

AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DAS PROTEÍNAS COM ENFOQUE EM FRANGOS DE CORTE*

Introdução.

Muitas das informações referentes aos mecanismos de digestão e absorção das proteínas foram obtidas através de ensaios “in vitro” (Alpers, 1987, citado por Macari et al., 1994).

As proteínas são essenciais para os frangos de corte, sob o aspecto metabólico, pois estão relacionadas aos processos vitais do organismo, tais como a formação de tecidos, de enzimas e de hormônios, entre outros, sendo secundariamente usadas como fonte de energia. As proteínas são polímeros de aminoácidos, unidos por ligações peptídicas, sendo que a sequência deles pode conferir a elas atividades metabólicas específicas. A sequência dos aminoácidos é determinada geneticamente.

As proteínas provenientes das dietas constituem a maior fonte de aminoácidos necessários para o metabolismo dos frangos de corte. As proteínas microbianas do ceco são pouco relevantes. Por outro lado, a digestibilidade das proteínas é muito importante, e nem todos os fatores que afetam a digestibilidade são conhecidos. As proteínas de origem vegetal são menos digestíveis que as proteínas de origem animal (Gardner, 1978 citado por Macari et al., 1994). A presença de carboidratos da dieta afeta a digestibilidade das proteínas (Anderson et al., 1981, citados por MACARI et al., 1994) e as proteínas com altos teores de prolina (por exemplo, glúten de milho) são poucos digestíveis. Assim, é possível verificar que a estrutura química das proteínas é um fator importante na digestibilidade. Quanto maiores forem as forças que mantêm a estrutura tridimensional das proteínas, mais difícil será a ação das enzimas proteolíticas e, conseqüentemente, menor a digestibilidade (Macari et al., 1994). Uma dieta pobre em proteínas com alta digestibilidade pode acarretar uma deficiência de aminoácidos essenciais, exigidos para a síntese das proteínas corporais. Isto pode promover a degradação das proteínas teciduais, levando então aos sintomas clínicos de deficiência protéica. Para a composição de uma dieta é essencial considerar os efeitos da digestibilidade das proteínas para maximizar a absorção e a deposição das proteínas nos tecidos e, em conseqüência, a eficiência de ganho.

O aparelho digestivo das aves se diferencia, em relação ao dos mamíferos, pois elas não possuem dentes. Existem estruturas como o papo, para o armazenamento dos alimentos (pH~4,57), o proventrículo (pH~4,40), a moela, que serve para a trituração e a mistura do suco gástrico no bolo alimentar (pH~2,60), o intestino delgado, subdividido em duodeno (pH~5,76-6,01), jejuno (pH~5,78-5,90) e íleo (pH~6,27-6,42), onde a maior absorção dos aminoácidos ocorre na região do íleo, o intestino grosso, onde os dois cecos estão presentes (pH~5,71) e são pouco relevantes na contribuição de proteínas para absorção, o cólon, que é pouco funcional, o reto (pH~6,26) e a cloaca (Llobet et al., 1989).

Digestão das proteínas nas aves.

A hidrólise de proteínas é a quebra das ligações peptídicas, que ocorre pela ação das enzimas proteolíticas. No proventrículo ocorre a secreção de pepsinogênio que é ativado em pH baixo (1,0 a 4,0). As proteínas são desnaturadas pelo pH ácido. Quanto maior a área

* Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal (VET 00036) no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, pela aluna TERESA HERR VIOLA no primeiro semestre de 2002. Professor da disciplina: Félix H. D. González.

de superfície disponível para as enzimas melhor será a digestão e a disponibilidade dos monômeros, dímeros e trímeros para posterior absorção.

O trato digestivo dos frangos de corte é curto, quando comparado com o dos mamíferos. Nos frangos de corte a digestão protéica tem início no proventrículo, pois na boca, no esôfago e no papo não existem ações enzimáticas, e nem mecânicas sobre a proteína ingerida através do alimento. Ocorre secreção de muco no esôfago e no papo, para a lubrificação e o trânsito da ingesta até o proventrículo. O papo possui contrações de fome, que são movimentos que forçam a passagem do alimento para o proventrículo. Estes movimentos são menores e menos ritmados com o papo cheio (Patterson, 1927 citado por Sturkie, 1986). No proventrículo ocorrem as secreções de ácido clorídrico e da proenzima pepsinogênio, pelas glândulas oxínticas, controladas por nervos parassimpáticos. Friedman (s.d.), citado por Dukes (1955) injetando histamina em quem aves, promoveu um aumento na de secreção de ácido clorídrico sem afetar a secreção de pepsinogênio. Esta situação provocou úlceras gástricas.

Existem também glândulas pilóricas, que revestem todo proventrículo e que secretam muco e algum pepsinogênio. O ácido clorídrico não é secretado como tal, mas num processo onde os íons H^+ e Cl^- são transportados por processos diferenciados para a cavidade do proventrículo. O Cl^- entra na célula parietal pelo sistema contracorrente, trocado pelo íon bicarbonato. A entrada está acoplada com o Na^+ . Já a sua saída ocorre por difusão, na célula epitelial, para o interior da cavidade do proventrículo. O íon H^+ , liberado pela célula parietal, provém do ácido carbônico, gerando o bicarbonato. O íon H^+ é liberado para o interior da cavidade do proventrículo por transporte ativo, saindo H^+ e entrando K^+ .

As proteínas, em meio ácido, são desnaturadas e também ocorre a morte de algumas bactérias, que poderiam ser ingeridas juntamente com o alimento. O pepsinogênio (de peso molecular aproximadamente 42500) é um zimogênio não ativo, pois possui aminoácidos extras em suas seqüências, o que impede sua ação. Ele é ativado em pH baixo (cerca de 1,8 a 3,5), proveniente do ácido clorídrico, em pepsina (de peso molecular 35000) ou, autocataliticamente, por outras moléculas de pepsina. A ação da pepsina é reduzida em pH acima de 3,6 e não ocorre qualquer ação em pH acima de 6,0. Assim, as proteínas sofrem a ação da pepsina, que hidrolisa as ligações peptídicas entre os aminoácidos em locais específicos e não terminais, originando polipeptídeos grandes. Existem diferentes tipos de pepsinas, que podem ser classificadas em A, B, C e D e que possuem diferentes ações nas proteínas do alimento. As pepsinas A e D são secretadas na mucosa gástrica fúndica, as pepsinas B e C são secretadas na mucosa gástrica pilórica (onde o pH é mais baixo). As pepsinas hidrolisam ligações peptídicas entre os L-aminoácidos, com melhor ação na tirosina e fenilalanina, seguidas pelo ácido glutâmico e cisteína ou cistina. Porém, as hidrólises são mais rápidas entre aminoácidos aromáticos (Inouye, 1967 citado por Nissen, 1992).

Durante a hidrólise ácida, a glutamina é convertida em glutamato e a aspargina é convertida em aspartato. A glutamina e a asparagina são dos aminoácidos mais difíceis de serem medidos com precisão, tanto como peptídios quanto aminoácidos livres. A quantificação da glutamina e da asparagina da proteína é acompanhada da derivação do grupo amino, antes da hidrólise da proteína. Os aminoácidos amino derivados então são analisados (Soby e Johnson, 1981, citados por Nissen, 1991). Nos aminoácidos sulfurados, durante a hidrólise ácida, a cistina é convertida em cisteína (Nissen, 1991). Também há a possibilidade de oxigenação no grupo sulfidril da metionina e da cisteína, formando ácido cístico e sulfato de metionina (Allred e Macdonald, 1988, citados por Nissen, 1991). A

prolina e a hidroxiprolina, que não são alfa aminoácidos, usualmente não reagem durante a hidrólise ácida. O triptofano, durante a hidrólise ácida é essencialmente destruído. Porém, acredita-se que na cadeia protéica parte do triptofano é mantida intacta.

O alimento não permanece muito tempo no proventrículo, pois essa estrutura é estreita e pequena, sendo forçado para entrar na moela. Os movimentos do proventrículo são lentos, de moderados a intensos, com relaxamento incompleto. Na região proventrículo-moela existe mobilidade, que faz com que ocorra a trituração e a digestão do alimento, uma vez que os movimentos de trituração aumentam a superfície específica do alimento, possibilitando uma melhor ação das enzimas. Os movimentos na moela ocorrem em intervalos de 20 a 30 segundos, controlados pelos nervos extrínsecos (vago e esplânico). Para a melhor eficácia nos movimentos de trituração, as aves têm necessidade de ingerir pequenas pedras, que podem aumentar o atrito durante a trituração do alimento na moela. A digestão das proteínas para polipeptídios depende de alguns fatores, como o tempo de permanência do alimento no proventrículo-moela e a característica física da proteína ingerida.

Os polipeptídios formados passam então para o intestino delgado, na região do duodeno, onde cessa a hidrólise péptica, devido ao pH ser mais elevado nessa região. No duodeno existe o ducto de saída do pâncreas, onde os polipeptídios sofrem a ação das enzimas proteolíticas do pâncreas e do intestino delgado (Linder, 1991).

As proteases que agem nesta região podem ser divididas em três grupos (endopeptidases, exopeptidases e aminopeptidases). As endopeptidases e as exopeptidases são secretadas pelo pâncreas. As endopeptidases atuam sobre as ligações peptídicas das cadeias proteolíticas. As exopeptidases, também chamadas de carboxipeptidases, ou ainda chamadas de carboxipolipeptidases, agem na porção carboxil do final da cadeia, retirando um resíduo de aminoácido. As aminopeptidases removem os resíduos de aminoácidos da região amino final da cadeia (Kider e Manners, 1978 citados por Longland, 1993). O pâncreas secreta zimogênios inativos, que são ativados no lúmen intestinal (Kwong et al., 1982 citados por Macari et al., 1994). A ativação das enzimas pancreáticas é iniciada pela enteropeptidase (anteriormente chamada de enteroquinase), sintetizada pelas células da mucosa intestinal da borda em escova, que ativa o tripsinogênio em tripsina, pela remoção do hexapeptídio do NH₂-terminal do tripsinogênio onde, a partir de então, a tripsina faz a sua auto-ativação do tripsinogênio ainda existente no intestino em tripsina, e ainda a ativação das demais enzimas pancreáticas (Figura 1).

As enzimas pancreáticas possuem especificidades diferentes pelos grupos R dos aminoácidos adjacentes à ligação peptídica susceptível. As principais enzimas proteolíticas do pâncreas são a tripsina, a quimiotripsina, as carboxipeptidases A e B, a elastase. A tripsina e a quimiotripsina são endopeptidases e quebram as ligações peptídicas em locais específicos e não terminais (Figura 2). A tripsina hidrolisa somente quando o grupo carbonil da ligação peptídica é fornecido pela lisina ou pela arginina, e a quimiotripsina hidrolisa as ligações peptídicas dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina (Figura 2). As carboxipeptidases são exopeptidases que hidrolisam as ligações na terminação carboxil dos peptídios (Tabela 1 e Figura 2) (Champe e Harvey, 1995).

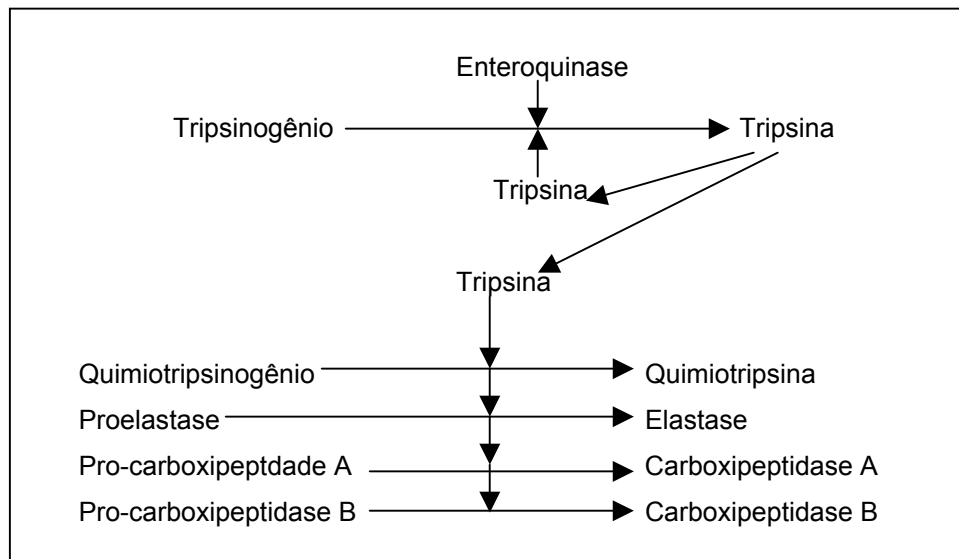


Figura 1. Ativação dos zimogênios pancreáticos. O tripsinogênio é ativado pela enteroquinase (enzima duodenal) e pela tripsina que promovem uma ação autocatalítica, assegurando a ativação do tripsinogênio. A tripsina ativa também outros zimogênios do lúmen intestinal.

Tabela 1: Enzimas da fase luminal da digestão protéica nas aves.

Enzimas	Ação	Fonte	Precursor	Ativador
Pepsina	Endopeptidase	Glândulas gástricas	Pepsinogênio	HCl, Pepsina
Tripsina	Endopeptidase	Pâncreas	Tripsinogênio	Enteroquinase, Tripsina
Quimiotripsina	Endopeptidase	Pâncreas	Quimiotripsinogênio	Tripsina
Elastase	Endopeptidase	Pâncreas	Pró-elastase	Tripsina
Carboxipeptidase A	Exopeptidase	Pâncreas	Pró-carboxipeptidase A	Tripsina
Carboxipeptidase B	Exopeptidase	Pâncreas	Pró-carboxipeptidase B	Tripsina

Macari et al. (1994)

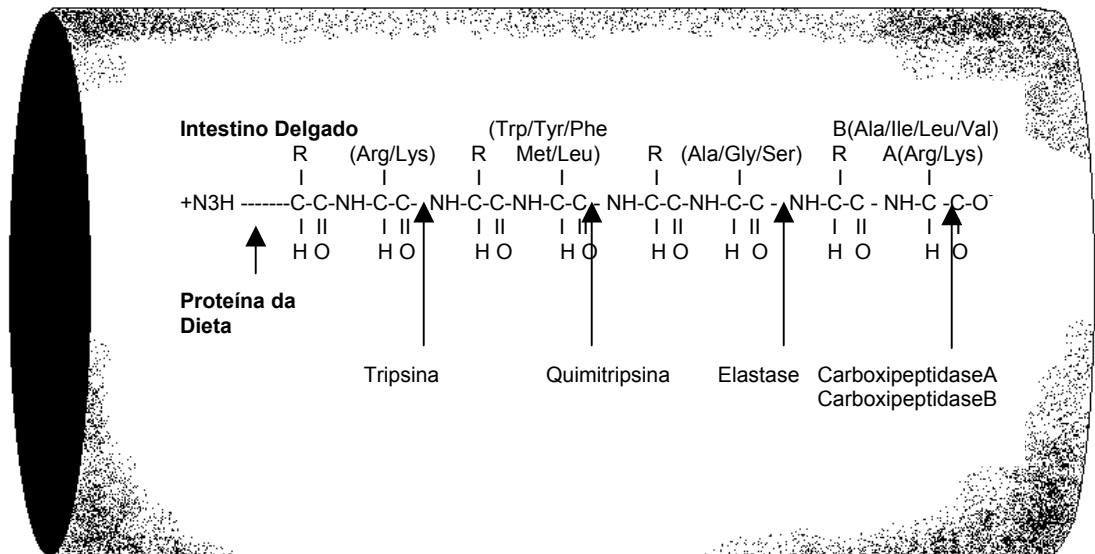


Figura 2. Clivagem da proteína da dieta pelas proteases do pâncreas. As ligações peptídicas susceptíveis a hidrólise são mostradas para cada uma das cinco principais proteases.

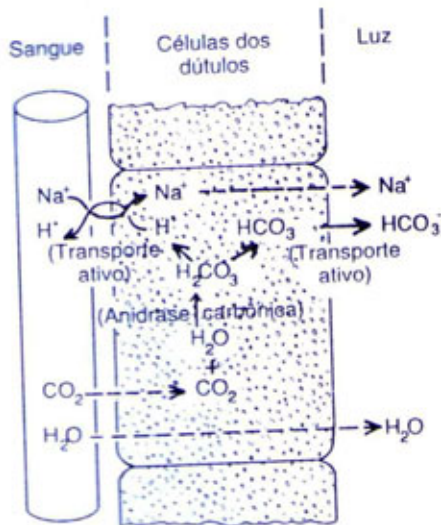


Figura 3: Secreção de bicarbonato pelo pâncreas.

A carboxipeptidase A hidrolisa resíduos aromáticos C-terminal. A carboxipeptidase B hidrolisa resíduos básicos C-terminal. As carboxipeptidases C e D são secretadas na parede do intestino. A carboxipeptidase C rompe aminoácidos terminais com grupo NH_2 livre, e a carboxipeptidase D rompe dipeptídios a aminoácidos (Loyd, McDonald e Campton, 1978, citados por Viola, 1996). As liberações e as ativações dos zimogênios pancreáticos são mediadas pela secreção da colecistoquinina e da secretina (hormônios polipeptídicos do trato digestivo). Segundo Holmes et al., 1974, citados por Viola, 1996), a proteína por si só, ou como peptídio, é o principal estimulador das secreções gástrica e pancreática. A secretina estimula principalmente a secreção de bicarbonato (veja Figura 3), enquanto que a colecistoquinina estimula a secreção enzimática. A função do bicarbonato é neutralizar o ácido proveniente da moela. O principal estimulante da secretina é o pH duodenal. Quando o pH é neutralizado o estímulo da secreção da secretina diminui e menos bicarbonato é secretado.

Por outro lado, os principais estimuladores de secreção da colecistoquinina são os ácidos graxos e os aminoácidos que chegam no duodeno. As inervações do intestino delgado são de origem extrínseca e intrínseca, onde os intrínsecos são conectores longos e curtos, e os extrínsecos são os nervos vagos e simpáticos, sendo fibras inibitórias e motoras. O tempo de passagem do alimento no intestino varia muito com sua composição (Browne (s.d.), citado por Dukes, 1955). A colecistoquinina, juntamente com a oxitocina, atua como modulador de consumo. Este hormônio reduz o consumo de alimentos e aumenta a saciedade em condições de consumo. Resultados similares são observados quando a colecistoquinina é liberada por ação de inibidores de tripsina.

De uma maneira geral, as aves produzem mais ácido clorídrico e pepsinogênio por unidade, do que em suínos. Já as secreções de proteases no intestino delgado são semelhantes se comparadas as dos suínos. A quimiotripsina é considerada a enzima predominante em aves, antes mesmo da tripsina (Fuller, 1991, citado por Longland, 1993).

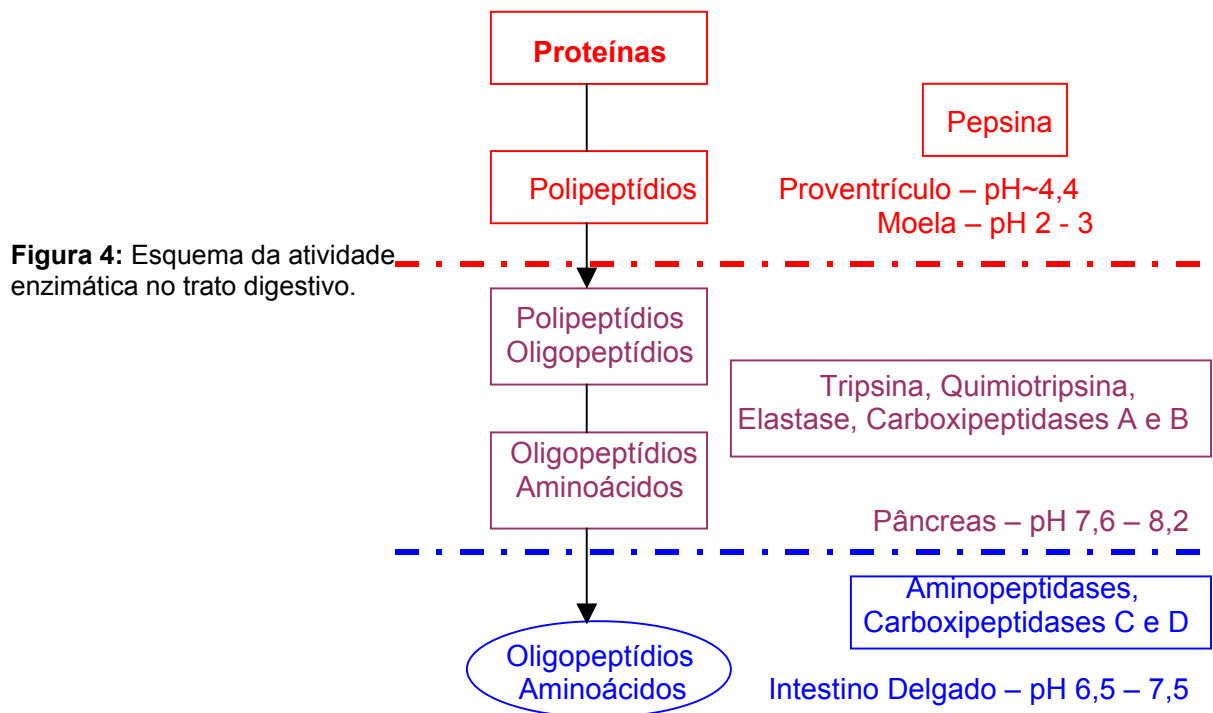
A hidrólise é completada na luz intestinal por enzimas secretadas pelos enterócitos, consistindo literalmente de centenas de microvilosidades, que projetam-se da superfície de cada célula. Estas células revestem as vilosidades do intestino delgado, sobretudo no duodeno e no jejuno, formando os produtos finais (tripeptídios, dipeptídios e aminoácidos livres) (Tabela 2 e Figura 2). As enzimas são as aminopeptidases, produzidas pelo citoplasma e excretadas pela mucosa do intestino delgado, localizadas na borda em escova, onde, a partir daí, os aminoácidos estão digeridos e prontos para a absorção. Os oligopeptídios são transformados em tri e dipeptídios, nas microvilosidades do intestino, pela presença de exopeptidases que clivam, repetidamente, o resíduo N-terminal dos oligopeptídios.

A velocidade de passagem do alimento pelo trato digestivo influencia sua digestibilidade, e conseqüente absorção. Portanto, quanto mais tempo o alimento estiver sob ação enzimática do trato digestivo (Figura 4), mais eficiente será a sua digestão. O aumento da quantidade de gordura no alimento pode reduzir os movimentos gástricos, retardando a passagem do alimento no trato digestivo, o que reflete numa menor velocidade de passagem no intestino delgado e, conseqüente, melhor digestibilidade dos aminoácidos. Os lipídios funcionam como inibidores de movimentos dos músculos gastrintestinais.

Tabela 2: Peptidases dos enterócitos.

Substrato	Enzima	Localização	Produto
Tripsinogênio	Enteroquinase	Bordadura escova	Tripsina
Oligopeptídio C2-C6 (aminoácido ácido)	Aminopeptidase A	Bordadura escova	Aminoácido ácido, di e tripeptídio
Oligopeptídio C2-C6 (aminoácido neutro)	Aminopeptidase N	Bordadura escova	Aminoácido neutro, di e tripeptídio
Tripeptídios	Aminotripeptidase	Citoplasma	Aminoácidos, dipeptídios
Oligopeptídios (prolina/alanina)	Dipeptidil aminopeptidase	Bordadura escova	Dipeptídios
Dipeptídios (glicina/leucina)	Peptidase	Bordadura escova	Aminoácidos Glicina/Leucina
Dipeptídios	Aminodipeptidase	Citoplasma	Aminoácidos

Macari et al., 1994



Absorção das proteínas nas aves.

A absorção dos aminoácidos é influenciada pela idade da ave, do sexo, da temperatura, da linhagem, do estresse e de fatores nutricionais como a estereoespecificidade, ou seja, pelos L-isômeros que em geral são absorvidos em níveis muito maiores do que os D-isômeros (Wannmacher e Dias, 1988). Os L-isômeros são transportados contra o gradiente de concentração. O mesmo não ocorre com os D-isômeros. Para que ocorra utilização dos D-isômeros, eles devem ser convertidos em L-isômeros (Lewis e Baker, 1995). Essa conversão ou inversão é constituída em duas etapas (Baker, 1994):

- (1) oxidação do carbono alfa ao ceto análogo;
- (2) transaminação do ceto-análogo ao L-aminoácido.

A conversão de D-isômeros em L-isômeros não ocorre com todos os aminoácidos. A metionina é um exemplo de aminoácido em que ocorre a conversão. Isto torna possível que a D-metionina seja biodisponível. De maneira geral, as aves convertem os D-isômeros mais eficientemente do que os mamíferos (Baker, 1994). Na Tabela 3 é possível verificar a biodisponibilidade de alguns D-isômeros em aves.

Tabela 3: Biodisponibilidade de alguns D-isômeros em aves.

Aminoácido	Biodisponibilidade	Referência
D-Arginina	0	Sughara et al.,(1967), Baker and Boebel (1981).
D-Cistina	0	Baker and Harter (1978).
D-Histidina	9	Sughara et al.(1967), Fell et al.(1959).
	19	Baker and Boebel (1981).
D-Isoleucina (2R, 3R)	0	Grau and Peterson (1946), Funk and Baker (1989).
	25	Sughara et al.(1967).
D-Alloisoleucine (2R, 3S)	70	Boebel and Baker (1982).
	60	Funk and Baker (1989).
D-Leucina	100	Grau and Peterson(1946), Robbins and Baker (1977).
	84	Sughara et al.(1967).
D-Lisina	0	Fell et al. (1959), Sughara et al.(1967).
	100	Fell et al. (1959), Bauriedel (1963), Smith (1966), Tipton et al. (1966), Gutteridge and Lewis (1964), Marett et al. (1964), Katz and Baker (1975), Baker and Boebel (1980).
	89	Sughara et al.(1967).
	82	Burggemann et al. (1962).
	74	Bhargava et al. (1971).
D-Fenilalanina	100	Fell et al.(1959), Grau (1947).
	89	Sughara et al.(1967).
	75	Boebel and Baker (1982).
	30	Fisher et al. (1957).
D-Treonina	0	Sughara et al.(1967), Grau (1949).
	100	West et al.(1952).
	50	Andreson et al.(1950).
	40	Wilkening and Schweigert (1947).
	21	Ohara et al.(1980).
D-Triptofano	15	Sughara et al.(1967).
	7	Morrison et al.(1956).
	72	Boebel and Baker (1982).
	43	Sughara et al.(1967).
D-Valina	0	Grau and Peterson (1946).

Adaptado de Lewis e Baker (1995).

Os enterócitos migram para a extremidade da cripta, por um processo de mitose, que ocorre nas vilosidades intestinais. Durante esta migração, os enterócitos desenvolvem mecanismos de transporte de membrana, os quais são intimamente relacionados com a síntese de proteínas (carregadoras ou transportadoras) na membrana luminal da célula.

Nas aves, grande parte das proteínas carregadoras está presente no íleo, implicando ser o local de maior absorção de aminoácidos. Existem três mecanismos de transporte de aminoácidos, sendo um para cada tipo (aminoácidos neutros, ácidos e básicos). Todos os mecanismos de absorção de aminoácidos são baseados em transportes ativos. Para os aminoácidos neutros (alanina, valina, serina, metionina, leucina, isoleucina, triptofano,

treonina, tirosina) existem subsistemas com um carregador específico para glicina, outro para metionina e aminoácidos alifáticos e um último para os demais aminoácidos neutros (Figura 5). Os aminoácidos ácidos (ácido glutâmico, ácido aspártico) também possuem sistema de transporte sódio dependente e são considerados transportes menos ativos que para os aminoácidos neutros. Os aminoácidos básicos (lisina, arginina) possuem reações de transporte mais rápidas para o interior dos enterócitos.

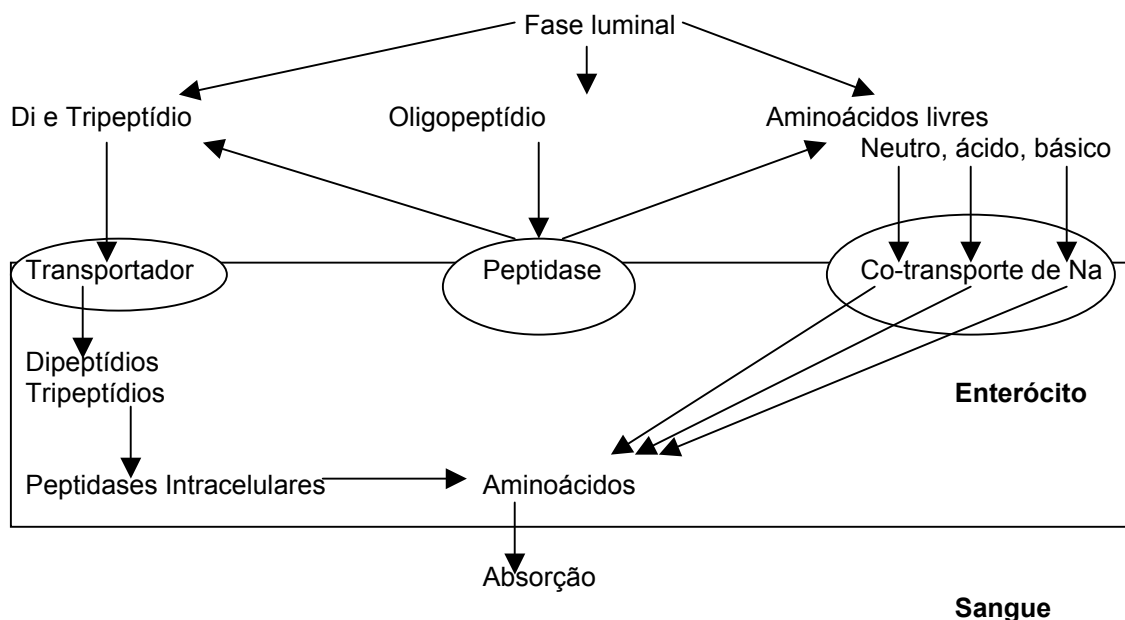


Figura 5: Esquema de absorção de aminoácidos, di e tripeptídios para o enterócito e para o sangue.

A absorção dos aminoácidos é sódio-dependente, bem como os monossacarídeos. É considerado que exista uma interação negativa de absorção entre aminoácidos e monossacarídeos, provavelmente devido a exigência de energia para a absorção. O grau de dependência do sódio varia com o tipo de aminoácido, seguindo a seguinte ordem: básicos < neutros < ácidos. Estudos com transportes de aminoácidos revelaram que existe uma cinética de saturação, implicando em uma taxa limitante ou algum passo mediado por transportador (Mattheus e Laster, 1965, citados por Macari et al., 1994). Entretanto, não há evidências de que os di e tripeptídios possuam absorção sódio-dependentes.

Os di e tripeptídios são hidrolisados a aminoácidos no citosol, antes de entrarem no sistema porta (Figura 5). Existem relatos de que existe absorção de oligopeptídios de 2 a 6 aminoácidos e a absorção é mais eficiente e rápida, se comparada com a absorção dos aminoácidos. O mecanismo de transporte é ativo, dependendo de energia. São específicos para os D e L isômeros e acredita-se que envolva o gradiente de sódio nesse mecanismo entre o enterócito e o lúmen intestinal. Este processo de absorção é denominado *cotransporte* ou *transporte ativo secundário de peptídios*. Após a absorção dos oligopeptídios ocorre a hidrólise dos mesmos no interior dos enterócitos (Larbier e Leclerq, 1992).

A concentração de aminoácidos livres nos líquidos extracelulares é significativamente menor que dentro das células. Este gradiente de concentração é mantido porque os sistemas de transporte ativo, dirigidos pela hidrólise de ATP, são exigidos para o movimento de aminoácidos do espaço extracelular para dentro das células (Larbier e Leclercq, 1992).

A capacidade de transporte dos aminoácidos do lúmen para o citosol do enterócito depende da disponibilidade dos transportadores, da afinidade dos transportadores com o substrato e da concentração dos aminoácidos dentro e fora da célula. Assim, a realimentação que segue a restrição alimentar (não severa) aumenta a capacidade de absorção de aminoácidos, pois o número de transportadores disponíveis está aumentado. Por outro lado, numa restrição muito severa pode ocorrer uma redução do tamanho dos vilos e a conseqüente perda dos enterócitos, via descamação (no terço apical do vilão), que tem capacidade absorviva. Nestas circunstâncias, a realimentação deve ser gradativa para que haja tempo de recomposição da mucosa absorviva.

Podem ocorrer interações negativas na absorção de aminoácidos. Acredita-se que há competição por sítio de absorção, como é o caso de lisina e de arginina e isoleucina, leucina e valina (D'Mello, 1994), necessitando de um balanceamento correto entre os aminoácidos na dieta. Para reduzir o antagonismo encontrado na interação lisina-arginina é recomendada a adição de acetato de potássio na dieta (O'Dell e Savage, 1966 citados por McNab, 1994), demonstrando que há interação entre lisina-arginina-eletrólitos. O antagonismo entre a lisina e a arginina deve-se a semelhança estrutural entre estes aminoácidos. Na interação negativa, que ocorre entre leucina-isoleucina-valina, a interação entre leucina-valina é mais evidente do que a interação leucina-isoleucina.

Os aminoácidos cristalinos, ou também chamados de aminoácidos sintéticos, são absorvidos mais rapidamente do que aminoácidos contidos na proteína da dieta. Porém, na prática, pode não ocorrer uma biodisponibilidade completa, devido a uma competição por sítios de absorção e também pode ocorrer uma absorção completa, mas com eliminação via urina (Carpenter, 1973, citado por Longland, 1993). Pardridge et al. (1985), citados por Longland (1993), verificaram que a utilização de aminoácidos cristalinos em suínos tem menor aproveitamento quando os animais são alimentados com menor freqüência do que quando os animais são alimentados com uma maior freqüência durante o dia.

Se considera que há uma relação ideal de aminoácidos para cada fase de desenvolvimento dos frangos de corte, sexo, idade, temperatura, linhagem e estresse imunológico. Por exemplo, o estresse causado por uma exigência imunológica, devido a ação de uma doença, pode aumentar a exigência e a conseqüente absorção de lisina. Severos estresses causados por frio ou por calor aumentam temporariamente a perda do nitrogênio excretado (Issekurtz et al., 1962, citados por Pusztai, 1993).

Lacy et al. (1982 e 1986), citados por Macari et al. (1994), demonstraram que a tirosina estimula o consumo alimentar das aves e o triptofano inibe o consumo. Esses aminoácidos são precursores de catecolaminas e de serotonina, respectivamente, dois neurotransmissores envolvidos na regulação do consumo alimentar de aves domésticas. Com base naquelas observações, foi levantada a hipótese de que a tirosina e o triptofano seriam captados e utilizados centralmente para a síntese dos neurotransmissores e, dessa maneira, estariam envolvidos no mecanismo central de regulação do consumo de alimento. Porém, o processo é mais complexo do que uma simples captação, uma vez que os excessos ou as deficiências dietéticas de aminoácidos essenciais alteram o comportamento alimentar das aves (teoria aminostática). O nível plasmático de aminoácidos pós-absortivos interferem com o transporte de um aminoácido limitante na área sensível do cérebro e o mecanismo

dependente de um produto do catabolismo protéico, a amônia, cujo sistema sensor estaria localizado no fígado, enviariam sinais para as áreas hipotalâmicas reguladoras de consumo de alimento.

Baixos níveis das vitaminas B₆, D, E e tiamina reduzem a velocidade de transporte de aminoácidos em aves, pois são fatores necessários para a síntese das proteínas carregadoras. A actinomicina D inibe o processo mitótico e, por consequência, a formação de enterócitos na cripta, também reduzindo a absorção dos aminoácidos (Macari et al., 1994).

Antes ou logo após a eclosão dos frangos de corte, ocorre a absorção das proteínas da gema na mucosa intestinal, sendo este processo associado à proteção imunológica do recém nascido, devido a capacidade de absorção das proteínas placentárias (Macari et al., 1994). A não alimentação das aves no período de até 24 horas após a eclosão pode retardar o desenvolvimento e o crescimento do trato gastrointestinal, o tamanho das microvilosidades e a diferenciação dos enterócitos (Dibner et al., 1998). Os nutrientes fornecidos neste período devem ser altamente disponíveis e com níveis nutricionais próximos ou logo abaixo da manutenção. Ao longo do desenvolvimento dos frangos, esta capacidade de absorção de proteínas, ou mesmo de oligopeptídios, vai sendo perdida. Também nesta fase a glicina e a prolina são considerados essenciais, devido a incapacidade de síntese nesta fase. Assim sendo, aves jovens possuem exigências diferenciadas das aves adultas.

Na absorção de imunoglobulinas (veja uma ilustração de uma imunoglobulina na Figura 6), em animais jovens, o mecanismo usado é a pinocitose, onde a molécula é envolvida por uma membrana para dentro da célula, sendo isolada das demais organelas celulares e são excretadas para as células baso-laterais. A absorção das proteínas integrais ocorre na região do saco vitelino, que pode ser considerada uma extensão do intestino delgado, localizado entre o jejuno e o íleo no divertículo de Merkle. A membrana do saco vitelino é multifacetada, o que proporciona uma melhor assimilação das proteínas integrais nessa fase de vida da ave (Vieira e Moran, 1999).

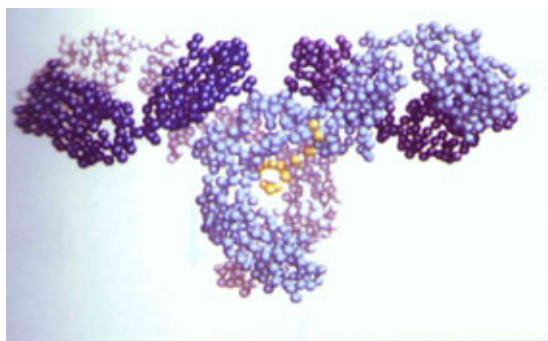


Figura 6. Ilustração de uma imunoglobulina.

Disponibilidade protéica nas aves.

A proteína ideal da dieta é aquela que atende exatamente as exigências de aminoácidos do animal. Entretanto, na prática, alcançar esta exigência exata não é possível, devido a demanda individual de cada animal e a composição das matérias-primas que compõem as dietas, e que são diferentes da composição de aminoácidos exigida pelas diferentes

espécies. A inclusão de aminoácidos sintéticos nas dietas aumenta a precisão neste balanceamento e reduz as limitações de ingredientes específicos (CLASSEN, 1996).

As proteínas das matérias-primas que constituem as dietas não são totalmente absorvíveis pelo animal. É fundamental conhecer a real disponibilidade protéica de cada uma delas. Em 1987 Sibbald, citado por McNab (1994) sugeriu o conceito “biodisponibilidade”, que é a proporção da proteína absorvida, em relação à ingerida, que é utilizada no metabolismo animal.

Na nutrição animal é comum observar que as proteínas de origem vegetal são menos digestíveis do que as proteínas de origem animal. As proteínas, resistentes à digestão, passam diretamente ao intestino grosso, servindo de substrato aos microorganismos, proporcionando uma proliferação de bactérias maléficas ao intestino, aumentando a erosão das microvilosidades e reduzindo a absorção de nutrientes. Com o objetivo de minimizar este problema, tem sido empregada a inclusão de enzimas exógenas na dieta, a fim de proporcionar uma melhor digestão protéica. As enzimas incluídas na dieta podem ser degradadas no proventrículo-moela. Para contornar esse problema, comercialmente são usadas enzimas protegidas, que possuem uma barreira física para a proteção contra o desnaturamento no trato digestivo ou a escolha de enzimas suficientemente resistentes ao pH no proventrículo.

O nível e o tipo de fibra na dieta também podem reduzir a digestibilidade das proteínas e de outros nutrientes, em função de suas propriedades físicas. Entre elas está a de ligar-se aos compostos eletricamente carregados, tornando-os indisponíveis à ação das enzimas, e a formação de géis, que se localizam nas paredes do lúmen intestinal, diminuindo a capacidade de absorção de nutrientes naquelas estruturas do sistema digestivo.

A digestão das proteínas, que ocorre no trato digestivo dos animais, pode ser medida por digestibilidade *in vitro*. Muitos fatores que afetam a digestibilidade das proteínas não são conhecidos. Entretanto, é conhecido que a existência de carboidratos na dieta afeta a digestibilidade protéica. O teor de fibra, assim como alguns aminoácidos, como a prolina, ou mesmo a força de atração da estrutura tridimensional das proteínas, também podem afetar a digestibilidade das proteínas. Alguns fatores indiretos que atuam na digestão das proteínas, como a ação de fatores antinutricionais que agem no intestino delgado, podem reduzir a digestibilidade *in vivo*, não afetando as análises de digestibilidade feitas *in vitro* (Parsons, 1993). Ligações peptídicas entre aminoácidos alifáticos são de hidrólise mais difícil (Nissen, 1992).

Os fatores antinutricionais, que podem ocorrer nos alimentos, são classificados quanto à inibição de digestão e/ou absorção de proteínas, sendo lectinas, inibidores de enzimas proteolíticas e taninos os mais importantes. Os inibidores de proteases ligam-se as enzimas proteolíticas, tornando-as não funcionais (Coon, 1991, citado por Viola, 1996). Os inibidores das tripsinas, encontrados na soja, são usualmente degradados e inativados durante a passagem pelo intestino delgado (Madar et al., 1979 citados por Viola, 1996).

Em contraste, existem os inibidores Kunitz e Bowman-Birk, encontrados na soja, que são mais resistentes à degradação no trato digestivo (Troll e Yavelow, 1983, citados por Pusztai, 1993). O inibidor de Kunitz tem peso molecular entre 20000 e 25000, sendo constituído de 181 aminoácidos, incluindo duas pontes dissulfídicas. É específico para o tripsinogênio e é desnaturado pelo calor. Ele forma um composto irreversível com o tripsinogênio e a combinação é praticamente espontânea, na proporção massa:massa de 1:1 (Kunitz, 1947). O inibidor Bowman-Birk tem peso molecular 8000 e possui 71 aminoácidos, com alto conteúdo de cisteína, e tem a capacidade de inibir, simultaneamente,

duas proteases de forma independente. A tripsina é inativada pelo sítio ativo Leu(43)-Ser(44) e a quimiotripsina pelo sítio ativo Lis(16)-Ser(17). Ele possui 7 pontes dissulfídicas (Ikenaka e Norioka, 1986).

No lúmen do intestino delgado, os inibidores inicialmente reagem com a protease pancreática apropriada. Assim, as concentrações das endopeptidases no lúmen decrescem. Ocorre então uma maior liberação de colecistoquinina pelas células endócrinas para a circulação sistêmica, estimulando maior secreção de enzimas do pâncreas (Owyang et al., 1986 citados por Pusztai, 1993). O resultado é a perda endógena de proteínas, ricas em aminoácidos sulfurados, o que compromete o crescimento dos animais.

As lectinas são compostos protéicos que estão presentes na forma de glicoproteínas e são caracterizadas por ligarem-se aos componentes dos açúcares (Pusztai, 1993). O primeiro efeito está relacionado com o fato delas ligarem-se em glicídios, presentes na parede da mucosa intestinal, de maneira irreversível, onde ocorre um decréscimo na absorção de nutrientes, entre eles peptídios e aminoácidos. Assim como os inibidores de proteases, sua inativação pode acontecer por tratamento térmico (Viola, 1996).

Os taninos são principalmente encontrados em leguminosas e no sorgo. São compostos fenólicos, solúveis em água, com peso molecular variando entre 500 e 3000 (Marquardt, 1989). Na presença de tanino, é observado um decréscimo na digestibilidade da proteína (Leiner, 1989). Ocorrem formações de complexos do tanino com as proteínas presentes na dieta. Estes compostos são insolúveis e resistentes à ação das enzimas digestivas. Para contornar esse problema, é comum a redução do uso das matérias-primas que possuem este fator antinutricional, bem como um aumento na percentagem da proteína da dieta. As proteínas mais afins para a formação destes complexos com o tanino possuem peso molecular variando em torno de 38000 daltons e têm uma maior quantidade de prolina, ácido glutâmico e glicina em suas estruturas (Marquardt, 1989).

Por outro lado, dietas altamente digestíveis, também podem aumentar a quantidade de bactérias maléficas no lúmen do intestino, devido a uma saturação dos sítios de absorção no intestino delgado (Guyton et al, 1996). Um exemplo é o uso de aminoácidos sintéticos em excesso, que podem passar até o intestino grosso, servindo como fonte de substrato microbiano. Com o aumento de aminoácidos livres no lúmen do intestino ocorre uma maior concentração polar, induzindo a entrada de água das células para o lúmen, devido à ação osmótica, podendo ocasionar diarreias. A permanência de aminoácidos no lúmen do intestino delgado, também evita a entrada de água nos enterócitos (Lehninger et al., 1993) permanecendo no lúmen e favorecendo a diarreia.

As bactérias maléficas aumentam a erosão das microvilosidades intestinais, e aderem-se aos sítios de absorção de carboidratos. Como é sabido que a presença de carboidratos afeta diretamente a absorção das proteínas, esta aderência promoverá uma menor absorção de aminoácidos livres, di e tripeptídios.

Para avaliar a qualidade da proteína nas dietas de frangos de corte surgiram métodos de análises de solubilidade e de digestibilidade *in vitro*, onde a solubilidade consiste na simulação do alimento no proventrículo, com digestão ácida mais a ação da pepsina. O resultado desta análise é a proteína solúvel resultante da amostra. Uma vez feita a solubilidade, é possível avaliar a digestibilidade *in vitro*. Assim, a solubilidade é parte da digestibilidade da proteína (Assoumani e Nguyen, 1993).

Segundo Assoumani e Nguyen (1993) é possível classificar a digestibilidade protéica em duas categorias:

(1) com o uso de várias enzimas (pepsina, tripsina ou pepsina, pancreatina, quimiotripsina e peptidase); e

(2) com métodos químicos, para medir a lisina disponível.

A lisina é usada como referência, uma vez que é o segundo aminoácido limitante para frangos de corte e é altamente sensível à reação de Maillard, que são ligações de seu grupo ε-amino com os carboidratos (Ammerman et al., 1995).

A reação de Maillard envolve a condensação dos grupos amino com os grupos carbonil e dihidro-redução, numa matriz semelhante à lignina. Os produtos da reação de Maillard ocorrem quando os alimentos são cozidos ou tostados como, por exemplo, a tostagem excessiva do grão ou farelo de soja. Esta reação envolve a condensação de resíduos de açúcares com aminoácidos, formando uma substância de coloração marrom, com aproximadamente 11% de nitrogênio, e que possui propriedades físicas semelhantes a lignina (Van Soest, 1994).

Particularmente, as proteínas com grupos livres de amina ou enxofre (lisina, cisteína e metionina) tornam-se indigestíveis quando condensadas após a reação sendo a lisina a mais prejudicada no processo de tostagem ou cozimento, devido à reação de Maillard. Durante o processamento térmico, o calor pode induzir trocas de estrutura das moléculas de aminoácidos que prejudicam a digestibilidade. Porém, os aminoácidos de cadeia ramificada como a isoleucina, a leucina e a valina parecem ser menos susceptíveis ao efeito do calor. A qualidade da proteína da soja pode ser afetada por um sub-cozimento devido a presença de fatores antinutricionais, e por um super-cozimento devido às reações de Maillard (Viola, 1996).

Além da determinação da biodisponibilidade da proteína *in vitro*, existem métodos de determinação direto e indireto *in vivo* (Manatt e Garcia, 1992).

Uma maneira de determinar indiretamente a disponibilidade da proteína *in vivo* é a medição da concentração de aminoácidos no sangue. A concentração dos aminoácidos no sangue é afetada pelas proteínas da dieta e as concentrações limitantes de aminoácidos servem para estimar as exigências de aminoácidos em suínos e aves (Lewis et al., 1977, citados por Parsons, 1993).

A determinação do nitrogênio digestível é outra maneira indireta de determinar a disponibilidade da proteína na dieta (Parsons, 1993). A partir dos valores de nitrogênio consumidos e nas fezes, podem ser estimados os valores de aminoácidos.

Os aminoácidos digestíveis *in vivo*, com determinação indireta, podem ser representados pela fórmula abaixo:

$$aa_{digestível} = \frac{aa_{consumido} - aa_{fezes} + aa_{endogeno\ fezes}}{aa_{consumido}}$$

A digestibilidade fecal superestima o valor da digestibilidade dos alimentos, em função das perdas que ocorrem no trato digestivo inferior. A digestão ileal é sempre inferior do que a digestão fecal. Devido a esse fato, é importante considerar os aminoácidos endógenos encontrados nas fezes (McNab, 1994).

Existem importantes informações apresentadas na literatura que definem as diferenças de qualidade das proteínas. Entretanto, também podem ser observadas grandes variações entre as amostras de uma mesma matéria-prima (Parsons, 1993). Pesquisas recentes têm mostrado uma evolução nas análises multienzimáticas, que possibilitam uma melhor

previsão da digestibilidade *in vivo* para aves e suínos (Bellaver, 1989, citado por Parsons, 1993).

Bibliografia.

- Ammerman, C.B.; Backer, D.H.; Lewis, A.J., 1995. Bioavailability of Nutrients for Animals. Academic Press.
- Assoumani, M.B. e Nguyen, N.P., 1993. Enzyme Modelling of Protein Digestion and L-Lisine Availability. In: In Vitro Digestion For Pigs and Poultry. Ed. M.F.Fuller.
- Baker, D.H., 1994. Utilization of Precursors for L-Amino Acids. In: Amino Acids in Farm Animal Nutrition. D'Mello, J.P.F.
- Champe, P.C.; Harvey, R.A., 1996. Bioquímica Ilustrada. 2ª.Ed. Artes Médicas.
- Classen, H.L., 1996. Feed Mix, the international journal on feed, nutrition and technology. Enzymes in Action. Vol 4. Pg 22-28.
- D'Mello, J.P.F., 1994. Amino Acids in Farm Animal Nutrition. C.A.B. International.
- Dibner, J.J.; Knight, C.D.; Ivey, F.J., 1998. Wolrd Poultry. The Feeding of Neonatal Poultry. Elsevier International. Vol.5 Pg 36-40.
- Dukes, H., 1955. The Physiology of domestic Animals. 6 ed.
- Guyton, A.C.; Hall, J.E.H., 1996. Tratado de Fisiologia Médica. Nona Edição. Guanabara Koogan.
- Ikenaka, J.; Norika, S., 1986. Bowan-Birk Family Serine Proteinase Inhibitors. In: Proteinase Inibitors. Ed by Barret; Salvesn. Wagenigen, Elsevier Science. Cap.9, pg. 361-371.
- Larbier M.; Leclercq, B., 1992. Nutrition and Feeding of Poultry. Nottingham University Press.
- Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M., 1993. Principles of Biochemistry. Second Edition. Worth Publishers.
- Leiner, I.E., 1989. Antinutritional Factors In Legume Seeds: State of the Art. In: Recent Advances of Research In Antinutritional Factors In Legume Seeds. Huisman J., et all.
- Lewis, A.J. e Baker, D.H., 1995. Bioaavailability of D-Amino Acids and DL-Hydroxy-Methionine. In: Bioavailability of Nutrients for Animals. Academic Press. Ammerman et all.
- Linder, M.C., 1991. Nutritional Biochemestry and Metabolism with Clinical Aplications. Second Edition. Elsevier.
- Llobet, J.A.C.; Roca, F.L.; Piñan, F.O., 1989. Biologia de la Gallina. Real Escuela de Avicultura.
- Longland, A.C., 1993. In: In Vitro Digestion For Pigs and Poultry. Ed. M.F.Fuller.
- Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzáles, E., 1994. Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte. FUNEP.
- Kunitz, M., 1947. Crystalline Soybean Trypsin Inhibitor. II. General Properties. Journal of General Phisiology, New York, v.30, p.291-310.
- Manatt, M.W.; Garcia, P.A., 1992. Nitrogen Balance: Concepts and Techniques In: Modern Methods in Protein Nutrition and Metabolism. Ed. S. Nissen.
- Marquart, R.R., 1989. Dietary Effects of Tannins, Vicine and Convicine. In: Recent Adv. of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. Huisman J., et al.
- McNab, J.M., 1994. Amino Acid Digestibility and Avaibility Studies with Poultry. In: Amino Acids in Farm Animal Nutrition. D'Mello, J.P.F.
- Nissen, S., 1992. Modern Methods in Protein Nutrition and Metabolism. Academic Press, Inc.
- Parsons, C.M., 1993. Use of Pepsin Digestibility, Multienzyme pH Change and Protein Solubility Assays to Predict In Vivo Protein Quality of Feedstuffs. In: In Vitro Digestion For Pigs and Poultry. Ed. M.F.Fuller.

- Pusztai, A. et al., 1993. Indirect Effects of Food Antinutrients on Protein Digestibility and Nutritional Value of Diets. In: In Vitro Digestion For Pigs and Poultry. Ed. M.F.Fuller.
- Sturkie, P. D., 1986 Avian Physiology. New Brunswick, New Jersey, U.S.A.
- Van Soest, P. J., 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2th ed. New York, Cornell University Press. Cap.11: Carbohydrates.
- Vieira, S.L. e Moran Jr, E.T. (1999) Effects of Egg of Origin and Chick Post-Hatch Nutrition on Broiler live Performance and Meat Yelds. World's Poultry Science Journal, 55: 126-142.
- Viola, E.S. (1996) Efeito do Tempo da Autoclavagem sobre a Digestibilidade dos Grãos de Soja Integral em Suínos na Fase de Crescimento. UFRGS. Tese de Mestrado.
- Wannmacher, C.M.D.; Dias, R.D., 1988. Bioquímica Fundamental. 6ªEd. UFRGS.