ e a partir desta idade, as aves passaram a consumir dieta  $\text{C}_4$  (Figuras 1, 2, 3, 4).

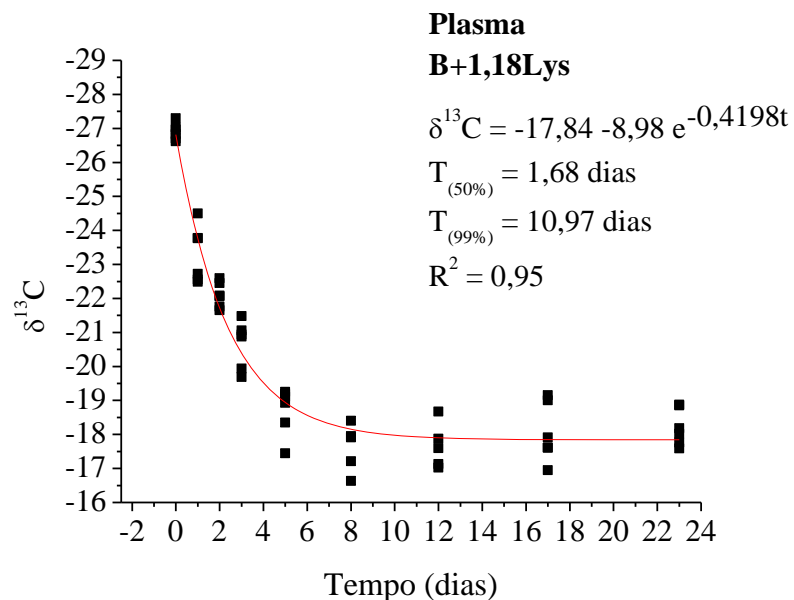
Quando mensurados em dias, não se observou diferenças entre os valores de meia vida e de troca total entre os tratamentos para o plasma sanguíneo. O tratamento com maior valor de meia vida e troca total de carbono foi o B+0,47Met e o tratamento com os menores valores foi o B+1,18 Lys. A diferença de meia vida e de troca total de carbono entre eles foi de aproximadamente 2 horas (0,09 dias) e aproximadamente 18 horas (0,77 dias), respectivamente.



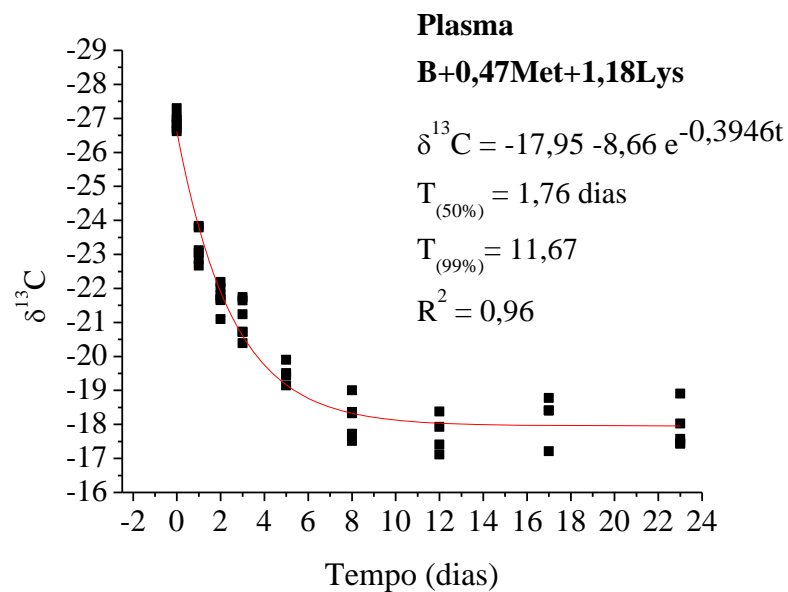
**Figura 1.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do plasma sanguíneo em frangos de corte com consumo de dieta basal (deficiente em aminoácidos) dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ).



**Figura 2.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do plasma sanguíneo em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ )



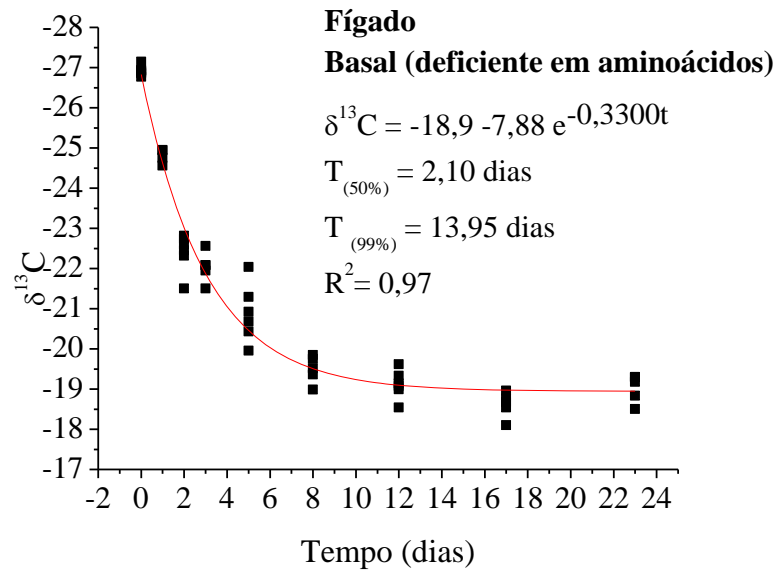
**Figura 3.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do plasma sanguíneo em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ).



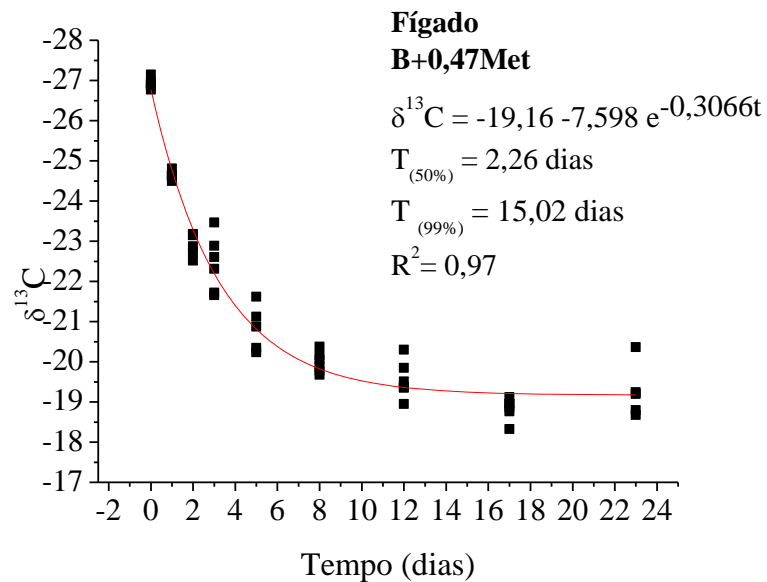
**Figura 4.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do plasma sanguíneo em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina e lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ).

As análises de  $\delta^{13}\text{C}$  do fígado das aves com 1 dia de idade resultou no valor de -20,26‰. Após consumirem dieta predominantemente  $\text{C}_3$  até os 20 dias de idade o valor isotópico deste tecido de  $\delta^{13}\text{C}$  foi de -26,92‰. A partir desta idade, as aves passaram a consumir dieta  $\text{C}_4$  (Figuras 5, 6, 7 e 8).

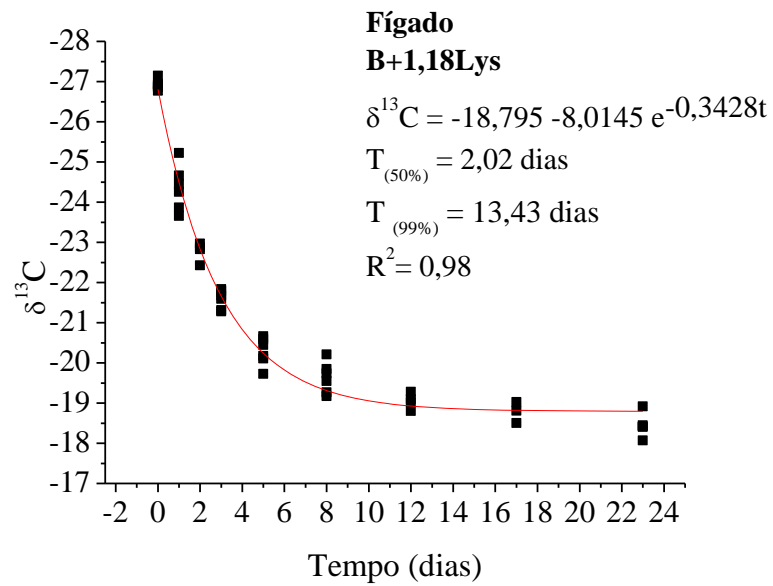
Os animais submetidos ao tratamento B+1,18Lys obtiveram o menor tempo de troca de carbono, e os animais do tratamento B+0,47Met foram os que tiveram o maior tempo de troca, sendo a diferença de meia vida de 0,24 dias (aproximadamente 6 horas) entre eles. Porém a diferença no valor de troca total alcançou a 1,59 dias (aproximadamente 38 horas).



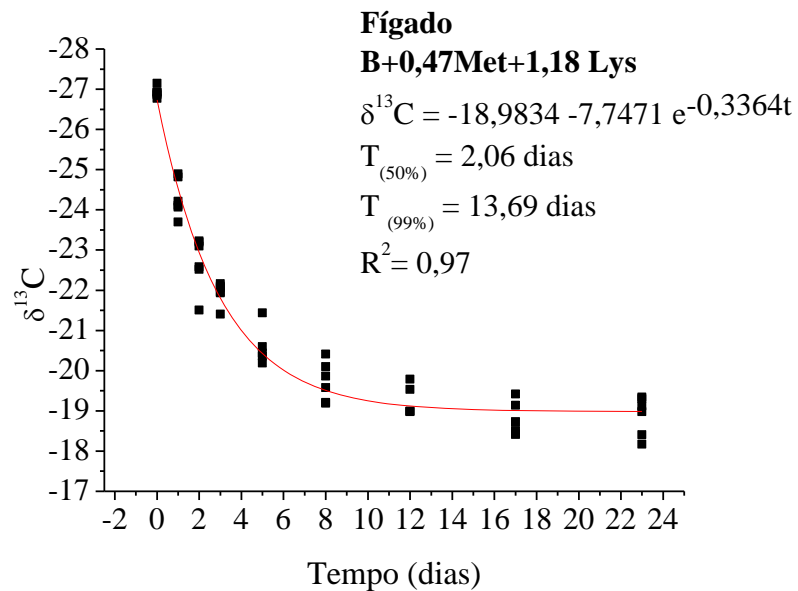
**Figura 5.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do fígado em frangos de corte com consumo de dieta basal (deficiente em aminoácidos) dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ).



**Figura 6.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do fígado em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ).



**Figura 7.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do fígado em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ).

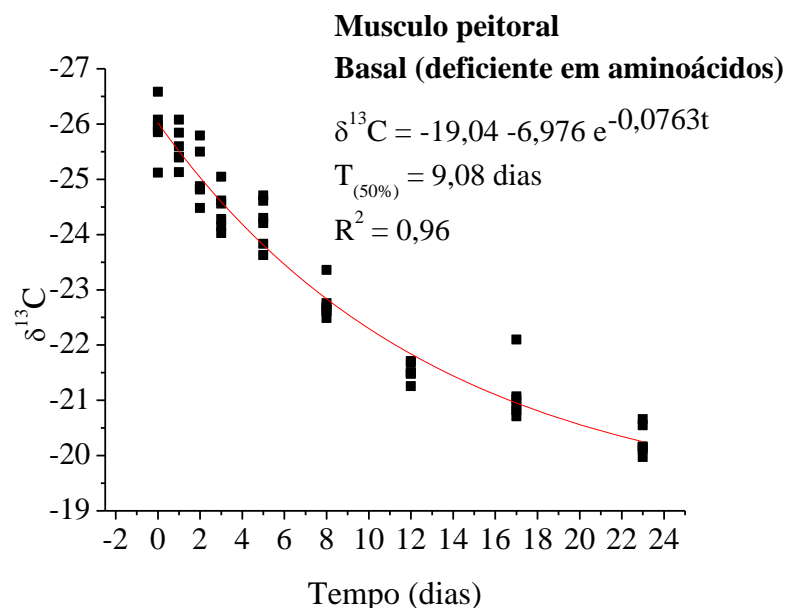


**Figura 8.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do fígado em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina e lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ) e troca total ( $T_{99\%}$ ).

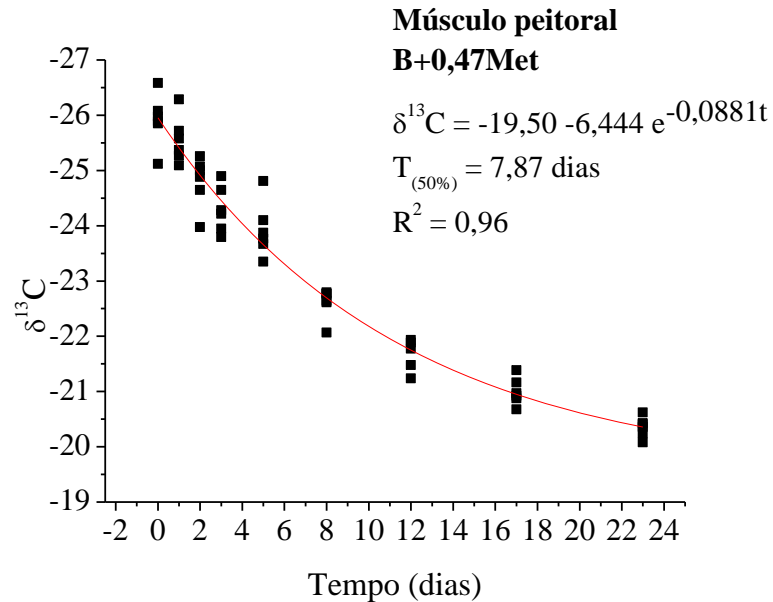
Ao analisar o  $\delta^{13}\text{C}$  do músculo do peito das aves com 1 dia de idade, verificou-se valor de  $-18,81\%$ . Após consumirem dieta predominantemente  $\text{C}_3$  até os 20 dias de idade o valor isotópico do  $\delta^{13}\text{C}$  deste tecido foi de  $-25,92\%$ . A partir desta idade, as aves passaram a consumir dieta  $\text{C}_4$  (Figuras 9, 10, 11 e 12).

O músculo do peito é um tecido metabolicamente menos ativo em relação ao plasma e ao fígado, não atingindo a estabilidade isotópica no período dos 23 dias analisados. Desta forma, é possível afirmar que as equações e valores de meias vidas gerados são compatíveis somente com o período de análise, não sendo possível a estimativa de troca total do carbono para esse tecido. No período experimental, as aves do tratamento Basal trocaram cerca de 81% dos átomos de carbono, as aves do tratamento Basal+0,47Met cerca de 85% e, tanto as aves do tratamento Basal+1,18Lys quanto as do tratamento Basal+0,47Met+1,18Lys trocaram cerca de 87%.

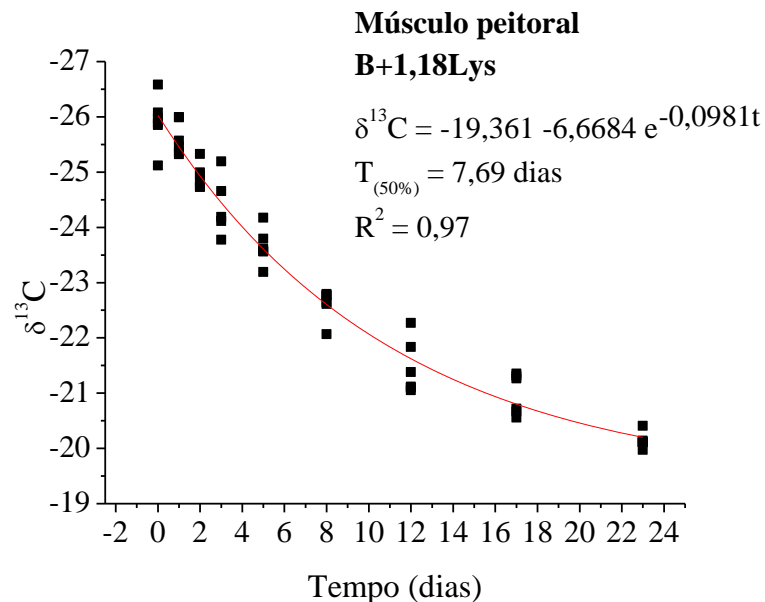
Os animais submetidos ao tratamento B+1,18Lys obtiveram o menor tempo de troca de carbono, e os animais do tratamento Basal foram os que tiveram o maior tempo de troca, sendo a diferença de meia vida de 1,39 dias (aproximadamente 33 horas) entre eles.



**Figura 9.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do músculo peitoral em frangos de corte com consumo de dieta basal deficiente em aminoácidos dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ).

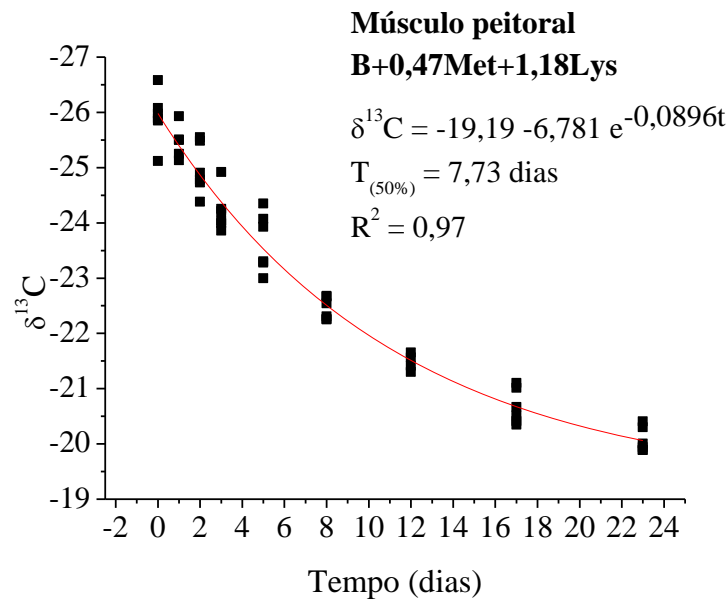


**Figura 10.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do músculo peitoral em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ).



**Figura 11.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do músculo peitoral em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ).





**Figura 12.** Modelo exponencial de taxa de troca isotópica dos isótopos estáveis de carbono do músculo peitoral em frangos de corte com consumo de dieta basal suplementada com metionina e lisina dos 20 aos 43 dias de idade e, valores de meia vida ( $T_{50\%}$ ).

O presente estudo foi conduzido na fase de 20 a 43 dias, idade em que as aves apresentam elevada taxa de crescimento. Gous (1999), Ivey (1999) e Kessler e Brugalli (1999) observaram maior taxa de crescimento das aves no período que compreende dos 28 aos 45 dias de idade e, em relação a essa taxa de crescimento, foi verificado desenvolvimento mais rápido dos músculos da perna nas fases iniciais e após os 28 dias de idade, o desenvolvimento maior ocorre no músculo do peito e, finalmente, ao redor dos 40 dias de idade, há tendência da taxa de crescimento muscular das aves declinar acentuadamente. Também é verificado que as aves alcançam idade para ganho máximo de peso vivo e para ganho de proteína ao redor de 35 a 43 dias de idade (GOUS et al., 1999; GOLIOMYTIS et al., 2003; SCHEUERMANN et al., 2003; HANCOCK et al., 1995; LONGO, 2000; SANTOS et al., 2005).

No início do desenvolvimento, a taxa anabólica é superior à taxa catabólica e como resultado há crescimento muscular. Com o avançar da idade o declínio da taxa de síntese é mais pronunciado que a taxa de degradação, o que determina menor deposição protéica nos animais mais velhos, constatado pela redução do crescimento dos tecidos (GONZÁLEZ e SARTORI, 2002). Sendo assim, o acréscimo de massa tecidual é o

principal fator na determinação da velocidade de diluição isotópica do carbono tecidual em relação à taxa de troca isotópica de animais jovens (ZUANON, 2007). O presente estudo foi conduzido no período em que as aves possuíam maior taxa de síntese de tecido em relação a taxa de degradação (entre 20 - 43 dias de idade) influenciando diretamente os valores de meia vida e troca total de carbono, tendo em vista que a deposição de tecido ocorre em maior intensidade que a renovação tecidual.

Verificou-se no presente estudo, que a suplementação e/ou deficiência de aminoácidos nas dietas dos frangos de corte alteraram os tempos de troca de carbono dos tecidos de modo a proporcionar diferentes valores de meia vida e troca total do carbono conforme a dieta consumida pela ave.

Independente da amostra analisada (fígado, tecido muscular ou plasma sanguíneo) as aves que consumiram dieta deficiente em metionina e suplementada com lisina (B+1,18Lys) apresentaram mais rápidos valores de meia-vida e troca total de carbono. Como o estudo foi conduzido na fase de crescimento das aves, período em que é observado alta taxa de crescimento e deposição de tecido muscular esquelético, os dados obtidos constataram que a lisina identificou-se como o primeiro aminoácido limitante nesta fase de criação, como pôde ser constatado pelos resultados obtidos do tratamento B+1,18Lys. Conforme Cruz et al. (2004; 2005) e Zuanon et al. (2007) o valor nutricional da alimentação influi diretamente na velocidade de troca de carbono e taxa de troca isotópica dos tecidos, sendo que o fornecimento de dietas que atendam as necessidades nutricionais dos animais proporcionam menores valores de meia vida e troca total de carbono.

Neste estudo foi verificado que as aves que consumiram a dieta B+1,18Lys foram as que possuíam os menores valores de meia vida e troca total de carbono no plasma sanguíneo ( $T_{50\%} = 1,68$  e  $T_{99\%} = 10,97$  dias), seguido das aves que receberam a dieta Basal ( $T_{50\%} = 1,71$  e  $T_{99\%} = 11,36$  dias), da dieta B+0,47Met+1,18Lys ( $T_{50\%} = 1,76$  e  $T_{99\%} = 11,67$  dias), e da dieta B+0,47Met ( $T_{50\%} = 1,77$  e  $T_{99\%} = 11,74$  dias) Analisando os resultados obtidos no plasma, constatou-se que a dieta deficiente em lisina, mesmo havendo a suplementação de metionina (B+0,47Met) proporciona valores de meia vida e troca total de átomos de carbono maiores que a dieta deficiente em metionina e com suplementação de lisina (B+1,18Lys). Esses dados demonstraram que as dietas deficientes em lisina, por proporcionarem uma troca de carbono mais lenta no plasma

sinaliza que esse aminoácido é mais limitante que a metionina em sua formação nessa faixa etária das aves estudadas.

Conforme Fernández-Fígares et al. (1997), a concentração de aminoácidos plasmáticos e teciduais reproduz o conteúdo de aminoácidos presentes nas dietas dos animais. Segundo Macari et al. (2002) o plasma sanguíneo é responsável pela homeostase corporal dos animais, sendo encarregado pelo transporte, entre os tecidos, de proteínas, sais inorgânicos e hormônios com a finalidade de manter as atividades consideradas mais vitais do organismo, em funcionamento normal. Somente em situações severas de desnutrição ou desbalanceamento e/ou deficiência de nutrientes, são observadas modificações significativas nos componentes plasmáticos. Com a utilização da técnica de taxa de troca isotópica do  $\delta^{13}\text{C}$  possibilitou-se detectar mudanças plasmáticas caracterizadas por diferentes valores de meia-vida e troca total obtidos, quando as dietas eram deficientes nos aminoácidos limitantes estudados.

Com relação aos dados obtidos de meia vida e troca total de átomos de carbono no fígado, podemos observar que os resultados evidenciaram a ordem de importância dos aminoácidos metionina e lisina para este tecido nessa fase da criação. As aves que receberam o tratamento B+1,18Lys tiveram os menores valores de meia vida e troca total ( $T_{50\%} = 2,02$  e  $T_{99\%} = 13,43$  dias), seguida das aves do tratamento B+0,47Met+1,18Lys ( $T_{50\%} = 2,06$  e  $T_{99\%} = 13,69$  dias), do tratamento Basal ( $T_{50\%} = 2,10$  e  $T_{99\%} = 13,95$  dias) e as aves do tratamento B+0,47Met e as que tiveram os maiores valores de meia vida e troca total de carbono ( $T_{50\%} = 2,26$  e  $T_{99\%} = 15,02$  dias). As aves do tratamento B+0,47Met, mesmo possuindo suplementação de metionina, a deficiência de lisina influenciou negativamente a taxa de troca isotópica deste órgão, caracterizado pelos maiores valores de meia vida e troca total de carbono. Segundo Carew et al. (2003), dietas deficientes em aminoácidos afetam diretamente o crescimento do fígado das aves. A deficiência de metionina aumenta tanto o peso absoluto quanto o peso relativo do fígado, caracterizado pelo acréscimo do peso devido ao acúmulo de gordura no órgão. Ainda segundo Carew et al. (2005), a metionina age no metabolismo da gordura hepática, que é necessária para os processos de metilação da gordura, e como consequência da deficiência da metionina, há o seu acúmulo no fígado das aves e, em dietas deficientes de lisina ocorre o inverso da deficiência da metionina, pois em dietas com níveis de lisina menores que o recomendado ocasionam redução no peso do fígado.

Os tecidos do trato gastrointestinal respondem rapidamente aos níveis de proteínas da dieta e são locais onde os nutrientes são preferencialmente repartidos e distribuídos no organismo (SWATSON et al., 2002). Segundo Pohal (2004) e Viola (2007), quanto mais metabolicamente ativo for o tecido, maior a tendência de receber nutrientes para sua demanda apropriada, sendo assim o fígado recebe os aminoácidos provenientes da dieta de forma prioritária. O fígado por ser órgão homeostático, responsável pela redistribuição dos metabólitos para outros tecidos corporais é considerado um tecido adequado para análises isotópicas de carbono por responder diretamente aos níveis de aminoácidos presentes nas dietas, desta maneira, pode-se observar que neste tecido, a lisina demonstrou ser mais limitante que a metionina, por apresentar valores de meia vida e troca total de átomos de carbono maiores que o da metionina.

De todas as análises realizadas neste experimento, o músculo peitoral foi o tecido que demonstrou efeito mais pronunciado em relação a deficiência/suplementação de aminoácidos. As aves submetidas ao tratamento B+0,47Lys foi o que obteve menor valor de meia vida para carbono ( $T_{50\%} = 7,69$  dias), seguido do tratamento B+0,47Met+1,18Lys ( $T_{50\%} = 7,76$  dias), e por outro lado, os animais que tiveram acesso ao tratamento Basal (dieta deficiente em aminoácidos) foram os que tiveram o maior valor de meia vida ( $T_{50\%} = 9,08$  dias). A diferença nos valores de meia vida do tratamento B+1,18Lys, que teve o menor valor, e do tratamento Basal (dieta deficiente em aminoácidos) que teve o maior valor foi de 1,39 dias (33 horas). Esses dados obtidos nessa fase de criação demonstraram que a lisina é o aminoácido que exprime maior efeito no músculo peitoral, tornando-se o primeiro aminoácido limitante nessa fase de crescimento.

Sabe-se que a lisina é o aminoácido que mais exerce função no crescimento muscular e composição de carcaça, além de apresentar importante efeito no desenvolvimento, não só do músculo do peito como no músculo esquelético em geral das aves, além de representar a principal reserva desse aminoácido, que pode ser mobilizada em condição de deficiência (TESSERAUD et al., 2011). Kolling (2001) ao disponibilizar 1,20%; 1,00% e 0,88% de lisina verificou que a idade para atingir a taxa máxima de ganho de peso foi ao 34,4; 39,8 e 44 dias de idade, respectivamente. Níveis deficientes de lisina ocasionam aumento da idade para que a ave atinja a idade máxima

para ganho de peso, desta forma, amplia a idade para que a ave alcance a estabilidade isotópica e, conseqüentemente a taxa de *turnover* e de troca isotópica.

Urdaneta-Rincon e Leeson (2004) e Tesseraud (1996, 2000, 2001) ao utilizarem vários níveis de inclusão de lisina na dieta das aves, observaram comportamento do *turnover in vivo* do músculo peitoral por meio de infusão de L-[4-<sup>3</sup>H]fenilalanina. Com esse procedimento foi possível fazer a mensuração de inúmeros parâmetros metabólicos, como a taxa de síntese, crescimento, ganho e degradação protéica e capacidade de síntese protéica. Esses autores concluíram que a deficiência de lisina na dieta aumentou a taxa de síntese e degradação, capacidade de síntese protéica, além de diminuir a taxa de ganho e deposição de proteína. A deficiência de aminoácidos induz ao metabolismo de proteínas nos tecidos caracterizado por alterar sua degradação, mas não sua síntese (TESSERAUD et al., 1996). A idade também influencia o ganho de proteína muscular (g/dia), total de massa muscular e capacidade de síntese protéica, que diminuem conforme a idade da ave (TESSERAUD, 2000).

O tecido muscular reage de forma mais lenta que do plasma sanguíneo e o fígado, em termos metabólicos, em função das diferentes necessidades de adaptação relacionados à composição da dieta (PERAGÓN et al., 2001). A deficiência na dieta de apenas um aminoácido essencial conduz a um balanço negativo de nitrogênio, havendo degradação de proteínas com a finalidade de suprir o aminoácido deficiente, e os outros aminoácidos liberados são catabolizados (COOMES, 1998). Disponibilizar dietas que supram as exigências nutricionais é de fundamental importância, visto que os aminoácidos presentes nas dietas influem diretamente nas proteínas corporais e com implicações no crescimento animal e no *turnover* protéico.

Outros fatores podem interferir na taxa de troca isotópica dos nutrientes no organismo animal. Tanto a deficiência quanto o excesso de aminoácidos essenciais afetam diretamente o consumo de alimento pelas aves, caracterizado pela limitação da sua ingestão com conseqüente diminuição do ganho de proteína/dia (TESSERAUD et al., 1996, 2001; ALENTOR et al., 2000; SKLAN e PLAVNIK, 2002; SKLAN e NOY, 2004). Uma vez que o consumo de ração é diminuído, a quantidade de proteína e de energia ingeridas também são reduzidas, e esses fatores podem assim, comprometer a taxa de troca isotópica dos tecidos analisados.

Os mecanismos que regularizam os processos de síntese e degradação das proteínas ainda não foram totalmente elucidados. A degradação está intimamente relacionada com regulação genética ou mecanismos intrínsecos, diferente da síntese que está atrelada com determinantes ambientais ou nutricionais (TESSERAUD et al., 1996). A síntese de proteína demanda mais energia que a proteólise, pois para formar uma ligação peptídica é necessário de 4-7mol de ATP, em contraste para a quebra, apenas 1-2 mol (URDANETA-RINCON e LEESON, 2004).

Em função dos resultados obtidos, pode-se constatar que, embora o tecido muscular não tivesse atingido a estabilidade isotópica, foi o tecido mais coerente e adequado para mensuração do turnover. Verificou-se que o tecido do fígado também mostrou ser um tecido sensível para esse tipo de análise e que o plasma foi a fração tecidual menos recomendada. Resultados semelhantes também tinham sido constatados por Tesseraud (1996), quando verificou que o tecido mais sensível e adequado para a mensuração do *turnover* é o músculo *Pectoralis major*. As diferenças nas respostas entre os tecidos se dão pelo fato do plasma participar da manutenção do equilíbrio do organismo. Já o fígado como é responsável por manter funções vitais, responde de forma direta as dietas fornecidas as aves, diferentemente do músculo, produto de seleção genética, com baixa funcionalidade, e que se tornou a principal fonte de aminoácidos em situação de deficiência (TIRAPEGUI e ROGERO, 2007).

#### **4. Conclusões**

Foi possível avaliar o efeito da suplementação de metionina e lisina sobre a taxa de troca isotópica em tecidos de frangos de corte, utilizando-se a variação natural do carbono-13.

Apesar de não ter alcançado a estabilidade isotópica, o músculo do peito (*Pectoralis major*) foi o mais sensível em demonstrar os efeitos ocasionados pela suplementação/deficiência de metionina e lisina, seguido pelo fígado, sendo o plasma sanguíneo não recomendado para esse tipo de análise.

Ficou evidente a função da lisina como primeiro aminoácido limitante na alimentação das aves no período de 20 a 43 dias de idade e como o principal constituinte do tecido muscular.

A técnica dos isótopos estáveis demonstrou ser eficiente na mensuração da taxa de troca isotópica tecidual em frangos de corte e pode demonstrar a essencialidade da lisina e da metionina como aminoácidos limitantes em diferentes tecidos na fase de crescimento de frangos de corte.

## 5. Referências bibliográficas

ALENTOR VA, HAMID II, NIEB, E, PFEFFER E. Low protein amino acid-supplemented diets in broiler chickens: Effects on performance, carcass characteristics, whole-body composition and efficiencies of nutrient utilization. *Journal of Science Food and Agriculture* 2000; 80:547-554.

BAKER DH. Partitioning of nutrients for growth and other metabolic functions. *Poultry Science* 1991,70:1797-1805.

CAREW L, McMURTRY J, ALSTER FA. Effect 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. *Poultry Science* 2003, 82:1932-1938.

CAREW L, McMURTRY J, ALSTER FA. Effect of lysine deficiencies on plasma levels of thyroid hormones, insulin-like growth factors I and II, liver and body weights and feed intake in growing chickens. *Poultry Science* 2005, 84:1045-1050.

COOMES MW. Metabolismo de aminoácidos. In: DEVLIN TM. *Manual de bioquímica com correlações clínicas*. Editora Edgard Blücher, 368-407.

CRUZ VC, PEZZATO AC, DUCATTI C, PINHEIRO DF, SARTORI JR, GONÇALVES JC. Tracing metabolic routes of feed ingredients in tissue of broiler chickens using stable isotopes. *Poultry Science* 2004, 83:1376-1381.

CRUZ VC, DUCATTI C, PEZZATO AC, PINHEIRO DF, SARTORI JR, CARRIJO SA. Influence of diet assimilation and turnover of <sup>13</sup>C in tissue of broiler chickens. *British Poultry Science* 2005, 46 (3):382-389.

DUCATTI C, CARRIJO AS, PEZZATO AC, MANCERA PFA. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono – 13 em tecidos de mamíferos e aves. *Scientia Agricola* 2002, 59(1):29-33.

FERNÁNDEZ-FÍGARES I, PRIETO C, NIETO R, AGUILERA JF. Free amino acids concentration in plasma, muscle and liver as indirect measures of protein adequacy in growing chickens. *Animal Science* 1997, 64:529-539.

GOLIOMYTIS E, PANOPOULOU E, ROGDAKIS E. Growth curves for body weight and major components parts, feed consumption, and mortality of male broiler chickens raised to maturity. *Poultry Science* 2003, 82:1061-1068.

GONZALES E, SARTORI JR. Crescimento e metabolismo muscular. In: MACARI M, FURLAN RL, GONZALES E. *Fisiologia aplicada a frangos de corte*. Funep, p.135-141, 2002.

GOUS RM, MORAN JR ET, STILBORN RH, BRADFORD GD, EMMANS GR. *Journal of Poultry Science* 1999, 78:812-821



HANCOCK CE, BRADFORD GD, EMMANS GC, GOUS RM, The evaluations of the growth parameters of six strains of commercial broiler chickens. *British Poultry Science* 1995, 36:247-268.

HURWITZ S, SKLAN D, BARTOV I. New formal approaches to determination of energy and amino acid requirements of chicks. *Poultry Science* 1978, 57:197-205.

IVEY FJ. Desenvolvimento e aplicação de modelos de crescimento para frangos de corte. I Simpósio Internacional ACAV – Embrapa nutrição de aves 1999, p.14.

JONES SJ, ABERLE ED, JUDGE MD. Skeletal muscle protein turnover in broilers and layer chicks. *Journal of Animal Science* 1986, 62:176-1586.

KESSLER AM, BRUGALLI I. Recentes avanços do efeito na nutrição no crescimento específico de componentes da carcaça de frangos de corte. Simpósio internacional sobre tecnologia de processamento e qualidade de carne 1999, p.19.

KOLLING AV. Efeito da relação calórico-protéico da dieta sobre as curvas de crescimento corporal de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. Dissertação (mestrado), UFRGS, p.166.

LONGO FA. Estudo do metabolismo energético e do crescimento em frangos de corte. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista, p.76, 2000.

MACARI M, FURLAN RL, GONZALES E. Fisiologia aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: Funep, p. 375, 2002.

MICROCAL SOFTWARE ORIGIN<sup>®</sup> 6.0 Professional. Origin Data Analysis and Technical Graphics 1999, Microcal Software Inc.

MORAN JR ET, BILGILI SF. Processing losses, carcass quality and meat yields for broiler chicken, receiving diets marginally deficient to adequate in lysine prior to marketing. *Poultry Science* 1990, 69:702-710.

NASCIMENTO DCN, SAKOMURA NK, SIQUEIRA JC, PINHEIRO SRF, FERNANDES JKB, FURLAN RL. Exigência de metionina+cistina digestível para aves de corte ISA Label criadas em semi-confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2009, 38(5): 869-878.

PERAGÓN J, BARROSO JB, GARCÍA-SALGUERO L, HIGUERA M, LUPIÁÑEZ JA. Growth, protein-turnover and nucleic-acid in the White muscle of rainbow trout during development. *The International of Biochemistry & Cell Biology* 2001, 33:1227-1238.

POHAL S. Característica de crescimento de dois cruzamentos de frangos de corte recebendo dietas com diferentes níveis de lisina na primeira semana de vida. Tese (Doutorado) 2004, p.174.

ROSTAGNO HS, ALBINO LFT, DONZELE JL, GOMES PC, OLIVEIRA RF, LOPES DC, FERREIRA AS, BARRETO SLT. Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais), Editora UFV, 2 ed, p.186, 2005.

ROSTAGNO HS, ALBINO LFT, DONZELE JL, GOMES PC, OLIVEIRA RF, LOPES DC, FERREIRA AS, BARRETO SLT, EUCLIDES RF. Tabelas brasileiras para aves e suínos (composição de alimentos e exigências nutricionais), Editora UFV, 3 ed, p.252, 2011.

SAKOMURA NK, ROSTAGNO HS. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: Funep, p,283, 2007.

SANTOS AL, SAKOMURA NK, FEITAS ED, FORTES CMLS, CARRILHO ENVM, FERNANDES JBK, Estudo do crescimento, desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne em 3 linhagens de frangos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, 34(5):1589-1598.

SCHEUERMANN GN, BILGILI SF, HESS JB, MUIVANEY DR. Breast muscle development in commercial broiler chickens. Poultry Science 2003, 82:1648-1658.

SKLAN D, PLAVNIK I. Interactions crude protein and essential amino acid intake on performance in broilers. British Poultry Science 2002, 30: 442-449.

SKLAN D, NOY Y. Catabolism and deposition of amino acids in growing chicks: effect of dietary supply. Poultry Science 2004, 83:952-961.

SWATSON HK, GOUS R, IU PA, ZARRINKALAM R. Effects of dietary protein level amino acid balance and feeding level on growth, gastrointestinal tract and mucosa structure of the small intestine in broiler chickens. Animal Research 2001, 51:501-515.

TESSERAUD S, PERESSON R, LOPES J, CHAGNEAU AM. Dietary lysine deficiency greatly affects muscle and liver protein turnover in growing chickens. British Journal of Nutrition 1996, 75:853-865.

TESSERAUD S, CHAGNEAU M, GRIZARD J. Muscle protein turnover during early development in chicks divergently selected for growth rate. Poultry Science 2000, 79: 1465-1471.

TESSERAUD S, TEMIM LE, BIHAN-DUCAL E, CHANGNEAU AM. Increased responsiveness to dietary lysine deficiency of pectoralis major muscle protein turnover in broilers selected on breast development. Journal of Animal Science 2001, 79:927-933.

TESSERAUD S, EVERAERT N, BOUSSAID-OM EZZINE S, COLLIN, A, MÉTAYER-COUSTARD S, BERRI C. Manipulating tissue metabolism by amino acids. World's Poultry Science Journal 2011, 67(2):243-251.

TIRAPEGUI J, ROGERO MM. Metabolismo de proteínas. In: ANGELIS RC, TIRAPEGUI J. Fisiologia da nutrição humana. Aspectos básicos, aplicados e funcionais Atheneu, 2ed: 69-109, 2007.

UBABEF – União Brasileira de Avicultura. Relatório anual 2010/2011. Disponível em [www.abef.com.br](http://www.abef.com.br). Acesso em 08 de agosto de 2011.

URDANETA-RINCON M, LESSON S. Muscle (Pectoralis major) protein turnover in young broiler chickens fed graded levels lysine and crude protein. Poultry Science 2004, 83: 1897-1906.

VIOLA TH. Eficiência de deposição de lisina aos 26, 33 e 40 dias de idade em frangos de corte. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul 2007, p.157.

ZUANON JAS, PEZZATO AC, DUCATTI C, BARROS MM, PEZZATO LE, PASSOS JRS. Muscle  $\delta^{13}\text{C}$  change in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings fed C3 or C4-cycle plants grain based diets. Comparative Biochemistry and Physiology. A Molecular Integrative Physiology 2007, 147(3): 761-766.

## **CAPÍTULO III**

### **Implicações**

Pesquisas na área de produção animal utilizando a técnica de isótopos estáveis vem sendo realizadas de forma crescente. Por ser uma ferramenta que proporciona resultados bastante acurados, tem sido aceita e aplicada na rastreabilidade na produção de frangos de corte e aves de postura. As formas de aplicação dos isótopos estáveis encontram-se em evidência, com atual aproveitamento em avaliação de metabolismo animal, através da análise de *turnover* tecidual, para melhor compreensão do funcionamento do metabolismo dos animais.

Neste estudo foi possível observar efeito da deficiência dos aminoácidos na taxa de troca isotópica dos tecidos analisados, porém devem ser realizados novos estudos conciliando a técnica dos isótopos estáveis com estudos de desempenho animal. Dessa forma haveria maior controle da interação entre nutrição e taxa de troca isotópica.

Como o músculo peitoral (*Pectoralis major*) por ser a principal reserva de aminoácidos no corpo dos frangos mostrou ser o tecido com maior sensibilidade para se detectar a importância dos aminoácidos na formação dos tecidos analisados, verificou-se que neste estudo que ele não atingiu a estabilidade isotópica, e portanto deve-se aumentar o tempo de coleta com a finalidade da taxa de troca isotópica ser totalmente completado e os dados obtidos terem maior veracidade.

Estudos referentes à taxa de troca isotópica de  $^{13}\text{C}$  em conjunto com  $^{15}\text{N}$  nos tecidos de frangos de corte em função da suplementação/deficiência de aminoácidos deverão ser conduzidos para obtenção de maiores informações a respeito do comportamento dos tecidos em relação aos teores dos aminoácidos ingeridos.

Novos estudos deverão ser conduzidos nesta área de nutrição com objetivo de aprimorar essa técnica, devido a ausência de estudos com utilização dessa ferramenta. Como ainda os mecanismos que regulam as relações entre nutrição e metabolismo de aminoácidos ainda não foram elucidados, investigações em nível celular e molecular são necessárias.