

RAQUEL MENCALHA

BIOEFICÁCIA DE FONTES DE METIONINA EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE

LAVRAS – MG 2016

RAQUEL MENCALHA

BIOEFICÁCIA DE FONTES DE METIONINA EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Monogástricos, para a obtenção de título de mestre.

Orientador

Dr. Antônio Gilberto Bertechini

LAVRAS - MG 2016

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Mencalha, Raquel.

Bioeficácia de fontes de metionina em dietas de frangos de corte / Raquel Mencalha. – Lavras: UFLA, 2016.

54 p.: il.

Dissertação (mestrado acadêmico) — Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Antônio Gilberto Bertechini. Bibliografia.

1. Aminoácido. 2. Metioninas. 3. Bioeficácia. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

RAQUEL MENCALHA

BIOEFICÁCIA DE FONTES DE METIONINA EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Monogástricos, para a obtenção de título de mestre.

APROVADA em 20 de abril de 2016.

Dr. Raimundo Vicente de Souza UFLA

Dra. Renata de Souza Reis UFSJ

Dr. Antônio Gilberto Bertechini Orientador

> LAVRAS - MG 2016

Aos meus pais, Altivo e Maria, pelo amor incondicional, incentivo e apoio durante esta trajetória.

Ao meu irmão Raniel e meu sobrinho Bernardo pela amizade e companheirismo.

Aos meus avós, Antenor e Luiza, pelo amor e carinho.

Amo vocês!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de todas as coisas, pelo que tenho e pelo que sou e porque sei que sem ELE nada sou.

Aos meus pais, pelos valores transmitidos, pela paciência, dedicação, amor ilimitado e por serem anjos enviados por Deus.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini, pela paciência, dedicação, incentivo e ensinamentos, indispensáveis para realização deste trabalho.

Aos amigos e companheiros: Vanessa, Bernardo, Bruno, Lislaine, Sabrina, Rafael, Paloma, Moema, Fabiana, Matheus, Carlos, Robert, Marco Túlio que me auxiliaram de forma ímpar durante todo o experimento.

Ao NECTA pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal, onde fiz amizades e adquiri conhecimentos que levarei comigo a vida toda.

Aos amigos Anderson, Maria, Thais e Mariana, pelo grande auxílio, durante todo o experimento, pela amizade e incentivo constante.

À empresa EVONIK DEGUSSA BRASIL LTDA, pelo apoio para a realização do experimento.

A todos os funcionários do Departamento de Zootecnia da UFLA, sempre tão prestativos em todos os momentos.

Enfim, agradeço a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO GERAL

Objetivou-se determinar a bioeficácia relativa das fontes dietéticas de metionina L-metionina 99%, DL- metionil-DL-metionina 97%, em comparação com a DL-metionina 99%, nas fases inicial e de crescimento de frangos de corte machos, recebendo dietas à base de milho e farelo de soja. Foram realizados dois experimentos de desempenho, nas fases de 1 a 21 dias e 22 a 42 dias de idade, utilizando, no total, 1750 pintos (Cobb-500), distribuídos, aleatoriamente, em dez tratamentos (7 repetições / 25 aves). Foram utilizadas três fontes de metionina, em três níveis de suplementação e um tratamento sem suplementação de metionina. As dietas, para ambos os experimentos, foram isocalóricas e isoproteicas, variando apenas os níveis de metionina + cisteína e fontes de metionina. Foram avaliados o desempenho, rendimentos de peito e de carcaça. Aos 21 e aos 42 dias, foram abatidas duas aves por repetição, sendo aos 21 para rendimento de peito e aos 42 para rendimento de peito e carcaça. A bioeficácia relativa, para ganho de peso, conversão alimentar e rendimento de peito, foram obtidos utilzando os métodos slope-ratio, regressão linear múltipla e regressão exponencial. Os resultados, também, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do teste SNK (P<0.05). Não houve efeito das fontes de metionina nas características da carcaça (P > 0,05). Com base no método de regressão exponencial e usando a DL-met como padrão, as médias de bioeficácia para L-met e a DL-met-met foram de 92,02 e 105,54, respectivamente, para a fase inicial e, para para fase final, foram de 90,5 e 105,5 com base na média de bioeficácia de ganho de peso e conversão alimentar. Com relação ao rendimento de peito, houve maior bioeficácia para DL-met-met, na primeira fase (119%) e, na fase final, a L-met apresentou melhor bioeficácia (118%).

Palavras-chave: Aminoácidos. Regressão linear múltipla e regressão exponencial.

GENERAL ABSTRACT

This study aimed to determine the relative bioavailability of Lmethionine sources 99%, DL- methionyl -DL -methionine 97 % compared to the DL- methionine 99% in the initial stages and growth of broilers receiving based diets corn and soybean meal. Two performance experiments were carried out in phases 1-21 days and 22-42 days of age using in total 1750 chicks (Cobb -500) were randomly divided into ten treatments (7 repetitions / 25 birds). three methionine sources were used at three levels of supplementation and one without methionine supplementation treatment. The corn-based diets and soybean meal for both experiments were isocaloric and isoproteic, varying only the methionine + cysteine and methionine sources. They evaluated the performance, breast yield and carcass yield. At 21 and 42 days were killed two birds per repetition, to 21 for breast yield and 42 for breast and carcass yield. The bioavailability relative to weight gain, feed conversion and breast yield were obtained using the slope-ratio methods, multiple linear regression and exponential regression. The results were submitted to analysis of variance and means were compared by the SNK test (P < 0.05). There was no effect of methionine sources on carcass characteristics (P> 0.05). Based on the exponential regression method and using the DL-methyl as a standard, the mean bioavailability for L-met and DL-met-met were 92.02 and 105.54 %, respectively, for the initial phase of broilers and for final cutting phase were 90.5 and 105.5 % based on the average bioavailability of weight gain and feed conversion. Regarding breast yield, a higher bioavailability for DL-met -met in the first phase (119%) and the final stage L- met showed better bioavailability (118%).

Keywords: Aminoacids. Regression multiple linear and exponential regression.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	9
1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Fontes de Metionina	11
2.2	Biossíntese das Fontes de Metionina	14
2.3	Estimativa da bioeficácia das fontes de metionina	utilizando
	diferentes métodos	17
2.4	Bioequivalência das Fontes de Metionina	18
	REFERÊNCIAS	
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO	24
	ARTIGO 1 Bioeficácia de fontes de metionina para	dietas em
	frangos de corte	

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de aves de corte destacou-se, nas últimas décadas, ocupando posição de notoriedade no cenário mundial. Segundo dados da Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA (2015), em 2014, a produção de carne de frango foi estimada em 12,691 milhões de toneladas e a exportação em 4,099 milhões de toneladas. O Brasil é o maior exportador mundial de carne de frango, à frente dos Estados Unidos da América (EUA) bem como o terceiro maior produtor, à frente dos 27 países da União Europeia (UE). Para esta produção, foram destinadas 32,4 milhões de toneladas de ração e a estimativa do ingrediente metionina foi de 78.853 toneladas (SINDIRAÇÕES, 2015).

A avicultura tem como objetivo comum a obtenção de produtos com alta qualidade e menor custo de produção. Dentre os fatores de produção, a alimentação representa a maior fatia e os aminoácidos representam os maiores custos das rações. Para se obter uma melhor eficiência de utilização dos componentes proteicos, fatores como composição, quantidade e digestibilidade de seus aminoácidos são exigidos em níveis específicos pelas aves.

Durante muitos anos, as formulações de rações, para aves, foram feitas, baseando-se no conceito de proteína bruta, resultando, na maioria das vezes, em dietas com níveis aminoacídicos superiores aqueles exigidos pelos animais. No entanto a produção de aminoácidos, em escala comercial, possibilitou a formulação de dietas, visando atender às exigências nutricionais das aves em proteína e em aminoácidos com menor custo e menor impacto negativo de poluição ambiental.

A metionina juntamente com a cisteína são denominadas aminoácidos sulfurados, pois são as únicas que contêm enxofre em sua estrutura química.

Dentre os aminoácidos essenciais, a metionina é o primeiro limitante em rações à base de milho e farelo de soja, para aves, portanto a concentração adequada desses aminoácidos é fundamental, para determinar que outros aminoácidos sejam utilizados, com eficiência, na síntese proteica. As aves apresentam alta exigência de metionina e cisteína, durante o período de crescimento corporal, tal fator se deve, principalmente, à formação da plumagem. Entretanto, caso as rações não sejam atendidas com aminoácidos industriais, raramente as exigências das aves serão atendidas para tais necessidades (ALBINO et al., 1999).

A DL-metionina (DL-met) e a metionina hidroxi-análoga (MHA) são as principais fontes sintéticas de metionina mais utilizadas, em todo o mundo, nas formulações de dietas para aves. Apesar da MHA ser uma das fontes mais comercializadas, o uso dessa fonte gerou várias discussões sobre sua bioeficácia, dando início a diversas pesquisas em todo o mundo.

No mesmo sentido, com o surgimento de novas fontes de aminoácidos sintéticos como a L-metionina 99% (L-met) e a DL-metionil- DL-metionina 97% (DL-met-met) é importante à realização de pesquisas comparando sua bioeficácia.

Assim, com o presente estudo, objetivou-se determinar a bioeficácia das fontes de L-metionina 99%, DL-metionil-DL-metionina 97% em comparação com a DL-metionina 99%, na fase inicial e na fase de crescimento de frangos de corte machos, recebendo dietas à base de milho e farelo de soja, utilizando as médias de ganho de peso, conversão alimentar e consumo de ração e os métodos de determinação por regressão linear simples, regressão linear múltipla e regressão exponencial.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fontes de Metionina

A metionina (ácido (S)–2–amino–4-(metilsulfanil)-butanoico) é um aminoácido sulfurado essencial e aparece como primeiro limitante na nutrição das aves. Isso se deve ao fato das rações de aves serem formuladas com a tradicional mistura milho e farelo de soja, que não atendem às exigências, para esse aminoácido, podendo comprometer o desempenho das aves segundo Daenner e Bassei (2002). A cisteína, também, denominada como um aminoácido sulfurado, pode ser sintetizada a partir da metionina, sendo classificada como aminoácido não essencial. Por outro lado, uma parte da metionina pode ser convertida em cisteína para o atendimento dessa necessidade nutricional.

A metionina foi descoberta por J. H. Mueller, em 1922, como uma substância num hidrolisado ácido de caseína, durante seus estudos, para definir os fatores de crescimento, para um estreptococo hemolítico. No ano seguinte, Mueller propôs a composição de metionina como um aminoácido, contendo enxofre, por estudos com caseína. Em 1925, S. Odake obteve metionina, a partir de extratos de levedura, sendo assim, a estrutura da metionina foi criada pela síntese química por G. Barger e F.P. Coyne em 1928 (WU, 2013).

A primeira referência sobre a MHA foi, no trabalho de Block Jackson (1932), em ratos alimentados com dieta deficiente em cisteína, onde observaram que a MHA estimulava o crescimento. Na década de 40, a empresa Dow Chemical produziu a primeira MHA comercial, mas foi, na década de 50, que a empresa Monsanto introduziu sais de cálcio a MHA, tornando-a mais estável (BERTECHINI, 2012).

Atualmente, as quatro principais fontes sintéticas de metionina usadas são a DL-met disponível, comercialmente, na forma de pó ou sua forma líquida como sal de sódio (DL-metionina-NA), a metionina hidroxi-análoga (MHA), também, comercializada na forma de pó, como sal de cálcio (MHA-Ca) ou na forma líquida como ácido livre (MHA-FA).

A DL-met e a DL-metionina-Na são uma mistura racêmica entre as formas levógiras (50%) e dextrógiras (50%), entretanto a DL-metionina apresenta 99% de atividade e a DL-metionina-Na apresenta 40% de atividade de metionina. A MHA-FA apresenta 88% de atividade e a MHA-Ca 84% de atividade de metionina (MOURA; MELO; MIRANDA, 2010). Os análogos diferenciam-se da metionina por possuírem uma molécula de hidroxila, no lugar do grupamento amina, localizado no carbono alfa da molécula (Figura 1).

As rações de monogástricos são, normalmente, suplementadas com o aminoácido DL-met, que possui os isômeros D e L metionina. Uma vez que os animais utilizam somente a forma L-isômero é necessário que a forma D-isômero seja convertida, em seu respectivo L-isômero e, para isso, os D-aminoácidos são, primeiramente, convertidos em cetoácidos e, posteriormente, formam seu respectivo L-aminoácido (BERTECHINI, 2012).

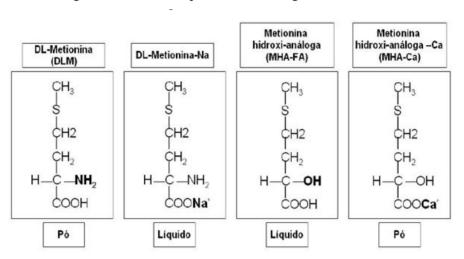


Figura 1 - Estruturas químicas de análogos de metionina.

Industrialmente, as matérias – primas, para produção da DL-met, são a acroleína, metilmercaptano, metanol, ácido cianídrico e carbonato de amônio (Figura 2). As etapas, para produção da DL-met, são em número de 4 reações químicas, sendo a primeira a alimentação de um reator com acroleína, ácido cianídrico, metilmercaptano e carbonato de amônio resultando em hidantoína. Já, na segunda a hidantoína, é convertida em DL- sal pela adição de hidróxido de sódio. A terceira consiste na formação da DL-met pela adição de ácido clorídrico. A quarta etapa refere-se à precipitação completa da DL-met e purificação de resíduos da terceira etapa, dando origem a cristais de DL-met, sal e água (BRASIL, 2012).

Figura 2 - Etapas de reações químicas usadas na produção da DL-metionina.

$$C_{3}H_{4}O + HCN + CH_{3}SH + 5/3(NH_{4}+) {}_{2}CO_{3} \rightarrow C_{6}H_{10}N_{2}SO_{2} + 3/2(H_{2}CO_{3}) + \\ 4NH_{3} + 2H_{2}O$$

$$\begin{array}{cccc} C_6H_{10}N_2SO_2+H_2O+NaOH & \rightarrow & C_6H_{10}NSO_2Na+NH_3+CO_2 \\ \\ C_6H_{10}NSO_2Na+2HCl & \rightarrow & C_4H_{12}SNO_2+NaCl+Cl \\ \\ NaOH+HCl & \rightarrow NaCl+H_2O+C_4H_{12}SNO_2 \end{array}$$

2.2 Biossíntese das Fontes de Metionina

Por sua essencialidade, a metionina deve ser suplementada, corretamente, na dieta, caso contrário, sua deficiência pode resultar em redução do desempenho das aves. Parr e Summers (1991), em estudos com aves, observaram que o desbalanço aminoacídico, provocado pela deficiência de aminoácidos, causou efeitos negativos sobre o consumo e a taxa de crescimento.

A metionina, além de participar da síntese proteica, é exigida para biossíntese de outras substâncias envolvidas no crescimento, como, por exemplo, a melatonina, creatina, epinefrina, colina, poliaminas e carnitina (BAKER, 1994). Outra característica importante que merece destaque é que, além de ser utilizada como uma fonte de enxofre que pode ser doado, para síntese de outros componentes químicos, a metionina tem grande participação na síntese da cisteína que é, também, utilizada para a síntese da proteína corporal, para deposição de penas, formação da pele e de pelos.

A metionina desempenha importante função como doador de grupos metil, uma vez que é precursora da biossíntese da cisteína, que está ligada aos

pares por uma ponte dissulfeto, formando a cistina. Portanto as recomendações nutricionais são realizadas como metionina+cisteína. A cisteína, aminoácido não essencial, pode ser substituída, totalmente, pela metionina, no entanto essa reação é irreversível (Figura 3). A conversão da metionina em cisteína ocorre pelo mecanismo de transculturação (RADEMACHER, 2001).

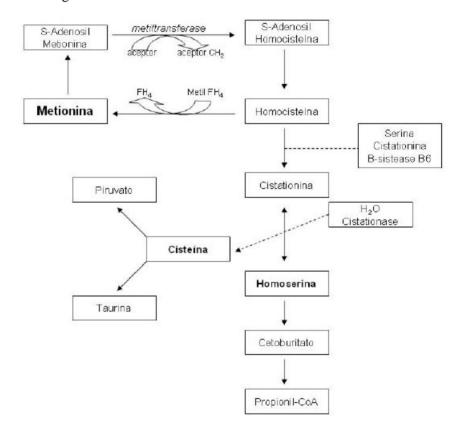


Figura 3 - Inter-relacionamento dos aminoácidos sulfurados.

Durante o processo de metilação, quando a enzima metionina-adenosiltransferase cataliza a transferência da adenosina, proveniente de uma molécula de ATP para a metionina, transformando-a em S-adenosil-L-metionina (SAM), este é um importante doador de grupo metil no organismo. O SAM realiza metilação formando S-adenosil-homocisteína que reagirá com uma molécula de água e a enzima adenosil-homocisteína-hidroxilase formando a homocisteína. A homoserina, resultante desta reação, é decomposta em succinil-CoA e, então, metabolizada em ácido pirúvico (BAKER, 1994; NELSON; COX, 2006; SWENSON; REECE, 1996). Durante o processo de remetilação, ocorre o retorno da homocisteína à metionina, pela ação de duas enzimas, a metionina—sintase e a betaína- homocisteína-metiltransferase.

Dentre as diversas funções, a metionina está envolvida no metabolismo dos fosfolipídios, onde sua deficiência pode afetar as aves causando-lhes prejuízos renais e hepáticos. Entretanto doses excessivas de metionina podem representar riscos ao fígado, provocando fígado gorduroso segundo Parr e Summers (1991).

Na síntese da cisteína, ocorre o catabolismo da cadeia de carbono da metionina, que se transforma em α-cetoglutarato, o qual vai à propionil-CoA, que entra no ciclo do ácido cítrico como succinil-CoA e a transferência do grupo S (enxofre) da metionina para a L-serina, formando uma molécula de cisteína (NELSON; COX, 2006; SWENSON; REECE, 1996). Dentre os produtos formados pela cisteína, está a taurina (ácido 2-amino etanosulfônico), que é um produto final do metabolismo da metionina, contém enxofre e é encontrada na bílis.

A Glutationa, em sua forma reduzida, formada pelos aminoácidos glutamato, cisteína e glicina é um importante antioxidante celular para todo o corpo (WU, 2004).

A diferença entre a DL-met e a MHA, basicamente, está na sua estrutura molecular. Enquanto a DL-met possui o grupo amino (NH₂), em sua molécula, a MHA possui um grupo hidróxido (OH), dessa forma, ela não é classificada como um aminoácido e, por isso, no organismo, necessita passar por uma série de reações químicas para ser convertida em metionina. (BARBI; DIBNER;

PEAK, 2004) classificam a MHA-FA como um ácido mono carboxílico com estrutura química similar aos ácidos orgânicos fórmico, láctico e fumárico, amplamente, utilizados em substituição a promotores de crescimento em rações de aves e suínos. A diferença na estrutura química entre as moléculas de DL-met e MHA está na capacidade de absorção desses nutrientes pelo intestino delgado dos animais. A DL-met é absorvida por processo ativo, denominado cotransporte ativo de sódio (Na⁺), enquanto a MHA é absorvida, principalmente, por difusão.

Estudos demonstram que o baixo pH da parte superior do trato gastrintestinal das aves pelo HCl do quimo, proveniente do proventrículo e moela, favorece a predominância da forma não dissociada da molécula de MHA, facilitando, assim, sua absorção por difusão na região do duodeno. Segundo Dibner et al. (1988) e Maenz e Engele-Schaan (1996), ao contrário da DL-met, a absorção da MHA ocorre, ao longo de todo o intestino delgado e ceco, onde pode ser absorvida ou utilizada pela microbiota cecal. Após absorvidos, os isômeros L-metionina e D-metionina, provenientes da DL-metionina, bem como MHA-FA, são transportados para o fígado, principalmente, pela veia porta, sendo uma pequena quantidade pela via linfática. É no fígado que ocorre parte do metabolismo da metionina, sendo este responsável pela conversão da MHA e D-metionina para a forma, bioquimicamente, que utilizada é à L-metionina.

2.3 Estimativa da bioeficácia das fontes de metionina utilizando diferentes métodos

A bioeficácia de diferntes fontes de nutrientes possuem como obetivo conhecer a sua suplementação, nas dietas, pelas respostas dos animais, como ganho de peso e conversão alimentar.

De acordo com Littel et al. (1997), a maneira mais precisa, para descrever o desempenho, em relação à suplementação das fontes de um nutriente, seria pela regressão exponencial. Esse modelo determina estimativas imparciais da bioeficácia entre as substâncias de ensaio e a substância de referência (Equação 1).

$$Y = a + b * (1-e^{-c1*(DL-Met + c2*L-Met + c3*DL-Met-Met)})$$
 (Equação 1)

A análise de regressão estuda o relacionamento entre uma variável, chamada variável dependente, ou outras variáveis, chamadas variáveis independentes. Este relacionamento é representado por um modelo matemático que associa a variável dependente com as variáveis independentes. Esse modelo é designado por regrssão linear simples, quando se define uma relação linear entre a variável independente e, uma vez que forem incorporadas várias variáveis independentes, o modelo passa a denominar-se regressão linear múltipla.

A regressão linear simples e regressão linear multipla (Equação 2) são adequadas, para determinar a bioeficácia de fontes de metionina, em relação a um padrão, de acordo com estudos realizados por Lemme et al. (2002).

$$Y = a + b*(DL-met + c1*L-met + c2*DL-met-met)$$
 (Equação 2)

2.4 Bioequivalência das Fontes de Metionina

A bioeficácia das diferentes fontes sintéticas de metionina tem causado muitas controvérsias na literatura, em razão do modelo estatístico utilizado pelos pesquisadores. Segundo Littell et al. (1997), a análise de regressão múltipla padroniza as análises estatísticas, dando assim maior precisão de dados.

Katz e Baker (1975), em estudos com dietas, contendo aminoácidos cristalinos, verificaram que a MHA-CA apresentou 80% de bioeficacia, em relação à DL-metionina, em base equimolar.

Rostagno e Barbosa (1995), em estudo comparando a MHA-FA com a DL-met, observaram digestiblidade, significativamente menor, para MHA-FA (90,8%) em relação à DL-met (97,2%).

Em estudos comparando a L-met com a DL-met, Baker (1994) observou que a DL-met apresentou 95% de eficiência em relação à L-metionina. Entretanto, em estudos posteriores, Dilber e Baker (2007) comprovaram que a DL-met é tão eficiente quanto a L-met, na qual a DL-met mostrou-se 100% de eficiência em relação a L-met.

Ao comparar a bioeficácia relativa da DL-met e da MHA-FA, para frangos de corte, Lemme et al. (2002) observaram que a eficácia relativa média de 62%, para MHA-FA líquida, em relação ao DL-met, consideravelmente menor do que 88 % como indicado pelo fabricante

Em estudos comparando a DL-met e a MHA-AL, utilizando três níveis de suplementação para frangos de corte da linhagem Ross, Viana et al. (2009) observaram que as duas fontes de metionina foram equivalentes nos níveis suplementados.

Ao analisar diversos estudos publicados em revistas científicas sobre a biodisponibilidade da DL-met e da MHA-FA, Jansman, Kan e Wiebenga (2003) concluíram que a eficácia relativa da MHA-FA era 67,8% para frangos de corte.

Há várias razões possíveis para a biodisponibilidade da MHA ser inferior em relação à DL-met. Diferenças físico-químicas entre as fontes DL-met e MHA podem estar, diretamente, relacionadas com a eficiência pela qual cada uma das substâncias é usada pelas aves. A DL-met é um produto puro com uma atividade de 99%, enquanto a MHA é um composto de 12% de água e 88% de metionina. Dos 88% de atividade da substância, 65% estão em forma

monomérica e os 23% restantes são dímeros e oligómeros segundo Boebel e Baker (1982).

Mediante o exposto, a realização de novas pesquisas, comparando a bioeficácia das fontes existentes no mercado com novas fontes é, extremamente, importante, para a aviculura moderna, uma vez que, para se obter máxima produtividade, é necessário atender, corretamente, as exigências das aves nesse importante aminoácido.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T. 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**, Viçosa, MG, v. 28, n. 3, p. 519-525, 1999.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual UBABEF.** Disponível em:http://abpa.br.com.br/files/publicacoes/c59411a243d6dab1da8e605be58348ac.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2016.
- BAKER, D. H. Utilization of precursors of L-amino-acids. In: D' MELLO, J. P. F. (Ed.). **Amino acids in farm animal nutrition**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 37-61.
- BARBI, J. H. T.; DIBNER, J.; PEAK, S. Mais que uma fonte de metionina. **Revista Ave World**, Paulínia, v. 11, p. 36-41, 2004.
- BERTECHINI, A. G. Nutrição de monogástricos. Lavras: UFLA, 2012. 373 p.
- BOEBEL, K. P.; BAKER, D. H. Efficacy of the calcium salt and free forms of methionine hydroxy-analog for chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 61, p. 1167-1175, 1982.
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Estudo de viabilidade técnica e econômica destinado à implantação do Parque Produtivo Nacional de Aditivos da Indústria de Alimentação de Animais de Produção. Brasília, 2012. (Versão final).
- DAENNER, E.; BESSEI, W. Effectiveness of liquid DL methionine hydroxy analogue-free acid (DL-MHA-AL) compared to DL-methionine on performance of laying hens. **Archive Fuer Geflügelkunde**, Berlin, v. 66, p. 97-101, 2002.
- DIBNER, J. J. et al. Absorption of ¹⁴C-2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid (Alimet®) from the hindgut of the broiler chick. **Poultry Science,** Champaign, v. 67, p. 1314–1321, 1988.
- DILGER, R. N.; BAKER, D. H. Dl-methionine is as efficatious as l-metionine, but modest l-cystine excesses are anorexigenic in sulfur amino amino acid-deficient purified and pratical-type diets fed to chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, n. 11, p. 2367-2374, 2007.

- JANSMAN, A. J. M.; KAN, C. A.; WIEBENGA, J. Comparasion of the biological efficacy of DL- methionine and hydroxyl-4-methylthiobutanoic acid (HMB) in pigs and poultry. **Animal Nutrition**, Wageningen, v. 29, p. 55, 2003.
- KATZ, R. S.; BAKER, D. H. Factors associated with utilization of the calcium salt of methionine hydroxy analogue by the young chick. **Poultry Science**, Champaign, v. 54, p. 584-591, 1975.
- LEMME, A. et al. Relative effectiveness of methionine hydroxyl analog compared to DL-metionine in bloiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, p. 838-845, 2002.
- LITTELL, R. C. et al. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2672-2683, 1997.
- MAENZ, D. D.; ENGELE-SCHAAN, C. M. Methionine and 2-hydroxy-4-methyltiobutoanic 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**, Rockville, v. 126, p. 1438–1444, 1996.
- MOURA, A. M. A.; MELO, T. V.; MIRANDA, D. J. A. Utilização da dl-metionina e metionina hidroxi-análoga na alimentação de aves. **Boletim de Indústria Animal,** Nova Odessa, v. 67, n. 1, p. 97-107, 2010.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger**: principles of biochemistry. 4rd ed. Madison: University of Wisconsin, 2006. 1119 p.
- PARR, J. F.; SUMMERS, J. D. The effect of minimizing amino acid excess in broiler diets. **Poultry Science**, Champaign, v. 70, p. 1540-1549, 1991.
- RADEMACHER, M. Por qué es importante considerar la proporción "minima" de metionina sobre metionina + cistina total en las dietas de cerdos? **Amino News**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 7-10, 2001.
- ROSTAGNO, H. S.; BARBOSA, W. A. Biological efficacy and absorption of DL-methionine hydroxy analog free and compared to DL-methionine in chickens as affected by heat stress. **British Poultry Science**, London, v. 36, p. 303-312, 1995.

SINDIRAÇÕES. 2015. Disponível em: http://sindiracoes.org.br/wp-content/uploads/2015/12/boletim_informativo_do_setor_de_alimentacao_animal_dez2015_online.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2016.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. Fragilidade econômica doméstica comprometeu desempenho da indústria de alimentação animal brasileira. 2015. Disponível em: http://sindiracoes.org.br/wpcontent/uploads/2015/06/boletim_informativo do setor junho 2015 sindiracoes site.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2016.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos.** 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.

VIANA, M. T. S. et al. Fontes e níveis de metionina em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, MG, v. 38, n. 9, p. 1751-1756, 2009.

WU, G. Amino acids: Biochemistry and Nutrition. London: CRC, 2013.

WU, G. Glutathione metabolism and its implications for health. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 134, n. 2, p. 489-492, 2004.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

ARTIGO 1

Artigo preparado conforme normas da Revista Poultry Science.

BIOEFICÁCIA DE FONTES DE METIONINA PARA DIETAS EM FRANGOS DE CORTE

R. MENCALHA¹ and A. G. BERTECHINI

Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, caixa postal: 3037, Lavras, Brasil.

Scientific section for the paper: Metabolism and Nutrition

¹ corresponding author: bertechini@ufla.br

Bioeficácia de fontes de metionina para dietas em frangos de corte

INTRODUÇÃO

A metionina é o primeiro aminoácido limitante em dietas à base de milho e farelo de soja, para frangos de corte, sendo indispensável para o crescimento das aves. Como um aminoácido indispensável, a metionina é um importante doador de metil e um precursor, para a biossíntese de compostos, tais como a carnitina, colina, creatina e poliaminas (BAKER et al., 1996; KIM, 2005).

A atividade das diferentes fontes sintéticas de metionina tem sido objeto de considerável discussão científica (HUYGHEBAERT, 1993; THOMAS et al., 1991). As principais fontes de metionina comercializadas, mundialmente, em 2016, são a DL-metionina, na forma de pó ou líquida, como sal de sódio e a DL-2-hidróxi-4-(metiltio) butanoico ácido que, também, apresenta-se em duas formas, em pó, como sal de cálcio ou líquida, como ácido livre, todas produzidas por síntese química. Essas fontes de metionina estão disponíveis no mercado e utilizadas em sistemas de produção animal por mais de 50 anos (VAZQUEZ - ANON et al., 2006).

Muitos estudos foram realizados visando comparar a bioeficácia das fontes de metionina, presentes no mercado, principalmente, a DL-metionina (DL-met) e a Metionina hidroxi-análoga (MHA), entretanto, contribuíram, para uma vasta discussão, na literatura, quanto à bioeficácia relativa da MHA, e, segundo alguns autores, muitas vezes, em razão do modelo estatístico utilizado para comparação das fontes. Segundo Littell et al. (1997), a análise de regressão multipla padroniza as análises estatísticas e permite comparações de várias fontes de nutrientes entre diferentes experimentos mais precisamente.

Duas novas fontes de metionina possíveis de serem suplementadas nas rações estão sendo lançadas no mercado, entretanto, nada se verifica sobre suas bioeficácias relativas, a L-metionina 99% e a DL-metionil-DL-metionina 97%, todas na forma de pó. Com a falta de estudos sobre essas novas fontes de metionina, é importante realizar novas pesquisas comparando-as com uma fonte padrão em que a bioeficácia relativa já esteja estabelecida por diversas pesquisas, obtendo, assim, a bioeficácia das novas fontes de metionina, uma vez que, para a avicultura, é necessário atender as reais exigências das aves e avaliar o custo-benefício das fontes nas rações.

O presente trabalho teve como objetivo determinar a bioeficácia das fontes de metionina, a L-metionina 99% e a DL-metionil-DL-metionina 97% em comparação com a DL-metionina 99%, nas fases inicial e de crescimento de frangos de corte machos, recebendo dietas à base de milho e farelo de soja, utilizando as medidas ganho de peso, conversão alimentar e rendimento de peito e as metodologias de regressão linear simples, regressão linear múltipla e regressão exponencial para a determinação das bioeficácias.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e local

Dois experimentos de desempenho foram realizados, sendo o primeiro de 1 a 21 dias e o segundo de 22 a 42 dias. Foram utilizados, no total, 3500 pintos machos de um dia Cobb-500 de matrizes Cobb-500xCobb-500 de 40 a 46 semanas de idade. A metade das aves (1750) foi usada no primeiro experimento e a segunda metade no segundo experimento. As aves foram obtidas de um incubatório comercial devidamente vacinadas contra a doença de Marek e alojadas, aleatoriamente, em 70 boxes (25 aves / boxe) com dimensões de 2 x 1,5 m, contendo maravalhas de madeira como material de cama, com comedouros tubulares, bebedouros tipo *nipple* e aquecimento de ambiente por fornalha aquecedora com controle automático de temperatura até 15 dias de idade. O galpão é forrado possuindo cortinas duplas e ventiladores para controle térmico no seu interior.

Alimentação e água foram fornecidas *ad libitum* durante todo período experimental. O programa de luz foi 24L:0 D de 1 a 14 dias e 23L:1D de 15 a 42 dias. A temperatura ambiente e umidade relativa do ar foram registradas diariamente. A média das temperaturas máxima e mínima de 1 a 21 dias registrada foi 32,9 e 24,4 °C, respectivamente e a média de umidade relativa foi de 62,2 %. A média das temperaturas máxima e mínima de 22 a 42 dias registrada foi 29,5 e 19,4 °C, respectivamente e a umidade relativa média de 66,5%. As aves foram vacinadas contra a doença de Gumboro infecciosa nos dias 10 e 20 de idade. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras.

Dietas Experimentais e Desingn Experimental

Os experimentos consistiram de 10 tratamentos com 7 repetições de cada tratamento em delineamento experimental inteiramente casualizado. Foram utilizadas três fontes de metionina, três níveis de suplementação e um tratamento sem suplementação de metionina (Tabela 1 de 1 a 21 dias e Tabela 2 de 22 a 42 dias). Em ambas as fases (1 a 21 e 22 a 42 dias), as dietas basais foram formuladas, para atender às exigências nutricionais das aves, de acordo com Bertechini (2012), para todos os nutrientes, exceto para metionina + cisteína (Tabela 4). As dietas à base de milho e farelo de soja, para ambos os experimentos, foram isocalóricas e isoproteicas, variando apenas os níveis de metionina + cisteína e as fontes de metionina. As fontes de metionina usadas foram: DL-metionina 99% (DL-met), L-metionina 99 % (L-met) e DL-metionil DL-metionina 97 % (DL-met-met). A composição dos ingredientes analisados é apresentada na Tabela 3.

Tabela 1 - Representação dos tratamentos experimentais de 01 a 21 dias de idade.

Tratamentos	Adição	Adição	Adição
	DL-met 99%	L-met 99%	DL-met-met 97%
1Controle ^a	-	-	-
2	0.100%(0.099)	-	-
3	0.200%(0.198)	-	-
4	0.300%(0.297)	-	-
5	-	0.100%(0.099)	-
6	-	0.200%(0.198)	-
7	-	0.300%(0.297)	-
8	-	-	0.102%(0.099)
9	-	-	0.204%(0.198)
10	-	-	0.306%(0.297)

^() Suplementação de metionina

^a Dieta deficiente de Metionina + Cistina: 0.571%

Tabela 2 - Representação dos tratamentos experimentais de 22 a 42 dias de idade.

Tratamentos	Adição	Adição	Adição
	DL-met 99%	L-met 99%	DL-met-met 97%
1 Controle ^a	-	-	-
2	0.090% (0.089)	-	-
3	0.180% (0.178)	-	-
4	0.270% (0.267)	-	-
5	-	0.090%(0.089)	-
6	-	0.180%(0.178)	-
7	-	0.270%(0.267)	-
8	-	-	0.092%(0.089)
9	-	-	0.184%(0.178)
10	-	-	0.276%(0.267)

^() Suplementação de metionina

Rendimento de carcaça e de cortes

Aos 21 e aos 42 dias, duas aves por parcela foram submetidas a jejum, por 8 horas e abatidas por deslocamento cervical, sangradas, escaldadas por 3 minutos a 54°C, depenadas e evisceradas. Após a pesagem das carcaças, os peitos, as asas, as pernas das aves (coxa e sobrecoxa) e a gordura abdominal foram separados para determinação do rendimento de carcaça e de corte. Para os 21 dias de idade determinou-se o rendimento de peito.

Para determinação do rendimento de carcaça, considerou-se a carcaça eviscerada, sem pés, cabeça e pescoço em relação ao peso vivo de abate. Os cortes de peito, pernas (coxa e sobrecoxa) e asas, bem como a gordura abdominal dos animais tiveram seus rendimentos determinados em relação ao peso da carcaça. A gordura abdominal foi constituída pelo peso do tecido adiposo presente ao redor da cloaca.

^a Dieta deficiente de Metionina + Cistina: 0.548%

Tabela 3 - Composição analisada dos ingredientes.

Ingredientes ¹	Milho	Farelo de Soja	Farinha de Carne e Ossos
Proteína Bruta %	8.34	44.08	45.35
Extrato Etéreo %	4.4	3.4	13.0
Fibra Bruta %	2.9	5.7	-
Fibra em Detergente Ácido%	3.6	7.9	-
Fibra em Detergente Neutro%	11.4	12.2	-
Cinza total%	1.2	6.3	36.8
P Total (mg/kg)	2.079	6.278	61.043
Atividade Urease ²	-	0.045	-
Metionina %	0.168	0.542	0.388
Cisteína	0.168	0.546	0.155
Met+Cis	0.335	1.085	0.535
Lisina	0.227	2.448	1.450
Treonina	0.255	1.475	0.793
Triptofano	0.050	0.538	0.113
Arginina	0.365	2.976	2.446
Isoleucina	0.271	1.770	0.766
Leucina	0.992	2.965	1.726
Valina	0.364	1.852	1.234
Histidina	0.236	1.091	0.530
Fenilalanina	0.386	2.000	0.990

¹ Analisados por NIRS (EVONIK DEGUSSA BRASIL LTDA).
² De acordo com a metodologia indicada (DE COCA-SINOVA et al., 2008).

Tabela 4 - Composição das dietas basais (Experimentos 1 e 2).

Tabela + - Composição das dictas bas	outs (Experiment	05 1 0 2).	
Ingredientes (Kg/ton)	1-21 d	22-42 d	
Milho 8.34%	610.63	608.19	
Farelo de soja 44.08%	315.50	297.68	
Farinha de carne e ossos 45.35%	45.00	40.00	
Óleo de soja	8.15	33.50	
Sal comum	4.03	3.91	
Fosfato bicálcico	3.65	3.33	
Calcário	3.04	2.80	
L-Treonina	0.87	1.00	
L-Lisina	2.23	2.69	
DL-met ¹	-	-	
L-met ²	-	-	
DL-met-met ³	-	-	
Caulim (Inerte) *	4.00	4.00	
Vitaminas ⁴	1.00	1.00	
Minerais ⁵	1.00	1.00	
Anticoccidiano ⁶	0.50	0.50	
Cloreto de colina (60%)	0.40	0.40	
Total	1.000	1.000	

Composição nutricional calculada

Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.900	3.085
Proteína Bruta%	21.3	20.31
Lisina total%	1.338	1.311
Lisina Digestível%	1.152	1.137
Met+Cis Total%	0.665	0.636
Met+Cis Digestível%	0.571	0.548
Met+Cis/Lis%	0.481	0.481
Sódio%	0.208	0.199
Cálcio%	0.726	0.653

¹DL-met: Composição: DL-metionina 99%. Distribuída por: Evonik Industries AG. ²L-met: Composição: L-metionina 99%. País de procedência: Bélgica. Importado por Evonik Degussa Brasil Ltada. ³ DL-met-met: Composição: DL-Metionil-DL-Metionina. Produzido por: Evonik Industries AG- Alemanha. ⁴Suplementado por kg de ração: Vit. A 12.000 IU, Vit. D3 2400 IU, Vit. E 40 mg, Vit. K 31,8 mg, Vit. B1 2,5 mg, Vit. B2 4,0 mg, Vit.B6 2,0 mg, Vit. B12 15 μg, Biotina 60 μg, Niacina 30 mg, Ácido Fólico 1,8 mg, Selênio 0.3 mg. ⁵ Suplementando por kg de ração: Fe 80 mg, Zn 70 mg, Mn 70 mg, I 1 mg, Cu 10 mg. ⁶ Salinomicina, 12%. *Inerte usado para suplementação de metionina.

Análises estatísticas

A bioeficácia relativa das fontes de metionina foi determinada utilizando-se a DL-metionina 99 % como padrão. Os dados foram analisados por ANOVA em que: $Y = \mu + Bi + E$, com $\mu =$ média, bi = efeito de tratamento (n = 10) e E = erro residual, a probabilidade de erro p < 0,05 foi considerada significativa. Para a determinação da bioeficácia dos produtos foram analisados por regressão exponencial, regressão linear e de regressão múltipla para comparações, utilizando as seguintes equações:

Regressão Exponencial:

$$= a + b * (1-e^{-c1*(DL-Met+c2*L-Met+c3*DL-Met-Met)})$$

Em que:

a= ganho de peso ou outro parâmetro na dieta basal %

b= ganho de peso entre a dieta basal e a resposta máxima

 $c = Declive \; da \; curva \; para \; o \; produto \; x^{(fontes \; de \; metionina)}$

Regressão Linear:

$$= a + b*(DL-met + c1*L-met + c2*DL-met-met)$$

Em que:

a= intercepto

b= Coeficiente de regressão para o produto x₁ (DL-met)

c1= Eficácia biológica de x₂ (L-met)

c2= Eficácia biológica de x₃ (DL-met-met).

Slope Ratio:

$$Y = a + b_p X_p = a + b_t X_t$$

Em que:

 $Y=a+b_pX_p=\ equação\ fonte\ padrão$

 $Y = a + b_t X_t = equa \\ \tilde{a}o \ fonte \ testada$

X= Consumo de metionina

A bioeficácia relativa foi calculada pela relação dos coeficientes de regressão (b), considerando-se o b do padrão equivalente a 100%: Bioeficácia = bt/bp x 100.

Os dados foram analisados utilizando-se o procedimento do modelo linear geral (GLM) do pacote do software estatístico Análise de Sistemas Institute (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dois experimentos 1 a 21 dias e 22 a 42 dias mostram, claramente, que os efeitos dos níveis crescentes de suplementação de metionina na dieta aumentam o desempenho produtivo de frangos de corte, quando comparados a dietas basais deficientes em aminoácidos sulfurados (Met+Cis). Os níveis digestíveis de Met+Cis das dietas sem suplementação foram de 0,571% e 0,548%, para os ensaios 1 e 2, respectivamente e abaixo das recomendações para esses amioácidos. O maior nível de suplementação resultou nos níveis de 0,868% e 0,824%, para essas fases, respectivamente. Estes níveis foram ajustados para permitir uma melhor resposta em relação ao ganho de peso e conversão alimentar das aves. De acordo com Lemme et al. (2002), a dieta basal deficiente no nutriente em estudo é essencial quando se almeja estimar a bioeficácia relativa. Uma dieta basal deficiente em metionina e suplementada com fontes crescentes desse aminoácido, possibilita melhor resposta em relação à bioeficácia relativa de cada fonte, por meio do desempenho das aves. Um fator que se observa neste estudo é que as equações obtidas mostram coeficientes de determinação apropriados, uma vez que a bioeficácia foi calculada por meio dos métodos de slope-ratio (FINNEY, 1978), regressão linear múltipla (LITTELL et al., 1997) e regressão exponencial (ROSS, 1990).

O desempenho de frangos de corte, nos períodos de 1 a 21 dias e de 22 a 42 dias, alimentados com dietas, contendo diferentes fontes e níveis de metionina na ração, está especificado na (Tabela 5).

Tabela 5 - Desempenho de frangos de corte nos períodos de 1 a 21 dias e de 22 a 42 dias, alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de metionina na ração.

	<u> </u>	1 a 21 dias		
Tretementes	Fontos	Ganho de	Conversão	Consumo de
Tratamentos	Fontes	Peso	Alimentar	ração
1	Basal	0.876 ^f	1.425 ^e	1.249 ^b
2	DL-met	1.014 ^b	1.343 ^b	1.361 ^a
3	DL-met	1.051 ac	1.268^{a}	1.333 ^a
4	DL-met	1.069 ad	1.263 ^a	1.350 ^a
5	L-met	1.014 ^b	1.338 ^b	1.357 ^a
6	L-met	1.048 ac	1.292^{acd}	1.353 ^a
7	L-met	1.062 ad	1.272^{ac}	1.350 ^a
8	DL-met-met	1.020 ^b	1.316 ^{bcd}	1.342 a
9	DL-met-met	1.052 ac	1.281 ^{acd}	1.348 ^a
10	DL-met-met	1.072 ^d	1.250^{a}	1.340 ^a
Fonte		< 0.001	< 0.001	0.77
Nível		< 0.001	< 0.001	0.99
Font x Nív		0.98	0.42	0.49
CV (%)		1.34	2.37	2.37
		22 a 42 dias		
Tratamentos	Fontes	Ganho de	Conversão	Consumo de
	Tontes	Peso	Alimentar	ração
1	Basal	1.796 °	1.943 ^d	3.486^{a}
2	DL-met	1.928 ab	1.794 ab	3.457^{a}
3	DL-met	1.969 ^{ab}	1.754 abc	3.452^{a}
4	DL-met	2.018 a	1.698 °	3.424^{a}
5	L-met	1.921 ab	1.792 ab	3.439^{a}
6	L-met	1.958 ab	1.764 abc	3.451^{a}
7	L-met	2.011 a	1.712 ac	3.443^{a}
8	DL-met-met	1.937 ^{ab}	1.796 ab	3.477^{a}
9	DL-met-met	1.974 ^{ab}	1.752 abc	3.453^{a}
10	DL-met-met	2.024 a	1.690 °	3.417^{a}
Fonte		< 0.001	< 0.001	0.99
Nível		< 0.001	<0.001	0.49
Font x Nív		0.57	0.44	0.49
I OIII A INIV		0.57	0.44	0.74
CV (%)		3,32	3.15	2.23

Médias nas colunas seguidas por diferentes letras (P<0,05) pelo teste SNK.

Os dados obtidos, para consumo de ração, na primeira fase, não apresentaram diferença significativa (P>0,05), para as fontes de metionina, entretanto a dieta basal apresentou menor (P<0,05) consumo. Portanto o desempenho foi melhor à medida que houve suplementação demetionina na dieta, sugerindo que o objetivo da dieta basal, deficiente em metionina foi alcançado, de acordo com Lemme et al. (2002), ao sugerirem que a dieta basal é essencial para detectar quaisquer diferenças na biodisponibilidade de fontes de metionina na dieta.

Para a fase de 22 a 42 dias não houve diferença significativa (P>0,05) para consumo de ração.

Ao realizarem estudos com duas fontes de metionina (DL-met e MHA-AL), Rostagno e Barboza (1995) verificaram que o consumo de ração não foi influenciado pelos tratamentos, porém as aves alimentadas com DL-met consumiram menos que as aves alimentadas com MHA-AL.

Resultados semelhantes foram encontrados por Bastiani et al. (1994) que, ao trabalhar com DL-met e MHA-AL, também, não encontrou diferenças estatísticas para consumo de ração ao comparar as duas fontes.

Os dados obtidos, para conversão alimentar, indicaram que a adição de DL-met, L-met e DL-met-met melhorou signitificativamente (P<0,05) essa medida em relação à dieta basal nas duas fases estudadas.

Rostagno e Barboza (1995) observaram que a adição de DL- met e MHA-FA melhoraram, significativamente, a conversão alimentar em relação à dieta basal.

Os dados obtidos para ganho de peso apresentaram piores resultados nas duas fases onde não houve suplementação de metionina. Houve melhorias significativas (P<0,05), para as fontes de metionina, conforme se aumentou a suplementação da fonte na dieta, em relação à basal, e melhores resultados de ganho de peso obtidos, na primeira e na segunda fase.

Ao comparar as fontes DL-met e MHA-Ca, para frangos de corte, Twinning e Hochstetler (1982) observaram respostas crescentes de ganho de peso, conforme o aumento dos níveis de metionina na dieta.

Rostagno e Barboza (1995), comparando a DL-met e a MHA-AL, para frangos de corte, observaram que, quando os níveis de metionina aumentaram, houve melhora do ganho de peso de 13%, quando comparado ao grupo da dieta basal, independente da fonte utilizada.

Os resultados de bioeficácia relativa, para as fontes de metionina referentes à fase de 1 a 21 dias de idade, para ganho de peso, conversão alimentar e rendimento de peito, encontran-se nas Tabelas 6, 7 e 8, respectivamente e a regressão exponencial nas Figuras 1, 2 e 3.

Tabela 6 - Bioeficácia de fontes de metionina para frangos de acordo com o desempenho e rendimento de peito usando *slope-ratio* no experimento de 1 a 21 dias.

experimen	to de 1 a 21 dias.				
Ganho de peso (GP)					
	Equações	\mathbf{r}^2	Bioeficácia %		
Fontes					
DL-met	Y=0.910 + 0.622 x	0.828	100,00		
L-met	Y=0.911+0.598 x	0.807	96.14		
DL-met-met	Y=0.912+0.626 x	0.816	100.60		
	Conversão Alimentar (C	CA)			
	Equações	\mathbf{r}^2	Bioeficácia %		
Fontes					
DL-met	Y = 1.409 - 0.567 x	0.904	100,00		
L-met	Y = 1.408 - 0.510 x	0.918	89.95		
DL-met-met	Y = 1.402 - 0.566 x	Y = 1.402 - 0.566 x 0.899			
		Médias			
Fontes		(GP+C)	CA)/2, %		
DL-met		100.0	0		
L-met		93.04			
DL-met-met		100.2	1		
	Peso do Peito aos 21 di	ias			
	Equações	r^2	Bioeficácia %		
Fontes					
DL-met	Y=19.188+15.646 x	0.963	100.00		
L-met	Y=19.350 + 16.018 x	0.945	101.68		
DL-met-met	Y=19.362 + 16.421 x	0.947	102.72		

Tabela 7 - Coeficiente de regressão (b), erro padrão (E), bioeficácia e coeficiente de determinação (r²) de fontes de metionina para frangos de corte de acordo com o desempenho e rendimento de peito usando o ensaio de regressão linear múltipla de 1 a 21 dias.

regressa	io iinear muitipia d					
Y = b0 + b1x1 + b2x2 + b3x3 + b4x4						
Fontes	Ganho de Peso aos 21 dias					
rontes	В	E	Bioeficácia	\mathbf{r}^2		
Basal	0.94637	0.01948	-			
DL-met	0.4653	0.12093	100.00%			
L-met	0.44582	0.12093	95.81%	74%		
DL-met-met	0.47756	0.12093	102.63%			
Fontes	Conversão Alimentar aos 21 dias					
	B	E	Bioeficácia	\mathbf{r}^2		
Basal	1.38616	0.01262	-			
DL-met	-0.46831	0.07833	100.00%			
L-met	-0.41781	0.07833	89.22%	87%		
DL-met-met	-0.49717	0.07833	106.16%			
Fontes	Rendimento de Peito aos 21 dias					
	B	E	Bioeficácia	\mathbf{r}^2		
Basal	19.5448	0.26576	-			
DL-met	14.10186	1.64925	100.00%			
L-met	15.17617	1.64925	107.62%	94%		
DL-met-met	15.63072	1.64925	110.84%			

Tabela 8 - Coeficiente de regressão (b), erro padrão (E), bioeficácia e coeficiente de determinação (r²) de fontes de metionina para frangos de corte de acordo com desempenho e rendimento de peito usando ensaio de regressão exponencial de 1 a 21 dias.

Y = b0 + b1*(1-exp(-(b2*X1)+(b2*b3*X2)+(b2*b4*X3)+(b2*b5*X4)))						
Ganho de Peso aos 21 dias						
	В	Е	95%	Lim. Conf.	. Bioefic.	r^2
Basal	0.879	0.007	0.863	0.895	-	
B^1	0.189	0.007	0.171	0.206	-	
DL-met	12.897	1.498	9.354	16.439	100%	99%
L-met	0.964	0.118	0.686	1.243	96%	99%
DL-met-met	1.083	0.138	0.757	1.409	108%	
	Conversão Alimentar aos 21 dias					
	В	Е	95 %	Lim. Conf.	Bioefic.	\mathbf{r}^2
Basal	1.421	0.010	1.397	1.446	-	
B^1	-0.183	0.015	-0.219	-0.146	-	
DL-met	7.086	1.669	3.140	11.033	100%	97%
L-met	0.854	0.129	0.550	1.159	85%	9170
DL-met-met	1.164	0.183	0.731	1.597	116%	
	Rendimento de Peito aos 21 dias					
	В	Е	95%	Lim. Conf.	Bioefic.	\mathbf{r}^2
Basal	18.884	0.285	18.210	19.558	-	
\mathbf{B}^1	6.747	0.950	4.501	8.993	-	
DL-met	3.906	1.161	1.160	6.652	100%	070/
L-met	1.145	0.127	0.845	1.445	114%	97%
DL-met-met	1.194	0.133	0.880	1.509	119%	

¹B é o coeficiente de regressão quando n vai de 0 a 5. O produto é o nível de metionina.

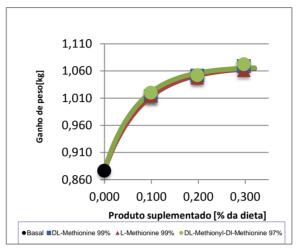


Figura 1- Regrassão Exponencial - Ganho de Peso 21 dias.

Regressão Exponencial:

 $Y = 0.879 + 0.189 * (1 - e^{-12.897*(DL\text{-met} + 0.964L\text{-met} + 1.083DL\text{-met-met})})$

 $R^2 = 99\%$

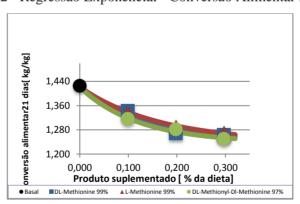
Bioeficácia:

DL-metionina = 100%

L-metionina = 96% (68 - 124%)

DL-metionil-DL-metionina = 108% (76 – 141%)

Figura 2 - Regressão Exponencial - Conversão Alimentar 21 dias.



Regressão Exponencial:

 $Y = 1.421 - 0.183 * (1 - e^{-7.086*(DL-met + 0.854L-met + 1.164DL-met-met}))$ $R^2 = 97\%$

Bioeficácia:

DL-metionina = 100%

L-metionina = 85% (54 – 116%)

DL-metionil-DL-metionina = 116% (73 – 160%)

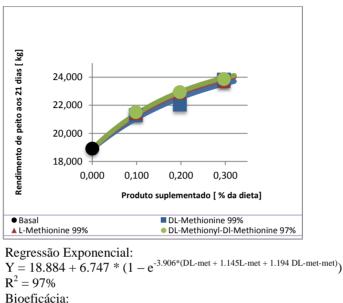


Figura 3 - Regressão Exponencial - Rendimento de peito aos 21 dias.

Bioeficácia: DL-metionina = 100% L-metionina = 114% (85 – 144%)

DL-metionil-DL-metionina = 119% (88 – 151%)

A bioeficácia relativa de 1 a 21 dias de idade da fonte L-met, para ganho de peso (GP), utilizando os métodos slope-ratio, regressão linear múltipla e regressão exponencial foram 96,14; 95,81 e 96%, respectivamente e, para DLmet-met, utilizando os mesmos métodos, a bioeficácia relativa apresentou os resultados para GP 100,60; 102,63 e 108% em relação DL-met 99% que foi utilizada como fonte padrão.

Para conversão alimentar (CA), na fase inicial, a bioeficácia relativa das fontes de L-met, utilizando os métodos slope-ratio, regressão linear múltipla e regressão exponencial apresentaram os valores de 89,95; 89,22 e 85%, respectivamente, enquanto a DL-met-met apresentou os valores, para as mesmas análises, de 99,82; 106,16 e 116%, respectivamente.

Em estudos comparando-se a MHA com a DL-met, para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, Sangali et al. (2015) observaram a biodisponibilidade de 39% da MHA com base no GP em relação à DL-met; para CA, a biodisponibilidade foi de 44% para MHA comparada ao padrão DL-met.

A bioeficácia relativa da L-met, para GP 96,14; 95,81 e 96%% e CA 89,95; 89,22; e 85%, apresentou-se abaixo do valor fornecido pelo produtor dessa fonte sintética de metionina que é 99%. Esse valor inferior pode ser em virtude da L-met apresentar apenas o isômero L, enquanto as outras fontes apresntam os isômeros D e L, podendo, então, ocorrer diferenças, na velocidade de absorção entre as três fontes de metionina, uma vez que a DL-met e a DL-met-met precisam sofrer reações para que ocorra a conversão de L-isômeros, fonte de metionina que será absorvida. Entretanto a L-met já se apresenta na forma L-isômero, estando prontamente disponível, podendo ocorrer perdas na velocidade de passagem pelo intestino.

Ao trabalhar com as fontes L-metionina 99%, DL-metionina 99% e MHA-Ca, para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, Smith (1965) observou que a L-metionina foi utilizada mais eficientimente do que a DL-metionina, quando foram testadas em dietas contendo aminoácidos cristalinos. Entretanto Tiptom et al. (1965), ao fazerem uma comparação de D, L, DL-met e MHA-Ca, para frangos de corte de 7 a 28 dias pelo método da análise de regressão exponencial, observaram que a L-met apresentou apenas 92,5%, sendo tão eficaz como a D-met no crescimento das aves.

Os dados obtidos, para rendimento de peito, na fase de 1 a 21 dias pelos métodos *slope-ratio*, regressão linear múlltipla e regressão exponencial para L-met, foram de 101,68; 107,62 e 114%, enquanto para DL-met- met foram de102,60; 110,84 e 119%. A DL-met-met, também, mostrou melhores resultados, para rendimento de peito 110,84 %, na regressão múltipla linear. O rendimento de peito é um critério muito importante para a avaliação da bioeficácia de fontes de metionina, uma vez que, ainda, seja uma fase em que a

ave esteja passando pelo crescimento de outros tecidos. O mercado consumidor tem demonstrado grande interesse, ao longo dos últimos anos, por aves de desossa e bandeja Pack Lemme et al. (2002). A DL-met-met difere-se das outras fontes de metionina encontradas no mercado, pois, segundo o fornecedor, ela é um dipeptídeo. Segundo Sleisenger e Kim (1979), o transporte de dipeptídeos se dá de forma tão eficiente que sua absorção supera sua hidrólise pelas peptidases da borda em escova, ou seja, a velocidade de transporte de um dipeptídeo é mais rápida e mais eficiente do que a de um aminoácido livre.

Os resultados da bioeficácia das fontes de metionina, para a fase de 22 a 42 dias de idade para ganho de peso, conversão alimentar e rendimento de peito, encontran-se nas Tabelas 9, 10 e 11, respectivamente e a regressão exponencial nas Figuras 4, 5 e 6.

Tabela 9 - Bioeficácia de fontes de metionina para frangos de corte de acordo com desempenho e rendimento peito utilizando *slope-ratio* no experimento de 22 a 42 dias.

<u>e</u> xpei	illiento de 22 a 42 dias.					
	Ganho de Peso					
Equações r ² Bioef						
Fontes						
DL-met	Y=1.8212 + 0.800 x	0.923	100,00			
L-met	Y=1.8189 + 0.76854 x	0.929	96.07			
DL-met-met	Y=1.8245+0.81461 x	0.906	101.8			
	Conversão Aliment					
	Equações	r^2	Bioeficácia%			
Fontes						
DL-met	Y=1.9087 - 0.852 x	0.919	100,00			
L-met	Y=1.9066 - 0.78539 x	0.892	92.18			
DL-met-met	Y=1.911 - 0.88202 x	0.936	103.52			
	Média					
Fontes	(GP+CV)/2	2, %				
DL-met 100,00						
L-met	94,00					
DL-met-met	L-met-met 102,66					
	Rendimento de Peito	aos 42 dias				
	Equações	r^2	Bioeficácia %			
Fontes	-					
DL-met	Y=25.3937+16.828 x	0.910	100.00			
L-met	Y=25.7255 + 14.865 x	0.802	88.33			
DL-met-met	Y=25.5472 + 15.789 x 0.887 93.82					

Tabela 10 - Coeficiente de regressão (b), erro padrão (E), bioeficácia e coeficiente de determinação (r²) de fontes de metionina para frangos de corte de acordo com desempenho e rendimento de peito usando ensaio de regressão linear múltipla de 22 a 42 dias.

Y = b0 + b1x1 + b2x2 + b3x3 + b4x4							
Ganho de Peso aos 42 dias							
Fontes	B E		Bioeficácia	\mathbf{r}^2			
Basal	1.82289	0.02208	-				
DL-met	0.79184	0.15244	100.00%	84%			
L-met	0.7493	0.15244	94.63%	04%			
DL-met-met	0.82234	0.15244	103.85%				
Fontes		Conversão Alimentar aos 42 dias					
	B	E	Bioeficácia	r^2			
Basal	1.90405	0.02158	-				
DL-met	-0.82931	0.14898	100.00%	85%			
L-met	-0.77313	0.14898	93.23%	03 /0			
DL-met-met	-0.84857	0.14898	102.32%				
Fontes	Rendimento de peito aos 42 dias						
	B	Е	Bioeficácia	r^2			
Basal	26.13069	0.38984	-				
DL-met	13.28073	2.69146	100.00%	82%			
L-met	12.91556	2.69146	97.25%	0270			
DL-met-met	12.98057	2.69146	97.74%				

Tabela 11 - Coeficiente de regressão (b), erro padrão (E), intervalos de confiança aproximado de 95%, bioeficácia e coeficiente de determinação (r²) de fontes de metionina para frangos de corte de acordo com desempenho e rendimento de peito usando ensaio de regressão exponencial de 22 a 42 dias.

Y = b0 + b1*(1-exp(-(b2*X1)+(b2*b3*X2)+(b2*b4*X3)+(b2*b5*X4)))						
	Ganho de Peso aos 42 dias					
	В	E	95%	Lim. Conf.	Bioefic.	r^2
Basal	1.778	0.026	1.718	1.838	-	
\mathbf{B}^1	0.266	0.038	0.176	0.357	-	
DL-met	8.296	3.335	0.411	16.181	100%	92%
L-met	0.901	0.240	0.333	1.469	90%	
DL-met-met	1.094	0.300	0.383	1.804	109%	
	Conversão Alimentar 42 dias					
	В	Е	95%	Lim. Conf.	Bioefic.	\mathbf{r}^2
Basal	1.950	0.025	1.890	2.009	-	
\mathbf{B}^1	-0.279	0.039	-0.372	-0.186	-	
DL-met	8.114	3.199	0.549	15.678	100%	93%
L-met	0.907	0.225	0.375	1.439	91%	
DL-met-met	1.021	0.257	0.414	1.627	102%	
	Rendimento de Peito aos 42 dias					
	В	Е	95%	Lim. Conf.	Bioefic.	r^2
Basal	24.997	0.402	24.048	25.947	-	
\mathbf{B}^1	4.560	0.483	3.418	5.703	-	
DL-met	9.289	2.765	2.751	15.828	100%	93%
L-met	1.181	0.300	0.472	1.890	118%	
DL-met-met	1.058	0.261	0.441	1.675	106%	

¹B é o coeficiente de regressão quando n vai de 0 a 5. O produto é o nível de metionina.

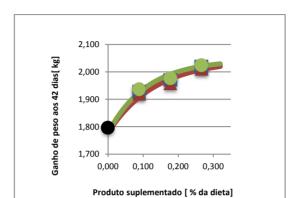


Figura 4 - Regressão Exponencial - Ganho de peso aos 42 dias.

Regressão Exponencial:

 $Y = 1.778 + 0.266 * (1 - e^{-8.296*(DL-met + 0.901L-met + 1.094DL-met-met}))$

■DL-Methionine 99%

DL-Methionyl-Dl-Methionine 97%

 $R^2 = 92\%$

Bioeficácia:

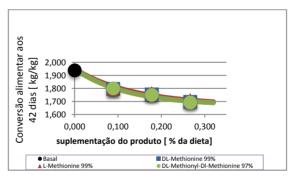
Basal ▲ L-Methionine 99%

DL-metionina = 100%

L-metionina = 90% (41 - 160%)

DL-methionil-DL-metionina = 109% (33 – 150%)

Figura 5 - Regressão Exponencial - Conversão Alimentar aos 42 dias.



Regressão Exponencial:

 $\begin{array}{l} Y = 1.950 \text{ - } 0.2789 * (1 - e^{\text{-}8.114 * (DL\text{-met} + 0.907L\text{-met} + 1.021 DL\text{-met-met}})) \\ R^2 = 99\% \end{array}$

Bioeficácia:

DL-metionina = 100%

L-metionina= 91% (37 - 144%)

DL-metionil-DL-metionina= 102% (41 - 163%)

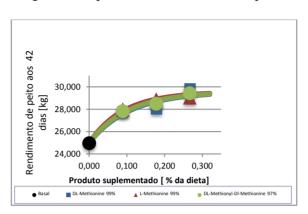


Figura 6 - Regressão Exponencial- Rendimento de peito aos 42 dias.

Regressão Exponencial:

 $Y = 24.997 + 4.56 * (1 - e^{-9.289*(DL-met + 1.181L-met + 1.058DL-met-met})$

 $R^2 = 97\%$

Bioeficácia:

DL-metionina = 100%

L-metionina = 118% (47 – 189%)

DL-metionil-DL-metionina = 106% (44 - 167%)

Avaliando-se a bioeficácia relativa de 22 a 42 dias de idade da fonte de L-met, para ganho de peso (GP), utilizando os métodos slope-ratio, regressão linear múltipla e regressão exponencial, os resultados foram 96,07; 94,63 e 90% para DL-met-met. Utilizando os mesmos métodos, a bioeficácia relativa apresentou os seguintes resultados para GP 101,80; 103,85 e 109%, em relação à DL-metionina 99% que foi utilizada como fonte padrão como no ensaio anterior.

Para conversão alimentar na fase final, a bioeficácia relativa das fontes utilizando os métodos slope-ratio, regressão linear múltipla e regressão exponencial apresentaram os valores de 92,18; 93,23 e 91%, respectivamente, enquanto a DL-met-met apresentou os valores para as mesmas análises de103,52; 102,32 e 102%.

Avaliando-se os dados, para rendimento de peito na fase de 22 a 42 dias pelos métodos slope-ratio, regressão linear múltipla e regressão exponencial para L-met, observa-se 88,33, 97,25 e 118% enquanto, para DL-met-met, foram 93,82, 97,74 e 106% comparados à fonte padrão DL-met. A L-met apresentou resultados melhores, para rendimento de peito nessa fase, por meio do método de regressão exponencial 106%. Portanto, considerando-se o método de regressão exponencial, para rendimento de peito, a DL-met-met que, na primeira fase, apresentou-se como melhor fonte 119%, na segunda fase, a L-met apresentou melhor bioeficácia relativa 118%. Segundo Littel et al. (1997), a maneira mais precisa, para descrever o desempenho em relação à suplementação das fontes de um nutriente, seria pela regressão exponencial, uma vez que esse modelo determina estimativas imparciais da bioeficácia entre as substâncias de ensaio e a substância de referência

Em estudos com o objetivo de determinar a bioeficácia relativa da MHA-FA comparada a DL-metionina 99%, para frangos de corte, Lemme et al. (2002) observaram valores de bioeficácia de 72%, para ganho de peso, 51% para conversão alimentar e 60% para rendimento de peito.

Ao compararem a MHA e um ingrediente poli herbal com a DL-met para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade, Sangali et al. (2014) observaram biodisponibilidade para GP de 5% para o composto poli herbal e 52% para MHA comparados ao padrão DL-met 100%. Para CV observaram 4% para o composto poli herbal e 57% para MHA. Ao compararem a MHA com a DL-met como padrão para rendimento de peito os autores obsevaram uma biodisponibilidade de 65%.

O efeito das fontes de metionina nas características da carcaça está apresentado na Tabela 12. Observou-se que não houve efeito das fontes de metionina nas características da carcaça (P>0.05), por outro lado, a dieta controle, em que não houve suplementação de metionina, resultou em rendimentos mais baixos comparados aos demais tratamentos e houve um aumento na gordura abdominal (P<0.05). Isso se deve pelo fato de que, quando

frangos são alimentados com uma dieta deficiente em metionina, a síntese de proteínas torna-se limitada, o que resulta no uso ineficiente dos outros aminoácidos. Em estudos visando àbiodisponibilidade da MHA e de um ingrediente poli herbal, comparados a DL-met em frangos de corte de 22 a 42dias de idade, Sangali et al. (2014) observaram aumento na gordura abdominal da dieta basal e na dieta com suplementação do ingrediente poli herbal que apresentou apenas 4,5% de metionina.

Tabela 12 - Rendimento de carcaça e de cortes (%) de frangos aos 42 dias de acordo com as diferentes fontes de metionina.

Itens ¹	Controle	DL-met	L-met	DL-met-met	CV(%)
Peito	24.93 ^b	28.54 ^a	28.63 a	28.56 a	5.50
Carcaça	71.67^{a}	72.30 ^a	71.95 ^a	72.34 ^a	6.58
Gordura abd.	1.98 ^b	1.38 ^a	1.36 a	1.36 ^a	32.45
Asa	7.72 ^a	7.70 ^a	7.63 ^a	7.78 ^a	7.52
Coxa+Sobrec.	20.91^{a}	21.66 a	21.50 a	21.69 ^a	4.54

¹Valores observados em relação ao peso vivo de abate.

Para demais fontes de metionina, os resultados estão de acordo com aqueles estudados por Meirelles et al. (2003) e Visentini et al. (2005) que, comparando duas fontes de metionina (DL-met e MHA), para frangos de corte machos, não encontraram efeito de fontes para rendimento de carcaça, peito e porcentagem de asas.

CONCLUSÃO

Os resultados de desempenho indicaram diferenças na bioeficácia das fontes de metionina estudadas, usando os diferentes métodos. Com base no método de regressão exponencial e usando a DL-met como padrão, as médias de bioeficácia para L-met e a DL-met-met foram de 92,02 e 105,54, respectivamente, para a fase inicial e, para para fase final, foram de 90,5 e 105,5% com base na média de bioeficácia de ganho de peso e conversão alimentar. Com relação ao rendimento de peito, houve maior bioeficácia para DL-met-met, na primeira fase (119%) e, na fase final, a L-met apresentou melhor bioeficácia (118 %).

REFERÊNCIAS

- BAKER, D. H. et al. Sulfur amino acid requirement and cystine replacement value of broiler chicks during the period three to six weeks posthatching. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, p. 737–742, 1996.
- BASTIANI, M. F. et al. Avaliação de três fontes de metionina a dois níveis de adição no desempenho de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1., 1994, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994. p. 177-178.
- BERTECHINI, A. G. Nutrição de monogástricos. Lavras: Ufla, 2012. 373 p.
- DE COCA-SINOVA, A. et al. Apparent ileal digestibility of energy, nitrogen, and amino acids of soybean meals of different origin in broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, p. 2613–2623, 2008.
- HUYGHEBAERT, G. Comparison of DL-methionine and methionine hydroxy analogue-free acid in broilers by using multi exponential regression models. **British Poultry Science**, London, v. 34, p. 351-35, 1993.
- KIM, Y. I. Nutritional epigenetics: Impact of folate deficiency on DNA methylation and colon cancer susceptibility. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 135, p. 2703–2709, 2005.
- LEMME, A. et al. Relative effectiveness of Methionine hydroxyl analog compared to DL-Methionine in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, p. 838-845, 2002.
- LITTELL, R. C. et al. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2672-2683, 1997.
- MEIRELLES, H. T. et al. Performance of broilers fed with different levels of methionine hydroxy analogue and DL-methionine. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola,** Campinas, v. 5, p. 69–74, 2003.
- ROSS, G. J. S. **Non linear estimation**. New York: Springer-Verlag, 1990.

ROSTAGNO, H. S.; BARBOZA, W. A. Biological efficacy and absorption of DL-methionine hydroxy analogue free acid compared to DL-methionine in chickens as affected by heat stress. **British Poultry Science**, London, v. 36, p. 303-312, 1995.

SANGALI, C. P. et al. Bioavailability of different methionine sources for broilers from 1 to 21 days old. **Ciência Investigación Agraria**, Santiago, v. 42, n. 1, p. 35-43, 2015.

SANGALI, C. P. et al. Bioavailability of different methionine sources for growing broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 43, n. 3, p. 140-145, 2014.

SLEISENGER, M. H.; KIM, Y. S. Protein digestion and absorption. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 300, p. 659, 1979.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **User's guide**: statistics, release. 8th ed. Cary, 2000.

THOMAS, O. P. et al. An evaluation of methionine hydroxy analog free acid using a non linear (exponential) bioassay. **Poultry Science**, Champaign, v. 70, p. 605-661, 1991.

TWINNING, P. F.; HOCHSTETLER, H. W. Performance of broilers fed levels of supplementation with either DL- metthionine hydroxy analogue. **Feedstuffs**, Bloomington, v. 54, n. 13, p. 21, 1982.

VAZQUEZ-ANON, M. et al. Amultiple 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**, Champaign, v. 85, p. 693–705, 2006.

VISENTINI, P. et al. Níveis de substituição da DLmetionina pela metionina hidróxi análoga em base equimolar, em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1400-1405, 2005.