

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

**CLEITON PAGLIARI SANGALI**

**BIOEFICÁCIA DE FONTES ALTERNATIVAS DE METIONINA EM RELAÇÃO À  
DL-METIONINA EM FRANGOS DE CORTE (Cobb 500)**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PR**

**2012**

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

**CLEITON PAGLIARI SANGALI**

**BIOEFICÁCIA DE FONTES ALTERNATIVAS DE METIONINA EM RELAÇÃO À  
DL-METIONINA EM FRANGOS DE CORTE (Cobb 500)**

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

Orientador: Prof. Dr. Luís Daniel Giusti Bruno

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PR**

**2012**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

S225b	<p>Sangali, Cleiton Pagliari Bioeficácia de fontes alternativas de metionina em relação à dl-metionina em frangos de corte (Cobb 500) / Cleiton Pagliari Sangali. - Marechal Cândido Rondon, 2012. 71 p.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Luís Daniel Giusti Bruno</p> <p>Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2012.</p> <p>1. Frango de corte _Nutrição. 2. Avicultura. 3. Aminoácidos sulfurados. 4. dl-2-hidróxi-4 (metil) butanoico. 5. dl-metionina. 6. poli ingrediente de ervas. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.</p> <p>CDD 22.ed. 636.5 CIP-NBR 12899</p>
-------	--

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

CLEITON PAGLIARI SANGALI

BIOEFICÁCIA DE FONTES ALTERNATIVAS DE METIONINA EM RELAÇÃO À  
DL-METIONINA EM FRANGOS DE CORTE (Cobb 500)

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

Marechal Cândido Rondon, 14 de junho de 2012.

BANCA EXAMINADORA:



---

Prof. Dr. Luís Daniel Giusti Bruno  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



---

Prof. Dr. Cláudio Yuji Tsutsumi  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



---

Dr. Adhemar Rodrigues de Oliveira Neto  
Evonik Degussa Brasil

A Deus, por sempre estar “à minha frente a me guiar, ao meu lado a me acompanhar, às minhas costas a me guardar e acima de mim a me abençoar”, oferecendo-me tudo que preciso para ser feliz e confortar meu coração.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e Nossa Senhora Aparecida, que me deram a vida, que constantemente iluminam meu caminho e pelas oportunidades que me deram de alcançar os requisitos para minha educação e formação profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade de concluir o Curso de Mestrado.

Ao CNPq e a Fundação Araucária, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores Dr. Luís Daniel Giusti Bruno (orientador) e Dr. Ricardo Vianna Nunes (co-orientador) pela paciência, pelo conhecimento repassado, pelo caráter e pela amizade consolidada desde a graduação e ao longo do Curso de Pós-Graduação.

Agradeço aos membros da banca examinadora, professor Dr. Cláudio Yuji Tsutsumi e ao chefe técnico Dr. Adhemar Rodrigues Oliveira Neto, pela atenção e contribuição dedicadas a este trabalho.

A professora Dr.<sup>a</sup> Yolanda Lopes da Silva pelo auxílio.

Aos professores Dr. Paulo Cesar Pozza, Dr. Elcio Silvério Klosowski e a professora Dr.<sup>a</sup> Magali Soares dos Santos Pozza pelo conhecimento repassado, pelo caráter e acima de tudo, pela amizade consolidada desde a graduação e ao longo do Curso de Pós-Graduação.

Agradeço de maneira especial a minha mãe Lourdes Pagliari e minha namorada Jéssica Ortega de Jesus e família, pelo incentivo nos estudos, pela orientação e por torcerem pelo meu sucesso.

Aos amigos, Débora Cristiane Freitag e Aparecida da Corta Oliveira, pela presença em minha vida, força, amizade sincera e pela lealdade.

A todos os professores e funcionários do Centro de Ciências Agrárias da UNIOESTE, que de alguma forma contribuíram no desenvolvimento do trabalho.

## **BIOGRAFIA**

CLEITON PAGLIARI SANGALI, filho de Jorge Sangali e Lourdes Pagliari, nasceu em Matelândia – Paraná, em 19 de março de 1986.

Em fevereiro de 2005, iniciou o Curso de Graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no *campus* de Marechal Cândido Rondon-PR, cumprindo as exigências para obtenção do título de “Zootecnista” em dezembro de 2009.

Em março de 2010, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Nível Mestrado, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon-PR, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos, submetendo-se aos exames finais de defesa de dissertação em junho de 2012.

## RESUMO

SANGALI, CLEITON PAGLIARI. Mestrado em Zootecnia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, junho de 2012. **Bioeficácia de fontes alternativas de metionina em relação à DL-metionina em frangos de corte (Cobb 500)**. Orientador: Dr. Luís Daniel Giusti Bruno.

Com o objetivo de avaliar a bioeficácia do ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) e de um poli ingrediente de ervas (PIE) em relação à DL-metionina (DLM) em frangos de corte foram realizados dois experimentos. No primeiro experimento, 1100 pintos de corte, da linhagem comercial Cobb 500, machos e fêmeas, foram alimentados de 1 a 21 dias de idade com uma dieta basal, deficiente em metionina + cistina, ou a dieta basal suplementada com três níveis (0,170, 0,340, 0,511%) de DL-HMB ou três níveis de DLM (0,111, 0,221, 0,332%) em quantidade equivalente a 65% dos nível de DL-HMB, ou ainda três níveis de PIE (0,111, 0,221, 0,332%), em quantidade equivalente aos níveis de DLM. No segundo experimento, 900 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500 foram alimentados dos 22 aos 42 dias de idade com uma dieta basal deficiente em metionina, ou a dieta basal suplementada com três níveis (0,143, 0,286 e 0,429%) de DL-HMB ou três níveis de DLM (0,093, 0,186 e 0,279%) em quantidade equivalente a 65% dos nível de DL-HMB, ou ainda três níveis de PIE (0,093, 0,186 e 0,279%), em quantidade equivalente aos níveis de DLM. A análise de regressão simultânea foi usada para determinar a bioeficácia baseada no peso corporal e na conversão alimentar das aves dos experimentos I e II sendo que, no experimento II os valores de bioeficácia também foram determinados em função das características de carcaça das aves alimentadas com cada fonte de metionina. O desempenho foi melhorado com a suplementação de DL-HMB ou DLM em quantidade equivalente a 65% (DLM-65) dos níveis de DL-HMB, em relação aos frangos alimentados com as dietas basais. No entanto estas respostas não foram tão evidentes nas aves suplementadas com PIE. Para o primeiro experimento (fase de 1 aos 21 dias de idade) a análise de regressão linear simultânea revelou bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DLM de 39% e 44% para ganho de peso e conversão alimentar, em base de produto, respectivamente, sendo que, os dados de desempenho das aves suplementadas com PIE não se ajustaram significativamente aos modelos de regressão simultânea, desta forma não sendo possível determinar a bioeficácia do

PIE em relação à DLM. No segundo experimento (fase de 22 aos 42 dias de idade), a análise de regressão exponencial simultânea revelou bioeficácia relativa do DL-HMB e do PIE em relação à DLM de 52% e 5% para ganho de peso e de 57% e 4% para conversão alimentar, em base de produto, respectivamente. Em relação ao rendimento de peito, a análise de regressão linear simultânea revelou uma bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DLM de 65%, em base de produto. Os resultados do presente estudo indicam que a bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DLM para frangos de corte nas fases de 1 aos 21 e dos 22 aos 42 dias de idade são respectivamente de 42% e 58% numa base de produto, em média, em todos os critérios testados.

**Palavras-chave:** aminoácidos sulfurados, dl-2-hidróxi-4 (metil) butanóico, dl-metionina, poli ingrediente de ervas, regressão simultânea

## ABSTRACT

SANGALI, CLEITON PAGLIARI. Master Course in Animal Science. Paraná West State University, 2012, June. **Bioefficacy of alternative methionine sources relative to DL-methionine in broilers (Cobb 500)**. Adviser: Dr. Luís Daniel Giusti Bruno.

Aiming to assess the relative bioefficacy of DL-2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid (DL-HMBA) and of poly-herbal ingredient (PHI) relative to DL-methionine (DLM) in broilers, two experiments were conducted. In the first experiment, 1100 Cobb 500 males and females broilers were fed either, from 1 to 21 days of age with a methionine-deficient basal diet, or the basal diet with three levels (0.170, 0.340, 0.511%) of DL-HMBA or three levels (0.111, 0.221, 0.332%) of DLM in equivalent amount of 65% of the levels of DL-HMBA or still, three levels (0.111, 0.221, 0.332%) of PHI, in equivalent amount the levels of DLM. In the second experiment, 900 Cobb 500 male broilers were fed either, from 22 to 42 days of age with a methionine-deficient basal diet, or the basal diet with three levels (0.143, 0.286 e 0.429%) of DL-HMBA or three levels (0.093, 0.186 e 0.279%) of DLM in equivalent amount of 65% of the levels of DL-HMBA or still, three levels (0.093, 0.186 e 0.279%) of PHI, in equivalent amount the levels of DLM. Simultaneous regression analysis was used to determine the bioefficacy based on weight gain and in feed conversion the of birds of experiments I and II, being that, in experiment II the bioefficacy values were also determined in function of the carcass characteristics of broilers fed with each methionine source. Performance was improved with supplementation of DL-HMBA or DLM in equivalent amount to 65% (DLM-65) of the levels of DL-HMBA, relative to those broilers fed the basal diet. However these responses were not so evident in birds supplemented with PHI. In the first experiment (stage of 1 to 21 days of age), simultaneous linear regression analysis revealed relative bioefficacy of DL-HMBA relative to DLM 39% and 44% for weight gain and feed conversion, on a product basis, respectively, being that, the performance data of birds supplemented with PHI not adjusted the simultaneously regression models, thereby, was not possible determine the bioefficacy of PHI in relation to the DLM. In the second experiment (stage of 22 to 42 days of age), simultaneous exponential regression analysis revealed bioefficacy relative of DL-HMBA and of PHI relative to DLM of 52% and 5% for weight gain and of 57% and 4% for feed conversion, on a product basis, respectively. To breast yield,

the simultaneous linear regression analysis revealed relative bioefficacy of DL-HMBA in relation to DLM the 65% on a product basis. The results of this study indicate that the relative bioefficacy of DL-HMBA relative to DLM for broilers in stages of 1 to 21 and from 22 to 42 days old are respectively 42% and 58% on a product basis on average across all criteria tested.

**Keywords:** dl-2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid, dl-methionine, poly-herbal ingredient, simultaneous regression, sulphur amino acids

## LISTA DE FIGURAS

<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>15</b>
<b>Figura 1.</b> Formula estrutural da metionina .....	18
<b>Figura 2.</b> Relação entre o nível de suplementação de um nutriente (produto) e a resposta animal demonstrando os três segmentos da curva exponencial de dose resposta.. .....	20
<b>Figura 3.</b> Relação de dose resposta dos dois produtos com atividade diferente.....	21
<b>Figura 4.</b> Estrutura molecular da DL-Metionina e do Ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico .....	26
<b>Figura 5.</b> Rotas de conversão do isômero D da DLM e dos isômeros D e L do DL-HMB em L-Metionina. ....	27
<b>Figura 6.</b> Sistemas de transporte intestinal da DL-Metionina e do DL-HMB.....	28
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>37</b>
<b>Figura 1.</b> Bioeficácia do ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) e de um poli ingrediente de ervas (PIE) em relação à DL-Metionina (DLM), com base no ganho de peso (a) e na conversão alimentar (b), em frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade. ....	48
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>52</b>
<b>Figura 1.</b> Bioeficácia do ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) e de um poli ingrediente de ervas (PIE) em relação à DL-Metionina (DLM), com base no ganho de peso (a), na conversão alimentar (b) e no rendimento de peito (c), de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade.....	65

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>37</b>
<b>Tabela 1.</b> Médias das temperaturas e valores de umidade relativa do ar, mínimos e máximos, registradas no interior da instalação durante o período experimental. ....	42
<b>Tabela 2.</b> Composição da dieta basal.....	43
<b>Tabela 3.</b> Representação das estratégias de suplementação. ....	44
<b>Tabela 4.</b> Desempenho de frangos de corte, de 1 a 21 dias de idade, alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de metionina. ....	47
<b>Tabela 5.</b> Valores médios do fator de produção aos 21 dias de idade. ....	49
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>52</b>
<b>Tabela 1.</b> Médias das temperaturas e valores de umidade relativa do ar, mínimos e máximos, registradas no interior da instalação durante o período experimental. ....	57
<b>Tabela 2.</b> Composição da dieta basal.....	58
<b>Tabela 3.</b> Representação das estratégias de suplementação. ....	59
<b>Tabela 4.</b> Desempenho de frangos de corte, de 22 a 42 dias de idade, alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de metionina. ....	62
<b>Tabela 5.</b> Rendimento de carcaça e de cortes nobres (peito, coxa e sobrecoxa) de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de metionina.....	63
<b>Tabela 6.</b> Rendimento de asa, fígado e gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de metionina. ....	64
<b>Tabela 7.</b> Valores médios do fator de produção aos 42 dias de idade. ....	67

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>12</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>15</b>
Considerações iniciais .....	16
1 Introdução geral .....	16
2 Revisão de literatura.....	18
2.1 Metionina na nutrição de frangos de corte.....	18
2.2 Fontes de Metionina.....	19
2.3 Estimativa da bioeficácia de fontes nutricionais.....	19
2.4 Bioeficácia de fontes de metionina .....	23
2.5 Possíveis causas para a diferença de utilização das fontes de metionina pelas aves .....	24
2.5.1 Menor valor nutritivo dos polímeros do DL-HMB .....	25
2.5.2 Conversão do DL-HMB em L-metionina e incorporação nos tecidos.....	25
2.5.3 Digestão e absorção das fontes de metionina .....	28
2.5.4 Degradação parcial do DL-HMB por microrganismos intestinais .....	29
Referências bibliográficas .....	31
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>37</b>
Bioeficácia de fontes alternativas de metionina em relação à dl-metionina para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade.....	38
Resumo .....	38
Abstract.....	39
1 Introdução .....	40
2 Material e Métodos .....	41
2.1 Local e duração do experimento.....	41
2.2 Animais.....	41
2.3 Instalações, equipamentos e manejos .....	41

2.4 Delineamento experimental .....	42
2.5 Ração .....	42
2.6 Estratégias de suplementação .....	44
2.7 Parâmetros Avaliados .....	44
2.8 Análises estatísticas .....	45
3 Resultados e Discussão .....	46
4 Conclusões .....	49
Referências bibliográficas .....	50

**CAPÍTULO III ..... 52**

Bioeficácia de fontes alternativas de metionina em relação à dl-metionina para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade.....	53
Resumo .....	53
Abstract.....	53
1 Introdução .....	55
2 Material e Métodos .....	56
2.1 Local e duração do experimento.....	56
2.2 Animais.....	56
2.3 Instalações, equipamentos e manejos .....	56
2.4 Delineamento experimental .....	57
2.5 Ração .....	57
2.6 Estratégias de suplementação .....	59
2.7 Parâmetros Avaliados .....	59
2.8 Análises estatísticas .....	60
3 Resultados e Discussão .....	61
4 Conclusões .....	67
Referências bibliográficas .....	68

**CAPÍTULO IV..... 70**

Considerações finais .....	71
----------------------------	----

## **CAPÍTULO I**

## Considerações iniciais

### 1 Introdução geral

A avicultura de corte tem importante papel no agronegócio brasileiro e paranaense. No quarto trimestre de 2011 foram abatidos no país 1,319 bilhão de frangos, o que representou um crescimento na ordem de 4,5% comparado com o mesmo trimestre de 2010. Entre os Estados, o Paraná é o maior produtor de carne de frango do país, seguido dos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Desta forma a Região Sul do País se destaca como a principal na atividade avícola de corte, respondendo por 60,8% do volume produzido no país (IBGE, 2012).

Contudo, o objetivo comum na avicultura de corte não é apenas o aumento na quantidade de frangos produzida, mas sim a obtenção de um produto de alta qualidade com menores custos de produção. Neste sentido, o plano nutricional adotado torna-se de grande importância, visto que cerca de 70 % do custo total da produção é devido à alimentação e as fontes protéicas apresentam uma contribuição de aproximadamente 25% neste custo, o que torna a proteína um dos componentes de grande importância, nutricional e econômica, na dieta.

As dietas práticas para frangos de corte são formuladas principalmente à base de milho e farelo de soja e suprem as necessidades de proteína, mas não atende às exigências de metionina e aminoácidos sulfurados, exigindo a utilização de metionina industrial que onera o custo final da ração em aproximadamente 5% (RODRIGUES et al., 1996).

A metionina, juntamente com a cistina, são utilizadas em grandes quantidades pelas aves sendo os primeiros limitantes; logo a concentração adequada desses aminoácidos é de fundamental importância para determinar que outros aminoácidos sejam utilizados com eficiência na síntese de proteína (ALBINO et al., 1999).

Na indústria alimentícia para aves existe a disponibilidade de fontes industriais alternativas para a suplementação de metionina, sendo a DL-Metionina (DLM) e o ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) as mais comumente encontradas (LEMME et al., 2002), existindo ainda fontes naturais deste aminoácido, como os poli ingrediente de ervas (PIE). Fisicamente, estas fontes são diferentes, pois a DLM é um produto puro, na forma de pó, com mais de 99% de pureza, enquanto que a DL-HMB se apresenta na forma líquida, com 88% de substâncias ativas e o PIE, na forma de pó, contendo dipeptídeos e oligopeptídeos de metionina, assim como precursores e intermediários deste aminoácido.

Além destas diferenças físicas, existem também diferenças bioquímicas e metabólicas entre estas três fontes o que, de acordo com Maenz; Engele-Schaan (1996a, b) e Drew et al. (2003), pode interferir sobre as suas funções biológicas como fontes de metionina para as aves. Desta forma, o conhecimento do valor nutritivo do DL-HMB e do PIE, em relação à DLM, torna-se um pré-requisito importante para tomada de decisão sobre qual fonte de metionina utilizar, levando em conta o custo na compra de ingredientes para a formulação de dietas e para a produção animal (BRUGALLI, 2003).

A discussão sobre a bioeficácia relativa das diferentes fontes de metionina não é um tema novo, e há um volume considerável de experimentos com aves, principalmente comparando o DL-HMB com a DLM (THOMAS et al., 1991; ROSTAGNO; BARBOSA, 1995; ESTEVE-GARCIA; LLAURADO, 1997; HOEHLER et al., 2005a; ELWERT et al., 2008). Além disso, o modelo estatístico correto para avaliar a bioeficácia de diferentes fontes de nutrientes essenciais também tem sido um assunto de debate (LITTELL et al., 1997; KRATZER; LITTELL, 2006; PIEPHO, 2006).

De maneira geral, o desempenho das aves a um nutriente limitante como a metionina segue a lei dos rendimentos decrescentes, o que significa que o desempenho animal é aumentado em função do aumento de nutrientes, até que nenhuma unidade adicional do nutriente proporcione um aumento no desempenho do animal (RODEHUTSCORD; PACK, 1999; TIMMLER; RODEHUTSCORD, 2003). De acordo com Littell et al. (1997) a maneira mais precisa para descrever as respostas de desempenho das aves aos níveis crescentes das fontes de metionina seria por modelo de regressão simultânea. Este modelo fornece uma maneira para determinar as estimativas imparciais da bioeficácia entre as substâncias de ensaio (DL-HMB e PIE) e a substância de referência (DLM), sugerindo ainda que a padronização das análises estatísticas tornaria as comparações de várias fontes de nutrientes, entre os diferentes experimentos, mais fáceis e mais precisas.

Desta forma, o objetivo destes estudos foram os de avaliar a bioeficácia relativa do DL-HMB e do PIE em relação à DLM, em dietas para frangos de corte, de 1 a 21 e de 22 a 42 dias de idade, utilizando como procedimento estatístico a análise de regressão simultânea.

## 2 Revisão de literatura

### 2.1 Metionina na nutrição de frangos de corte

A metionina caracteriza-se como um aminoácido sulfuroso que, juntamente com a cistina, é considerado um aminoácido fisiologicamente essencial para manutenção e crescimento das aves, principalmente quando estes animais estão limitados às fontes de proteína vegetal como o milho e o farelo de soja. A Figura 1 ilustra a fórmula estrutural da metionina.

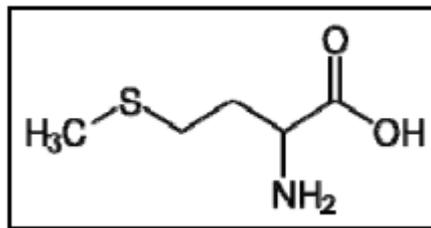


Figura 1. Fórmula estrutural da metionina.

Fonte: adaptado de Lehninger et al. (2002).

Dentre as funções conferidas à metionina, a principal é ser substrato para síntese de proteínas, além disto, é precursora de outros aminoácidos sulfurados, notadamente da cisteína que, assim como a metionina também é utilizada para a síntese de proteína corporal, além de ser utilizada na formação da pele e penas o que explica a alta exigência desses aminoácidos pelas aves (BUNCHASAK et al., 2009).

A metionina, na forma de S-adenosilmetionina, é o maior doador de radicais metil no organismo animal, sendo necessária para biossíntese de creatina, carnitina, poliaminas, epinefrina, colina e melatonina, que são componentes fundamentais para o desenvolvimento das aves (LEHNINGER et al., 2002). A metionina também desempenha um papel importante para o metabolismo dos fosfolípidios, sendo que a sua deficiência é conhecida por causar prejuízos renais e hepáticos (KALINOWSKI et al., 2003).

Carew (2003) relatou que uma dieta deficiente em metionina além de reduzir o ganho de peso, a eficiência alimentar e o teor de proteína na carcaça, estimula o consumo de ração, contribuindo com energia adicional e, conseqüentemente, ocasionando acréscimo na deposição de gordura corporal.

No organismo, a metionina apresenta uma relação com a cisteína e, em condições normais a metionina pode ser catabolizada e convertida em cisteína. Entretanto, esta

conversão não é reversível, pois a cisteína não pode ser convertida em metionina e por isso torna-se necessário determinar os níveis adequados destes aminoácidos, a fim de se atender esta interrelação (BARBOSA et al., 2000). Desta forma, é essencial que as rações para aves sejam suplementadas com metionina no intuito de atender a necessidade do animal.

## **2.2 Fontes de Metionina**

Para se obter uma dieta equilibrada, formulada à base de milho e farelo soja, que contenha todos os aminoácidos essenciais nas quantidades mínimas requeridas para o bom desempenho das aves, é necessário a inclusão de aminoácidos sob a forma industrial, sendo a metionina um dos aminoácidos mais comumente suplementados. Segundo Butolo (2002), a inclusão do aminoácido metionina, nas dietas de frangos de corte, iniciou-se a partir da década de 1970.

Atualmente na indústria alimentícia para aves, existe a disponibilidade de fontes industriais alternativas para a suplementação de metionina, sendo a DL-Metionina (DLM) e o ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) as mais comumente encontradas (LEMME et al., 2002), existindo ainda, fontes naturais deste aminoácido, como os poli ingrediente de ervas (PIE). Fisicamente, estas fontes são diferentes, pois a DLM é um produto puro, na forma de pó, com mais de 99% de pureza, enquanto que o DL-HMB se apresenta na forma líquida, com 88% de substâncias ativas, e o PIE, na forma de pó, contendo dipeptídeos e oligopeptídeos de metionina, assim como precursores e intermediários deste aminoácido. Desta forma, o conhecimento do valor nutritivo ou bioeficácia do DL-HMB e do PIE, em relação à DLM, torna-se um pré-requisito importante para tomada de decisão sobre qual fonte de metionina utilizar, levando em conta o custo na compra de ingredientes, para a formulação de dietas e para a produção animal (BRUGALLI, 2003).

## **2.3 Estimativa da bioeficácia de fontes nutricionais**

O ponto de partida para a determinação da bioeficácia de diferentes fontes de nutrientes é conhecer as respostas dos animais à suplementação do mesmo. Em geral, as respostas de desempenho das aves a um nutriente limitante como a metionina seguem a lei dos rendimentos decrescentes, o que significa que o desempenho animal é aumentado a cada passo incremental de nutrientes até que nenhuma unidade adicional do nutriente proporcione um desempenho adicional do animal (RODEHUTSCORD; PACK, 1999; TIMMLER;

RODEHUTSCORD, 2003). O efeito desta suplementação crescente de aminoácidos, partindo de uma dieta deficiente, sobre critérios de desempenho, pode ser observado na Figura 2.

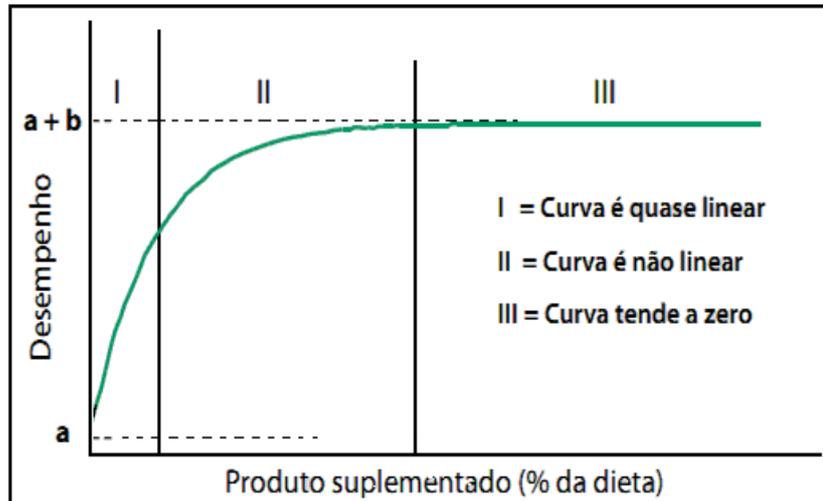


Figura 2. Relação entre o nível de suplementação de um nutriente (produto) e a resposta animal demonstrando os três segmentos da curva exponencial de dose resposta.

Fonte: adaptado de Jansman et al. (2003).

Desta forma, a curva de dose resposta pode ser dividida em três segmentos (Figura 2). No primeiro segmento, a curva aumenta de forma praticamente linear. No segundo segmento, a inclinação da curva diminui progressivamente e no terceiro segmento, aumenta apenas marginalmente, nunca atingindo a assíntota, por definição. Portanto, um aumento ainda maior do fornecimento de metionina, não aumenta mais o desempenho no terceiro segmento da curva (TIMMLER; RODEHUTSCORD, 2003). Partindo destes pressupostos, a comparação das fontes de metionina requer uma ração basal claramente deficiente em metionina, pelos menos três níveis de suplementação de cada produto, descrevendo assim as seções um e dois da curva de resposta (JANSMAN et al., 2003).

Outro ponto chave na estimativa precisa da bioeficácia de fontes nutricionais é a escolha de modelos matemáticos adequados para analisar os dados. Alguns estudos científicos reportados na literatura avaliaram a bioeficácia de fontes nutricionais por análise de variância, usando comparação múltipla de médias ou mesmo modelos matemáticos mais simples. De acordo com o pressuposto por Hoehler et al. (2005b), a determinação da bioeficácia usando comparação múltipla de médias pode estar sujeita a erros, visto que este método não é sensível o bastante para este tipo de análise.

Revisando alguns experimentos com aves, principalmente comparando o DL-HMB com a DLM, podemos observar que a taxa de resposta dos dois produtos convergem com o aumento da dose, ajustando-se exatamente à lei dos rendimentos decrescentes, como foi explicado anteriormente. Desta forma o desempenho máximo seria atingido pelos dois produtos e as diferenças se tornariam menores à medida que a suplementação aumentasse (Figura 3).

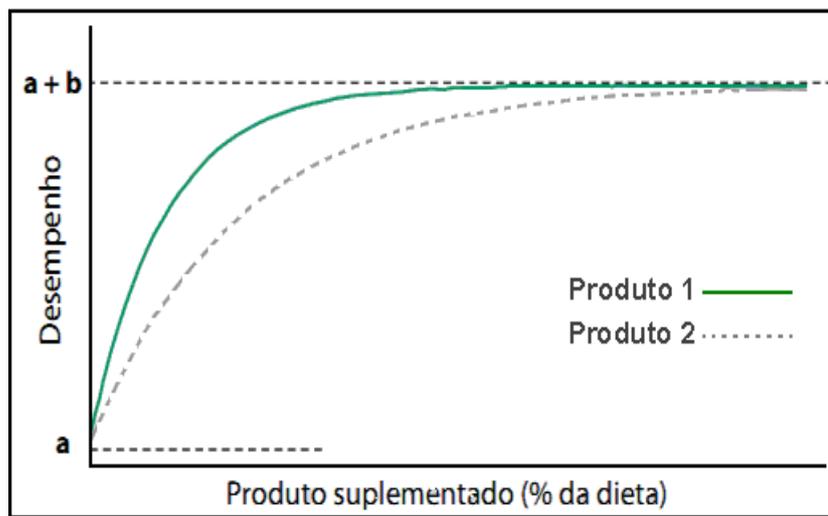


Figura 3. Relação de dose resposta dos dois produtos com atividade diferente.

Fonte: adaptado de Jansman et al. (2003).

De acordo com Littell et al. (1997) a maneira mais precisa para descrever as curvas de desempenho, em relação suplementação das fontes de nutriente apresentados na figura 3, seria por modelo de regressão exponencial simultânea (Equação 1). Este modelo fornece uma maneira para determinar as estimativas imparciais da bioeficácia entre as substâncias de ensaio (DL-HMB e PIE) e a substância de referência (DLM).

$$y = a + b(1 - e^{-(c^1x^1 + c^2x^2)}) \text{ ----- (1)}$$

Em que:  $y$  = Critério de desempenho (ganho de peso, conversão alimentar, rendimento de peito, etc),  $a$  = desempenho obtido com a dieta basal (intercepto- $y$ ),  $b$  = resposta assintótica (diferença entre 'a' e assíntota),  $a + b$  = assíntota comum (nível de desempenho máximo),  $c^1$ ,  $c^2$ , = coeficientes de regressão da curva para os produtos um e dois, respectivamente, e  $x^1$ ,  $x^2$ , = representam o nível de suplementação de cada produto.

Observa-se que tanto o ponto inicial das curvas (dieta basal), quanto à resposta máxima (assíntota), são idênticas para ambos os produtos. Conseqüentemente, a única diferença entre as curvas deve ser a sua inclinação, que no caso do produto 2, atinge a assíntota a uma dose mais alta. Neste sentido, a bioeficácia pode ser determinada pela relação entre os coeficientes de regressão ( $c^2/c^1$ ) (LITTELL et al., 1997).

Em alguns casos, os dados experimentais estão de acordo apenas com a primeira seção, quase linear, da curva de resposta (veja descrição na Figura 2). Neste caso, o modelo exponencial não pode ser usado porque os dados não indicam uma assíntota. Portanto, estes conjuntos de dados devem ser analisados por modelo de regressão linear simultânea ou slope-ratio (Equação 2) (LITTELL et al., 1997). Semelhante à regressão exponencial, a bioeficácia relativa é calculada dividindo os coeficientes de regressão (= inclinação da reta).

$$y = a + (b^1x^1 + b^2x^2) \text{ ----- (2)}$$

Em que:  $y$  = (ganho de peso, conversão alimentar, rendimento de peito, etc),  $a$  = desempenho obtido com a dieta basal (intercepto- $y$ ),  $b^1$ ,  $b^2$ , = coeficientes de regressão de cada reta e descrevem a inclinação da reta e “ $x^1$ ” e “ $x^2$ ” representam o nível de suplementação de cada produto (% da dieta).

Os resultados obtido por Lemme et al. (2002) e Hoehler et al. (2005b) confirmam que a análise de regressão simultânea é adequada para determinar a bioeficácia de fontes de metionina em relação à DLM. Isto foi obtido através da inclusão de tratamentos com níveis crescentes de DLM diluída a 65%. A hipótese era que, se o modelo estivesse correto, a bioeficácia da DLM diluída seria de 65%, ou próxima disto, se considerada a variação biológica. Os resultados de eficácia relativa foram de 65% e 67% para os trabalhos de Lemme et al. (2002) e Hoehler et al. (2005b) respectivamente, o que não diferiu ou ficou muito próximo do pressuposto de 65%, portanto, pode ser considerado como uma validação da abordagem matemática.

Recentemente Kratzer; Littell (2006) questionaram a utilização de regressão simultânea para determinar a bioeficácia do DL-HMB em relação à DLM. Segundo estes autores as assíntotas das curvas de resposta para suplementação do DL-HMB e da DLM seriam diferentes e, conseqüentemente, a bioeficácia não poderia ser determinada pela abordagem de platô comum. No entanto, Piepho (2006) em uma nota de advertência ao editor

concluiu que a evidência de uma diferença de platô com base na meta-análise de Kratzer; Littell (2006) é prematura e inconsistente visto que estes autores revisaram poucos estudos.

A utilização de regressão simultânea para determinar a bioeficácia do DL-HMB em relação à DLM foi reforçada ainda pelos trabalhos recentes Payne et al. (2006), Elwert et al. (2008) e Sauer et al. (2008). Este modelo mostrou-se adequado não só para comparar fontes de metionina, mas também para outros nutrientes, como fontes de fósforo (POTTER, 1988; POTTER et al., 1995; FERNANDES et al., 1999), zinco (SWIATKIEWICZ et al., 2001a, b), cobre (GUO et al., 2001) e lisina (SCHUTTE E PACK, 1994).

## **2.4 Bioeficácia de fontes de metionina**

A discussão sobre a bioeficácia relativa das diferentes fontes de metionina não é um tema novo, e há um volume considerável de experimentos com aves, principalmente comparando o DL-HMB com a DLM (THOMAS et al., 1991; ROSTAGNO; BARBOSA, 1995; WEERDEN et al. (1992); ESTEVE-GARCIA; LLAURADO, 1997; LEMME et al., 2002; LEMME, 2002; LEMME; PETRI, 2003; JANSMAN et al., 2003; DAENNER; BESSEI, 2003; HOEHLER et al., 2005a, b).

De acordo com Daenner; Bessei (2003) a suplementação de metionina com DL-HMB ou DLM equivalente a 88% dos níveis de DL-HMB não influenciou significativamente o desempenho de frangos de corte na fase de 1 a 33 dias de idade. Posteriormente, Bunchasak; Keawarun (2006) também não encontraram diferenças estatísticas no desempenho de frangos de corte suplementados com DL-HMB ou DLM equivalente a 88%, 84%, 80% ou 76% dos níveis de DL-HMB. Contudo, de acordo com o pressuposto por Hoehler et al (2005b), a determinação da bioeficácia do DL-HMB em relação à DLM por simples comparação múltipla de médias realizada por Daenner; Bessei (2003) e Bunchasak; Keawarun (2006) pode estar sujeita a erros, visto que este método não é sensível o bastante para este tipo de análise.

Neste sentido, Hoehler et al. (2005) desenvolveram uma pesquisa em quatro países diferentes totalizando cinco experimentos para determinar a bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DLM. Em todos os experimentos, os autores trabalharam com níveis crescentes de DL-HMB e DLM em uma ração basal deficiente em Metionina + Cistina e adequada em relação aos outros nutrientes. Os dados de desempenho das aves foram analisados por regressão simultânea estimando valores médios de bioeficácia do DL-HMB em relação à DLM de 63% para ganho de peso e 67% para conversão alimentar. Desta forma, para todas as

características avaliadas, a bioeficácia média do DL-HMB em relação à DLM foi próxima de 65%, em base de produtos. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Thomas et al. (1991); Weerden et al. (1992); Lemme et al. (2002); Lemme (2002b); Lemme; Petri (2003) e Jansman et al. (2003), que também encontraram, através de análise de regressão simultânea, bioeficácia média do DL-HMB, em relação à DLM, próxima de 65%.

Posteriormente, Vázquez-Añón et al. (2006a, b) questionaram a utilização de regressão simultânea para determinar a bioeficácia do DL-HMB em relação à DLM. Utilizando modelos de regressão de platô, em separado para o DL-HMB e para a DLM, não encontraram diferenças de desempenho das aves sugerindo igualdade dos produtos, quando suplementados em bases equimolares.

Neste sentido, Sauer et al. (2008) desenvolveram uma meta-análise para avaliar dados de 46 experimentos de dose-resposta, com o objetivo de testar a hipótese de uma possível diferença de platô entre o DL-HMB e da DLM. Estes autores concluíram que a hipótese de diferença de platô entre o DL-HMB e da DLM foi rejeitada. A meta-análise mostrou que os valores de bioeficácia do DL-HMB foram de 71 e 69% em base de produto para ganho de peso e conversão alimentar, respectivamente em relação à DLM.

A bioeficácia do DL-HMB em relação à DLM também foi avaliada em outras espécies de interesse zootécnico: aves poedeiras (DAENNER; BESSEL, 2001; DAENNER; BESSEL, 2002a,b; BATEMAN et al., 2005; CARVALHO et al., 2009); suínos (ZIMMERMANN et al., 2005) e perus (SCHMIDT; POTTER, 2001; HOEHLER et al., 2005b) e em todos estes estudos as análises de regressão simultânea revelaram valores de bioeficácia do DL-HMB em relação à DLM consideravelmente inferiores a 88%.

## **2.5 Possíveis causas para a diferença de utilização das fontes de metionina pelas aves**

Existem várias hipóteses para as razões pela qual o DL-HMB tem uma menor bioeficácia em relação à DLM. No entanto, as pesquisas que investigam as possíveis perdas metabólicas da atividade de metionina das fontes naturais no metabolismo das aves são escassas na literatura.

Obviamente, existem diferenças físicas e químicas entre a DLM e o DL-HMB e essas diferenças podem estar diretamente relacionadas com a eficiência pela qual cada substância é utilizada pelas aves como fonte de metionina.

### **2.5.1 Menor valor nutritivo dos polímeros do DL-HMB**

Como apresentado nesta revisão, a DLM é um produto puro com 99% de atividade de metionina, sendo que suas moléculas são constituídas de monômeros, ou seja, forma em que são absorvidas sem precisar de nenhuma outra transformação (PENZ JR., 1994; LESSON; SUMMERS, 2001). No caso do DL-HMB, dos 88% de substâncias ativas 65% está numa forma monomérica e os 23% remanescentes em dímeros e oligômeros (BOEBEL; BAKER, 1982; LAWSON; IVEY, 1986). Desta forma é importante saber se as moléculas do DL-HMB podem ser absorvidas na forma de monômero, dímero ou oligômero de ácido.

Lawson; Ivey (1986) observaram em estudo *in vitro*, usando o jejuno de aves incubadas por duas horas com dímeros de DL-HMB que, após 60 minutos, 92% dos dímeros de DL-HMB foram hidrolisados resultando em monômeros de DL-HMB. Desta forma, segundo estes autores, rapidamente o percentual de dímeros de DL-HMB que estão presentes na dieta são transformados em monômeros para serem posteriormente absorvidos.

No entanto, estudos mais recentes mostraram resultados contraditórios aos encontrados por Lawson; Ivey (1986). Trabalhando com frangos de corte, Saunderson (1991) recuperaram 15,5% dos oligômeros de DL-HMB nas excretas de frangos de corte de três semanas de idade enquanto que a DLM foi completamente absorvida. Esta absorção incompleta dos oligômeros do DL-HMB foi sustentada por Mitchell; Hunter (1996) e Mitchell; Lemme (2008).

Partindo deste pressuposto, Van Weerden et al. (1992) testaram níveis crescentes de DLM, DL-HMB e apenas dímeros e oligômeros de HMB em frangos de corte. Os autores obtiveram um número de bioeficácia relativa consideravelmente menor dos oligômeros do DL-HMB em comparação ao DL-HMB puro. Enquanto o DL-HMB apresentou uma bioeficácia relativa de 66%, os oligômeros apresentaram apenas 49% de bioeficácia em relação à DLM, em base de produto. Okuno et al. (1989), Mitchell; Hunter (1996), Hasseberg (2002) e Mitchell; Lemme (2008) também sugeriram que a utilização pobre das formas poliméricas do DL-HMB é uma das principais razões para a sua menor bioeficácia em relação à DLM.

### **2.5.2 Conversão do DL-HMB em L-metionina e incorporação nos tecidos**

As fontes comerciais de metionina, DLM e DL-HMB apresentam em sua estrutura dois isômeros (L e D), pois suas moléculas têm o carbono alfa assimétrico, ou seja,

apresentam quatro ligantes diferentes. As proteínas dos tecidos dos animais normalmente não contêm D-aminoácidos, no caso das aves, estas só utilizam o isômero L da metionina na síntese protéica (PENZ JR, 1994). Assim, as formas D-aminoácidos deverão ser transformados em L-aminoácidos no organismo animal para posterior utilização.

Contudo, o DL-HMB apresenta em sua estrutura um grupamento hidroxila (OH) no lugar do grupamento amina (NH<sub>2</sub>), localizado no carbono alfa da molécula (PENZ JR., 1994) (Figura 4), desta forma não sendo considerado um aminoácido necessitando ser convertido em metionina por diferentes transformações enzimáticas no metabolismo animal (DANNER; BESSEI, 2002).

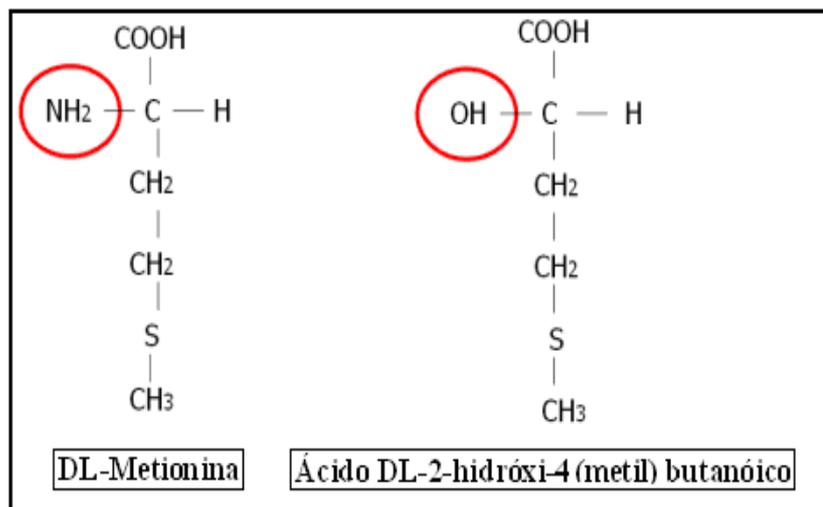


Figura 4. Estrutura molecular da DL-Metionina e do Ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico.  
 Fonte: adaptado de <http://bifi.es/jsancho/macromoleculas/2aminoacidos/2aminoacidos.html>

Neste sentido, somente o isômero L da DLM não precisa sofrer qualquer alteração para ser usada na síntese protéica. Os isômeros D da DLM e os isômeros D e L do DL-HMB deverão sofrer alterações de tal forma que, após suas transformações metabólicas resultem também em L-metionina para posterior utilização como componente da proteína ou utilizados no metabolismo intermediário (BUTOLO, 2002; BARBI et al., 2004).

Segundo Dibner (2003), a conversão de D em L-Met envolve intermediários 2-cetoácido-4-metiltiobutanóico, os quais também ocorrem na via metabólica da DL-HMB (Figura 5). Este processo ocorre via duas reações sequenciais envolvendo oxidação (alfa carbono) para ceto-análogo e transaminação do ceto-análogo para L-aminoácido (BAKER, 1994; BARBI et al., 2004; MARTÍN-VENEGAS et al., 2006)

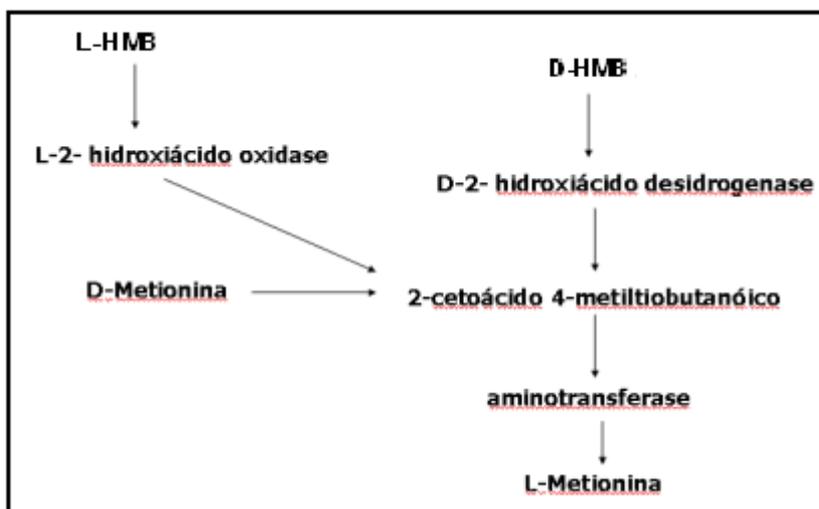


Figura 5. Rotas de conversão do isômero D da DLM e dos isômeros D e L do DL-HMB em L-Metionina.

Fonte: adaptado de <http://bifi.es/jsancho/macromoleculas/2aminoacidos/2aminoacidos.html>.

De acordo com Dibner et al. (1992), as enzimas de transformação dos DL-HMB têm concentrações acima das necessárias para executar a reação, também comentaram que a transformação do D-HMB ocorre assim que entra na célula e a enzima que faz a transformação encontra-se na mitocôndria de todas as células passíveis de multiplicação. Logo, estes autores concluíram que não deve ser nesta fase do metabolismo que qualquer diferença possa existir na utilização de DL-HMB. Entretanto, estudo mais recente realizado por Lingens; Molnar (1996) encontraram maior quantidade de carbono quatorze ( $^{14}\text{C}$ ) no peito e na perna de aves alimentadas com  $^{14}\text{C}$ -DLM, em comparação com as aves alimentadas com  $^{14}\text{C}$ -DL-HMB, indicando uma clara relação entre disponibilidade das fontes de metionina e sua incorporação nos músculos. Estes resultados também foram observados por Saunderson (1985) que ao avaliar a incorporação de fontes de metionina nos tecidos utilizando  $^{14}\text{C}$  obteve uma menor incorporação do DL-HMB em comparação à L-metionina.

De acordo com Hasseberg (2002), as moléculas de DL-HMB ao serem convertidas em L-Metionina por transaminação, acarretam perdas adicionais da eficácia biológica de DL-HMB, as quais são adicionadas às perdas ocorridas no intestino; podendo ser esta mais uma razão para a baixa eficiência relativa do DL-HMB em relação à DLM.

Estudo de excreção renal das fontes de metionina em frangos de corte, realizado por Esteve-Garcia; Austic (1988) verificaram que L-Metionina, D-Metionina e DL-HMB-Ca são excretadas com a mesma intensidade. Posteriormente, Esteve-Garcia; Austic (1993) e Esteve-Garcia (1998) também observaram excreção similar da DLM e do DL-HMB, sendo inferior a

1 e 2,2% do volume filtrado, respectivamente. Portanto, de acordo com estes autores não é a excreção a responsável pela existência de qualquer diferença da bioeficácia das fontes comerciais de metionina.

### 2.5.3 Digestão e absorção das fontes de metionina

No entanto, antes de qualquer conversão para os L-isômeros as fontes de metionina deve ser absorvidas. Tal absorção tem como barreira natural a membrana das células epiteliais. Essa membrana contém lipídios, o que faz com que os nutrientes solúveis em água e moléculas polares que se ionizam no pH fisiológico necessitem de um sistema de transporte específico (BERTECHINI, 2006), e parece haver algumas dúvidas sobre a eficiência desses mecanismos na absorção das diferentes fontes de metionina.

Os sistemas de transportes de nutrientes podem demandar energia (transporte ativo) ou serem independentes de energia (transporte mediado por “carreadores”) ou ainda por difusão passiva, o que requer a passagem de um meio com maior concentração da substância para um meio menos concentrado. De acordo Knight; Dibner (1984) e Dibner et al. (1988), os isômeros da DLM são absorvidos em ambos os sistemas de transportes sendo que, o sistema de transporte ativo tem maior afinidade para os L-isômero da DLM. Por outro lado, os isômeros do DL-HMB são absorvidos de forma passiva, além de poder ser absorvido utilizando um sistema de transporte mediado por carreadores (Figura 6).

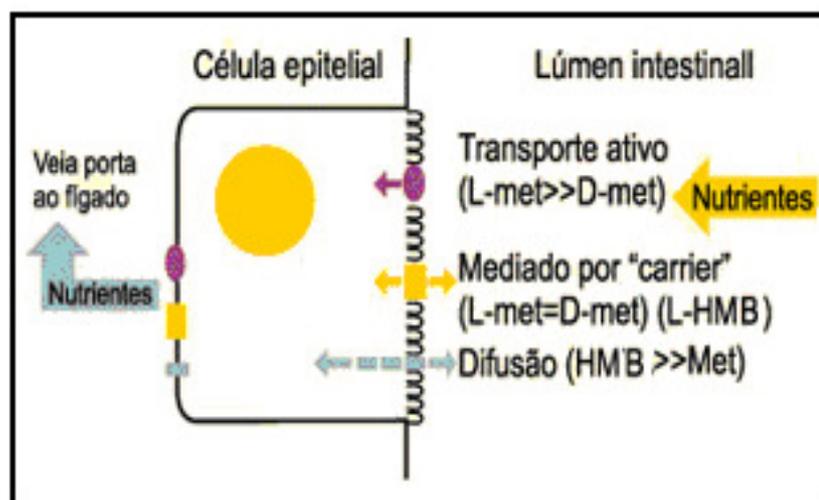


Figura 6. Sistemas de transporte intestinal da DLM e do DL-HMB.

Fonte: adaptado de Barbi et al. (2004).

No entanto, Maenz; Engele-Schaan (1996a) demonstraram que a absorção de L-Metionina e L-HMB por difusão simples é baixa e pode ser desprezível (1-2 %). Os resultados de pesquisas in vitro indicaram diferentes mecanismos de transporte ativo para a absorção de L-Metionina ( $\text{Na}^+$  dependente) e L-HMB ( $\text{H}^+$  dependente) (MAENZ; ENGELE-SCHAAN, 1996b). Estes autores observaram que a afinidade pelo transportador, assim como a velocidade máxima de transporte, foi maior para a L-Metionina do que para o L-HMB. Portanto, as diferenças no mecanismo de transporte entre as duas fontes de metionina pode levar a uma diferença na quantidade transportada.

Segundo Esteve-Garcia; Austic (1988), a absorção de nutrientes esta diretamente ligada ao tempo de permanência destes ao longo do trato gastrointestinal, o que chamamos de taxa de passagem. Uma maneira de verificar a eficiência da absorção de uma molécula é medir a presença de resíduo desta molécula no trato gastrointestinal após um período de tempo. Neste sentido, há um volume considerável de experimentos com aves, avaliando a eficiência de absorção das diferentes fontes de metionina, principalmente o DL-HMB e a DLM (ESTEVE-GARCIA; AUSTIC 1987; HAN et al., 1990; ESTEVE-GARCIA; AUSTIC, 1993; LINGENS; MOLNAR, 1996) e em todos estes estudos a absorção de DLM se aproxima a 100%. No entanto, a retenção dietética do DL-HMB ainda é um processo incerto.

Depois de fornecer fontes de metionina marcadas com radioisótopo ( $^{14}\text{C}$ ) a frangos de corte, Lingens; Molnar (1996) recuperaram apenas 4,4 % do  $^{14}\text{C}$  ingerido na excreta dos frangos alimentados com  $^{14}\text{C}$ -DLM, mas 17 % do  $^{14}\text{C}$  dietético na excreta de frangos alimentados com  $^{14}\text{C}$ -DL-HMB-Ca, sugerindo uma absorção menos eficiente do DL-HMB em comparação à DLM. Esta menor eficiência de absorção do DL-HMB também pode ser observada nos estudos realizados por Esteve-Garcia; Austic (1987); Esteve-Garcia; Austic (1993); Maenz; Engele-Schaan, (1996b) e Drew; Maenz (2001), os quais determinaram cerca de 11 a 17% de DL-HMB na porção final do intestino delgado de frangos de corte alimentados com  $^{14}\text{C}$ -DL-HMB. Além disso, estes efeitos também foram observados sob condições de estresse por calor, sugerindo que altas temperaturas ambientais não interagem com este efeito (ROSTAGNO; BARBOSA, 1995; MITCHELL; HUNTER, 1996; MAENZ; ENGELE-SCHAAN, 1996b; MITCHELL; LEMME, 2008).

#### **2.5.4 Degradação parcial do DL-HMB por microrganismos intestinais**

No estudo de Maenz; Engele-Schaan (1996a), a análise por HPLC demonstrou que, dos 17% de 3H-L-HMB encontrados na porção final do intestino de frangos de corte, apenas

10 % do material marcado com radioisótopo apareceram como moléculas de HMB. A hipótese seria que, na porção final do intestino delgado, os nutrientes estão sujeitos a degradação bacteriana e os produtos obtidos nesta degradação não estão disponíveis para o metabolismo do animal. Neste sentido, as bactérias convertem o DL-HMB em outros componentes não disponíveis para o animal, este fato influencia significativamente a absorção de DL-HMB. Entretanto, a eficiência de absorção da DLM não é afetada pelas bactérias intestinais, o que explica, em grande parte, a menor absorção do DL-HMB em comparação à DLM observada por Garcia; Austic (1993); Maenz; Engele-Schaan (1996a); Lingens; Molnar (1996) e Drew; Maenz (2001).

Neste sentido, Drew et al. (2003) conduziram um estudo subsequente para investigar se os microrganismos intestinais afetam ou não a digestibilidade de fontes de metionina. O desenho experimental foi semelhante ao do ensaio anterior de Maenz; Engele-Schaan (1996a), mas o fator “teor microbiano” foi incluído como segundo fator. Para isto, frangos de corte criados em condições convencionais ou criados em condições livres de germes foram alimentados com dietas suplementadas com 3H-L-Metionina ou 3H-L-HMB. Estes autores observaram aumento significativo do HMB residual no íleo distal de frangos comerciais (10,2%) quando comparados com frangos livres de germe (4,7%). Em contraste, a DLM residual no íleo distal de frangos convencionais não diferiu estatisticamente do que em aves livre de germes (3,7% e 3,0%, respectivamente). Portanto, parece que DL-HMB é absorvida e metabolizada pela microflora intestinal durante a sua passagem através do trato gastrointestinal, e essa ação tem um impacto significativo sobre a disponibilidade de DL-HMB para o frango de corte.

As propriedades antibacterianas das diferentes fontes de metionina também tem sido investigadas por alguns pesquisadores. Entre eles Dahiya et al. (2007) conduziram dois experimentos para estudar o efeito de níveis crescentes de DLM ou DL-HMB sobre a população de *Clostridium perfringens* e outras bactérias intestinais em frangos de corte. Os autores não observaram diferenças estatísticas no efeito das duas fontes de metionina sobre as bactérias intestinais, sugerindo que a DLM e o DL-HMB têm semelhantes propriedades antibacterianas.

### Referências bibliográficas

- ALBINO, L.F.T.; SILVA, S.H.M.; VARGAS JR., J.G. et al. Níveis de metionina + cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.3, p.519-525, 1999.
- BAKER, D.H. Utilization of precursors of L-amino-acids. In: **Amino acids in farm animal nutrition**. D` Mello J. P. F. ed. CAB International ISBN, Wallingford UK. p.37-61, 1994.
- BARBI, J.H.T.; DIBNER, J.; PEAK, S. Mais que uma fonte de metionina. **Revista Aeworld**, n.11, p.38-43, 2004.
- BARBOSA, R.J.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. et al. Exigência de metionina + cistina para frangos de corte na fase de crescimento e acabamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.507-517, 2000.
- BATEMAN, A.; LIU, Z.; DAVID A. et al. Bioefficacy determination of Methionine hydroxy analog-free acid relative to DL-methionine in laying hen diets with limited methionine using different regression models. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.9, p.628-632, 2005.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Ufla, 2006. 301p.
- BOEBEL, K.P.; BAKER, D.H. Efficacy of the calcium salt and free forms of methionine hydroxy-analog for chicks. **Poultry Science**, v.61, p.1167-1175, 1982.
- BRUGALLI, I. Eficácia relativa das fontes de metionina – Por que a indústria está repensando esta questão? **Revista Aeworld**, v.4, p.31-35, 2003.
- BUNCHASAK, C.; SOOKSRIDANG, T.; CHAIYAPIT, R. Effect of adding Methionine hydroxy analogue as methionine source at the commercial requirement recommendation on production performance and evidence of ascites syndrome of male broiler chicks fed corn-soybean based. **International Journal of Poultry Science**, v.5, n.8, p.744-752, 2006.
- BUNCHASAK, C. Role of dietary methionine in poultry production. **Japan Poultry Science**, v.46, p.169-179, 2009.
- BUTOLO, J.E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: CBNA, 2002. 430p.
- CAREW, L.B.; MCMURTRY, J.P.; ALSTER, F.A. Effects of methionine deficiencies on plasma levels of thyroid hormones, insulin-like growth factors -I and -II, liver and body weights, and feed intake in growing chickens. **Poultry Science**, v.82, p.1932-1938, 2003.
- CARVALHO, D.C.O.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. et al. Biodisponibilidade de fontes de metionina para poedeiras leves na fase de produção mantidas em ambiente de alta temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.12, p.2383-2388, 2009.

- DAHIYA, J.P.; HOEHLER, D.; VAN KESSEL, A.G. et al. Effect of different dietary methionine sources on intestinal microbial populations in broiler chickens. **Poultry Science**, v.86, p.2358–2366, 2007.
- DANNER, E.; BESSEI, W. Biological effectiveness of liquid MHA-FA as compared to DL-methionine in laying hens. **Feedback facts & figures**, v.17, 2001.
- DANNER, E.; BESSEI, W. Effectiveness of liquid DL-methionine hydroxy analogue-free acid (DL-MHA-FA) compared to DL-methionine on performance of laying hens. **Arch. Geflügelk**, v.66, n.3, p.97–101, 2002a.
- DANNER, E.; BESSEI, W. Efectividad de DL-metionina hidroxí análoga (DL-MHA-FA) comparada con DL-metionina sobre el desempeño de gallinas ponedoras. **Amino NewsTM**, v.3, n.4, p.24, 2002b.
- DANNER, E.; BESSEI, W. Influence of supplementation with liquid DL-methionine hydroxy analogue-free acid (alimet) or DL-methionine on performance of broilers. **Poultry Science Association**, n.12, p.101–105, 2003.
- DIBNER, J.J.; KNIGHT, C.D. Conversion of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and L-methionine in the broiler chick stereospecific pathway. **Journal Nutrition**, v. 114, p.1716-1723, 1984.
- DIBNER, J.J.; KNIGHT, C.D.; SWICK, R.A. et al. Absorption of <sup>14</sup>C-2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid (Alimet) from the hindgut of the broiler chick. **Poultry Science**, v. 67, p. 1314-1321, 1988.
- DIBNER, J.J.; ATWELL, C.A.; IVEY, F.J. Effect of heat stress on 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and DL-methionine absorption measured in vitro. **Poultry Science**, v. 71; p. 1900-1910, 1992.
- DIBNER, J.J. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid. **Word's Poultry Science Journal**, v. 59; p. 99-110, 2003.
- DREW, M.D.; MAENZ, D.D. the effect of intestinal bacteria on the absorption of methionine and 2-hydroxy-4-methylthio-butanoic acid in germ-free and conventional broiler chickens. In: **22<sup>nd</sup> Annual Meeting of the Southern Poultry Science Society**, Georgia, Atlanta, USA. P15-16, 2001 (Abstract).
- DREW, M.D.; VAN KESSEL, A.G.; MAENZ, D.D. Absorption of methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid in conventional and germ-free chickens. **Poultry Science**, v.82, p.1149-1153, 2003.
- ELWERT, C.; FERNANDES, E.A.; LEMME, A. Biological effectiveness of methionine hydroxy-analogue calcium salt in relation to DL-methionine in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.21, n.10, p.1506-1515, 2008.

- ESTEVE-GARCIA, E.; AUSTIC, R.E. Intestinal absorption of methionine (Met) and methionine hydroxy analogue (MHA) in broiler chicks. **Poultry Science**, v.65, p.40, 1987.
- ESTEVE-GARCIA, E.; AUSTIC, R.E. Digestibility of methionine hydroxy analogue (MHA) in broiler chicks. **Poultry Science**, v.67, p.14, 1988.
- ESTEVE-GARCIA, E.; AUSTIC, R.E. Intestinal absorption and renal excretion of dietary methionine sources by the growing chicken. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.4; p.576-587, 1993.
- ESTEVE-GARCIA, E.; LLAURADO, L. Performance, breast meat yield and abdominal fat deposition of male broiler chickens fed diets supplemented with DL-methionine or DL-methionine hydroxy analog free acid. **British Poultry Science**, v.38, p.397-404, 1997.
- ESTEVE-GARCIA, E. Comparative efficacy of DL-methionine and DL-MHA free acid in fattening pigs. **Study report on study P-142 (Degussa) Also Anaporc 1999 Issue v.18; p.3-7, 1998.**
- FERNANDES, J.I.M.; LIMA, F.R. MENDONÇA JR, C.X. et al. Relative bioavailability of phosphorus in feed and agricultural phosphates for poultry. **Poultry Science**, v.78, p.1729-1736, 1999.
- GUO, R., HENRY, P.R., HOLWERDA, R.A. et al. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1132-1141. 2001.
- HASSEBERG, HA. No hay una monomerización importante en metionina hidroxianáloga. **Amino News<sup>TM</sup>**, v.3, n.1, 2002.
- HAN, Y.; CASTANON, F.; PARSONS, C.M. et al. Absorption and bioavailability of DL-methionine hydroxy analogue compared to DL-methionine. **Poultry Science**, v.69, p.281-287, 1990.
- HOEHLER, D.; LEMME, A.; ROBERSON, K. et al. Impact of methionine sources on performance in turkeys. **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.296-305, 2005a.
- HOEHLER, D.; LEMME, A.; JENSEN, S.K. et al. Relative Effectiveness of methionine sources in diets for broiler chickens, **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.679-693, 2005b.
- IBGE. Estatística da produção pecuária. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatística/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201004\\_2.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatística/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201004_2.shtm) Acesso em: 11 de maio de 2012.
- JANSMAN, A.J.M.; KAN, C.A.; WIEBENGA, J. **Comparison of the biological efficacy of DL-methionine and hydroxy-4-methyl-thiobutanoic acid (HMB) in pigs and poultry.** Centraal Veevoederbureau (CVB, Central Bureau for Livestock Feeding), The Netherlands 2003, Documentation Report No. 29.

- KALINOWSKI, A.; MORAN JR., E.T.; WYATT, C. Methionine and cystine requirements of slow and fast feathering male broilers from three to six weeks of age. **Poultry Science**, v.82, p.1428-1437, 2003.
- KNIGHT, C.D., DIBNER, J.J. Comparative absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and L-methionine in broiler chick. **Journal Nutrition**, v.114, p.2179-2186, 1984.
- KRATZER, D.D.; LITTELL, R.C. Appropriate statistical methods to compare dose responses of methionine sources. **Poultry Science** v.85, p.947-954, 2006.
- LAWSON, C.Q; IVEY, F.J. Hydrolysis of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid dimer in two model systems. **Poultry Science**, v. 65; p. 1749-1753, 1986.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Nutrition of the chicken**. 4<sup>nd</sup> ed. Guelph: University Books, 2001. 591p.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 975p., 2002.
- LEMME, A.; HOEHLER, D.; BRENNAN, J.J. et al. Relative effectiveness of methionine hydroxy analog compared to DL-methionine in broiler chick. **Poultry Science**, v.81, p.838-845, 2002.
- LEMME, A. A pesquisa da literatura confirma: A efetividade biológica da MHA-FA é de 65%. **Feedback - Feed Additives**, v. 23; p. 1-7, 2002b.
- LEMME, A; PETRI, A. The effectiveness of liquid methionine hydroxy analogue relative to DL-methionine – A scientific review. **Amino-NewsTM**, v.4, n.3, 2003.
- LINGENS, G.; MOLNAR, S. Studies on metabolism of broilers by using <sup>14</sup>C-labelled DL-methionine and DL-methionine hydroxy analog Ca-salt. **Archives of Animal Nutrition**; v.49, p.113-124, 1996.
- LITTELL, R.C.; HENRY, P.R.; LEWIS, A.J. et al. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2672-2683, 1997.
- MAENZ, D.D.; ENGELE-SCHAAN, C.M. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are transported by distinct Na<sup>+</sup>-dependent and H<sup>+</sup>-dependent systems in the brush border membrane of the chick intestinal epithelium. **Journal of Nutrition**, v.126, p.529-536, 1996a.
- MAENZ, D.D.; ENGELE-SCHAAN, C.M. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are partially converted to nonabsorbed compounds during passage through the small intestine and heat exposure does not affect small intestinal absorption of methionine sources in broiler chicks. **Journal of Nutrition**, v.126, p.1438-1444, 1996b.
- MARTÍN-VENEGAS, R.; GERAERT, P.A.; FERRER, R. Conversion of the methionine hydroxy analogue DL-2-hydroxy-(4-methylthio)butanoic acid to sulfur-containing amino acids in the chicken small intestine. **Poultry Science**, v. 85, p.1932–1938, 2006.

- MITCHELL, M.A.; HUNTER, R.R. A comparison of the absorption of DL-2 - hidroxy-4-methylthiobutanoic acid from the small intestine of the broiler chick in vivo: Effects of chronic heat stress. **Research Report**. Roslin Institute, Edinburgh, U. K. 1996.
- MITCHELL, M.A.; LEMME, A. Examination of the composition of the luminal fluid in the small intestine of broilers and absorption of amino acids under various ambient temperatures measured in vivo. **International Journal of Poultry Science**, v.7, n.3, p.223-233, 2008.
- OKUNO Y, MATSUDA A, MORIMOTO H. et al. Biological efficacy of liquid methionine hydroxy analogue free acid in 7–18-day-old and 42–54-day-old broilers. **Japan Poultry Science Association**, 1989.
- PAYNE, R.L.; LEMME, A.; SEKO, H. et al. Bioavailability of methionine hydroxy analogue-free acid relative to DL-methionine in broilers. **Animal Science Journal**, v.77, p.427-439, 2006.
- PENZ Jr., A.M. Metionina e hidróxi análogos (MHA) em nutrição de aves. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994, Campinas, **Anais...** Campinas: FACTA, 1994, p. 85-94.
- PIEPHO, H.P. letter to the editor: A cautionary note on appropriate statistical methods to compare dose responses of methionine sources. **Poultry Science**, v.85, p.1511-1512, 2006.
- POTTER, L. M. Bioavailability of phosphorus from various phosphates based on body weight and toe ash measurements. **Poultry Science**, v. 67, p. 96-102, 1988.
- POTTER, L.M.; POTC HANAKOR, N.M.; RAVINDRAN, V. et al. Bioavailability of phosphorus in various phosphates sources using body weight and toe ash as response criteria. **Poultry Science**, v. 74, p. 813-820, 1995.
- RODEHUTSCORD, M.; PACK, M. Estimates of essential amino acid requirements from dose-response studies with rainbow trout and broiler chicken: Effect of mathematical model. **Archives of Animal Nutrition**, v.52, p.223-244, 1999.
- RODRIGUES, P.B.; BETERCHINI, A.G.; OLIVEIRA, B.L. et al. Fatores nutricionais que influenciam a qualidade do ovo no segundo ciclo de produção. Níveis de aminoácidos sulfurosos totais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25; p. 248-260, 1996.
- ROSTAGNO, H.S.; BARBOSA, W.A. Biological efficacy and absorption of DL-methionine hydroxy analog free acid compared to DL-methionine in chickens as affected by heat stress. **British Poultry Science**, v.36, p.303-312, 1995.
- SAUER, N.; EMRICH, K.; PIEPHO, H.P. et al. Meta-analysis of the relative efficiency of methionine-hydroxy-analogue-free-acid compared with DL- methionine in broilers using nonlinear mixed models. **Poultry Science**, v.87, p. 2023-2031, 2008.

- SAUNDERSON, C.L. Metabolism of methionine and its nutritional analogs. **Poultry International**, v.30, p.34-38, 1991.
- SCHMIDT, J. Effectiveness of liquid MHA-FA compared to DL-methionine in turkeys at 0 - 6 weeks of age. **Feedback Facts & Figures**, v.14, 2001.
- SCHUTTE, J.B.; PACK, M. Biological efficacy of L-lysine preparations containing biomass compared to L-lysine-HCl. **Arch Tierernahr**, v.46, n.3, p.261-268, 1994.
- SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J., DAI, Q.Z. The bioavailability of zinc from inorganic and organic sources in broiler chickens as affected by addition of phytase. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.10, p.317-328, 2001.
- THOMAS, O.P.; TAMPLIN, S.D.; CRISSEY, E. et al. An evaluation of methionine hydroxy analogue free acid using a nonlinear (exponential) bioassay. **Poultry Science**, v.70 p.605-610, 1991.
- TIMMLER, R.; RODEHUTSCORD, M. Dose-response relationships for valine in the growing White Pekin duck. **Poultry Science**, v.82, p.1755-1762, 2003.
- VAN WEERDEN, E.J, SCHUTTE, J.B, BERTRAM, H.L. Utilization of the polymers of methionine hydroxy analogue free acid (MHA-FA) in broiler chicks. **Archives Geflügelk**, v.56, p.63-68, 1992.
- VÁZQUEZ-AÑÓN, M.; KRATZER, D.; GONZÁLEZ-ESQUERRA, R. et al. A multiple regression model approach to contrast the performance of 2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid and dl-methionine supplementation tested in broiler experiments and reported in the literature. **Poultry Science**, v.85, p.693-705, 2006.
- VÁZQUEZ-AÑÓN, M.; GONZÁLEZ-ESQUERRA, R.; SALEH, E. et al. Evidence for 2-hydroxy-4(methylthio) butanoic acid and dl-methionine having different dose responses in growing broilers. **Poultry Science**, v.85, p.1409-1420, 2006.
- ZIMMERMANN, B.; MOSENTHIN, R.; RADEMACHER, M. et al. Comparative Studies on the Relative Efficacy of DL-methionine and Liquid Methionine Hydroxy Analogue in Growing Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.18, n.7, p.1003-1010, 2005.
- WEERDEN, E.J.V.; SCHUTTE, J.B.; BERTRAN, H.L. Utilization of the polymers of methionine analogue free acid (MHA-FA) in broilers chicks. **Arch Geflügelk**, v.56, p.63-68, 1992.

## **CAPÍTULO II**

### **Bioeficácia de fontes alternativas de metionina em relação à dl-metionina em frangos de corte (Cobb 500) de 1 a 21 dias de idade**

**Resumo:** O objetivo deste estudo foi avaliar a bioeficácia do ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) e de um poli ingrediente de ervas (PIE) em relação à DL-metionina (DLM) em frangos de corte. 1100 pintos de corte, da linhagem comercial Cobb 500, machos e fêmeas, foram alimentados de 1 a 21 dias de idade com uma dieta basal, deficiente em metionina + cistina, ou a dieta basal suplementada com três níveis (0,170, 0,340, 0,511%) de DL-HMB ou três níveis de DLM (0,111, 0,221, 0,332%) em quantidade equivalente a 65% dos nível de DL-HMB, ou ainda três níveis de PIE (0,111, 0,221, 0,332%), em quantidade equivalente aos níveis de DLM. A análise de regressão simultânea foi usada para determinar a bioeficácia, baseada no ganho de peso e na conversão alimentar das aves alimentadas com cada fonte de metionina. O desempenho foi melhorado com a suplementação de DL-HMB ou DLM em quantidade equivalente a 65% dos níveis de DL-HMB, em relação aos frangos alimentados com a dieta basal. No entanto estas respostas não foram tão evidentes nas aves suplementadas com PIE. A análise de regressão linear simultânea revelou bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DLM de 39% e 44% para ganho de peso e conversão alimentar, em base de produto, respectivamente, sendo que, os dados de desempenho das aves suplementadas com PIE não se ajustaram significativamente aos modelos de regressão simultânea, desta forma não sendo possível determinar a bioeficácia do PIE em relação à DLM. Os resultados do presente estudo indicam que a bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DL-metionina foi de 42%, numa base de produto, em média, em todos os critérios testados.

**Palavras-chave:** aminoácidos sulfurados, dl-2-hidróxi-4 (metil) butanóico, dl-metionina, poli ingrediente de ervas, regressão simultânea

**Bioefficacy of alternative methionine sources relative to dl-methionine in broilers (Cobb 500) from 1 to 21 days old.**

**Abstract:** The objective of this study was to assess the relative bioefficacy of DL-2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid (DL-HMBA) and of poly-herbal ingredient (PHI) relative to DL-methionine (DLM) in broilers. 1100 Cobb 500 males and females broilers were fed either, from 1 to 21 days of age with a methionine-deficient basal diet, or the basal diet with three levels (0.170, 0.340, 0.511%) of DL-HMBA or three levels (0.111, 0.221, 0.332%) of DLM in equivalent amount of 65% of the levels of DL-HMBA or still, three levels (0.111, 0.221, 0.332%) of PHI, in equivalent amount the levels of DLM. Simultaneous regression analysis was used to determine the bioefficacy based on weight gain and in feed conversion the of birds fed with each methionine source. Performance was improved with supplementation of DL-HMBA or DLM in equivalent amount to 65% (DLM-65) of the levels of DL-HMBA, relative to those broilers fed the basal diet. However these responses were not so evident in birds supplemented with PHI. Simultaneous linear regression analysis revealed relative bioefficacy of DL-HMBA relative to DLM 39% and 44% for weight gain and feed conversion, on a product basis, respectively, being that, the performance data of birds supplemented with PHI not adjusted the simultaneously regression models, thereby, was not possible determine the bioefficacy of PHI in relation to the DLM. The results of this study indicate that the relative bioefficacy of DL-HMBA relative to DLM for broilers in stages of 1 to 21 days old was of 42% on a product basis on average across all criteria tested.

**Keywords:** dl-2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid, dl-methionine, poly-herbal ingredient, simultaneous regression, sulphur amino acids

## 1 Introdução

As dietas práticas para frangos de corte são formuladas principalmente à base de milho e farelo de soja e suprem as necessidades de proteína, mas não atende às exigências de metionina e aminoácidos sulfurados, o que normalmente é corrigido com a utilização de metionina industrial.

Na indústria alimentícia para aves existe a disponibilidade de fontes industriais alternativas para a suplementação de metionina, sendo a DL-Metionina (DLM) e o ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) as mais comumente encontradas, existindo ainda, fontes naturais deste aminoácido, como os poli ingrediente de ervas (PIE). Fisicamente, estas fontes são diferentes, pois a DLM é um produto puro, na forma de pó, com mais de 99% de pureza, enquanto que a DL-HMB se apresenta na forma líquida, com 88% de substâncias ativas, e o PIE, na forma de pó, contendo dipeptídeos e oligopeptídeos de metionina, assim como precursores e intermediários deste aminoácido.

Além destas diferenças físicas, existem também diferenças bioquímicas e metabólicas entre estas três fontes o que, de acordo com Maenz; Engele-Schaan (1996ab) e Drew et al. (2003), pode interferir sobre as suas funções biológicas como fontes de metionina para as aves. Desta forma, o conhecimento do valor nutritivo da DL-HMB e da PIE em relação à DLM, torna-se um pré-requisito importante para tomada de decisão sobre qual fonte de metionina utilizar, levando em conta o custo na compra de ingredientes, para a formulação de dietas e para a produção animal (BRUGALLI, 2003).

A discussão sobre a bioeficácia relativa das diferentes fontes de metionina não é um tema novo, e há um volume considerável de experimentos com aves, principalmente comparando a DL-HMB com a DLM (THOMAS et al., 1991; ROSTAGNO; BARBOSA, 1995; ESTEVE-GARCIA; LLAURADO, 1997; HOEHLER et al., 2005a; ELWERT et al., 2008). Além disso, o modelo estatístico correto para avaliar a bioeficácia de diferentes fontes de nutrientes essenciais também tem sido um assunto de debate (LITTELL et al., 1997; KRATZER; LITTELL, 2006; PIEPHO, 2006). De acordo com Littell et al. (1997), a padronização das análises estatísticas tornaria as comparações de várias fontes de nutrientes, entre os diferentes experimentos, mais fáceis e mais precisas.

Desta forma, o objetivo deste estudo foram os de avaliar a bioeficácia relativa do DL-HMB e do PIE em relação à DLM, em dietas para frangos de corte, de 1 a 21 dias de idade, utilizando como procedimento estatístico a análise de regressão simultânea.

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Local e duração do experimento**

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus de Marechal Cândido Rondon- PR, no mês de outubro de 2011.

### **2.2 Animais**

Foram utilizados 1100 pintos de corte, da linhagem comercial Cobb 500, machos e fêmeas, no período de 1 a 21 dias de idade e peso médio inicial de  $46 \pm 04$  g. As aves foram pesadas e distribuídas individualmente em cada unidade experimental com o objetivo de obter um peso uniforme.

### **2.3 Instalações, equipamentos e manejos**

As aves foram alojadas em galpão de alvenaria, com pé direito de 3,0 m, contendo muretas laterais de 0,50 m, cortinas, tela, cobertura com telhas de cerâmica francesa provida de lanternim e subdividido em 50 boxes com dimensão de 1,00 x 1,35 m.

O piso do aviário era de cimento forrado de maravalha com espessura de 10 cm. O manejo adotado para a cama foi a substituição das partes da cama molhada por cama nova e seca.

A ração e a água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental, sendo utilizados comedouros tipo bandeja e bebedouros infantis na primeira semana e a partir desta, foram utilizados comedouro tipo tubular e bebedouros de nipple.

O sistema de aquecimento adotado foi o elétrico, por meio de lâmpadas de infravermelho de 127 W de potência. Foi instalada uma lâmpada por boxe, cuja altura e acionamento eram regulados de acordo com o crescimento das aves, mantendo assim os valores de temperatura e umidade do ar o mais próximo possível das faixas de conforto térmico de cada semana de vida das aves. O programa de iluminação utilizado foi constante, com 24 horas de luminosidade (luz natural e artificial).

As temperaturas foram registradas diariamente por meio de termômetros de máxima e mínima, sendo observadas condições de ambiente características da região durante o período em que se realizou o experimento, não havendo ocorrência climática anormal que pudesse provocar alterações no desempenho das aves. As médias das temperaturas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Médias das temperaturas e valores de umidade relativa do ar, mínimos e máximos, registradas no interior da instalação durante o período experimental.

Período	Variável meteorológica			
	Temperatura do ar (°C)		Umidade relativa do ar (%)	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
01 a 07 dias	27,1 (23,8)*	32,2 (34,0)*	40,9 (36,0)*	50,1 (61,0)*
08 a 14 dias	26,3 (24,6)*	30,2 (31,7)*	58,9 (41,0)*	75,3 (85,0)*
15 a 21 dias	22,8 (21,6)*	28,1 (29,3)*	52,5 (39,0)*	68,5 (80,0)*

\*Valores máximos e mínimos apresentados durante o período

As aves foram vacinadas no incubatório contra Marek, Bouda Aviária, Bronquite Infecciosa e Gumboro.

## 2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em um esquema fatorial 3 x 3 (três fontes de metionina x três níveis de suplementação) e um tratamento adicional sem suplementação de metionina (dieta basal), com cinco repetições e 22 aves por unidade experimental, perfazendo uma densidade de 16,30 aves/m<sup>2</sup>.

## 2.5 Ração

A dieta basal, a base de milho, farelo de soja, farinha de carne, farinha de vísceras de aves e óleo de soja, foi formulada segundo recomendações da empresa integradora, com exceção da suplementação de metionina, que foi retirada da formulação para que a dieta basal apresentasse deficiência em metionina + cistina (Met + Cys) digestível (Tabela 2).

Tabela 2. Composição da dieta basal.

Ingredientes	%
Milho	58,350
Farelo de Soja	28,000
Farinha de carne	2,760
Farinha de vísceras de aves	3,820
Óleo de soja	3,780
L-Lisina. HCl	0,559
L-Treonina	0,138
Sal comum	0,311
Calcário	0,800
Fosfato bicálcico	0,100
Bicarbonato de sódio*	0,100
Adsorvente de micotoxinas	0,250
Suplemento vitamínico mineral**	0,400
Inerte***	0,622
Energia (kcal/kg) e nutrientes (%)	Composição calculada
Energia metabolizável	3139,000
Proteína bruta	21,000
Cálcio	0,840
Fósforo disponível	0,420
Metionina digestível	0,295
Metionina + Cistina digestível	0,570
Lisina digestível	1,260
Treonina digestível	0,820
Triptofano digestível	0,200
Valina digestível	0,880
Arginina digestível	1,260
Isoleucina digestível	0,800

\* adicionado na dieta para manter um Balanço Eletrolítico de 210 meg/kg.

\*\* Suplementação de vitaminas, minerais e aditivos por kg de ração: vitamina A, 10.000 UI; vitamina D3, 2.500 UI; vitamina E, 20,83 UI; vitamina K3, 1,67 mg; vitamina B1, 2,08 mg; vitamina B2, 5,42 mg; vitamina B6, 2,92 mg; vitamina B12, 15 µg; Ácido fólico, 1,00 mg; Ácido nicotínico, 35,00 mg; Ácido pantotênico, 12,05 mg; Colina, 278,44 mg; Biotina, 0,07 mg; Ferro, 45 mg; Cobre, 8 mg; Zinco, 110 mg; Zinco orgânico, 40 mg; Iodo, 0,8 mg; Selênio, 0,4 mg; Selênio orgânico, 0,1 mg; Manganês, 75 mg.

\*\*\* Usado para corrigir as adições de DL-HMB, PIE e DLM. O DL-HMB, o PIE e a DLM substituíram o inerte das rações basais para originar as dietas suplementadas com metionina.

## 2.6 Estratégias de suplementação

Para a dieta basal, deficiente em Met + Cys, três níveis crescentes de qualquer fonte: DLM, DL-HMB ou ainda PIE foram adicionados. Os níveis crescentes de DL-HMB foram adicionados em quantidade equivalente a 33%, 67% e 100% das praticas de suplementação da empresa integradora. Os três níveis crescentes de DLM foram efetuados, suplementando DLM em quantidade equivalente a 65% (DLM-65) das quantidades dos níveis de DL-HMB, mantendo assim relação de 65:100. Já os três níveis crescentes de PIE foram efetuados nas mesmas quantidades dos níveis de DLM, mantendo assim uma relação de 100:100 (Tabela 3).

Tabela 3. Representação das estratégias de suplementação.

Tratamentos	Fonte de Met <sup>1</sup>	Nível suplementar	Adição do produto (%)	Adição equivalente de Met (%) <sup>4</sup>	Met + Cys digestível (%) <sup>5</sup>
1	Dieta basal	-	-	-	0,570
2	DLM	Nível 1	0,111 <sup>2</sup>	0,110	0,680
3	DLM	Nível 2	0,221 <sup>2</sup>	0,219	0,789
4	DLM	Nível 3	0,332 <sup>2</sup>	0,329	0,899
5	DL-HMB	Nível 1	0,170	0,150	0,720
6	DL-HMB	Nível 2	0,340	0,299	0,869
7	DL-HMB	Nível 3	0,511	0,450	1,020
8	PIE	Nível 1	0,111 <sup>3</sup>	0,110	0,680
9	PIE	Nível 2	0,221 <sup>3</sup>	0,219	0,789
10	PIE	Nível 3	0,332 <sup>3</sup>	0,329	0,899

<sup>1</sup>DLM = DL-Metionina; DL-HMB = ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico; PIE = poli ingrediente de ervas;

<sup>2</sup>DLM adicionada na relação de 65% dos níveis de DL-HMB;

<sup>3</sup>PIE adicionado nas mesmas quantidades dos níveis de DLM;

<sup>4</sup>Considerado a DLM, DL-HMB e PIE com 99, 88 e 99% de atividade de metionina, respectivamente.

<sup>5</sup>Met + Cys contida na dieta basal, somada a adição equivalente de Met das fontes.

## 2.7 Parâmetros Avaliados

Avaliaram-se o consumo de ração, o ganho de peso, a conversão alimentar e o fator de produção. O consumo médio de ração foi calculado em gramas (g), pela diferença entre a ração fornecida e a sobra do comedouro, em cada unidade experimental, no final do período experimental. O ganho de peso, expresso em gramas, foi calculado como a diferença entre os

pesos inicial e final das aves em cada unidade experimental. A conversão alimentar foi obtida dividindo-se o consumo médio da ração pelo ganho de peso médio das aves de cada unidade experimental. O fator de produção, ou índice de eficiência produtiva, foi determinado aos 21 dias, de acordo com a Equação 1.

$$FP = \frac{\text{Ganho de peso (Kg)} \times \text{Viabilidade}}{\text{Idade (dias)} \times \text{Conversão Alimentar}} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

## 2.8 Análises estatísticas

Os valores de bioeficácia relativa do DL-HMB e do PIE, em relação à DLM, para as variáveis de desempenho, foram determinados utilizando modelo de regressão exponencial simultânea (para respostas não-lineares) de acordo com a Equação 2, ou por modelo de regressão linear simultânea ou slope-ratio (para respostas lineares), de acordo com a Equação 3, como sugerido por Littell et al. (1997), utilizando-se o general linear models procedure (GLM) do programa computacional SAS (Statistical Analysis System, 1996).

$$y = a + b (1 - e^{(c^1x^1 + c^2x^2 + c^3x^3)}) \dots\dots\dots(2)$$

Aonde y = Critério de desempenho, a = desempenho obtido com a dieta basal (intercepto-y), b = resposta assintótica (diferença entre 'a' e assíntota), a + b = assíntota comum (nível de desempenho máximo), c1, c2, c3 = coeficientes de inclinação para DLM, DL-HMB e PIE, respectivamente, e x1, x2, x3 = níveis dietéticos de DLM, DL-HMB e PIE, respectivamente.

$$y = a + (b^1x^1 + b^2x^2 + b^3x^3) \dots\dots\dots(3)$$

Aonde y = Critério de desempenho, a = desempenho obtido com a dieta basal (intercepto-y), b1, b2, b3 = coeficientes de regressão da reta para DLM, DL-HMB e PIE respectivamente, e x1, x2, x3 = níveis dietéticos de DLM, DL-HMB e PIE, respectivamente.

De acordo com Littell et al. (1997), os valores de bioeficácia do DL-HMB e do PIE em relação à DLM são dados pelas proporções dos coeficientes de regressão:  $c_2/c_1$  e  $c_3/c_1$  utilizando regressão exponencial simultânea;  $b_2/b_1$  e  $b_3/b_1$  utilizando regressão linear simultânea, para valores de bioeficácia da DL-HMB e da PIE, respectivamente.

Para avaliar os valores do fator de produção, uma análise global com todos os tratamentos foi realizada com o objetivo de obter o quadrado médio do resíduo para testar o fatorial e realizar o teste Dunnett a 5% com o tratamento adicional. Para a comparação dos fatores de produção dos tratamentos no esquema fatorial, utilizou-se o teste Tukey, a 5% de probabilidade.

### 3 Resultados e Discussão

O ganho de peso e a conversão alimentar foram melhorados com a suplementação de metionina na forma de DL-HMB e DLM-65, em relação aos frangos de corte alimentados com a dieta basal (Tabela 4), indicando que o objetivo de uma dieta basal, deficiente em Met + Cys foi alcançado, o que, de acordo com Huyghebaert (1993) e Lemme et al. (2002) é essencial quando se deseja detectar diferenças na bioeficácia de fontes nutricionais de metionina. O ganho de peso e a conversão alimentar foram de 701,45 g e 1,50 g/g, respectivamente, para as aves que receberam a dieta basal, ao passo que as respostas máximas com a suplementação de DLM-65 e DL-HMB foram, respectivamente, de 808,69 g e 769,72 g para ganho de peso e, 1,37 g/g e 1,40 g/g, para a conversão alimentar (Tabela 4) demonstrando uma melhora de 15,29% e 9,73% para ganho de peso e, 8,43% e 6,27% para conversão alimentar, respectivamente para DLM-65 e DL-HMB. Estes resultados diferem dos encontrados por Payne et al. (2006) e Viana et al. (2009) que observaram respostas de desempenho semelhante nas aves suplementadas com níveis crescentes de DL-HMB ou DLM em quantidade equivalente a 65% da quantidade de cada nível de DL-HMB.

As aves suplementadas com PIE, nas mesmas quantidades dos níveis de DLM, foram as que apresentaram os piores resultados de desempenho. Para estas aves, foram observadas respostas máximas de apenas 693,34 g e 1,49 g/g para ganho de peso e conversão alimentar, respectivamente, demonstrando, até mesmo, uma piora de 1,16% para ganho de peso e uma melhora de apenas 0,47% para conversão alimentar, quando comparadas às aves não suplementadas (Tabela 4).

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte, de 1 a 21 dias de idade, alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de metionina.

Tratamento - Fonte - Nível	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar (g/g)
1 – Basal	1051	701	1,50
2 – DLM - nível 1	1118	791	1,41
3 – DLM - nível 2	1098	801	1,37
4 – DLM - nível 3	1112	809	1,38
5 – HMB - nível 1	1095	756	1,45
6 – HMB - nível 2	1090	770	1,42
7 – HMB - nível 3	1080	770	1,40
8 – PIE - nível 1	1017	663	1,53
9 – PIE - nível 2	1008	667	1,51
10– PIE - nível 3	1034	693	1,49
F	<,0001	<,0001	<,0001
CV	3,06	4,14	2,41

O menor desempenho, observado nas aves suplementadas com PIE provavelmente deve estar relacionado com o desbalanço de aminoácidos da dieta (ALBINO et al., 1999), causado pela deficiência de metionina, indicando que a fonte suplementar (PIE) não foi suficiente em atender as exigências deste aminoácido. É importante salientar que, quando o frango de corte ingere uma dieta deficiente em Met + Cys, a síntese protéica torna-se limitada, resultando em ineficiente utilização dos demais aminoácidos, fato que pode ser observado neste estudo, nas aves alimentadas com a dieta basal ou suplementadas com PIE.

As respostas de desempenho das aves aos níveis crescentes das fontes de metionina seguiram uma tendência linear (com exceção da DLM), não sendo atingida a assíntota com o nível mais elevado de cada fonte (Figura 1). De acordo com Littell et al. (1997) a maneira mais precisa para descrever as respostas de desempenho, apresentadas pelas aves do presente estudo, aos níveis crescentes das fontes de metionina seria por modelo de regressão linear simultânea ou slope-ratio. Este modelo fornece uma maneira para determinar as estimativas imparciais da bioeficácia entre as substâncias de ensaio (DL-HMB e PIE) e a substância de referência (DLM)

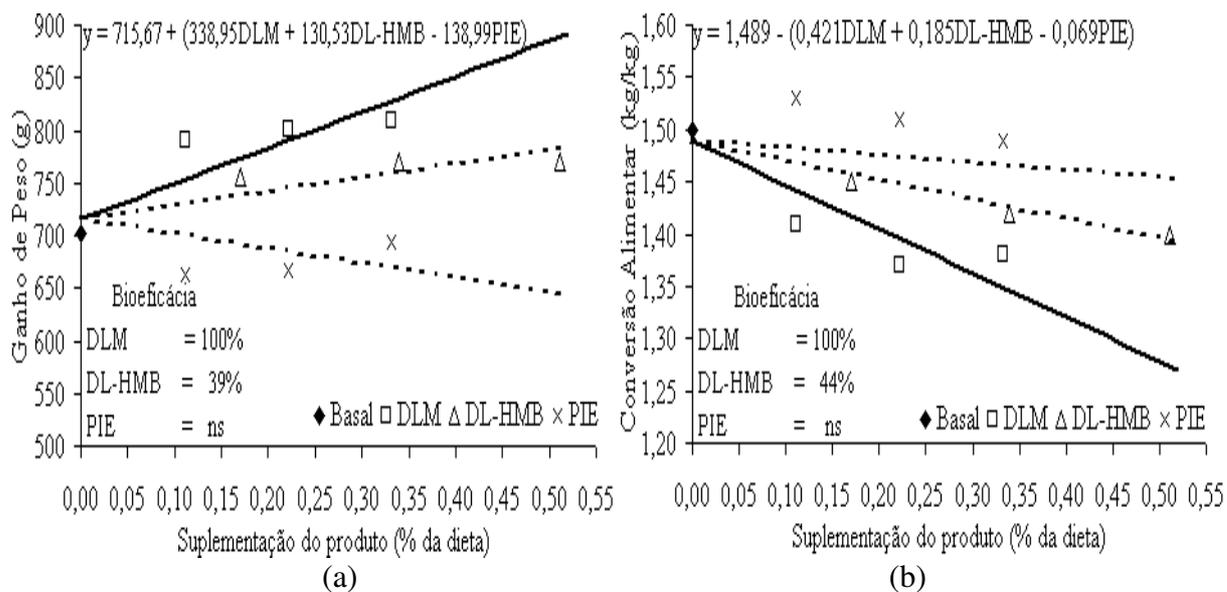


Figura 1. Bioeficácia do ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) e de um poli ingrediente de ervas (PIE) em relação à DL-Metionina (DLM), com base no ganho de peso (a) e na conversão alimentar (b), em frangos de corte, no período de 1 a 21 dias de idade.

Desta forma, a análise de regressão linear simultânea revelou uma bioeficácia relativa do DL-HMB para a DLM de 39% para ganho de peso e 44% para conversão alimentar, em uma base de produtos (Figura 1). No entanto, Hoehler et al. (2005b), utilizando regressão exponencial simultânea, obtiveram valores de bioeficácia relativa média do DL-HMB para a DLM, de 63% para ganho de peso e, 67% para conversão alimentar, em cinco experimentos com frangos de corte em quatro diferentes países.

Os dados de desempenho das aves suplementadas com PIE também foram analisados por regressão simultânea, no entanto, não houve ajuste significativo ao GLM do SAS, não sendo possível determinar a bioeficácia do PIE em relação à DLM.

Considerando os valores de bioeficácia para ganho de peso e conversão alimentar, a bioeficácia média do DL-HMB em relação à DLM, no presente estudo, foi de apenas 42%. No entanto, alguns estudos na literatura (LEMME et al., 2002; JANSMAN et al., 2003; HOEHLER et al., 2005 b; PAYNE et al. 2006) obtiveram valores de bioeficácia média do DL-HMB em relação à DLM entre 57% e 65%. Estas variações nos valor de bioeficácia entre os estudos são consideradas comuns e inevitáveis por serem estimadas através de ensaios biológicos.

Como pode ser visto, existem número considerável de estudos que comparam o DL-HMB com a DLM. No entanto, as pesquisas comparando fontes naturais de metionina com a

DLM são escassas na literatura, assim como estudos que investigam as possíveis perdas metabólicas da atividade de metionina das fontes naturais no metabolismo das aves.

Os valores obtidos para o fator de produção (Tabela 5) foram superiores ( $P < 0,05$ ) nas dietas com DLM e DL-HMB, em todos os níveis de suplementação estudados, em relação ao tratamento controle.

A comparação entre as médias dos tratamentos no esquema fatorial mostrou que não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) para o fator de produção, porém, foi constatado efeito de fonte e nível, observando-se os maiores valores para as dietas com DLM e nos níveis mais elevado de suplementação.

Tabela 5. Valores médios do fator de produção aos 21 dias de idade.

Nível	Fontes de Metionina			Médias
	DLM	DL-HMB	PIE	
Basal (B)		223		
B + Nível 1	267*	249*	206	241 B
B + Nível 2	278*	259*	210	249 AB
B + Nível 3	280*	261*	221	254 A
Médias	275 a	256 b	213 c	
CV (%)		5,83		

\* Médias diferem ( $P < 0,05$ ) do tratamento controle, pelo teste Dunnet.

Médias seguidas por diferentes letras (minúscula na linha e maiúscula na coluna) diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

#### 4 Conclusões

Em conclusão, a bioeficácia média do DL-HMB em relação à DLM, para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, encontrada no presente estudo, foi de 42%, em uma base de produtos.

### Referências bibliográficas

- ALBINO, L.F.T.; SILVA, S.H.M.; VARGAS JR., J.G. et al. Níveis de metionina + cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.3, p.519-525, 1999.
- BRUGALLI, I. Eficácia relativa das fontes de metionina – Por que a indústria está repensando esta questão? **Revista Aveworld**, v.4, p.31-35, 2003.
- DREW, M.D.; VAN KESSEL, A.G.; MAENZ, D.D. Absorption of methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid in conventional and germ-free chickens. **Poultry Science**, v.82, p.1149-1153, 2003.
- ELWERT, C.; FERNANDES, E.A.; LEMME, A. Biological effectiveness of methionine hydroxy-analogue calcium salt in relation to DL-methionine in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.21, n.10, p.1506-1515, 2008.
- ESTEVE-GARCIA, E.; LLAURADO, L. Performance, breast meat yield and abdominal fat deposition of male broiler chickens fed diets supplemented with DL-methionine or DL-methionine hydroxy analog free acid. **British Poultry Science**, v.38, p.397-404, 1997.
- HOEHLER, D.; LEMME, A.; ROBERSON, K. et al. Impact of methionine sources on performance in turkeys. **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.296-305, 2005a.
- HOEHLER, D.; LEMME, A.; JENSEN, S.K.; VIEIRA, S.L. Relative effectiveness of methionine sources in diets for broiler chickens, **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.679-693, 2005b.
- HUYGHEBAERT, G. Comparison of DL-methionine and methionine hydroxy analog-free acid in broilers by using multi-exponential regression models. **British Poultry Science**, v.34, p.351-359, 1993.
- JANSMAN, A.J.M.; KAN, C.A.; WIEBENGA, J. **Comparison of the biological efficacy of DL-methionine and hydroxy-4-methyl-thiobutanoic acid (HMB) in pigs and poultry**. Centraal Veevoederbureau (CVB, Central Bureau for Livestock Feeding), The Netherlands 2003, Documentation Report No. 29.
- KRATZER, D.D.; LITTELL, R.C. Appropriate statistical methods to compare dose responses of methionine sources. **Poultry Science** v.85, p.947-954, 2006.
- LEMME, A.; HOEHLER, D.; BRENNAN, J.J. et al. Relative effectiveness of methionine hydroxy analog compared to DL-methionine in broiler chick. **Poultry Science**, v.81, p.838-845, 2002.
- LITTELL, R.C.; HENRY, P.R.; LEWIS, A.J. et al. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2672-2683, 1997.
- MAENZ, D.D.; ENGELE-SCHAAN, C.M. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are transported by distinct Na<sup>+</sup>-dependent and H<sup>+</sup>-dependent systems in the brush

- border membrane of the chick intestinal epithelium. **Journal of Nutrition**, v.126, p.529-536, 1996a.
- MAENZ, D.D.; ENGELE-SCHAAN, C.M. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are partially converted to nonabsorbed compounds during passage through the small intestine and heat exposure does not affect small intestinal absorption of methionine sources in broiler chicks. **Journal of Nutrition**, v.126, p.1438-1444, 1996b.
- PAYNE, R.L.; LEMME, A.; SEKO, H. et al. Bioavailability of methionine hydroxy analog-free acid relative to DL-methionine in broilers. **Animal Science Journal**, v.77, p.427-439, 2006.
- PIEPHO, H.P. letter to the editor: A cautionary note on appropriate statistical methods to compare dose responses of methionine sources. **Poultry Science**, v.85, p.1511-1512, 2006.
- ROSTAGNO, H.S.; BARBOSA, W.A. Biological efficacy and absorption of DL-methionine hydroxy analog free acid compared to DL-methionine in chickens as affected by heat stress. **British Poultry Science**, v.36, p.303-312, 1995.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**. Version 6.11. 4.ed. v.2. Cary: SAS Institute, 1996. 842p.
- THOMAS, O.P.; TAMPLIN, S.D.; CRISSEY, E. et al. An evaluation of methionine hydroxy analog free acid using a nonlinear (exponential) bioassay. **Poultry Science**, v.70, p.605-610, 1991.
- VIANA, M.T.S.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. et al. Fontes e níveis de metionina em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.9, p.1751-1756, 2009.

## **CAPÍTULO III**

## **Bioeficácia de fontes alternativas de metionina em relação à dl-metionina em frangos de corte (Cobb 500) de 22 a 42 dias de idade**

**Resumo:** O objetivo deste estudo foi avaliar a bioeficácia do ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) e de um poli ingrediente de ervas (PIE) em relação à DL-metionina (DLM) em frangos de corte. 900 frangos de corte machos da linhagem Cobb 500 foram alimentados dos 22 aos 42 dias de idade com uma dieta basal deficiente em metionina, ou a dieta basal suplementada com três níveis (0,143, 0,286 e 0,429%) de DL-HMB ou três níveis de DLM (0,093, 0,186 e 0,279%) em quantidade equivalente a 65% dos nível de DL-HMB, ou ainda três níveis de PIE (0,093, 0,186 e 0,279%), em quantidade equivalente aos níveis de DLM. A análise de regressão simultânea foi usada para determinar a bioeficácia baseada no peso corporal, na conversão alimentar, e nas características de carcaça das aves alimentadas com cada fonte de metionina. O desempenho foi melhorado com a suplementação de DL-HMB ou DLM em quantidade equivalente a 65% (DLM-65) dos níveis de DL-HMB, em relação aos frangos alimentados com a dieta basal. No entanto estas respostas não foram tão evidentes nas aves suplementadas com PIE. A análise de regressão exponencial simultânea revelou bioeficácia relativa do DL-HMB e do PIE em relação à DLM de 52% e 5% para ganho de peso e de 57% e 4% para conversão alimentar, em base de produto, respectivamente. Em relação ao rendimento de peito, a análise de regressão linear simultânea revelou uma bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DLM de 65%, em base de produto. Os resultados do presente estudo indicam que a bioeficácia relativa do DL-HMB e do PIE em relação à DLM, para frangos de corte dos 22 aos 42 dias de idade foi, respectivamente de 58% e 4,5 % numa base de produto, em média, em todos os critérios testados.

**Palavras-chave:** aminoácidos sulfurados, dl-2-hidróxi-4 (metil) butanóico, dl-metionina, poli ingrediente de ervas, regressão simultânea

**Bioefficacy of alternative methionine sources relative to dl-methionine in broilers (Cobb 500) from 22 to 42 days old.**

**Abstract:** The objective of this study was to assess the relative bioefficacy of DL-2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid (DL-HMBA) and of poly-herbal ingredient (PHI) relative to DL-methionine (DLM) in broilers. 900 Cobb 500 male broilers were fed either, from 22 to 42 days of age with a methionine-deficient basal diet, or the basal diet with three levels (0.143, 0.286 e 0.429%) of DL-HMBA or three levels (0.093, 0.186 e 0.279%) of DLM in equivalent amount of 65% of the levels of DL-HMBA or still, three levels (0.093, 0.186 e 0.279%) of PHI, in equivalent amount the levels of DLM. Simultaneous regression analysis was used to determine the bioefficacy based on weight gain, in feed conversion and in carcass characteristics the of birds fed with each methionine source. Performance was improved with supplementation of DL-HMBA or DLM in equivalent amount to 65% (DLM-65) of the levels of DL-HMBA, relative to those broilers fed the basal diet. However these responses were not so evident in birds supplemented with PHI. Simultaneous exponential regression analysis revealed bioefficacy relative of DL-HMBA and of PHI relative to DLM of 52% and 5% for weight gain and of 57% and 4% for feed conversion, on a product basis, respectively. To breast yield, the simultaneous linear regression analysis revealed relative bioefficacy of DL-HMBA in relation to DLM the 65% on a product basis. The results of this study indicate that the relative bioefficacy of DL-HMBA and of PHI relative to DLM for broilers from 22 to 42 days old was respectively 58% and 4.5% on a product basis on average across all criteria tested.

**Keywords:** dl-2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid, dl-methionine, poly-herbal ingredient, simultaneous regression, sulphur amino acids

## 1 Introdução

As dietas práticas para frangos de corte são formuladas principalmente à base de milho e farelo de soja e suprem as necessidades de proteína, mas não atende às exigências de metionina e aminoácidos sulfurados, o que normalmente é corrigido com a utilização de metionina industrial.

Na indústria alimentícia para aves existe a disponibilidade de fontes industriais alternativas para a suplementação de metionina, sendo a DL-Metionina (DLM) e o ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) as mais comumente encontradas, existindo ainda, fontes naturais deste aminoácido, como os poli ingrediente de ervas (PIE). Fisicamente, estas fontes são diferentes, pois a DLM é um produto puro, na forma de pó, com mais de 99% de pureza, enquanto que a DL-HMB se apresenta na forma líquida, com 88% de substâncias ativas, e o PIE, na forma de pó, contendo dipeptídeos e oligopeptídeos de metionina, assim como precursores e intermediários deste aminoácido.

Além destas diferenças físicas, existem também diferenças bioquímicas e metabólicas entre estas três fontes o que, de acordo com Maenz; Engele-Schaan (1996a, b) e Drew et al. (2003), pode interferir sobre as suas funções biológicas como fontes de metionina para as aves. Desta forma, o conhecimento do valor nutritivo da DL-HMB e da PIE em relação à DLM, torna-se um pré-requisito importante para tomada de decisão sobre qual fonte de metionina utilizar, levando em conta o custo na compra de ingredientes, para a formulação de dietas e para a produção animal (BRUGALLI, 2003).

A discussão sobre a bioeficácia relativa das diferentes fontes de metionina não é um tema novo, e há um volume considerável de experimentos com aves, principalmente comparando a DL-HMB com a DLM (THOMAS et al., 1991; ROSTAGNO; BARBOSA, 1995; ESTEVE-GARCIA; LLAURADO, 1997; HOEHLER et al., 2005a; ELWERT et al., 2008). Além disso, o modelo estatístico correto para avaliar a bioeficácia de diferentes fontes de nutrientes essenciais também tem sido um assunto de debate (LITTELL et al., 1997; KRATZER; LITTELL, 2006; PIEPHO, 2006). De acordo com Littell et al. (1997), a padronização das análises estatísticas tornaria as comparações de várias fontes de nutrientes, entre os diferentes experimentos, mais fáceis e mais precisas.

Desta forma, o objetivo deste estudo foram os de avaliar a bioeficácia relativa do DL-HMB e do PIE em relação à DLM, em dietas para frangos de corte, de 22 a 42 dias de idade, utilizando como procedimento estatístico a análise de regressão simultânea.

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Local e duração do experimento**

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus de Marechal Cândido Rondon- PR, nos meses de agosto e setembro de 2011.

### **2.2 Animais**

Foram utilizados 900 frangos de corte machos, da linhagem comercial Cobb 500, durante o período de 22 a 42 dias de idade, com peso médio aos 22 dias de idade de 888g.

Até os 21 dias de idade as aves foram criadas em um galpão comercial de um associado da empresa entregadora. No final deste período as aves foram pesadas e distribuídas individualmente em cada unidade experimental com o objetivo de obter um peso uniforme.

### **2.3 Instalações, equipamentos e manejos**

Na fase inicial (1-21 dias de idade), as aves foram alimentadas com ração à base de milho, farelo de soja, farinha de carne, farinha de vísceras e óleo de soja, formulada segundo recomendações da empresa integradora.

Aos 21 dias de idade as aves foram uniformizadas por peso e alojadas em galpão de alvenaria, com pé direito de 3,0 metros, contendo muretas laterais de 0,50m, cortinas, tela, cobertura com telhas de cerâmica francesa provida de lanternim e subdividido em 50 boxes com dimensão de 1,00 x 1,35m. O piso do aviário era de cimento forrado de maravalha com espessura de 10 cm. O manejo adotado para a cama foi a substituição das partes da cama molhada por cama nova e seca.

A ração e a água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental, sendo utilizados comedouros tubulares e bebedouros do tipo nipple.

O programa de iluminação utilizado foi constante, com 24 horas de luminosidade (luz natural e artificial).

As temperaturas foram registradas diariamente por meio de termômetros de máxima e mínima, sendo registrados valores médios diários de 19,6 °C e 26,4°C, respectivamente.

As condições ambientais mostraram os índices característicos da região durante o período em que se realizou o experimento, não havendo ocorrência climática anormal que pudesse provocar alterações no desempenho das aves. As médias das temperaturas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Médias das temperaturas e valores de umidade relativa do ar, mínimos e máximos, registradas no interior da instalação durante o período experimental.

Período	Variável meteorológica			
	Temperatura do ar (°C)		Umidade relativa do ar (%)	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
22 a 28 dias	19,4 (15,4)*	27,2 (32,1)*	32,8 (26,0)*	49,0 (69,0)*
29 a 35 dias	19,7 (15,1)*	26,1 (31,1)*	41,4 (31,0)*	60,5 (82,0)*
36 a 42 dias	16,9 (15,4)*	26,0 (30,2)*	32,8 (28,0)*	52,0 (70,0)*
Média	18,7	26,4	35,7	53,8

\*Valores máximos e mínimos apresentados durante o período

## 2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em um esquema fatorial 3 x 3 (três fontes de metionina x três níveis de suplementação) e um tratamento adicional sem suplementação de metionina (dieta basal), com cinco repetições e 18 aves por unidade experimental, perfazendo uma densidade de 13,33 aves/m<sup>2</sup>.

## 2.5 Ração

A dieta basal, a base de milho, farelo de soja, farinha de carne, farinha de vísceras de aves e óleo de soja, foi formulada segundo recomendações da empresa integradora, com exceção da suplementação de metionina, que foi retirada da formulação para que a dieta basal apresentasse deficiência em metionina + cistina (Met + Cys) digestível (Tabela 2).

Tabela 2. Composição da dieta basal.

Ingredientes	%
Milho	64,150
Farelo de Soja	23,100
Farinha de carne	2,870
Farinha de vísceras de aves	3,510
Óleo de soja	3,620
L-Lisina HCl	0,530
L-Treonina	0,120
Sal comum	0,320
Calcário	0,640
Fosfato bicálcico	0,130
Bicarbonato de sódio*	0,090
Suplemento vitamínico mineral**	0,400
Inerte***	0,522
Energia (kcal/kg) e nutrientes (%)	Composição calculada
Energia metabolizável	3250,000
Proteína bruta	20,000
Cálcio	0,840
Fósforo disponível	0,420
Metionina digestível	0,270
Metionina + Cistina digestível	0,536
Lisina digestível	1,150
Treonina digestível	0,736
Triptofano digestível	0,180
Valina digestível	0,800
Arginina digestível	1,140
Isoleucina digestível	0,710

\* adicionado na dieta para manter um Balanço Eletrolítico de 189 meq/kg.

\*\* Suplementação de vitaminas, minerais e aditivos por kg de ração: vitamina A, 8.000UI; vitamina D3, 1.900UI; vitamina E, 16,67 UI; vitamina K3, 1,5mg; vitamina B1, 1,5mg; vitamina B2, 4,6mg; vitamina B6, 2,2mg; vitamina B12, 15µg; Ácido fólico, 0,8mg; Ácido nicotínico, 29,6mg; Ácido pantotênico, 10,8mg; Colina, 245,3mg; Biotina, 0,05 mg; Ferro, 45 mg; Cobre, 8 mg; Zinco, 110 mg; Zinco orgânico, 40 mg; Iodo, 0,8 mg; Selênio, 0,3 mg ; Manganês, 75 mg

\*\*\* Usado para corrigir as adições de DL-HMB, PIE e DLM. O DL-HMB, o PIE e a DLM substituíram o inerte das rações basais para originar as dietas suplementadas com metionina.

## 2.6 Estratégias de suplementação

Para a dieta basal, deficiente em Met + Cys, três níveis crescentes de qualquer fonte; DLM, DL-HMB ou ainda PIE foram adicionados. Os níveis crescentes de DL-HMB foram adicionados em quantidade equivalente a 33%, 66% e 100% das praticas de suplementação da empresa integradora. Os três níveis crescentes de DLM foram efetuados, suplementando DLM em quantidade equivalente a 65% (DLM-65) das quantidades dos níveis de DL-HMB, mantendo assim relação de 65:100. Já os três níveis crescentes de PIE foram efetuados nas mesmas quantidades dos níveis de DLM, mantendo assim uma relação de 100:100 (Tabela 3).

Tabela 3. Representação das estratégias de suplementação.

Tratamentos	Fonte de Met <sup>1</sup>	Nível suplementar	Adição do produto (%)	Adição equivalente de Met (%) <sup>4</sup>	Met + Cys digestível (%) <sup>5</sup>
1	Dieta basal	-	-	-	0,536
2	DLM	Nível 1	0,093 <sup>2</sup>	0,092	0,628
3	DLM	Nível 2	0,186 <sup>2</sup>	0,184	0,720
4	DLM	Nível 3	0,279 <sup>2</sup>	0,276	0,812
5	DL-HMB	Nível 1	0,140	0,126	0,662
6	DL-HMB	Nível 2	0,286	0,252	0,788
7	DL-HMB	Nível 3	0,429	0,378	0,914
8	PIE	Nível 1	0,093 <sup>3</sup>	0,092	0,628
9	PIE	Nível 2	0,186 <sup>3</sup>	0,184	0,720
10	PIE	Nível 3	0,279 <sup>3</sup>	0,276	0,812

<sup>1</sup>DLM = DL-Metionina; DL-HMB = ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico; PIE = poli ingrediente de ervas;

<sup>2</sup>DLM adicionada na relação de 65% dos níveis de DL-HMB;

<sup>3</sup>PIE adicionado nas mesmas quantidades dos níveis de DLM;

<sup>4</sup>Considerado a DLM, DL-HMB e PIE com 99, 88 e 99% de atividade de metionina (Met), respectivamente.

<sup>5</sup>Met + Cys contida na dieta basal, somada a adição equivalente de Met das fontes.

## 2.7 Parâmetros Avaliados

O consumo de ração, o ganho de peso, a conversão alimentar e o fator de produção foram determinados em todas as aves de cada tratamento, enquanto que os pesos relativos de

carcaça, cortes nobres (peito, coxas e sobrecoxas), asa, fígado e gordura abdominal, foram determinados em 2 aves por boxe (10 aves por tratamento).

O consumo médio de ração foi calculado em gramas (g), pela diferença entre a ração fornecida e a sobra do comedouro, em cada unidade experimental, no final do período experimental. O ganho de peso, expresso em gramas, foi calculado como a diferença entre os pesos inicial e final das aves em cada unidade experimental. A conversão alimentar foi obtida dividindo-se o consumo médio da ração pelo ganho de peso médio das aves de cada unidade experimental. O fator de produção, ou índice de eficiência produtiva, foi determinado aos 42 dias, de acordo com a Equação 1.

$$FP = \frac{\text{Ganho de peso (Kg)} \times \text{Viabilidade}}{\text{Idade (dias)} \times \text{Conversão Alimentar}} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

Para avaliação da carcaça, foram abatidas duas aves por unidade experimental, aos 42 dias de idade. Após jejum de 8 horas, as aves foram pesadas, abatidas, depenadas, evisceradas e pesadas novamente, sem pés e cabeça, para cálculo do rendimento de carcaça em relação ao peso vivo em jejum. Os rendimentos de cortes nobres (peito, coxas e sobrecoxas), asa, fígado e gordura abdominal foram estimados em relação ao peso da carcaça eviscerada.

## 2.8 Análises estatísticas

Os valores de bioeficácia relativa do DL-HMB e do PIE, em relação à DLM, para as variáveis de desempenho e características de carcaça, foram determinados utilizando modelo de regressão exponencial simultânea (para respostas não-lineares) de acordo com a Equação 2, ou por modelo de regressão linear simultânea ou slope-ratio (para respostas lineares), de acordo com a Equação 3, como sugerido por Littell et al. (1997), utilizando-se o general linear models procedure (PROCGLM) do programa computacional SAS (Statistical Analysis System, 1996).

$$y = a + b (1 - e^{-(c^1x^1 + c^2x^2 + c^3x^3)}) \dots\dots\dots(2)$$

Aonde  $y$  = Critério de desempenho,  $a$  = desempenho obtido com a dieta basal (intercepto- $y$ ),  $b$  = resposta assintótica (diferença entre 'a' e assíntota),  $a + b$  = assíntota comum (nível de desempenho máximo),  $c_1$ ,  $c_2$ ,  $c_3$  = coeficientes de inclinação para DLM, DL-HMB e PIE, respectivamente, e  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$  = níveis dietéticos de DLM, DL-HMB e PIE, respectivamente.

$$y = a + (b^1x^1 + b^2x^2 + b^3x^3) \dots\dots\dots(3)$$

Aonde  $y$  = Critério de desempenho,  $a$  = desempenho obtido com a dieta basal (intercepto- $y$ ),  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$  = coeficientes de regressão da reta para DLM, DL-HMB e PIE respectivamente, e  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$  = níveis dietéticos de DLM, DL-HMB e PIE, respectivamente.

De acordo com Littell et al. (1997), os valores de bioeficácia da DL-HMB e da PIE em relação à DLM são dados pelas proporções dos coeficientes de regressão:  $c_2/c_1$  e  $c_3/c_1$  utilizando regressão multiexponencial;  $b_2/b_1$  e  $b_3/b_1$  utilizando regressão multilinear para valores de bioeficácia da DL-HMB e da PIE respectivamente.

Para avaliar os valores do fator de produção, uma análise global com todos os tratamentos foi realizada com o objetivo de obter o quadrado médio do resíduo para testar o fatorial e realizar o teste Dunnett a 5% com o tratamento adicional. Para a comparação dos fatores de produção dos tratamentos no esquema fatorial, utilizou-se o teste Tukey, a 5% de probabilidade.

### 3 Resultados e Discussão

O desempenho foi melhorado com a suplementação de metionina na forma de DL-HMB e DLM-65, em relação aos frangos de corte alimentados com a dieta basal (Tabelas 4, 5 e 6), indicando que o objetivo de uma dieta basal deficiente em Met + Cys foi alcançado, o que, de acordo com Huyghebaert (1993) e Lemme et al. (2002) é essencial quando se deseja detectar diferenças na bioeficácia de fontes nutricionais de metionina. As aves alimentadas com a dieta basal apresentaram um desempenho de apenas 1656,78 g para ganho de peso, 2,03 g/g para conversão alimentar e rendimentos de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa, asa, fígado e gordura abdominal de 78,43%, 35,18%, 30,62%, 10,84%, 2,78% e 2,67%, respectivamente. As respostas máximas para estes critérios, com a suplementação de DLM-65 e DL-HMB foram de 1998,2 g, 1,67 g/g, 81,92%, 38,59%, 31,81%, 10,92%, 2,29%, e 1,82%

(Tabelas 4, 5 e 6), demonstrando uma melhoria de 20,61% no ganho de peso, 18,04% na conversão alimentar e de 4,45%, 9,69%, 3,89%, 0,69%, 17,64% e 32,07%, nos rendimentos de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa, asa, fígado e gordura abdominal, respectivamente.

Estes resultados estão de acordo com Payne et al. (2006) e Viana et al. (2009) que também observaram melhoras no desempenho de aves suplementadas com níveis crescentes de DL-HMB ou DLM em quantidade equivalente a 65% da quantidade de cada nível de DL-HMB.

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte, de 22 a 42 dias de idade, alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de metionina.

Tratamento - Fonte - Nível	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar (g/g)
1 – Basal	3344	1657	2,03
2 – DLM - nível 1	3440	1939	1,77
3 – DLM - nível 2	3329	1954	1,70
4 – DLM - nível 3	3321	1995	1,67
5 – HMB - nível 1	3395	1916	1,77
6 – HMB - nível 2	3353	1963	1,71
7 – HMB - nível 3	3420	1998	1,71
8 – PIE - nível 1	3447	1746	1,98
9 – PIE - nível 2	3420	1726	1,98
10– PIE - nível 3	3446	1740	1,98
F	0,374	<,001	<,001
CV	3,13	4,49	3,68

As aves suplementadas com PIE, nas mesmas quantidades dos níveis de DLM, foram as que apresentaram os piores resultados de desempenho (Tabelas 4, 5 e 6). Para estas aves, foram observadas respostas máximas de 1746,22g para ganho de peso, 1,98g/g para conversão alimentar e de 81,65%, 35,69%, 30,62%, 10,84% e 2,48% para rendimentos de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa, asa e fígado, respectivamente, demonstrando desta forma uma melhora de apenas 5,40% no ganho de peso, 2,87% na conversão alimentar e de 4,10%, 1,47%, 2,79% e 10,78% nos rendimentos de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa e fígado, respectivamente, sendo observado, ate mesmo, uma piora de 3,29% no rendimento de asas.

Tabela 5. Rendimento de carcaça e de cortes nobres (peito, coxa e sobrecoxa) de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de metionina.

Tratamento - Fonte - Nível	Rendimento (%)		
	Carcaça	Peito	Coxa / Sobrecoxa
1 – Basal	78,43	35,18	30,62
2 – DLM - nível 1	80,90	37,31	30,69
3 – DLM - nível 2	82,02	36,21	30,87
4 – DLM - nível 3	81,92	38,00	29,45
5 – HMB - nível 1	78,60	38,59	31,81
6 – HMB - nível 2	81,04	38,14	30,75
7 – HMB - nível 3	81,28	38,05	30,42
8 – PIE - nível 1	80,29	35,17	31,38
9 – PIE - nível 2	81,65	33,95	31,47
10– PIE - nível 3	79,34	35,69	31,34
F	0,478	0,001	0,711
CV	5,33	7,53	8,23

O menor desempenho observado nas aves suplementadas com PIE provavelmente deve estar relacionado com o desbalanço de aminoácidos da dieta (ALBINO et al., 1999), causado pela deficiência de metionina, indicando que a fonte suplementar (PIE) não foi suficiente em atender as exigências deste aminoácido. É importante salientar que, quando o frango de corte ingere uma dieta deficiente em Met + Cys, a síntese protéica torna-se limitada, resultando em ineficiente utilização dos demais aminoácidos, fato que pode ser observado neste estudo, nas aves alimentadas com a dieta basal ou suplementadas com PIE.

O desequilíbrio de aminoácidos, ocasionado pela deficiência de Met + Cys, pode ainda ser explicado pelos maiores valores médios de deposição de gordura abdominal (Tabela 6), observados nas aves alimentadas com a dieta basal (2,67), ou suplementadas com PIE (2,98), pois, de acordo com Silva Junior et al. (2005), este desequilíbrio limita o acúmulo de tecido magro e direciona as calorias para os adipócitos, o que provavelmente pode ter ocorrido no presente estudo.

Tabela 6. Rendimento de asa, fígado e gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de metionina.

Tratamento - Fonte - Nível	Asa	Fígado	Gordura abdominal
	Rendimento (%)		
1 – Basal	10,84	2,78	2,67
2 – DLM - nível 1	10,22	2,37	2,26
3 – DLM - nível 2	10,18	2,35	2,04
4 – DLM - nível 3	10,01	2,40	2,21
5 – HMB - nível 1	10,92	2,58	2,25
6 – HMB - nível 2	10,46	2,29	1,82
7 – HMB - nível 3	10,24	2,39	2,18
8 – PIE - nível 1	10,49	2,48	2,55
9 – PIE - nível 2	10,04	2,66	2,53
10– PIE - nível 3	10,45	2,73	2,98
F	0,221	0,010	0,003
CV	8,09	13,59	25,86

As respostas de desempenho das aves aos níveis crescentes das fontes de metionina, partindo da dieta basal, deficiente em Met + Cys, seguiram uma tendência não linear correspondente à lei dos rendimentos decrescentes (Figura 1), o que significa que o desempenho animal é aumentado em função do aumento de nutrientes, até que nenhuma unidade adicional do nutriente proporcione um aumento no desempenho do animal (RODEHUTSCORD; PACK, 1999; TIMMLER; RODEHUTSCORD, 2003). De acordo com Littell et al. (1997) a maneira mais precisa para descrever as respostas de desempenho, apresentadas pelas aves do presente estudo, aos níveis crescentes das fontes de metionina seria por modelo de regressão simultânea. Este modelo fornece uma maneira para determinar as estimativas imparciais da bioeficácia entre as substâncias de ensaio (DL-HMB e PIE) e a substância de referência (DLM)

A utilização da regressão simultânea para determinar a bioeficácia das fontes nutricionais de metionina foi reforçada ainda pelos trabalhos recentes de Hoehler et al. (2005b); Piepho (2006); Hoehler (2006) e Elwert et al. (2008).

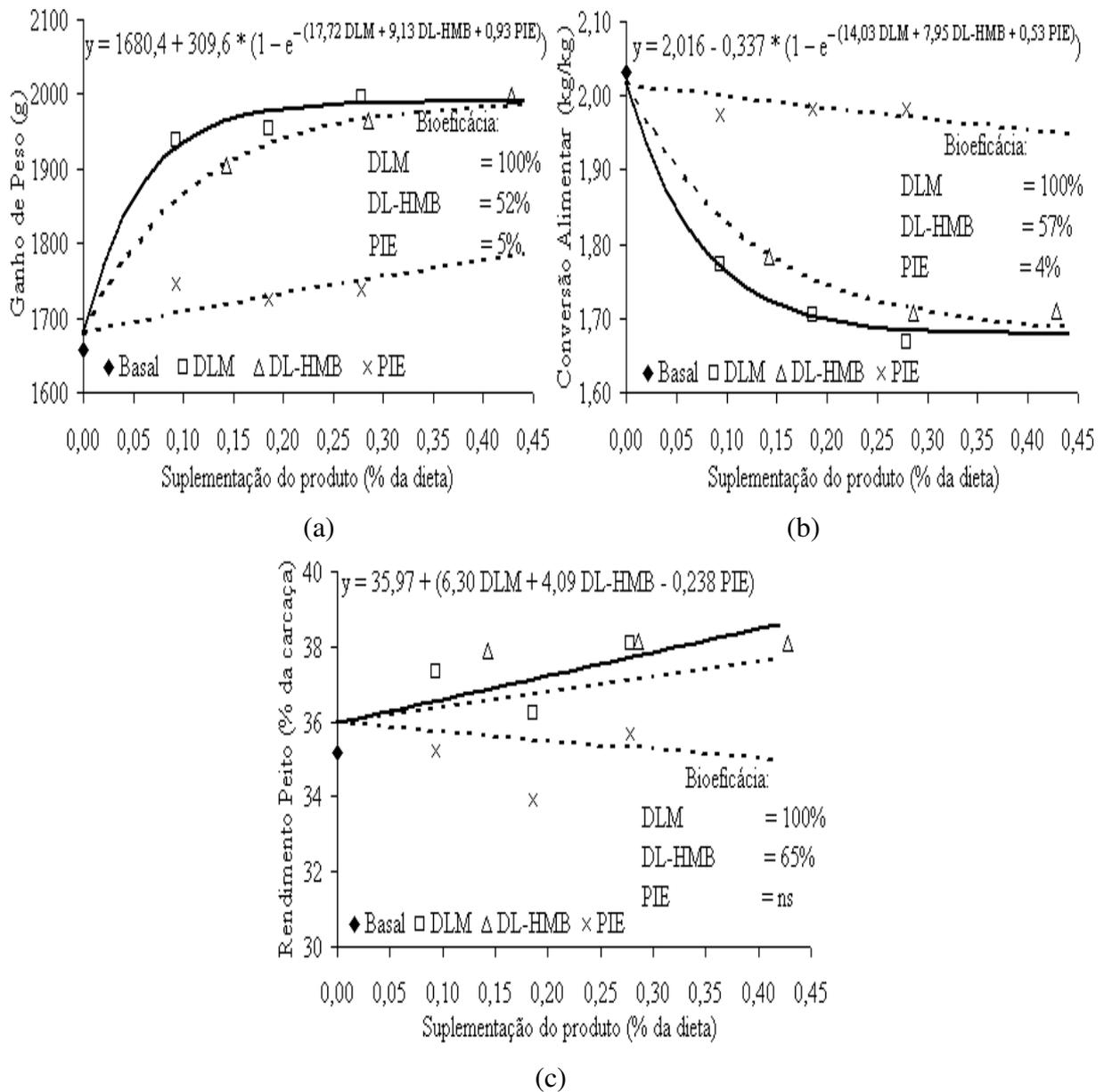


Figura 1. Bioeficácia do ácido DL-2-hidróxi-4 (metil) butanóico (DL-HMB) e de um poli ingrediente de ervas (PIE) em relação à DL-Metionina (DLM), com base no ganho de peso (a), na conversão alimentar (b) e no rendimento de peito (c), de frangos de corte, no período de 22 a 42 dias de idade.

Desta forma, as análises de regressão simultânea revelaram uma bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DLM de 52% para ganho de peso, 57% para conversão alimentar e 65% para rendimento de peito, em uma base de produtos (Figura 1). No entanto, Lemme et al. (2002), utilizando regressão exponencial simultânea, obtiveram valores de bioeficácia relativa média do DL-HMB em relação à DLM, de 68% para ganho de peso, 67% para conversão alimentar e 64% para rendimento de peito. Já Payne et al. (2006), obtiveram valores de

bioeficácia relativa do DL-HMB em relação à DLM, de 64% para ganho de peso e 59% para conversão alimentar. Estas variações nos valores de bioeficácia entre os estudos são consideradas comuns e inevitáveis por serem estimadas através de ensaios biológicos.

O modelo de regressão simultânea também foi utilizado para determinar a bioeficácia relativa do PIE comparado à DLM, estimando valores de 5% para ganho de peso e 4% para conversão alimentar (Figura 1), o que representa uma bioeficácia média do PIE em relação à DLM, de 4,5%.

Os pesos relativos de carcaça, coxas e sobrecoxas, fígado e gordura abdominal, das aves suplementadas com DL-HMB e PIE e os dados de rendimento de peito das aves suplementadas com PIE também foram analisados por regressão simultânea, no entanto, não houve ajuste significativo dos dados ao PROCGLM do SAS, não sendo possível determinar a bioeficácia do DL-HMB e do PIE em relação à DLM para estas variáveis.

Considerando os valores de bioeficácia para ganho de peso, conversão alimentar e rendimento de peito, a bioeficácia média do DL-HMB em relação à DLM, no presente estudo, foi de 58%. Embora este valor esteja abaixo do valor de bioeficácia média próxima de 65%, encontrado em alguns estudos na literatura (LEMME et al., 2002; JANSMAN et al., 2003; HOEHLER et al., 2005; SAUER et al., 2008), este valor está em concordância com os resultados encontrados por Payne et al. (2006), que obtiveram bioeficácia média do DL-HMB em relação à DLM, de 57%.

Como pode ser visto, existem número considerável de estudos que comparam a DL-HMB com a DLM. No entanto, as pesquisas comparando fontes naturais de metionina com a DLM são escassas na literatura, assim como estudos que investigam as possíveis perdas metabólicas da atividade de metionina das fontes naturais no metabolismo das aves.

Os valores obtidos para o fator de produção (Tabela 7) foram superiores ( $P < 0,05$ ) nas dietas com DLM e DL-HMB, em todos os níveis de suplementação estudados, em relação ao tratamento controle.

A comparação entre as médias dos tratamentos no esquema fatorial mostrou que não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) para o fator de produção, porém, foi constatado efeito de fonte, observando-se os maiores valores para as dietas com DLM e DL-HMB.

Tabela 7. Valores médios do fator de produção aos 42 dias de idade.

Nível	Fontes de Metionina			Médias
	DLM	DL-HMB	PIE	
Basal (B)		196		
B + Nível 1	260*	258*	211	241
B + Nível 2	270*	268*	208	248
B + Nível 3	283*	272*	209	255
Médias	271 a	266 a	209 b	
CV (%)		5,83		

\* Médias diferem ( $P < 0,05$ ) do tratamento controle, pelo teste Dunnet.

<sup>a, b</sup> Médias na linha seguidas por diferentes letras diferem ( $P < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

#### 4 Conclusões

Em conclusão, a bioeficácia média do DL-HMB e do PIE em relação à DLM, no presente estudo, foi de 58 e 4,5%, em uma base de produtos.

### Referências bibliográficas

- ALBINO, L.F.T.; SILVA, S.H.M.; VARGAS JR., J.G. et al. Níveis de metionina + cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.3, p.519-525, 1999.
- BRUGALLI, I. Eficácia relativa das fontes de metionina – Por que a indústria está repensando esta questão? **Revista Aveworld**, v.4, p.31-35, 2003.
- DREW, M.D.; VAN KESSEL, A.G.; MAENZ, D.D. Absorption of methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid in conventional and germ-free chickens. **Poultry Science**, v.82, p.1149-1153, 2003.
- ELWERT, C.; FERNANDES, E.A.; LEMME, A. Biological effectiveness of methionine hydroxy-analogue calcium salt in relation to DL-methionine in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.21, n.10, p.1506-1515, 2008.
- ESTEVE-GARCIA, E.; LAURADO, L. Performance, breast meat yield and abdominal fat deposition of male broiler chickens fed diets supplemented with DL-methionine or DL-methionine hydroxy analog free acid. **British Poultry Science**, v.38, p.397-404, 1997.
- HOEHLER, D.; LEMME, A.; ROBERSON, K. et al. Impact of methionine sources on performance in turkeys. **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.296-305, 2005a.
- HOEHLER, D.; LEMME, A.; JENSEN, S.K.; VIEIRA, S.L. Relative effectiveness of methionine sources in diets for broiler chickens, **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.679-693, 2005b.
- HOEHLER, D. Letter to the editor. No Evidence for different dose responses of commercial methionine sources in broilers. **Poultry Science**, v.85, p.2047, 2006.
- HUYGHEBAERT, G. Comparison of DL-methionine and methionine hydroxy analog-free acid in broilers by using multi-exponential regression models. **British Poultry Science**, v.34, p.351-359, 1993.
- JANSMAN, A.J.M.; KAN, C.A.; WIEBENGA, J. **Comparison of the biological efficacy of DL-methionine and hydroxy-4-methyl-thiobutanoic acid (HMB) in pigs and poultry**. Centraal Veevoederbureau (CVB, Central Bureau for Livestock Feeding), The Netherlands 2003, Documentation Report No. 29.
- KRATZER, D.D.; LITTELL, R.C. Appropriate statistical methods to compare dose responses of methionine sources. **Poultry Science** v.85, p.947-954, 2006.
- LEMME, A.; HOEHLER, D.; BRENNAN, J.J. et al. Relative effectiveness of methionine hydroxy analog compared to DL-methionine in broiler chick. **Poultry Science**, v.81, p.838-845, 2002.
- LITTELL, R.C.; HENRY, P.R.; LEWIS, A.J. et al. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2672-2683, 1997.

- MAENZ, D.D.; ENGELE-SCHAAN, C.M. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are transported by distinct Na<sup>+</sup>-dependent and H<sup>+</sup>-dependent systems in the brush border membrane of the chick intestinal epithelium. **Journal of Nutrition**, v.126, p.529-536, 1996a.
- MAENZ, D.D.; ENGELE-SCHAAN, C.M. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are partially converted to nonabsorbed compounds during passage through the small intestine and heat exposure does not affect small intestinal absorption of methionine sources in broiler chicks. **Journal of Nutrition**, v.126, p.1438-1444, 1996b.
- PAYNE, R.L.; LEMME, A.; SEKO, H. et al. Bioavailability of methionine hydroxy analog-free acid relative to DL-methionine in broilers. **Animal Science Journal**, v.77, p.427-439, 2006.
- PIEPHO, H.P. letter to the editor: a cautionary note on appropriate statistical methods to compare dose responses of methionine sources. **Poultry Science**, v.85, p.1511-1512, 2006.
- RODEHUTSCORD, M.; PACK, M. Estimates of essential amino acid requirements from dose-response studies with rainbow trout and broiler chicken: Effect of mathematical model. **Archives of Animal Nutrition**, v.52, p.223-244, 1999.
- ROSTAGNO, H.S.; BARBOSA, W.A. Biological efficacy and absorption of DL-methionine hydroxy analog free acid compared to DL-methionine in chickens as affected by heat stress. **British Poultry Science**, v.36, p.303-312, 1995.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**. Version 6.11. 4.ed. v.2. Cary: SAS Institute, 1996. 842p.
- SAUER, N.; EMRICH, K.; PIEPHO, H.P. et al. Meta-analysis of the relative efficiency of methionine-hydroxy-analogue-free-acid compared with DL- methionine in broilers using nonlinear mixed models. **Poultry Science**, v.87, p. 2023-2031, 2008.
- SILVA JR., R.G.C.; LANA, G.R.Q.; RABELLO, C.B. et al. Exigências de metionina + cistina para frangos de corte machos de 1 a 21 e de 22 a 42 dias de idade, em clima tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2399-2407, 2005.
- THOMAS, O.P.; TAMPLIN, S.D.; CRISSEY, E. et al. An evaluation of methionine hydroxy analog free acid using a nonlinear (exponential) bioassay. **Poultry Science**, v.70 p.605-610, 1991.
- TIMMLER, R.; RODEHUTSCORD, M. Dose-response relationships for valine in the growing White Pekin duck. **Poultry Science**, v.82, p.1755-1762, 2003.
- VIANA, M.T.S.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. et al. Fontes e níveis de metionina em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.9, p.1751-1756, 2009.

## **CAPÍTULO IV**

### **Considerações finais**

A bioeficácia média do DL-HMB em relação à DLM, para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, encontrada no presente estudo, foi de 42%, em uma base de produtos.

Para a fase de 22 a 42 dias de idade, a bioeficácia média do DL-HMB e do PIE em relação à DLM, encontrada no presente estudo, foi de 58 e 4,5%, em uma base de produtos.