

Metodologias para avaliar o conteúdo de proteína e aminoácidos dos alimentos

1. Introdução	92
2. Digestibilidade da proteína e utilização dos aminoácidos pelos monogástricos	93
2.1. Digestibilidade aparente e digestibilidade verdadeira dos aminoácidos	93
2.2. Disponibilidade e digestibilidade dos aminoácidos	94
3. Métodos <i>in vitro</i> para avaliar a qualidade da proteína	95
3.1. Método de incubação enzimática para avaliar a proteína	95
3.2. Atividade da urease e solubilidade da proteína em hidróxido de potássio	98
3.3. Métodos químicos que estimam a disponibilidade dos aminoácidos	100
3.4. NIRS - Espectroscopia de reflectância de infravermelho próximo	101
3.5. Equações de predição do conteúdo de aminoácidos dos alimentos	101
4. Métodos <i>in vivo</i> para determinar disponibilidade e digestibilidade dos aminoácidos	102
4.1. Disponibilidade de aminoácidos determinada em ensaios de crescimento	102
4.2. Métodos para determinar digestibilidade dos aminoácidos com aves	107
4.3. Métodos para avaliar digestibilidade da proteína e de aminoácidos em suínos	119
5. Referências bibliográficas	127

Metodologias para avaliar o conteúdo de proteína e aminoácidos dos alimentos

Capítulo 3

1. Introdução

Proteínas são macromoléculas compostas por combinações de aminoácidos. Do ponto de vista nutricional, o que distingue uma proteína de outra é o seu aporte de aminoácidos. São conhecidos 22 aminoácidos que compõem as proteínas, no entanto, apenas 10 são considerados dieteticamente essenciais para os animais monogástricos.

Os aminoácidos essenciais estão entre os nutrientes que mais impactam o desempenho animal. Por isso, é de fundamental importância o conhecimento da composição em aminoácidos dos alimentos, bem como do seu aproveitamento pelos animais.

A formulação de rações baseando-se em aminoácidos digestíveis tem sido utilizada pelos nutricionistas, principalmente, pela necessidade de se otimizar o uso de matérias-primas de alto custo e ainda pelo fato de possibilitar a substituição do milho e da soja por ingredientes alternativos, garantindo um aporte equivalente de aminoácidos digestíveis pela correção das deficiências com a suplementação de aminoácidos sintéticos.

O impacto positivo das formulações de rações com base no conceito de aminoácidos digestíveis foi observado por Rostagno *et al.* (1995), que, ao fornecerem dietas formuladas com alimentos alternativos (sorgo, farelo de arroz, farinha de vísceras e penas) e com base em aminoácidos digestíveis para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, observaram que o desempenho e os parâmetros de carcaça foram iguais aos das aves alimentadas com dietas à base de milho e farelo de soja, porém, as aves que receberam as dietas formuladas com esses mesmos alimentos alternativos, mas com base em aminoácidos totais, tiveram o desempenho e o rendimento de peito reduzido.

Tendo em vista a importância da qualidade e do aproveitamento da proteína dos alimentos para os animais, neste capítulo, serão apresentadas as principais metodologias e propostos protocolos experimentais para avaliar a qualidade da proteína e a digestibilidade dos aminoácidos para os animais monogástricos.

2. Digestibilidade da proteína e utilização dos aminoácidos pelos monogástricos

Muitas vezes, os termos digestibilidade, disponibilidade e metabolizável são utilizados como sinônimos. No entanto, como demonstrado na **Figura 1**, essa denominação varia conforme o local do animal onde o aminoácido é avaliado.

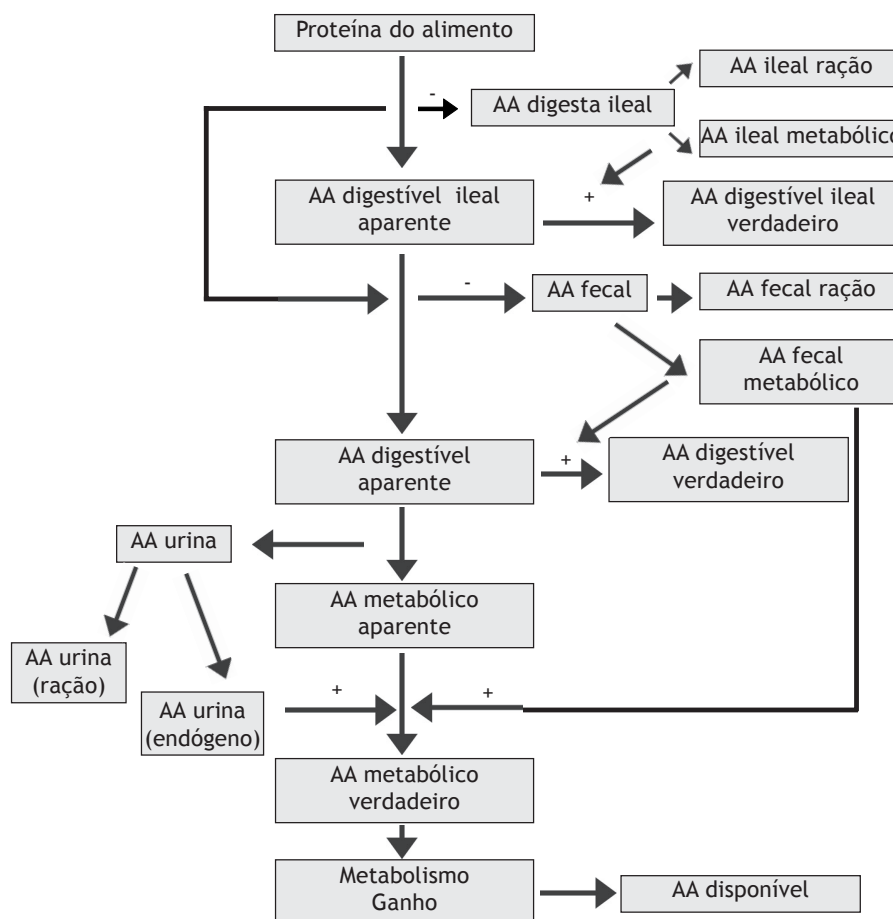


Figura 1 - Esquema do aproveitamento de aminoácidos pelos monogástricos.

2.1. Digestibilidade aparente e digestibilidade verdadeira dos aminoácidos

A digestibilidade aparente é definida como sendo a diferença entre a quantidade de aminoácido na dieta e a quantidade nas fezes ou digesta ileal.

A digestibilidade verdadeira é determinada pela diferença entre a quantidade de aminoácido na dieta e nas fezes ou digesta ileal, sendo consideradas as perdas

endógenas dos aminoácidos que são subtraídas da quantidade total de aminoácidos presentes nas fezes ou digesta ileal.

As perdas endógenas podem ser determinadas utilizando-se animais em jejum (Sibbald, 1976) ou fornecendo dietas livres de nitrogênio (Rostagno *et al.*, 1973, Papadopoulos *et al.*, 1983). Entretanto, Parsons *et al.* (1982) ressalta que a produção de aminoácidos, nas aves em jejum, pode ser inferior a das aves alimentadas. Essa variação pode levar a erros nos valores da digestibilidade, principalmente quando o alimento possui baixa concentração de aminoácidos. Por outro lado, Papadopoulos (1985) relata que o método da dieta livre de N baseia-se no princípio que a quantidade de aminoácidos excretados está relacionada à quantidade de matéria seca consumida e não são influenciados pela presença de proteína do alimento. No entanto, Parsons *et al.* (1983) afirmam que a composição da dieta isenta de N afeta a excreção de aminoácidos pelas aves.

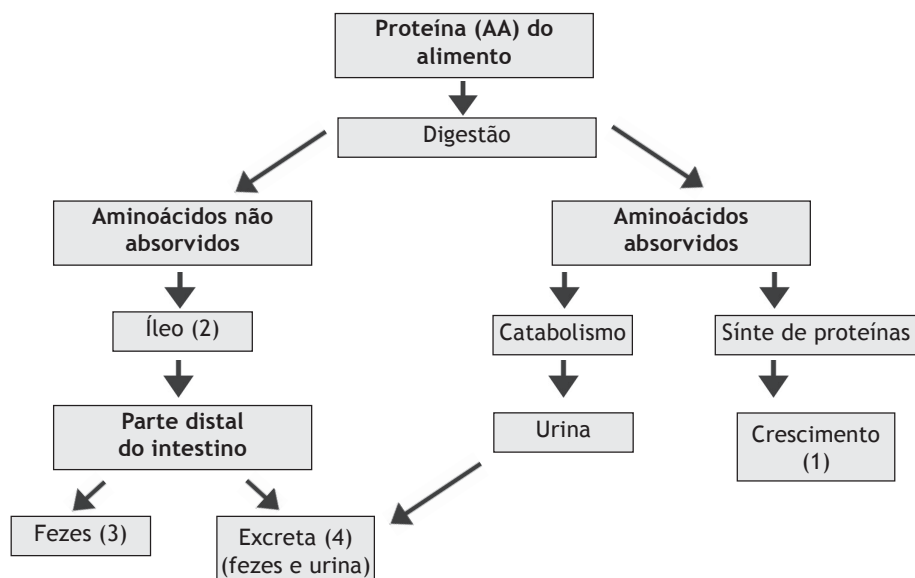
Rostagno *et al.* (1999) mencionam a técnica da caseína hidrolizada enzimaticamente para determinar a excreção de aminoácidos endógenos e metabólicos. Esse produto contém aminoácidos e peptídeos, o que permite medir o fluxo dos aminoácidos no íleo terminal em condição fisiológica normal, ou seja, simula a digestão de uma dieta normal e não subestima o nível de excreção de aminoácidos endógenos. São necessários, entretanto, procedimentos complexos de laboratório para eliminar a influência de peptídeos remanescentes na digesta para o cálculo da digestibilidade.

Outra crítica a esta metodologia seria que, especificamente para pintos de corte, a caseína possui níveis altos de lisina e baixos de arginina, o que provoca antagonismo e redução significativa do consumo de ração. Uma alternativa à utilização da dieta livre de proteína ou da dieta com caseína hidrolizada enzimaticamente foi proposta por Brito (2007) em que aminoácidos cristalinos (17) são adicionados a uma dieta livre de proteína. Esta metodologia parte do princípio de que os aminoácidos cristalinos são 100% absorvidos, o que facilita o processamento laboratorial das amostras de digesta.

2.2. Disponibilidade e digestibilidade dos aminoácidos

A disponibilidade dos aminoácidos inclui os processos de digestão, absorção e metabolismo ou utilização dos mesmos. É definida como sendo a quantidade de aminoácidos absorvidos e utilizados pelo animal. A disponibilidade dos aminoácidos é determinada em ensaios de crescimento, nos quais a utilização dos aminoácidos é avaliada pelo crescimento dos animais.

A digestibilidade é determinada pela diferença entre a quantidade de aminoácidos consumida e a excretada nas fezes. Em aves, determina-se os aminoácidos metabolizáveis porque os aminoácidos da urina estão incluídos no cálculo, apesar de ser uma denominação pouco utilizada, porque a quantidade de aminoácidos urinários em animais saudáveis é desprezível. A digestibilidade dos aminoácidos é determinada com base no local em que é realizada a coleta de material, podendo ser pelo método de coleta fecal ou ileal, conforme a **Figura 2.**



- 1 - Local para avaliar a disponibilidade dos aminoácidos
- 2 - Local de medida da digestibilidade ileal dos aminoácidos
- 3 - Local para medir a digestibilidade fecal dos aminoácidos
- 4 - Local de avaliação da digestibilidade na excreta

Figura 2 - Locais onde é avaliado o aproveitamento dos aminoácidos nos animais monogástricos (Parsons, 1991a).

4. Métodos *in vivo* para determinar disponibilidade e digestibilidade dos aminoácidos

4.1. Disponibilidade de aminoácidos determinada em ensaios de crescimento

Este método é conhecido como *Ensaio da Curva de Crescimento* ou *Método da Curva Padrão*. O ensaio de crescimento mede a capacidade da proteína para substituir um aminoácido limitante ou deficiente. A dieta basal deficiente no aminoácido a ser estudado é suplementada com níveis crescentes do aminoácido cristalino (considerado 100% disponível) e do alimento avaliado para se obter as curvas de respostas de crescimento. A disponibilidade do aminoácido pode ser determinada, aplicando-se na curva padrão (aminoácido cristalino) a resposta do crescimento obtida pelo ingrediente-teste, podendo ser expressa como porcentagem da dieta ou em termos de aminoácidos consumidos por ave (Sasse e Baker, 1973). Uma outra maneira de calcular a disponibilidade dos aminoácidos é pela relação dos coeficientes de regressão (*slope ratio*) obtidos por meio de uma equação de regressão linear simples ou também mediante equação de regressão linear múltipla do crescimento dos animais (Y) em relação aos níveis do nutriente adicionado (X) (Costa *et al.*, 1977).

Este método têm sido criticado devido à influência dos fatores da dieta na resposta do animal, exceto o aminoácido limitante do teste. O trabalho realizado por Baker (1978), citado por Parsons (1991b), indica que o perfil de aminoácidos dos ingredientes da dieta afetam o ganho de peso. O autor constatou que a disponibilidade de lisina do farelo de soja, usando-se a curva padrão (aminoácidos cristalinos), foi de 81%; entretanto, quando comparado com uma nova curva padrão obtida com a adição de uma mistura de aminoácidos para simular a proteína dos mesmos níveis de farelo de soja, a disponibilidade foi de 101%. Estes resultados indicam que o excesso de aminoácidos no farelo de soja influenciou o ganho de peso e afetou a disponibilidade da lisina (Tabela 6).

Uma outra limitação desse método, comparada ao da digestibilidade, baseia-se no fato de que nos ensaios de digestibilidade determina-se a digestibilidade de todos os aminoácidos do alimento; no entanto, nos testes de crescimento, é determinado apenas um aminoácido por vez. Além disso, esse método determina a disponibilidade do aminoácido de um alimento com relação a uma fonte padrão, considerada com 100 % de disponibilidade, ou seja, podem existir alimentos que apresentem disponibilidade maior que 100% o que poderia ser

considerado um contra-senso, pois um alimento contendo 1,0 % de lisina total com disponibilidade de 120%, deveria conter 1,2 % de lisina disponível. Existem vários procedimentos matemáticos para calcular a disponibilidade de um nutriente, equações simples, regressão linear múltipla e equações exponenciais. Todos eles podem ser usados de acordo com os dados experimentais obtidos.

Tabela 6 - Estimativa da disponibilidade da lisina no farelo de soja para pintos.

Dietas	Ingestão complementar de Lisina (mg) de lis-HCl e no F. Soja	Ganho de Peso (g)
1. Basal (B)	0	27
2. Dieta B+ 0,1% lis	111	47
3. Dieta B+ 0,2% lis	265	69
4. Dieta B+ 3,45% FS	100	42
5. Dieta B+6,90 FS	223	53
6. Dieta B+AA para simular 3,45% FS	100	38
7. Dieta B+AA para simular 6,90% FS	217	55

Disponibilidade de lisina (Far. Soja (FS) comparada com a curva padrão de lisina)=81%.

Disponibilidade de lisina (+ AA simulados comparados com a curva padrão de lisina)=80%.

Disponibilidade de lisina (FS comparada com a curva de FS + AA simulados) =101%.

(Adaptado de Parsons,1991b).

4.1.1. Protocolo para determinar disponibilidade de lisina em ensaio de crescimento

Animais

Em ensaio de desempenho com aves, geralmente são utilizados pintos de corte de um sexo e de uma linhagem comercial com um dia de idade. O mesmo procedimento poderá ser utilizado para suínos em crescimento.

Delineamento experimental

As aves são distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e seis repetições de 20 pintos por tratamento. Os tratamentos consistem de uma ração basal deficiente no nutriente em estudo (neste caso, lisina); a ração basal é suplementada com três níveis da fonte padrão (neste caso, L-lisina HCl considerada com 100 % de disponibilidade) e de três níveis de lisina do alimento avaliado (neste caso lisina sulfato).

Dietas experimentais

São formuladas dietas basais para cada fase de criação (1 a 21d e 21 a 42d), para atender as exigências nutricionais de todos os nutrientes, exceto o nutriente em estudo (lisina). As dietas são isoprotéicas, isocalóricas, variando apenas os níveis e fontes do nutriente (lisina) que substituem o amido da dieta basal. As dietas basais são suplementadas com L-lisina HCl (79% de lisina) (0,101, 0,203, e 0,304%) e com Lisina sulfato (47 % de lisina) (0,171, 0,342 e 0,513%) para fornecer 0,08, 0,16 e 0,24% de lisina nas dietas experimentais.

Parâmetros avaliados

Avaliam-se os parâmetros de desempenho (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar), características da carcaça (rendimento de carcaça, peito, e partes).

Análise estatística

Primeiro é feita análise de variância com desdobramento dos tratamentos em regressão polinomial dos níveis de suplementação dentro de cada fonte (lisina HCl e lisina sulfato) para verificar a ocorrência do efeito linear. Uma vez constatada a ocorrência do efeito linear, vários procedimentos podem ser adotados.

1. Determinação de uma regressão linear múltipla.

$$Y = a + b_1 X_1 + b_2 X_2$$

Y = são os valores observados das variáveis (ganho de peso, conversão); a é o intercepto da regressão; b_1 e b_2 , coeficientes de regressão para a fonte padrão e teste, respectivamente; e X_1 e X_2 , níveis de suplementação das fontes avaliadas.

2. Outra opção é determinar duas regressões lineares simples, uma para a fonte padrão e a outra para a fonte teste.

$$Y_1 = a + b_1 X_1 \text{ e } Y_2 = a + b_2 X_2$$

Y_1 = valores estimados para as variáveis; a = intercepto; b_1 = coeficiente de regressão; e X_1 = níveis da fonte padrão.

Y_2 = valores estimados para as variáveis, a = intercepto; b_2 = coeficiente de regressão; e X_2 = níveis da fonte teste.

3. Determinação da equação exponencial: as equações não-lineares são utilizadas para explicar a resposta dos animais a níveis crescentes de um nutriente. O modelo exponencial pode ser considerado um modelo assintótico, partindo do princípio de que a resposta ao acréscimo dos níveis do ingrediente tende a diminuir quando este nível aproxima-se do valor assintótico.

A equação exponencial mais utilizada para estimar a disponibilidade de um nutriente é:

$$Y = A + B (1 - e^{-b_1 X_1 - b_2 X_2})$$

Y representa a resposta ao nível do nutriente na ração (ex. ganho); X_1 e X_2 representam o nível do nutriente; e A , B , b_1 , b_2 os coeficientes estimados.

A disponibilidade do nutriente avaliado será determinada pela relação dos coeficientes de regressão (*slope ratio*), considerando-se b_1 como padrão com 100 % de disponibilidade e b_2 o coeficiente da fonte avaliada, ou seja:

$$(b_2 / b_1) \times 100 = \% \text{ disponibilidade da fonte}$$

Estas metodologias podem ser utilizadas para determinar a disponibilidade de aminoácidos e de fontes de fósforo e minerais em geral.

Para exemplificar, nas **Tabelas 7, 8 e 9**, são apresentados os resultados de desempenho de 1 a 42 d obtidos no ensaio realizado na UFV (Neme *et al.*, 2001). São mostrados também os procedimentos para estimar a disponibilidade da lisina sulfato, utilizando-se regressão linear múltipla, regressão linear simples e curva padrão.

Tabela 7 - Resultado de ganho de peso de 1 a 42 dias no ensaio com frangos de corte e equação de regressão múltipla.

Dietas	Y = Ganho, g	X = Lisina Adicionada, %	Equação obtida
Dieta Basal	1.746	0	Y = 1.824,63
B + Lisina HCl 0,08	2.003	0,08	+1.469,18 X ₁ +
B + Lisina HCl 0,16	2.109	0,16	
B + Lisina HCl 0,24	2.114	0,24	
B + Lisina Sulfato 0,08	2.006	0,08	+1.381,33 X ₂ (R ² =0,85)
B + Lisina Sulfato 0,16	2.132	0,16	
B + Lisina Sulfato 0,24	2.159	0,24	

Neme *et al.*, 2001 - Tese de Mestrado UFV.

Equação de regressão linear múltipla obtida do Ganho de Peso (Y) de 1-42 dias em decorrência dos níveis de suplementação da lisina X₁(Lis HCl) e X₂ (Lis sulfato):

$$Y = 1.824,63 + 1.469,18 X_1 + 1.381,33 X_2 \quad (R^2=0,85)$$

Biodisponibilidade da lisina sulfato em relação à lisina HCl, utilizando a relação dos coeficientes de regressão (*slope ratio*)

$$\text{Lisina HCl: } 1.469,18 = 100\%$$

$$\text{Lisina sulfato} = (1.381,33 / 1.469,18) \times 100 = 94,02\%$$

Utilização de equações de regressão linear simples: são obtidas duas equações lineares simples, usando-se como exemplo os dados de ganho de peso (**Tabela 8**). Cada equação inclui o desempenho da dieta basal.

Tabela 8 - Resultado de ganho de peso de 1 a 42 dias no ensaio com frangos de corte e equações de regressão simples.

Dietas	Y = Ganho, g	X = Lisina Adicionada, %	Equações obtidas
Dieta Basal	1.746	0	Y = 1.811,5 + 1512,5 X ₁ (R ² =0,82)
B + Lisina HCl 0,08	2.003	0,08	
B + Lisina HCl 0,16	2.109	0,16	
B + Lisina HCl 0,24	2.114	0,24	Y = 1.806,0 + 1706,2 X ₂ (R ² =0,87)
Dieta Basal	1.746	0	
B + Lisina Sulfato 0,08	2.006	0,08	
B + Lisina Sulfato 0,16	2.132	0,16	
B + Lisina Sulfato 0,24	2.159	0,24	

Neme *et al.*, 2001 - Tese de Mestrado UFV.

As equações de regressão linear simples obtidas do Ganho de Peso (Y) em decorrência dos níveis de suplementação da lisina X_1 (lis HCL) e X_2 (lis sulfato):

$$Y(\text{Ganho}) = 1.811,5 + 1.512,5 X_1 \quad (R^2 = 0,82) \quad - \text{Lisina HCL}$$

$$Y(\text{Ganho}) = 1.806,0 + 1.706,2 X_2 \quad (R^2 = 0,87) \quad - \text{Lisina Sulfato}$$

Utilizando-se a relação dos coeficientes de regressão (*slope ratio*), determina-se a biodisponibilidade da lisina sulfato em relação á lisina HCL.

$$\text{Lisina HCL: } 1.512,5 = 100\%$$

$$\text{Lisina sulfato} = (1.706,2 / 1.512,5) \times 100 = 112,8 \%$$

Cálculo da disponibilidade usando a curva padrão: A curva padrão é calculada mediante a obtenção de uma equação de regressão linear simples do padrão, ou seja, da lisina HCL. Usando-se como exemplo os dados de ganho de peso, a equação inclui o desempenho da dieta basal (**Tabela 9**), sendo igual à citada na **Tabela 8** para a lisina HCL.

Tabela 9 - Resultado de ganho de peso de 1 a 42 dias no ensaio com frangos de corte e equações de regressão simples

Dietas	Y = Ganho, g	X = Lisina Adicionada, %	Equivalência á Lisina HCL, %	Equações obtida / Disponibilidade
Dieta Basal	1.746	0		
B + Lisina HCL	2.003	0,08		Y = 1.811,5 + 1.512,5 X ₁ (R ² = 0,82)
B + Lisina HCL	2.109	0,16		
B + Lisina HCL	2.114	0,24		
B + Lisina Sulfato	2.006	0,08	0,1280	Disponibilidade = 160,7 %
B + Lisina Sulfato	2.132	0,16	0,2119	Disponibilidade = 132,4 %
B + Lisina Sulfato	2.159	0,24	0,2297	Disponibilidade = 95,7 %

Neme *et al.*, 2001 - Tese de Mestrado UFV.

Cálculos a serem realizados: O ganho obtido com a lisina sulfato é incluído na equação para determinar a % de lisina HCL que corresponde a esse desempenho.

Exemplo para o tratamento com 0,24% de Lisina Sulfato e 2.159 g de Ganho

$$\text{Curva Padrão } Y(\text{Ganho}) = 1.811,5 + 1.512,5 X_1 \quad (\% \text{ Lisina HCL})$$

$$2.159 = 1.811 + 1.512,5 X_1 \quad (\% \text{ Lisina HCL})$$

$$(2.159 - 1.811) / 1.512,5 = 0,2297 \quad \% \text{ Lisina HCL}$$

Relacionando-se 0,24 % Lisina Sulfato = 0,2297 % Lisina HCL

100 de Lisina Sulfato = $(0,2297 / 0,24) \times 100 = 95,7 \%$ disponibilidade.

A variação encontrada na determinação de disponibilidade de nutrientes sempre é grande, no caso da curva padrão as estimativas variaram de 95,7 % a 160,7 %. A vantagem de usar essa metodologia para determinar disponibilidade de nutrientes é que pode ser utilizado somente um nível do nutriente, o que permite aumentar o número de alimentos avaliados em cada

experimento; entretanto, a maior variação pode limitar o uso com segurança dos dados de disponibilidade obtidos, quando se utiliza a metodologia da curva padrão.

4.2. Métodos para determinar digestibilidade dos aminoácidos com aves

A maior parte dos aminoácidos ingeridos pelos animais está na forma de proteínas, que, ao serem digeridas, liberam os aminoácidos para serem absorvidos. A determinação da digestibilidade dos aminoácidos é realizada, estimando-se a fração de aminoácido da ração que desaparece durante a passagem pelo intestino. As metodologias mais utilizadas com aves têm sido uma adaptação daquela descrita por Sibbald (1976), para determinação da EMV, e o método de coleta ileal com o uso de indicadores.

4.2.1. Método da coleta de excreta com aves

Este método foi descrito anteriormente para determinar a EMA e tem sido pouco usado para determinar digestibilidade dos aminoácidos. Entre os poucos trabalhos relacionados na literatura que utilizaram este método, pode-se citar o realizado por Rostagno e Featherston (1977). Os autores determinaram a digestibilidade dos aminoácidos do farelo de soja e do gergelim, com pintos de corte, utilizando-se a técnica de coleta total e o óxido crômico como indicador fecal. Segundo os autores, o método do óxido crômico foi o mais adequado para determinar a digestibilidade dos aminoácidos, obtendo-se valores de digestibilidade 10% inferiores ao da coleta total.

Rostagno *et al.* (1999) mencionam que o uso do método de coleta total de excretas com aves até 16 dias de idade, proporcionam resultados satisfatórios nos valores de digestibilidade de aminoácidos, uma vez que, com essa idade, os cecos das aves ainda não estão completamente desenvolvidos, e a fermentação da digesta é pequena.

O método de coleta de excreta em aves tem sido criticado em virtude dos efeitos das bactérias do trato gastrointestinal final na excreção dos aminoácidos. Parsons *et al.* (1982) estimaram que cerca de 25% dos aminoácidos eliminados nas excretas das aves é de origem microbiana. Para reduzir os efeitos dessas bactérias na parte distal do intestino, vários procedimentos têm sido usados. O método mais utilizado tem sido a coleta ileal. Papadopoulos (1985) cita que a canulação no íleo, em aves, um procedimento usado por alguns pesquisadores, apesar de oferecer algumas vantagens teóricas é de difícil aplicação prática. O autor também menciona que a rejeição da cânula é um dos fatores mais limitantes ao uso desta técnica.

A utilização de aves cecectomizadas é uma alternativa para a coleta ileal e, geralmente, tem sido feita em galos. Como o ceco representa a maior parte do intestino grosso das aves, sua extirpação elimina a maioria dos efeitos das bactérias neste local na excreção dos aminoácidos. Kessler *et al.*, 1981 e Parsons, 1984, mencionados por Parsons (1991b), constataram a ocorrência de maior excreção de aminoácidos em aves cecectomizadas durante um período

de 24 horas de jejum em relação às aves intactas, indicando que, nas últimas, ocorre uma significativa degradação microbiana de aminoácidos endógenos no ceco (**Tabela 10**).

Tabela 10 - Influência da cecectomia na excreção de aminoácidos (mg/ave) em aves adultas durante um período de jejum de 24 horas.

Aminoácidos	Kessler <i>et al.</i> (1981)		Parsons (1984)	
	Intactas	Cecectomizadas	Intactas	Cecectomizadas
Arginina	17	21	15	19
Lisina	24	28	18	24
Isoleucina	13	17	13	18
Treonina	21	33	15	25
Valina	18	27	17	23
Metionina	6	6	5	6
Total	99	132	83	115

Adaptado de Parsons (1991b).

A importância de considerar o efeito da degradação dos aminoácidos no ceco, na determinação da digestibilidade dos aminoácidos, foi relatada por Parsons (1991b). O autor menciona que a digestibilidade da farinha de carne, determinada em ensaio de alimentação precisa, foram inferiores aos obtidos com aves intactas e correspondiam aos valores de disponibilidade determinados em ensaios de crescimento (**Tabela 11**).

Tabela 11 - Disponibilidade e digestibilidade dos aminoácidos na farinha de carne determinada por vários métodos em aves.

Aminoácidos	Disponibilidade de AA (%) Determinada por ensaio de crescimento	Digestibilidade verdadeira de AA (%) por coleta de excretas	
		Normal	Cecectomizada
Lisina	72	87	79
Met + Cis	65	79	67
Metionina	78	85	75
Cistina	52 ¹	73	59

¹ Valores calculados pela diferença entre os valores de metionina + cistina e metionina. Adaptado de Parsons (1991b).

Como as aves excretam fezes junto com urina, não é possível determinar a proteína digestível dos alimentos, pois, na urina, a quantidade de nitrogênio excretado, na forma de ácido úrico, é bastante elevada. Quando não é possível determinar os aminoácidos digestíveis de um alimento, pode-se estimar a proteína digestível verdadeira, utilizando-se o método da alimentação precisa, com correções para subtrair o nitrogênio urinário excretado na forma de ácido úrico. O ácido úrico é analisado nas excretas para determinar o nitrogênio urinário e, posteriormente, é subtraído do nitrogênio total excretado para estimar a proteína digestível. Albino *et al.* (1992) determinou a digestibilidade verdadeira dos aminoácidos e da proteína de 9 alimentos com galos. Os resultados, na **Tabela 12**, mostram que os valores médios de digestibilidade verdadeira da

proteína dos alimentos são similares à média dos aminoácidos e da lisina. Apesar da variação elevada, os alimentos que apresentaram alta ou baixa digestibilidade foram detectados nos três nutrientes citados na **Tabela 12**.

Tabela 12 - Coeficientes de digestibilidade verdadeira (CDv) da lisina, de todos os aminoácidos (AAs) e da proteína bruta, determinados com galos pelo método de coleta total de excreta.

Alimento	CDv Lisina	CDv AAs	CDv Proteína ¹
Milho	94,0	89,3	88,6
Farelo de Trigo	74,2	79,7	76,4
Farelo de Arroz	79,0	76,3	75,3
Farelo de Soja	91,3	89,8	96,6
Farinha de Carne 1	92,2	86,3	88,7
Farinha de Carne 2	91,5	88,2	89,6
Farinha de Peixe	89,7	85,2	91,3
Farinha de Vísceras	68,5	86,2	73,6
Farinha de Penas	77,9	85,1	77,5
Média	84,3	85,1	84,2

¹ - Corrigida pela excreção de N urinário na forma de ácido úrico. Albino *et al.* (1992).

4.3. Métodos para avaliar digestibilidade da proteína e de aminoácidos em suínos

As técnicas usadas para avaliar digestibilidade da proteína e aminoácidos em suínos tem sido o uso de cânula no íleo terminal, a qual permite estudar separadamente a digestibilidade em determinados segmentos do trato gastrointestinal, a anastomose íleo-retal e a coleta da digesta ileal pelo método do sacrifício.

Serrano *et al.* (1990) compararam a digestibilidade total da proteína e de aminoácidos determinadas com suínos intactos com a digestibilidade ileal em suínos submetidos à anastomose íleo-retal. Conforme dados apresentados na **Tabela 22**, verificaram-se menores coeficientes de digestibilidade da proteína e dos aminoácidos obtidos com a metodologia ileal em relação à total, indicando a importância de usar uma metodologia adequada que leve em consideração a degradação dos aminoácidos pelos microorganismos no intestino grosso. Os autores comentam que a técnica de anastomose íleo-retal facilitou a coleta das digestas, embora mais líquidas, e foi suficientemente precisa para permitir detectar diferenças na digestibilidade dos aminoácidos entre os alimentos estudados (**Tabela 23**).

Tabela 22 - Coeficientes de digestibilidade, ileal e total verdadeira, (CDv) da PB e de aminoácidos para suínos submetidos ou não à anastomose íleo-retal.

Método	CDv PB	CDv Lis	CDv Trip	CDv Val	CDv Iso
Ileal ¹	75,64 b	68,08 a	64,46 b	67,90 a	65,37 a
Total ¹	81,86 a	72,04 a	78,59 a	70,69 a	66,41 a

¹ Valores médios de 4 alimentos. Adaptado de Serrano *et al.* (1990) - Tese UFV.

Tabela 23 - Coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira, (CDv) da PB e de aminoácidos, para suínos submetidos à anastomose íleo-retal.

CDv	F. Soja Normal	F. Soja ¹ Torrado	F. Carne Normal	F. Carne Baixa Qualidade
Proteína	88,11a	72,27b	76,56b	65,62c
Lisina	84,24a	63,31b	65,97b	57,16c
Treonina	80,40a	68,94b	64,59c	55,22d
AA Essenciais	83,17a	71,66b	65,09c	48,08d

¹ Farelo de soja normal torrado em forno a 165 °C durante 30 minutos. Adaptado de Serrano *et al.* (1990) - Tese UFV - Viçosa.

Com suínos, o método mais utilizado no mundo para determinar a digestibilidade dos aminoácidos dos alimentos é o da cânula T simples, pela facilidade da cirurgia quando comparada com a anastomose íleo-retal. Entretanto, essas duas metodologias apresentam valores similares de digestibilidade verdadeira dos aminoácidos. Recentemente, Costa (2005) utilizou a metodologia de cânula T simples em suínos em crescimento para determinar a digestibilidade ileal de um concentrado protéico. As estimativas de excreção de aminoácidos endógenos foram realizadas usando-se uma dieta livre de proteína (DIP) e comparadas com o uso da dieta de caseína hidrolizada enzimaticamente (DCHE). Os valores de excreção endógena são mostrados na **Tabela 24**, junto com as

médias de três estimativas, usando a DIP, obtidas na França e publicadas nas tabelas AMPIG (2000). Estes valores podem ser usados para converter aminoácidos digestíveis aparentes em aminoácidos digestíveis verdadeiros dos alimentos.

Tabela 24 - Valores médios de proteína e de aminoácidos ileais endógenos (g/kg matéria seca consumida), determinados usando-se dieta livre de proteína (DIP) e dieta com caseína hidrolisada enzimaticamente (DCHE).

	DCHE ¹	DIP ¹	DIP ²
PB	9,57	10,66	8,52
Aminoácidos essenciais			
Lisina	0,410	0,268	0,31
Metionina	0,107	0,130	0,09
Treonina	0,475	0,236	0,33
Triptofano	0,153	0,071	0,12
Arginina	0,352	0,260	0,28
Valina	0,475	0,382	0,36
Isoleucina	0,326	0,268	0,26
Leucina	0,567	0,480	0,43
Histidina	0,155	0,138	0,13
Fenilalanina	0,320	0,276	0,27
Média	0,334	0,251	0,258
Aminoácidos não-essenciais			
Cistina	0,097	0,098	0,14
Tirosina	0,294	0,285	0,22
Ác. Glutâmico	0,971	0,504	0,74
Ác. Aspártico	0,565	0,171	0,56
Alanina	0,462	0,447	0,37
Glicina	0,391	0,463	0,44
Serina	0,593	0,358	0,33
Prolina	0,434	0,691	0,54
Média	0,476	0,377	0,418

¹ Costa 2005 - Tese UFV. ² Valores médios citados em AMPIG(2000).

Em outro estudo também realizado na UFV, Apolônio *et al.* (2002) determinaram a digestibilidade ileal dos aminoácidos para leitões pelo Método do Sacrifício. Foi usada uma dieta isenta de proteína para quantificar os aminoácidos endógenos. Na **Tabela 25**, são encontrados os resultados de digestibilidade ileal verdadeira dos aminoácidos, em alimentos para leitões e valores de aminoácidos endógenos ileais, determinados com a dieta livre de proteína (DIP).

4.3.1. Procedimentos para realizar a anastomose íleo-retal em suínos

Procedimento cirúrgico para realizar a anastomose íleo-retal em suínos, segundo a técnica descrita por Leão *et al.* (1988). Após um jejum de 24 horas, os animais são sedados com cloridrato de xilosina por via intramuscular e xilocaína 2%, usada como anestésico local. Em seguida, é feita a laparotomia do lado esquerdo, por meio de uma incisão vertical de 10 cm, cerca de 4 cm abaixo da quarta vértebra lombar. Após a exteriorização do segmento íleo distal, é feita a oclusão do fluxo da digesta, utilizando-se uma pinça intestinal, a 4 cm da válvula íleo-cecal, e outra na ampola retal. Separa-se o ceco-colo e o início do reto do

mesentérico, tendo-se o cuidado de ligar os vasos, utilizando-se categute 3-0. Completada a hemostasia, faz-se a cecolostomia e, em seguida, a anastomose íleo-retal com fio de seda. Logo após, faz-se a síntese da parede abdominal em um único plano, utilizando-se categute 2-0 e a sutura da pele com fio de algodão. Para os cuidados pós-operatórios, deve-se administrar penicilina associada com estreptomicina durante 7 dias e dipirona sódica e soro glicosado, duas vezes ao dia, por três dias, nos quais os animais não recebem alimento, apenas água.

Tabela 25 - Coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira (CDIv) dos aminoácidos em alimentos (%) para leitões e valores médios de aminoácidos endógenos ileais, determinados com a dieta isenta de proteína (DIP).

Aminoácido Essencial	Leite em pó desnatado CDIv (%)	Soro de leite CDIv (%)	Soja extrusada CDIv (%)	Soja micronizada CDIv (%)	Aminoácidos endógenos (mg/kg MS DIP consumida)
Arginina	94,25	99,03	95,81	93,59	239
Histidina	93,43	96,89	94,9	90,03	159
Isoleucina	95,89	98,82	95,08	91,48	181
Leucina	96,97	99,68	95,12	90,81	306
Lisina	97,10	98,20	95,10	93,45	171
Metionina	96,18	99,72	95,94	93,80	88
Fenilalanina	96,12	98,97	94,96	91,57	195
Treonina	89,07	93,23	94,88	86,68	369
Valina	95,37	97,08	95,01	90,20	258
Média (AAE)	94,93	97,96	95,20	91,29	
Não Essencial					
Alanina	92,15	97,13	94,95	89,16	292
Ác. Aspártico	94,28	98,66	93,26	89,95	416
Ác. Glutâmico	96,30	97,74	95,44	92,04	472
Cistina	75,29	98,62	95,11	83,20	150
Glicina	80,92	94,77	91,11	80,65	336
Serina	92,52	94,47	94,91	89,73	305
Tirosina	97,02	99,80	95,10	91,97	124
Média (AANE)	89,78	97,31	94,27	88,10	

Adaptado de Apolonio *et al.*, 2002 - Tese UFV.

Na **Figura 5**, são apresentados os procedimentos para realizar a anastomose íleo-retal em suínos, conforme descrito por Oliveira *et al.* (2002).