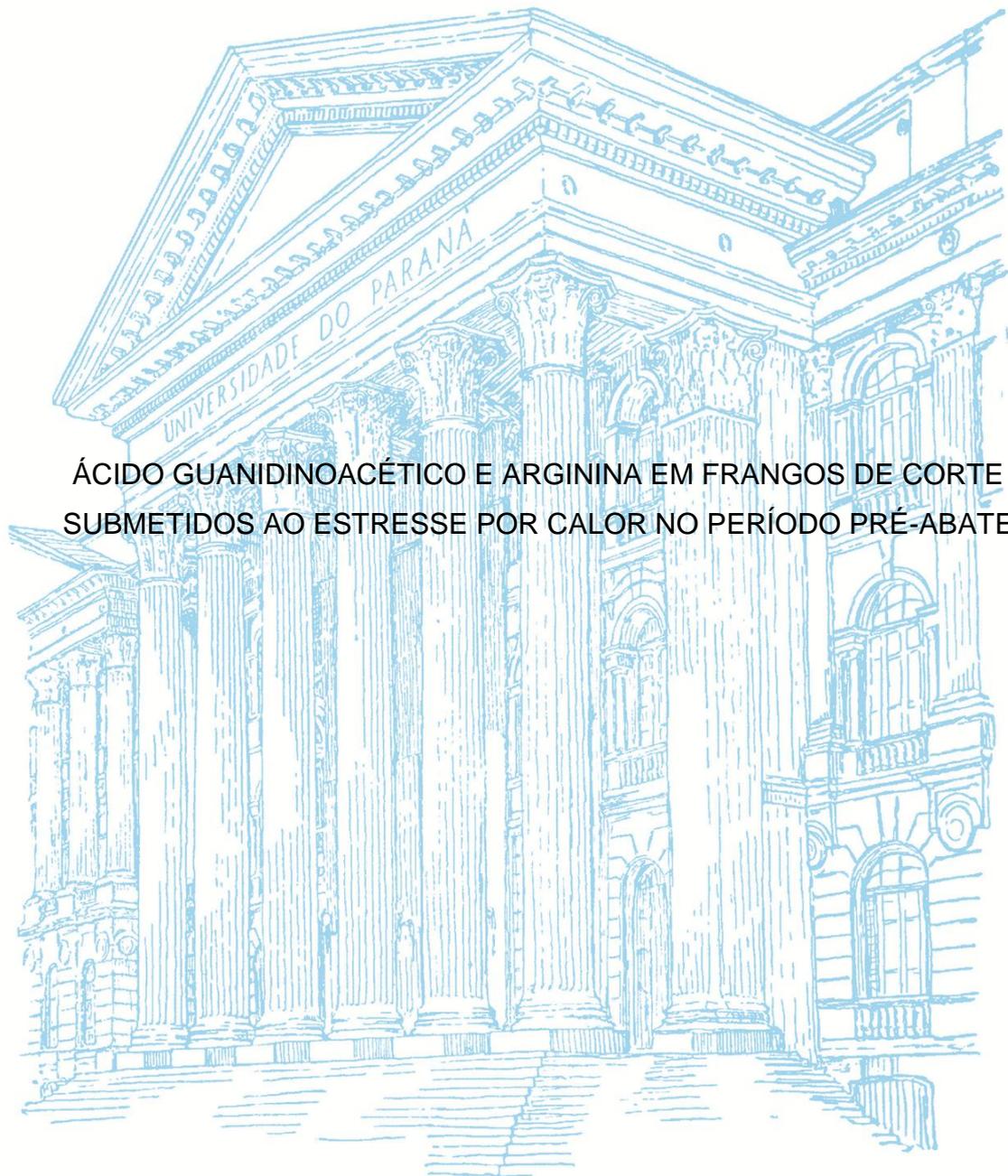


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE FERNANDA GONÇALVES ESSER



ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E ARGININA EM FRANGOS DE CORTE
SUBMETIDOS AO ESTRESSE POR CALOR NO PERÍODO PRÉ-ABATE

PALOTINA

2015

ALINE FERNANDA GONÇALVES ESSER

ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E ARGININA EM FRANGOS DE CORTE
SUBMETIDOS AO ESTRESSE POR CALOR NO PERÍODO PRÉ-ABATE

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, no Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, área de concentração Produção Animal, linha de pesquisa em Nutrição Avícola, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. Dra. Jovanir Inês Muller Fernandes.

PALOTINA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

E78

Esser, Aline Fernanda Gonçalves
Ácido guanidinoacético e arginina em frangos
de corte submetidos ao estresse por calor no
período pré-abate / Aline Fernanda Gonçalves
Esser . - Palotina, 2015
79p.

Orientador: Jovanir Inês Muller Fernandes.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal
do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal.

1. Aminoácidos. 2. Glicina. 3. Ressíntese de ATP. I.
Fernandes, Jovanir Inês Muller. II. Universidade Federal
do Paraná.

CDU 636.5

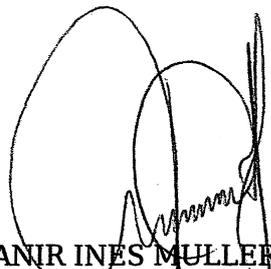


MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor Palotina
Programa de Pós Graduação em CIÊNCIA ANIMAL
Código CAPES: 40001016077P6

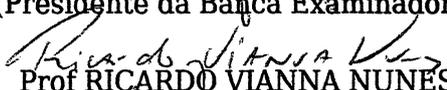
PARECER DA BANCA EXAMINADORA

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **ALINE FERNANDA GONCALVES ESSER**, intitulada: "**ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E ARGININA EM FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS AO ESTRESSE POR CALOR NO PERÍODO PRÉ-ABATE**", após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua *aprovacao*, completando-se assim todos os requisitos previstos nas normas desta Instituição para a obtenção do Grau de **Mestre em CIÊNCIA ANIMAL**.

Palotina, 20 de Agosto de 2015.



Prof JOVANIR INES MULLER FERNANDES
(Presidente da Banca Examinadora)



Prof RICARDO VIANNA NUNES



Prof NEI ANDRÉ ARRUDA BARBOSA

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Aline Fernanda Gonçalves Esser, filha de Neusa Gonçalves Lopes Esser e Natalicio Esser, nasceu em Nova Aurora no Paraná, dia 17 de Julho de 1989.

Iniciou o curso de Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná – Campus Palotina em Março de 2008, concluído em Dezembro de 2012.

Em Novembro de 2012 foi contratada pela Cooperativa Agroindustrial Cvale, na cidade de Palotina, no Paraná, onde atuou no Matrizeiro Avícola como coordenadora da Recria até o mês de Junho de 2014, sendo posteriormente transferida para o fomento avícola onde atua como extensionista e sanitarista até os dias de hoje.

Em março de 2013 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós Graduação em Ciência Animal da UFPR – Campus Palotina.

Pensamos demasiadamente e sentimos muito pouco. Necessitamos mais de humildade que de máquinas. Mais de bondade e ternura que de inteligência. Sem isso, a vida se tornará violenta e tudo se perderá.

(Charles Chaplin)

Aos meus pais e minha irmã, pela força e incentivo e por sempre acreditarem no meu potencial, me apoiando nas horas mais difíceis.

Ao meu marido Gustavo, pelo amor, carinho e paciência, e por sempre estar ao meu lado me apoiando e incentivando nas vezes que pensei em desistir.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me proporcionar saúde, sabedoria e força de vontade para correr atrás deste grande sonho.

A minha professora e orientadora Dr^a. Jovanir I. M. Fernandes, pelo exemplo de mulher, mãe e profissional, pela oportunidade concedida, pela grande paciência que teve em ensinar e esclarecer todas as dúvidas que apareceram durante este percurso, sem sua orientação essa conclusão não estaria acontecendo, você é o pilar principal dessa estrutura.

Aos meus pais, Natalício Esser e Neusa Gonçalves Lopes Esser, a minha irmã Tatiane Milene Gonçalves Esser, por sempre terem me apoiado e acreditado no meu potencial, e isso faz de conquista não minha, mas sim nossa, pois sem o apoio da minha família não teria chegado aqui.

Ao meu marido Gustavo, por seu apoio e companheirismo nos momentos difíceis, pelo carinho e amor que me incentivam a nunca desistir dos meus objetivos e sonhos.

A Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, pela oportunidade de aperfeiçoamento profissional, a todos os professores, e funcionários pela ajuda, pelas sugestões e pelos ensinamentos repassados, tornando possível o reconhecido título de Mestre em uma renomada instituição.

Ao Prof. Alexandre Leseur, por seu grande auxílio com as análises estatística, esclarecendo as dúvidas que surgiram no percurso.

As alunas de Iniciação Científica do Laboratório de Experimentação Avícola (LEA), Adrielle, Anete, Rafaela que proporcionaram a execução do experimento e suas análises com compromisso e eficiência.

Aos estagiários do LEA, que executaram a maioria da parte do experimento, suas análises e leituras, a vocês devo grande parte desse mérito. Adrielle, Anete, Patrícia, Rafaela, Cassiano, Daiane, Bruna, Jonas, Mauricio, Luís, Alessandro, Joice, enfim todos que contribuíram para a conclusão desse experimento, meus sinceros agradecimentos.

Aos colegas de mestrado Álvaro, Mayra e Lidiane, que na minha ausência inúmeras vezes coordenarão a execução de muitas tarefas relacionadas ao experimento, meus sinceros agradecimentos.

A Cooperativa Agroindustrial C.Vale, por permitir que muitas vezes me ausentasse para cumprir as obrigações para o Programa de Pós Graduação.

A Ajinomoto, pelo fornecimento da L-Arginina, possibilitando que fosse possível a execução desse experimento.

A Evonik Degussa pelo fornecimento do Creamino®, possibilitando que fosse possível a execução desse experimento.

Aos colegas, por muitas histórias e momentos felizes que ficarão guardados na memória. A todos, muito abrigada.

RESUMO

Aves alimentadas com dietas vegetais dependem da síntese endógena de creatina, que requer a participação de aminoácidos, alguns deles considerados essenciais para diversas funções fisiológicas e metabólicas, como a arginina (Arg). O ácido guanidinoacético (GAA) é um aditivo alimentar, disponível comercialmente, mais eficaz em comparação com a creatina e Arg, porque é menos oneroso que qualquer um destes compostos. O objetivo do trabalho foi avaliar a inclusão do ácido guanidinoacético e arginina como precursor da creatina em dietas vegetais sobre o desempenho, qualidade e rendimento de carcaça de frangos de corte em ambiente termoneutro e submetidos ao estresse térmico. Foram utilizados 1260 pintos de corte distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, nove repetições e 35 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por: T1 - dieta a base de milho e farelo de soja; T2- dieta controle a base de milho, farelo de soja e farinha de carne (3%); T3- dieta a base de milho e farelo de soja acrescida de ácido guanidinoacético (0,8%) e T4- dieta a base de milho e farelo de soja acrescida de L-Arginina (0,8%). Foram registrados o peso médio das aves e o consumo de ração, aos 7, 21 e 42 dias de idade. Aos 7 dias de idade, foram sacrificadas 18 aves por tratamento para o rendimento de peito e pernas. Aos 42 dias de idade, foi realizada a coleta de sangue de 12 aves por tratamento para a determinação das concentrações séricas de ácido úrico, uréia, creatina, lactato e glicose. As mesmas aves foram abatidas, para o cálculo de rendimento de carcaça em relação ao peso vivo e rendimento de cortes nobres. O músculo *pectoralis major* direito de cada ave foi utilizado para as análises de pH, de cor (luminosidade L*, índice de vermelho a* e índice de amarelo b*) e a perda de água por pressão. O músculo *Pectoralis major* do lado esquerdo para as análises de perdas por descongelamento e por cozimento. Aos 42 dias de idade, a temperatura ambiente do aviário foi elevada para 32°C, por 48 horas. Aos 44 dias de idade, foram sacrificadas mais 12 aves por tratamento para a determinação das mesmas avaliações feitas em aves criadas em ambiente termoneutro. Os dados foram analisados pelo software SAS. As dietas com adição de farinha de carne ou vegetais acrescidas de GAA ou L-Arg resultaram em maior peso vivo e percentual de carne de peito aos 7 dias. Para o período total de 1 a 42 dias de idade, observou-se melhor conversão alimentar em aves suplementadas com dieta vegetal acrescida de farinha de carne. Para as demais características não foram observadas diferenças significativas. Aves submetidas ao estresse térmico recebendo dietas vegetais com Arg ou GAA não apresentaram variações na bioquímica sérica e na qualidade da carne. Entretanto, a suplementação de dietas vegetais com Arg ou GAA resultou em maior peso de carcaça e maior rendimento do peito e menor deposição de gordura abdominal em frangos submetidos ao estresse térmico. O uso de Arg e GAA em dietas exclusivamente vegetais como precursor da creatina, pode contribuir para melhores índices zootécnicos e propriedades funcionais da carne de frangos de corte submetidos ao estresse térmico.

Palavras-Chave: aminoácidos, carne, estresse térmico, ganho de peso, glicina, ressíntese de ATP

ABSTRACT

Birds fed diets vegetables depend on the endogenous synthesis of creatine, which requires the participation of amino acids, some of which are considered essential for many physiological and metabolic functions, such as arginine (Arg). The guanidinoacetic acid (GAA) is a food additive, commercially available more effective compared with creatine and Arg, because it is less costly than any of these compounds. The objective was to evaluate the inclusion of guanidinoacetic acid and arginine as a precursor of creatine in vegetable diets on performance, quality and carcass yield of broiler chickens in thermoneutral environment and subjected to heat stress at 42 and 43 days old. 1260 broiler chicks were distributed in a completely randomized design, with four treatments, nine replicates and 35 birds each. The treatments were: T1- diet based on corn and soybean meal; T2- diet from corn, soybean meal and meat meal (3%); T3 diet based on corn and soybean meal plus guanidinoacetic acid (0.8%) and T4 diet based on corn and soybean meal plus L-arginine (0.8%). It was reported the average weight of the birds and the feed intake at 7, 21 and 42 days of age. At 7 days of age, 18 birds were sacrificed by treatment for breast yield and legs. At 42 and 44 days, blood collection was held from 12 birds per treatment for the determination of serum uric acid, urea, creatine, lactate and glucose. The same birds were slaughtered for carcass yield calculation in relation to body weight and yield of noble cuts. The pectoralis major muscle right of each bird was used for pH, color (brightness L *, a * vermellho index and yellow index b *) and the pressure for water loss. The pectoralis major muscle of the left side for analysis of loss on thawing and cooking. Data were analyzed by SAS software. The diets with addition of meat or vegetables plus GAA or L-Arg resulted in higher live weight and percentage of breast meat at 7 days. For the whole period of 1 to 42 days of age, it was observed effect ($p < 0.0002$) on feed conversion in birds diet supplemented with vegetable and meat compared with the other diets. In the remaining parameters were no significant differences between treatments. In birds under heat stress was no significant difference between T1 and T2 diets for cooking loss. In the remaining parameters were no significant differences between treatments. The use of Arg and vegetable diets GAA exclusively as a precursor of creatine, can contribute to improved performance indexes and functional properties of meat of broilers subjected to thermal stress, since the use of animal proteins is increasingly restricted in animal nutrition.

Keywords: amino acids, meat, heat stress, weight gain, glycine, ATP resynthesis

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais nos período inicial de 1 a 21 dias, crescimento de 22 a 37 dias e abate 38 a 44 dias.48

Tabela 2 - Desempenho produtivo de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg51

Tabela 3 - Desenvolvimento muscular (pesos absolutos e relativos) e número e diâmetro da fibra muscular de peitos de frangos de corte aos 7 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg53

Tabela 4 - Desenvolvimento muscular (pesos absolutos e relativos) de pernas de frangos de corte aos 7 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg53

Tabela 5 - Concentração sérica de ácido úrico, creatina, glicose, lactato e uréia em frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg54

Tabela 6 - Peso (g) da carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg55

Tabela 7 - Rendimento (%) de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg55

Tabela 8 - Perdas por cozimento, congelamento e pressão de filés de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg .56

Tabela 9 - Valores de luminosidade L*, índice de vermelho a* e índice de amarelo b* (expressos no sistema de cor CIELAB) e pH de filés de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg.56

Capítulo 2

Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais nos período inicial de 1 a 21 dias, crescimento de 22 a 37 dias e abate 38 a 44 dias70

Tabela 2 - Concentração sérica de ácido úrico, creatina, glicose, lactato e uréia em frangos de corte aos 44 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.....	70
Tabela 3 - Peso (g) da carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte aos 44 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.....	71
Tabela 4 - Rendimento (%) de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte aos 44 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.....	71
Tabela 5 - Perdas por cozimento, congelamento e pressão de filés de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.	72
Tabela 6 - Valores de luminosidade L*, índice de vermelho a* e índice de amarelo b* (expressos no sistema de cor CIELAB) e pH de filés de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.....	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reação de formação e metabolização do GAA e CREA24

Figura 2 - Sistema “lançadeira” da creatina fosfato25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. Metabolismo da Creatina no Tecido Muscular	22
2.2. Suplementação De Argina Como Precursora De Creatina	25
2.3. Suplementação De Ácido Guanidinoacético Como Precursor Da Creatina ..	27
2.4. Metabolismo Muscular E Conversão De Músculo Em Carne.....	30
3. REFERÊNCIAS.....	35
4. OBJETIVOS	41
4.1. Objetivos Especificos	41
5. CAPITULO 1 - ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E ARGININA COMO PRECURSORES DA CREATINA EM DIETAS VEGETAIS PARA FRANGOS DE CORTE SOBRE O DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇAÇA E QUALIDADE DA CARNE.....	42
RESUMO	42
ABSTRACT.....	43
5.1. Introdução	44
5.2. Material e Métodos.....	46
5.3. Resultados e Discussão.....	50
5.4. Conclusão	57
5.5. REFERÊNCIAS.....	58
6. CAPITULO 2 - EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E ARGININA COMO PRECURSORES DA CREATINA EM DIETAS VEGETAIS PARA FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS AO ESTRESSE TÉRMICO NO PERÍODO PRÉ-ABATE.....	61
RESUMO	61
ABSTRACT.....	62

6.1. Introdução	63
6.2. Material e Métodos.....	66
6.3. Resultados e Discussão.....	69
6.4. Conclusão	74
6.4. REFERÊNCIAS.....	76
7. CONCLUSÕES GERAIS.....	79

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior exportador mundial de carne de frango, exportando um volume de 3.918 mil toneladas por ano, sendo seguido pelos Estados Unidos da América com 3.354 mil toneladas e Europa com 1,095 mil toneladas. Em 2013 o Brasil fechou sua produção de carne de frango em 12,3 milhões de toneladas, se tornando o terceiro produtor mundial, ficando atrás dos EUA e China. Da sua produção 68,4% fica no mercado interno e 31,6% é destinada a exportação (ABPA, 2014).

O mercado interno detém 70% da carne de frango produzida no Brasil. As projeções mostram aumento no consumo interno, no período 2008/2009 a 2018/2019, o equivalente a 9,9 milhões de toneladas. O consumo de carne de frango no Brasil chegou a 41,80kg por habitante em 2013 (ABPA, 2014).

Atualmente, cerca de 40% da carne exportada no mundo tem origem no Brasil. Em 2018/2019 as exportações de carne de frango deverão representar 90% do comércio mundial, o que indica que o Brasil continuará a manter sua posição de primeiro exportador mundial de carne de frango (MAPA, 2014).

No Brasil, os estados sul e sudeste são os maiores produtores de frango, sendo o Paraná o primeiro com 31,12% da produção brasileira, seguido por Santa Catarina com 16,66% e Rio Grande do Sul com 16,66% (ABPA, 2014).

A avicultura moderna, resultado da interação entre genética, manejo, ambiência, sanidade e nutrição, atingiu um alto patamar de produção, aumentando o peso da ave aos quarenta e cinco dias de idade em média setenta e duas vezes o seu peso de um dia de idade.

A nutrição é responsável por 60 a 70% do custo de produção, desta forma impacta decisivamente nos índices de produção e tem grande dependência dos preços das matérias primas utilizadas na alimentação animal. A nutrição adequada é a base de todos os programas nutricionais e as estratégias nutricionais são ajustadas de acordo com as necessidades dos consumidores e exigências para maximizar o desempenho produtivo das aves.

As tendências internacionais do mercado são as de imposição de exigências cada vez mais rigorosas à importação de produtos alimentícios (GOTTMANN et al., 2008). Muitos importadores da carne de frango brasileira, como a União Européia e o Oriente Médio, exigem que as aves não recebam alimentação com ingredientes de origem animal nem melhoradores de desempenho (BELLAVAR et al., 2005), o que direciona para a produção de animais alimentados com rações estritamente vegetais.

Outro ponto importante na nutrição animal é a exigência do mercado de alguns países importadores de carne, onde se restringiu o uso de alguns fármacos como melhoradores de desempenho, e o uso de farinhas de origem animal como fonte proteica na ração, cabendo então à nutrição buscar outras opções de matéria prima.

O uso exclusivo de farelo de soja pode representar um fator sensível na disponibilidade de aminoácidos considerados essenciais para as aves. Desta forma, a suplementação de aminoácidos industriais e compostos biológicos poupadores de aminoácidos essenciais pode corrigir essa deficiência, entretanto, devem ser viáveis economicamente e não comprometerem o desempenho produtivo, a rentabilidade e a qualidade da carne.

O ácido guanidinoacético (GAA) é um composto poupador de Arginina (Arg) e Glicina (Gly), pois é precursor direto da creatina (CREA), e desta forma, os aminoácidos precursores poderão ser utilizados mais eficientemente para a síntese protéica, o que pode diminuir a exigência destes aminoácidos na elaboração das dietas, considerando que a Arg se encontra entre os aminoácidos limitantes em dietas a base de milho e soja para aves. (DILGER et al., 2013).

Segundo Wu e Morris (1998) a Arg é ainda necessária para síntese de vários outros compostos importantes tais como ornitina, poliaminas, prolina, óxido nítrico (NO) e citrulina, além de glutamato e agmatina em mamíferos. A Arg é também considerada um potente secretagogo, aumentando a liberação na corrente sanguínea da insulina, hormônio do crescimento e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) (NEWSHOLME et al., 2005).

Para a síntese endógena de CREA, a Arg transfere um grupo guanidino para a glicina, pela ação da amidinotransferase formando ornitina e guanidinoacetato. Numa segunda reação, catalisada pela guanidinoacetato N-metiltransferase, a guanidinoacetato é metilada pela S-adenosimetionina para formar S-

adenosilhomocisteína e CREA (BLOCH e SCHOENHEIMER, 1941). A CREA é liberada pelo fígado e captada, principalmente, pelo tecido muscular onde é estocada como fosfocreatina (PCr) ou convertida para creatinina e ambas as moléculas podem ser excretadas pelos rins

Outra fonte da qual a CREA pode ser obtida é a dietética. Farinhas de origem animal, podem conter quantidades variáveis de CREA, enquanto que somente insignificantes quantidade podem ser obtidas em ingredientes vegetais (MCARDLE; KATCH; KATCH, 1992). Desta forma, a suplementação dietética de GAA pode ser mais efetiva porque é menos onerosa que a suplementação de Arg ou CREA, além de quimicamente ser mais estável.

A suplementação de GAA pode ser particularmente importante em dietas para linhagens de frangos de corte de rápido crescimento inicial devido a grande demanda de energia para o crescimento e o desenvolvimento muscular (BROSNAN et al., 2009).

Metabolicamente, a CREA tem habilidade de ressintetizar Adenosina trifosfato (ATP), isto é, fornecer energia quando ocorre intensa síntese de proteína muscular. A CREA ao perder seu grupamento fosfato libera energia que é utilizada para regenerar a adenosina difosfato (ADP) e fosfato inorgânico em ATP, isto é, a CREA fornece energia para a ressíntese do ATP. Cerca de 95% da CREA corporal está armazenada na musculatura esquelética (GREENHAFF, 1997).

Uma vez dentro da célula, a CREA é fosforilada a PCr durante o repouso pela enzima creatina quinase. Essa enzima possui as seguintes funções: criar um reservatório energético prontamente disponível; promover um sistema de transporte de energia onde a PCr seria um carreador de energia; prevenir um aumento do ADP livre intracelular; criar um reservatório de prótons, permitir sinalização para início da glicogenólise no exercício e suprir sítios subcelulares com taxas apropriadas de ATP/ADP (STRYER, 1995)

A reserva energética muscular também é muito importante na regulação da queda do pH *post mortem* (PETRACCI et al., 2001). Animais com desenvolvimento muscular acelerado podem ter alterações na velocidade da glicólise, o que pode acarretar alterações nas características de qualidade da carne. Adicionalmente, aves submetidas ao estresse por calor usam mais rapidamente suas reservas de glicogênio, o que pode resultar em seu esgotamento *in vivo*, que por sua vez gera

consequências negativas sobre as propriedades funcionais da carne (MCKEE e SAMS, 1997).

Carne PSE é uma denominação originária das iniciais das palavras da língua inglesa *Pale, Soft e Exudative* que, em tradução literal significa, carnes com características pálida ou amarelada, flácida ou mole e exsudativa ou molhada, respectivamente (KOMIYAMA, 2006). Na prática, é o resultado das condições de manejo *ante-mortem* mal conduzidos e estressantes a que são submetidos os animais, provocando um *rigor-mortis* acelerado (BARBUT, 1998; KOMIYAMA, 2006). Explica-se o fenômeno pela combinação de baixo pH, em geral menor do que 5,8 com elevada temperatura muscular, acima de 35°C, resultando na desnaturação das proteínas provocando, em consequência, o surgimento da carne amaciada, sem aderência e descolorida, com propriedades funcionais comprometidas. Isto ocorre em função de uma rápida transformação metabólica do glicogênio em ácido lático alcançando pH final antes do resfriamento da carcaça, o que faz com que a carne se torne pálida. (KOMIYAMA, 2006).

As condições climáticas são as que mais diretamente afetam as aves, por comprometer a manutenção da homeotermia, que é uma função vital (OLIVEIRA et al., 2006). O desequilíbrio fisiológico causado por altas temperaturas e umidade relativa do ar, no período *ante mortem*, tem efeito direto sobre as reservas de glicogênio muscular, responsáveis pelo desenvolvimento das reações bioquímicas *post mortem* (PETRACCI et al., 2001), que determinarão a qualidade da carne e suas propriedades funcionais.

Estudos, visando o melhor entendimento da influencia do efeito estimulatório da Arg ou GAA como precursores da CREA sobre o desenvolvimento muscular e a relação com as propriedades funcionais da carne de frangos de corte submetidos ao estresse térmico, são importantes para que estratégias possam ser empregadas para aumentar a eficiência de crescimento do músculo e melhor qualidade da carne.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Um terço da produção global de carne consiste de produtos de aves. Este setor produz uma série de fontes diversificadas e acessíveis de proteína – frangos, perus, ovos, patos, etc. Com as mudanças no cenário agrícola e com o crescimento da população mundial, o maior desafio a ser enfrentado é assegurar maior produtividade dos lotes de aves para atender a demanda por alimentos.

Os gastos com alimentação representam em torno de 70% do custo total de produção das aves, gerando a necessidade de se buscarem novas alternativas que atendam às exigências nutricionais dos animais nas diferentes fases de produção. Conhecendo os valores nutricionais dos alimentos alternativos, pode-se utilizá-los de maneira correta, reduzindo os custos das rações (VIEITES, 1999).

O mercado consumidor de alimentos exige um nível de qualidade superior para os produtos que adquire, introduzindo requisitos de análises e padrões de qualidade a serem seguidos pela cadeia de produção, integrando uma rigorosa rastreabilidade, que controla desde a matéria prima fornecida na nutrição das aves até o produto final na prateleira. Devido às exigências destes mercados importadores de carne de frango, o uso de proteína animal, como as farinhas resultantes do abate de aves, suínos e bovinos na formulação de dietas para frango de corte é limitado. Desta forma, as dietas de frangos de corte são elaboradas basicamente com milho e farelo de soja e essa restrição pode comprometer o balanço adequado de nutrientes e limitar principalmente o desenvolvimento muscular de frangos de corte.

O uso exclusivo de farelo de soja pode representar um fator sensível na disponibilidade de aminoácidos considerados essenciais para as aves. Desta forma, a suplementação de aminoácidos industriais e compostos biológicos poupadores de aminoácidos essenciais pode corrigir essa deficiência, entretanto, devem ser viáveis economicamente e não comprometerem o desempenho produtivo, a rentabilidade e a qualidade da carne.

2.1. METABOLISMO DA CREATINA NO TECIDO MUSCULAR

A CREA, ácido α -metilguanidinoacético, é um composto aminoacídico atípico encontrado naturalmente nos alimentos principalmente nas carnes e nos peixes. Em humanos, 95% da CREA total são encontrados no músculo esquelético. Os 5% restantes se distribuem entre o encéfalo, fígado, rins e testículos. No entanto, apenas metade da necessidade corporal diária de CREA (~1 g/dia) é obtida na dieta, o restante é obtido por meio de síntese endógena de CREA (WILLIANS et al., 2000; DEMINICE et al, 2009).

Na síntese endógena esse composto nitrogenado inicia seu ciclo de formação nos rins. O primeiro passo na síntese de CREA envolve a transferência reversível do grupo amidino da Arg para Gly a fim de formar GAA e ornitina em uma reação catalisada pela enzima arginina: glicina amidinotransferase (AGAT). Tal reação ocorre nos rins e posteriormente o GAA é transportado da corrente sanguínea para o fígado (BLOCH e SCHOENHEIMER, 1941). Em seguida (Figura 1), ocorre a transferência irreversível, de um grupo metila da metionina (Met) através da S-adenosilmetionina (AdoMet) para o GAA, reação catalisada pela enzima guanidinoacetato N-metiltransferase (GAMT), sintetizando finalmente S-adenosilhomocisteína (AdoHcy) e CREA (WALKER, 1960; WILLIANS et al., 2000; PERSKY e BRAZEAU, 2001).

Em mamíferos, a formação do GAA mediante a enzima AGAT ocorre nos rins e, portanto, o ácido deve ser transportado pela corrente sanguínea para o fígado, onde ocorre o acoplamento do grupo metila da Met. Ao contrário do que acontece nos mamíferos, nas aves estas duas etapas ocorrem no mesmo órgão, o fígado, possivelmente, esta seja a razão da CREA dietética induzir maiores respostas positivas em aves que em alguns mamíferos (WALKER, 1960).

A CREA adquirida pela dieta é absorvida na sua forma molecular intacta no intestino, após sua absorção intestinal, a CREA é liberada para os vários tecidos do corpo, incluindo o coração, musculatura lisa, cérebro e testículos. Entretanto, a grande maioria dos estoques corporais encontra-se localizada nos músculos esqueléticos. (SOUZA et al., 2006)

O armazenamento da CREA ocorre tanto na forma livre quanto na fosforilada. Cerca de 95% da CREA corporal está armazenada na musculatura

esquelética. Desta quantidade, cerca de 60-70%, é armazenada na forma de PCr, que é incapaz de passar por membranas, mantendo, dessa forma, a CREA na célula (GREENHAFF, 1997), enquanto os 30-40% restantes permanecem como creatina livre. Entretanto, há diferenças na concentração intracelular de CREA nos vários tipos de fibras musculares. Em músculos constituídos por fibras predominantemente brancas (metabolismo glicolítico), contém 31% mais PCr que aqueles com predominância de fibras vermelhas (metabolismo oxidativo).

A PCr é formada quando um grupo fosfato rico em energia é removido do ATP e ligado a CREA pela creatina quinase (CK) em uma reação reversível (Figura 2). O ciclo de fosforilação da CREA e PCr é extremamente importante para distribuição manutenção de energia nas células (GUIMARÃES-FERREIRA, 2014). A CK facilita a troca de grupos fosfato de alta energia entre a CREA e a PCr, utilizando assim ATP e ADP como intermediários metabólicos (GUIMARÃES-FERREIRA, 2014; BROSANAN e BROSANAN, 2010; WYSS e KADDURAH-DAOUK, 2000).

A CK é composta por quatro isoformas observadas no citosol dos músculos (CK-M) e cérebro (CK-B), e nas mitocôndrias dos músculos e de todos os outros tecidos (Cit-MIT) (GUIMARÃES-FERREIRA, 2014; WYSS e KADDURAH-DAOUK, 2000). É através da compartimentalização da CK que permite a CREA a teoria do "lançamento" (GUIMARÃES-FERREIRA, 2014; WYSS e KADDURAH-DAOUK, 2000).

A teoria "do lançamento" é o movimento cíclico de ATP e ADP através da utilização de PCr. Esse mecanismo tem início com a formação de ATP na mitocôndria, em seguida a CK mitocondrial cliva fosfato do ATP formando ADP e PCr. A PCr, devido principalmente ao tamanho e facilidade de difusão (MINAJEVA et al., 1996; YOSHIZAKI et al., 1990), move-se a partir da mitocôndria para o citoplasma, onde é clivada formando CREA e ATP a partir do ADP. O ATP regenerado é convertido novamente em ADP por uma ATPase muscular e o grupo fosfato gerado é utilizado para o trabalho metabólico, como a contração do músculo. A CREA difunde-se de volta para a mitocôndria para ser usada novamente no ciclo (GUIMARÃES-FERREIRA, 2014; WYSS e KADDURAH-DAOUK, 2000).

Desta forma, sem a suplementação adequada de Arg, não somente a síntese de proteica muscular poderia ser prejudicada, mas também a distribuição ATP nos músculos.

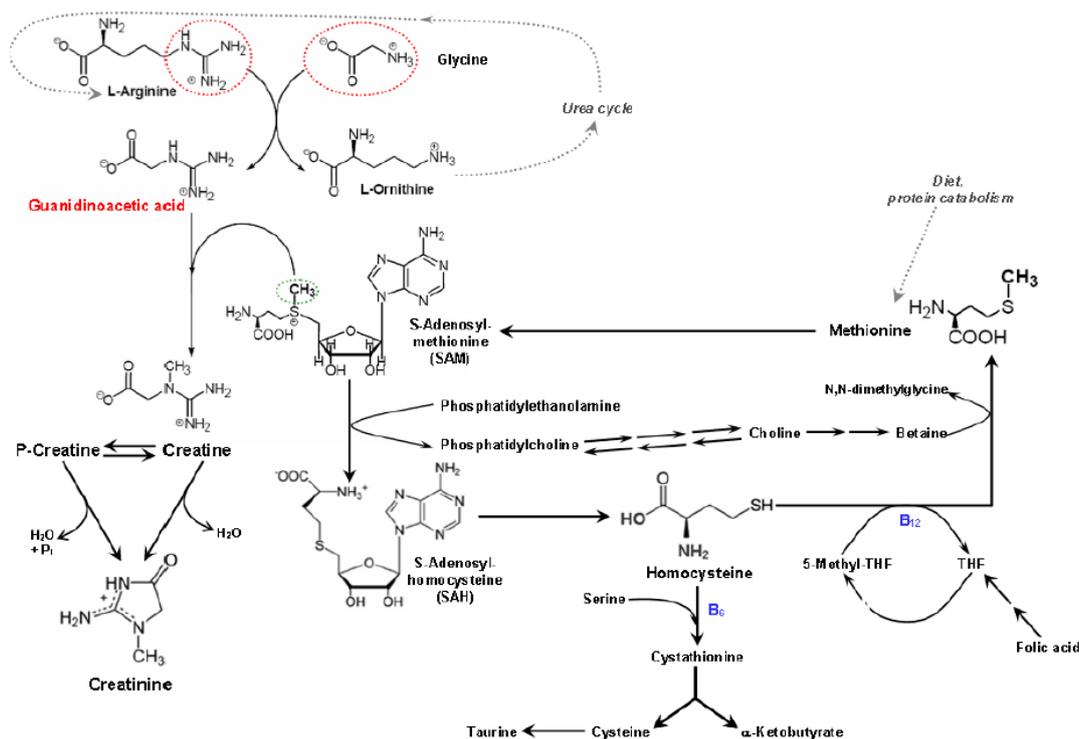


Figura 1 - Reação de formação e metabolização do GAA e CREA

Fonte: EFSA (2009).

Uma vantagem da síntese hepática de CREA para os mamíferos é que a ornitina, gerada nesta reação, pode ser reciclada a Arg, assim, este processo não seria “consumidor” de Arg (BROSNAN e BROSNAN, 2004). As aves, porém, não podem reciclar a Arg, via ornitina, uma vez que não possuem carbamilsfosfatasesintetase e ornitincarbamiltransferase, enzimas necessárias para esta reação.

Os níveis de CREA são mais baixos em humanos vegetarianos, que estão privados do fornecimento de CREA exógena. (DELANGHE et al., 1989; MACCORMICK et al., 2004).

Em dietas exclusivamente vegetais, a exigência de Arg para a síntese de CREA é aumentada, uma vez que os vegetais não se constituem em fontes de CREA. Por outro lado, os subprodutos de origem animal são fontes ricas de CREA e dietas suplementadas com estes ingredientes podem ser consideradas “economizadoras” de Arg no metabolismo das espécies uricotélicas.

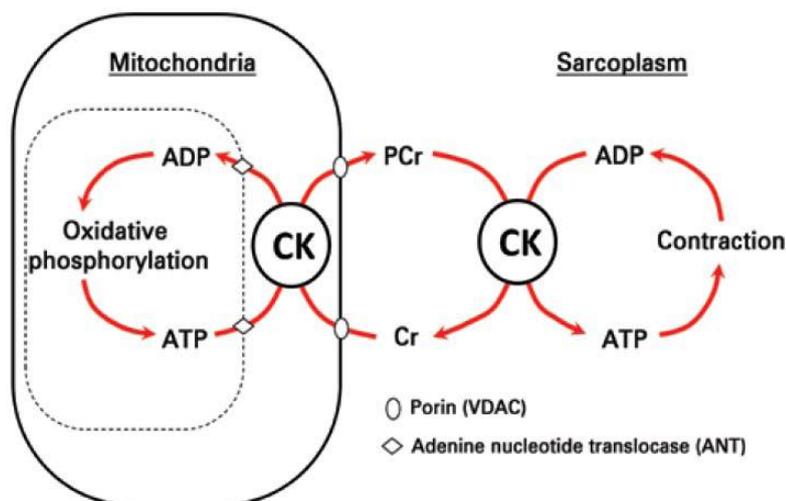


Figura 2 - Sistema “lançadeira” da creatina fosfato

Fonte: Adaptado de Guimaraes-Ferreira (2014).

2.2. SUPLEMENTAÇÃO DE ARGINA COMO PRECURSSORA DE CREATINA

A Arg é considerada um aminoácido essencial para aves, devido a capacidade insuficiente de produzir Arg *de novo*, e por isso exigem cerca de duas vezes mais Arg que suínos. As aves não sintetizam citrulina e por isso não podem fazer a conversão renal de citrulina para Arg aves (TAMIR e RATNER, 1963; BOORMAN e LEWIS, 1971). Além disso, por serem animais uricotélicos, o ciclo bioquímico da uréia (Ciclo de Krebs-Henseleit) não é funcional em aves e por isso apresentam o metabolismo de Arg completamente diferente dos mamíferos (TAMIR e RATNER, 1963; BAKER, 1991).

As aves são totalmente dependentes da Arg dietética e entre as espécies animais estudadas, são as que têm a mais alta exigência de Arg (BALL et al., 2007), que se deve, além da falta de síntese endógena, a alta taxa de deposição protéica pelo rápido crescimento das atuais linhagens de corte e o antagonismo com a lisina (Lys).

Wu e Morris (1998) descrevem a Arg como “um dos mais versáteis aminoácidos nas células animais”. De fato, a Arg é requerida para síntese de várias

compostos tais como ornitina, poliaminas, prolina, creatina, síntese de proteínas, NO e citrulina, além de glutamato e agmatina em mamíferos. A Arg é também considerada um potente secretagogo, aumentando a liberação na corrente sanguínea da insulina, hormônio do crescimento e IGF-I (NEWSHOLME et al., 2005), devido à rápida despolarização da membrana plasmática ligada ao transporte de aminoácidos com a cadeia lateral positiva

O IGF-I está envolvido em numerosos eventos anabólicos e catabólicos do músculo esquelético, como a agregação de proteína miofibrilar pela combinação dos efeitos sobre a síntese e a degradação protéica, e a diferenciação e proliferação das células satélite (FLORINI et al., 1996), fundamentais no processo de hipertrofia muscular.

Estudos mostraram que Arg melhora as funções do sistema digestivo em mamíferos e aves, reduz a permeabilidade intestinal devido ao seu papel na produção de NO e auxilia na reparação de danos do trato digestivo, Arg também aumenta a diferenciação celular e número de enterócitos do jejuno e assim a digestão de carboidratos e proteínas (UNI e FERKET, 2003).

Dieta suplementada com Arg em níveis acima do os recomendados para a fase de crescimento pode ser necessárias para melhor desenvolvimento muscular em frangos de corte (FERNANDES et al., 2009).

Os chamados aminoácidos funcionais, que incluem Arg, cisteína, glutamina, leucina, prolina e triptofano, podem maximizar a eficiência da alimentação e a agregação de proteínas, reduzir adiposidade, e melhorar a saúde de seres humanos e animais (WU et al., 2011).

Gadelha (2004) comprovou que a suplementação de Arg em níveis elevados (2,06%) pode contribuir para reduzir problemas de perna de aves e em problemas devido ao estresse por calor se mantidas relações de 1,05 a 1,1 com Lys.

Estudo inicial mostrou que o uso de dietas de frango deficientes em Arg resultou em redução significativa não só no rendimento de peito e perna, mas rendimento também em CREA muscular (KRATZER e EARL, 1975). A CREA é um composto orgânico original que está envolvido no metabolismo da proteína é responsável pelo fornecimento de energia muscular (KHAJALI e WIDEMAN, 2010; CHEN et al, 2011).

A adição de L-Arg em dietas de aves também mostrou ser efetiva no combate aos radicais livres em excesso que são produzidos durante o metabolismo

normal (ATAKISI et al., 2009) e para aliviar os efeitos negativos do estresse térmico (ATTIA et al., 2011).

Srinongkote et al., (2004) também demonstraram que a suplementação da dieta com Arg reduziu os efeitos negativos do estresse crônico por calor e alta densidade de alojamento em frangos de corte.

Fernandes et al. (2009) observaram melhorias significativas no peso do peito, peso do file do peito e aumento no diâmetro da fibra muscular de frangos de corte, quando alimentados com dietas suplementadas com L-Arg ao nível de 0,1, 0,2 ou 0,3% de 1 a 21 dias de idade em comparação com as dietas de controle.

Al-Daraji et al., (2011) observaram uma significativa redução da porcentagem de gordura abdominal e uma significativa melhoria no rendimento de carcaça, músculo do peito e perna de codornas suplementadas com Arg.

2.3. SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO COMO PRECURSOR DA CREATINA

Compostos biológicos poupadores de aminoácidos essenciais podem ser incluídos nas dietas desde que sejam viáveis economicamente e não comprometam o desempenho produtivo e a rentabilidade e qualidade da carne.

O GAA é um composto poupador de Arg e Glicina, pois é precursor direto da CREA, e desta forma, estes aminoácidos poderão ser utilizados mais eficientemente para a síntese protéica, o que pode diminuir a exigência aminoacídica na elaboração das dietas e resultar em maior produção de carne.

A síntese de novo de GAA representa 40-60% do total da CREA produzida em ratos (GOLDMAN e MOSS, 1959), indicando que uma grande quantidade de Arg é utilizada para a produção de GAA.

Desta forma, Arg é o substrato limitante na produção de GAA, o que pode ser problemático se os animais foram alimentados com dietas deficientes em Arg. Nos mamíferos isso não é uma preocupação, pois a síntese de Arg é eficiente e contínua a partir do glutamato. Nas aves e em outros animais uricotélicos, no entanto, podem surgir muitas consequências metabólicas, como diminuição do

crescimento, prejuízos em algumas funções metabólicas e menor desenvolvimento muscular (WIETLAKE et al., 1954).

Trabalhos de pesquisa a cerca do efeito da suplementação de creatina ou ácido guanidinoacético ainda são bastante restritos. Ringel et al., (2008) propuseram que o ácido guanidinoacético pode ter propriedades promotoras sobre o crescimento e eficiência alimentar quando adicionado em dietas a base de milho e farelo de soja em frangos de corte.

Ringel et al., (2008) relataram que o uso do GAA em dietas iniciais para pintos de corte, contribuiu significativamente com o melhor desempenho produtivo, mesmo quando alimentados com dietas a base de milho e farelo de soja e adequadas em L-Arg.

Halle et al., (2006) encontraram efeitos inconsistentes sobre o desempenho produtivo e nenhum efeito da CREA (0.5–10 g/kg) sobre os atributos de qualidade da carne. Stahl et al., (2003) encontraram apenas melhora na conversão alimentar pelo uso de CREA na dieta das aves. Já, Murakami et al., (2013) relataram melhora no ganho de peso e conversão alimentar da progênie de codornas suplementas com GAA.

Lemme et al., (2007) suplementaram GAA nas rações de frangos de corte e mostraram aumento gradual no conteúdo de CREA muscular. Uma hora *post-mortem*, o conteúdo de ATP muscular foi significativamente maior quando comparado àqueles que não receberam GAA, provavelmente devido a melhoria no metabolismo energético celular.

Bryant-Angeloni (2010) suplementou a dieta de frangos de corte com 1,2% de GAA e encontrou melhor desempenho mesmo com o nível adequado de Arg. O autor conclui que a razão para esta resposta positiva do GAA pode ser atribuída ao efeito poupador de Arg, entretanto considera que mais estudos devem ser desenvolvidos para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos.

Já Stahl et al., (2003) e Nissen e Young (2006) observaram alteração do pH e luminosidade da carne do peito de frangos quando suplementados com o GAA. Por outro lado, Ringel et al., (2008) relataram maior rendimento de peito pela suplementação dietética com o GAA (0,6 e 1,2 g/kg). Michiels et al., (2012) utilizaram GAA nas mesmas concentrações e observaram aumento da CREA muscular. A suplementação de dietas vegetais com GAA, segundo estes autores, melhora o desempenho e as características de carcaça sem comprometer atributos importantes

como a capacidade de retenção de água. A suplementação de GAA pode ser particularmente importante em dietas para linhagens de frangos de corte de rápido crescimento inicial devido a grande demanda de energia para suprir os níveis de CREA muscular (BROSNAN et al., 2009) e ressíntese de ATP a partir da CREA pela fibra muscular cardíaca de frangos dessas linhagens modernas (NAIN et al., 2008).

O GAA pode ser aditivo mais eficiente em comparação com a creatina porque é menos oneroso e é quimicamente mais estável. O GAA é um precursor imediato da CREA, que requer apenas uma transferência de grupo metil da S-adenosil-metionina para a conversão em CREA (BAKER 2009). Assim, a suplementação de GAA nas dietas de frangos de corte tem efeito poupador de Arg e Gly. A Arg, aminoácido essencial para as aves, é o quinto aminoácido limitante em dietas a base de milho e soja para aves (DILGER et al., 2013), principalmente em dietas com redução de proteína bruta. Por outro lado, a Gly considerada aminoácido condicionalmente essencial, além das inúmeras funções na síntese proteica, participa do metabolismo dos ácidos biliares (ácido glicocólico), da glutatona e exerce importante função na excreção de nitrogênio pelo fornecimento de dois átomos de carbono e um de nitrogênio para a síntese de ácido úrico (KIDD e KERR, 1996; MAPES e KREBS, 1978).

O GAA também pode ser favorável em animais de rápido crescimento devido à sua elevada necessidade de fornecer CREA para os músculos em crescimento (BROSNAN et al., 2009) e porque a regeneração de ATP a partir do sistema CREA e PCr foi demonstrado ser vital no desempenho cardíaco (NAIN et al., 2008). É importante ressaltar, que em linhagens de rápido crescimento pode haver quadro de débito cardíaco seguido de morte súbita (síndrome da morte súbita) devido à ineficiência do sistema cardio-respiratório atender a demanda em oxigênio. Além disso, em quadros de estresse térmico, são desencadeados ajustes fisiológicos, tais como no ritmo cardíaco e respiratório os quais ocorrem durante a exposição do animal a condições adversas na tentativa de manter a homeostase orgânica (HEDRICK et al., 1994), o que exige uma demanda cardíaca superior à fisiológica.

Coletivamente, os resultados de pesquisa indicam que o GAA pode servir como um composto comercialmente viável para melhorar o desempenho do crescimento de frangos de corte por ser poupador de Arg e para uso na síntese proteica e também a reserva energética do músculo.

Entretanto, é necessário estudar os efeitos metabólicos no organismo, uma vez que a metilação do GAA à CREA consideravelmente aumenta a demanda de metilação (STEAD et al., 2006), o que pode induzir ao acúmulo de homocisteína no sangue (SETOUE et al., 2008) ou a uma deficiência de metionina, colina, ácido fólico, vitamina B12 ou a combinação destes compostos envolvidos nas reações de metilação, dependendo da disposição dietética destes nutrientes. A AdoMet é principal doador biológico de grupos metila (metilação) para vários substratos endógenos (FINKELSTEIN e MARTIN, 2000). Decorrente das reações de metilação é gerada a AdoHcy, a qual é simultaneamente hidrolisada produzindo adenosina e homocisteína (FRIEDMAN et al., 2001). Em humanos, a síntese de creatina utiliza uma alta porcentagem dos grupos metila derivados da AdoMet e, portanto, é responsável da formação de mais do 70% da homocisteína total (STEAD et al., 2006)

Altos níveis de homocisteína nos tecidos de suínos, ratos e humanos têm demonstrado induzir à formação de espécies reativas de oxigênio (HUANG et al., 2001; BYDLOWSKI et al., 1998; YOUNG et al., 1997), os quais podem danificar qualquer classe de estrutura celular e promover um *stress* oxidativo (desequilíbrio entre radicais livres e moléculas antioxidantes).

2.4. METABOLISMO MUSCULAR E CONVERSÃO DE MÚSCULO EM CARNE

A qualidade da carne de aves é avaliada pela sua aparência, textura, suculência, sabor e funcionalidade. Destes, os mais importantes tradicionalmente tem sido a aparência e textura sendo os parâmetros que mais influenciam na satisfação do consumidor com relação aos produtos de carne de aves.

O desenvolvimento do músculo esquelético em vertebrados é um processo bem organizado que envolve diversos eventos, inicia na fase embrionária e continua durante toda a vida. Esses processos biológicos envolvem a adesão celular, migração celular e a interação célula-célula (BUCKINGHAM et al., 2003).

A massa muscular é determinada, principalmente, pelo número de fibras musculares e pelo tamanho dessas fibras. Animais com maior número de fibras

musculares de tamanho moderado produzem carnes de melhor qualidade. Durante a miogênese, o número de fibras musculares é determinado pelos fatores genéticos e ambientais (REHFELDT et al., 2000).

O crescimento da fibra muscular apresenta quatro etapas: formação dos mioblastos, fusão dos mioblastos para formar miotubos, diferenciação dos miotubos para formar miofibras e crescimento das miofibras. As três primeiras etapas ocorrem somente durante o desenvolvimento pré-natal, e a última etapa ocorre antes e após eclosão. No entanto, há evidências de que pode haver pequeno aumento do número de miofibras no período pós eclosão, através de células satélites. O número de células satélites diminui durante o processo de crescimento e aumenta nos processos de regeneração (GONZALES; SARTORI, 2002).

Nos frangos de corte, o músculo peitoral, de cor branca, tem predominantemente fibras de contração rápida e glicolítica e, histologicamente, apresenta-se com pequena densidade de capilares sangüíneos e contêm pequeno número de mitocôndrias. Os músculos vermelhos, da coxa e sobrecoxa, por outro lado, são ricamente vascularizados e com grande número de mitocôndrias em suas fibras, principalmente do tipo contração lenta e oxidativa e contração rápida e oxidativa (MACARI et al., 1994). Sendo assim o musculo peitoral dos frangos de corte, necessitam de um grande aporte de energia, ou seja, a CREA, que é convertida no metabolismo em creatinina para gerar ATP e ADP.

Há diferenças na concentração intracelular de creatina nos vários tipos de fibras musculares. Músculos constituídos por fibras predominantemente brancas (glicolíticas) como as que compõem a musculatura do peito (*pectoralis major* e *pectoralis minor*) contêm 31% mais creatinina que o músculo *flexor longo do hálux* da perna, músculo com predominância de fibras vermelhas (oxidativo).

A energia no tecido muscular é armazenada na forma de PCr e glicogênio. O ciclo do ácido cítrico, que ocorre no interior das mitocôndrias, desempenha papel central nos mecanismos metabólicos de obtenção de energia das células. Na presença de oxigênio, a degradação do glicogênio muscular se dá via glicólise aeróbica, onde o ácido pirúvico produz acetil-CoA (GUYTON, 1998). Na primeira etapa do ciclo, a enzima citratossintase, catalisa a reação de condensação do acetil-CoA juntamente com o oxaloacetato, produzindo o citrato, formando, em última instância, CO₂ e H₂O e liberando energia na forma de ATP. Já no *post mortem*, com ausência de oxigênio, a degradação do glicogênio muscular ocorre via glicólise

anaeróbica e leva à formação de ácido láctico a partir do piruvato, reduzindo o pH muscular. Essa redução é necessária para uma correta maturação da carne no processo denominado conversão do músculo em carne.

Neste sentido, a reserva energética muscular é muito importante na regulação da queda do pH *post mortem*. Animais com desenvolvimento muscular acelerado podem ter alterações na velocidade da glicólise, o que pode acarretar alterações nas características de qualidade da carne. Adicionalmente, aves submetidas ao estresse por calor usam mais rapidamente suas reservas de glicogênio e, portanto, são dependentes da velocidade de ressíntese de ATP pelo ADP, via sistema CREA e PCr, o que pode resultar em seu esgotamento *in vivo*, que por sua vez gera consequências negativas sobre as propriedades funcionais da carne.

As linhagens comercializadas e criadas atualmente são geneticamente melhoradas para rápido crescimento e máximo desempenho, constituindo o objetivo principal da indústria avícola. O constante melhoramento genético aplicado sobre as populações na avicultura industrial resulta em mudanças no crescimento das linhagens disponíveis no mercado brasileiro, como também no desenvolvimento da carcaça e dos principais cortes comerciais e em animais com metabolismo mais acelerado (LAGANA, 2005). Por outro lado, sua capacidade termorreguladora parece ser deficiente para enfrentar condições de altas temperatura e umidade (LAGANA, 2005) considerando o sistema intenso de criação em alta densidade.

Essas condições podem afetar as características de qualidade tecnológica e sensorial da carne de maneira irreversível, tanto para o processamento como para o consumo *in natura*. O glicogênio muscular tem um papel primário na conversão do músculo em carne, expressando diferentes níveis de qualidade da mesma. Os dois problemas mais comuns são a carne PSE (pálida, mole e exsudativa) e a carne DFD (escura, dura e seca), sendo ambas resultantes do metabolismo *post mortem*. A condição PSE é muito mais importante economicamente pelo comprometimento do processamento de produtos industrializados (KOMIYAMA, 2006).

A condição PSE em aves também é caracterizada pelo processo de *rigor-mortis* acelerado, com pH baixo (menor que 5,80) e uma temperatura muscular elevada (acima de 35°C), levando à desnaturação das proteínas miofibrilares (SOSNICKI et al., 1998). OLIVO et al., (2001) constataram que em frangos pode-se obter valores de pH abaixo de 5,8 em até 15 minutos *post-mortem*, indicando que o

rigor-mortis é mais acelerado que em suínos, cujo pH final é atingido após 45 minutos.

Nos animais estressados pouco tempo antes do abate, o pH final da carne é atingido antes de completar uma hora *post mortem* devido à alta velocidade da glicólise. Este fenômeno pode levar à ocorrência da anomalia carne PSE (cor pálida, textura mole, exsudativa). As carnes PSE apresentam coloração mais clara porque a baixa capacidade de retenção de água faz com que pigmentos, como a mioglobina, sejam carregados junto com a água para fora das células. Também, o acúmulo de água nos espaços extracelulares resulta em menor absorção e maior refração da luz (LAWRIE, 2005).

O desequilíbrio fisiológico causado por altas temperaturas e umidade relativa do ar, no momento do abate, tem efeito direto sobre as reservas de glicogênio muscular, responsáveis pelo desenvolvimento das reações bioquímicas *post mortem* (PETRACCI et al., 2001)

Barbut (1997) verificou que a ocorrência de PSE na carne de frangos de corte varia de 0 a 28% em diferentes plantas de abate. Barbut (1998) e Vimini (1996) encontraram situação semelhante em outros estudos, em que a incidência de PSE em filés de peito de frango variou de 2 a 20% dependendo das condições ambientais.

As condições de manejo pré-abate a que são submetidas as aves, como transporte, temperatura, umidade relativa do ambiente, são fatores que conduzem ao estresse, influenciando a qualidade da carne e aumentando a incidência de carnes PSE (SAMS, 1999). Segundo McCurdy et al., (1996) e Barbut (1998), a incidência de PSE em perus é maior nos meses de verão, quando a temperatura ambiente é elevada, sugerindo a susceptibilidade das aves ao estresse térmico. Da mesma forma, McKee e Sams (1997) sugeriram que o estresse térmico sazonal acelera o metabolismo *post-mortem* e mudanças bioquímicas no músculo, produzindo assim carnes de perus com características PSE.

Mugler e Cunningham (1972) revisaram muitos dos fatores que afetam a cor da carne de aves, tais como sexo, idade, linhagem, procedimentos de processamento, exposições químicas, temperatura de cozimento, irradiação e condições de congelamento. Todos estes fatores foram associados como causadores de alterações na cor da carne de aves. Em alimentos, a análise da cor é determinada por escalas de cores (HunterLab, CIELAB entre outras). Este sistema

compõe-se de três variáveis: L* (luminosidade), a* (teor de vermelho), b* (teor de amarelo).

O trabalho de Bianchi et al., (2007) evidenciou que a incidência de carnes pálidas e com propriedades funcionais prejudicadas é maior no verão, demonstrando a influência do calor para a ocorrência da baixa qualidade em carne de frangos.

Portanto, grande parte dessas alterações pode ser relacionada com a aceleração do metabolismo ocorrido em razão do aumento da exigência metabólica dos animais selecionados para a produção de carne. A energia armazenada no tecido muscular é de fundamental importância para prevenir ou contornar os possíveis problemas e prejuízos na qualidade de carne. Entretanto, cabe à pesquisa científica direcionar esforços no sentido de compreender os mecanismos envolvidos na maior disponibilidade de energia para o crescimento muscular e a conversão do músculo em carne. A nutrição tem papel relevante neste cenário.

3. REFERÊNCIAS

ABPA – Associação Brasileira de Avicultura, dados agronegócios, Relatório anual de 2014.

AL-DARAJI, H.J., A.A.; AL-MASHADANI, W.K.; AL-HAYANI, A.S. et al., 2011. Influence of in ovo injection of L-arginine on productive and physiological performance of quails. *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.*, 7: 463-467.

ATAKISI, O.; ATAKISI AND E.; KART, A., 2009. Effects of dietary zinc and L-arginine supplementation on total antioxidants capacity, lipid peroxidation, nitric oxide, egg weight and blood biochemical values in Japanese quails. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 132: 136- 143.

ATTIA, Y.A.; HASSAN, R.A., TAGEL-DIN, A.E. et al., 2011. Effect of ascorbic acid or increasing metabolizable energy level with or without supplementation of some essential amino acids on productive and physiological traits of slow growing chick exposed to chronic heat stress. *J. Anim. Physiol. J. Anim. Nutr.*, 95: 744-755.

BAKER, D.H.; MOLITORIS, R. A. 1991. Partitioning of nutrients for growth and other metabolic functions: Efficiency and priority considerations. *Poult. Sci.* 70:1797-1805.

BAKER, D. H. 2009. Advances in protein-amino acid nutrition of poultry. *Amino Acids*, 37:29-41.

BALL, R. O.; URSCHEL, K. L.; PENCHARZ, P. B. 2007. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism. *J. of Nutr*, v. 137, n. 6, p. 1626-1641.

BARBUT, S. 1997. Problem of pale soft exudative meat in broiler chickens. *British Poult Sci*, Edinburgh; 38:355-358.

BARBUT, S. 1998. Estimating the magnitude of the PSE problem in poultry. *J. Muscle Foods*, Trumbull; 9:35-49.

BELLAVER, C.; COSTA, C.A.F.; FRAHA, V.S.A. et al., 2005. Substituição de farinhas de origem animal por ingredientes de origem vegetal em dietas para frangos de corte. *Ciê. Rur.*, v.35, p.671-677.

BIANCHI, M; PETRACCI, M; SIRRI, F. et al., 2007. The influence of the season and Market class of broiler chickens. *Poult Sci*, Ithaca, v.86, p.959- 963.

BLOCH, K.; SCHOENHEIMER, R. 1941. The biological precursors of creatine. *J. Biol. Chem.* 138, 167–194

BOORMAN, K. N.; LEWIS, D. 1971. Protein metabolism. Pages 339–372 in: Vol. I, *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. D. J. Bell and B. M. Freeman, ed. Academic Press, New York, NY.

BROSNAN M. E, BROSNAN J. T. 2004. Renal arginine metabolism. *J. Nutri.*, 134: 2791–2795.

BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E. 2010. Creatine metabolism and the urea cycle. *J. Molecu. Genet. and Metab.*, v. 100, 49–52.

BROSNAN, J. T.; WIJEKOON, E. P.; WARFORD-WOOLGAR, L. et al., 2009. Creatine synthesis is a major metabolic process in neonatal piglets and has important implications for amino acid metabolism and methyl balance. *J. Nutri.*, 139:1292-1297.

BRYANT – ANGELONI, K.I. 2010. Dietary guanidinoacetic acid spares arginine and dietary l-homoserine spares threonine in the chick. Master of Science in Animal Sciences in the Graduate College of the University of Illinois at Urbana-Champaign.

BUCKINGHAM, M.B.L.; CHANG, T.; DAUBAS, P. et al.,. 2003. The Formation of Skeletal Muscle: From somiteto limb. *J. Anat.*, v.202, p.59-68.

BYDLOWSKI, S.P.; MAGNANELLI. A.C.; CHAMONE. D.A.F. 1998. Hiper Homocisteinemia e doenças vaso-oclusivas. *Arq. Bras. Cardiol.* 71, 69-76.

CHEN, J.; MA, H.; WANG, M. et al., 2011. Creatine Pyruvate Enhances Lipolysis and Protein Synthesis in Broiler Chicken. *Agric. Sci. in China*, 10, 1977-1985

DELANGHE, J.; DESLYPERE, J. P.; DEBUYZERE, M. et al., 1989. Normal referencevalues for creatine, creatinine, andcarnitine are lower in vegetarians. *Clin. Chem.*, 35:1802–1803.

DEMINICE, R.; PORTARI, G. V.; VANNUCCHI, H. et al., 2009. Effects of creatine supplementation on homocysteine levels and lipid peroxidation in rats. *Br J Nutr.*, 102, 110–116.

DILGER, R. N.; BRYANT-ANGEONI, K.; PAYNE, R. L. et al., 2013. Dietary guanidinoacetic acid is na efficacious replacement for arginine for Young chicks. *Poult. Sci.*, 92:171-177.

EFSA. 2009. Scientific opinion of thePanelon Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) on a request from the European Commission on the safety and efficacy of CreAmino (guanidinoacetic acid) as feed additive for chickens for fattening. *EFSA J.* 988:1–30.

FERNANDES, J.I.M; MURAKAMI, A.E.; MARTINS, E.N. et al.,. 2009. Effect of arginine on the development of the pectoralis muscle and the diameter and the protein:deoxyribonucleicacid rate of its skeletal myofibers in broilers. *Poult. Sci.*,88, 1399-1406.

FINKELSTEIN, J.; MARTIN, J. 2000. Homocysteine. *Int J Biochem Cell Biol*, 32, 385–389.

FLORINI, J.R.; EWTON, D.Z.; COOLICAN, S.A. 1996. Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. *Endocrinology Review*, 17: 481-517.

FRIEDMAN, A.N.; BOSTOM, A.G.; SELHUB, J. et al., 2001. The kidney and homocysteine metabolism. *J. Am. Soc Nephrol.*,12, 2181–2189.

GADELHA, A.C. 2004. Resposta produtiva, imune e desenvolvimento ósseo de frangos de corte alimentados com diferentes relações de arginina e lisina digestíveis. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista.

GOLDMAN, R.; MOSS, J. X. 1959. Synthesis of creatine in nephrectomized rats. *Amer. J. Physiol.* 197, 865.

GONZALES, E.; SARTORI, J.R. 2002. Crescimento e metabolismo muscular. In: Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzales, E. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*, cap.21. p.279-297.

GOTTMANN; ROSANA; PEZZATO et al., 2008. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. *Pesq. Agrop. Br.*, 43(12), 1641-1647

GREENHAFF, P.L. 1997. The nutritional biochemistry of creatine. *J Nutr. Biochem.*, 8, 610-618.

GUIMARÃES-FERREIRA, L. 2014. Role of the phospho creatine system on energetic homeostasis in skeletal and cardiac muscles. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil.

GUYTON; ARTHUR, C.; JOHN, E. et al., 1998. *Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças*. Tradução: Charles Alfred Esbérardet al. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

HALLE, I.; HENNING, M.; KOHLER, P. 2006. Studies of the effects of creatine on performance of laying hens, on growth and carcass quality of broilers. *Landbauforschung Volkenrode* 2006; 56:11–18.

HEDRICK, H.B. 1994. *Principles of meat science*. 3.ed. Dubuque: Kendall/Hunt Publishing,. 354p.

HUANG, R.F.; HSU, Y.C.; LIN, H.L. et al., 2001. Folate depletion and elevated plasma homocysteine promote oxidative stress in ratlivers. *J Nutr* ; 131(1):33-8.

KHAJALI, F.; WIDEMAN, R.F., 2010. Dietary arginine: Metabolic, environmental, immunological and physiological interrelationships. *World's Poult. Sci. J.*, 66: 751-766

KIDD, M.T.; KERR, B.J. 1996. L-Threonine for poultry: a review. *Journal of Applied Poultry Research*, 5: 358–367.

KOMIYAMA, C.M. 2006. Caracterização e ocorrência de carne Pálida em Frangos de Corte e seu Efeito na Elaboração de Produtos Industrializados. Botucatu, SP: Universidade Estadual Paulista,. 3p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista.

- KRATZER, F.H.; EARL, L. 1975. Effect of arginine deficiency on normal and dystrophic chickens. *Proc. Sot. Exp. Biol. Med.*, 148: 656-659
- LAGANA, C. 2005. Otimização da produção de frangos de corte em estresse por calor. 180f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- LAWRIE, R.A. 2005. *Ciência da carne*. Trad. Jane Maria Rubensam. 6.ed. Porto Alegre: Artmed,. 384p
- LEMME, A.; RINGEL, J.; STERK, A. et al., 2007. Supplemental guanidinoacetic acid affect energy metabolism of broiler. 16 th European Symposium on Poultry Nutrition, 26 a 30 de Agosto, Strasbourg, França, p. 339 a 342.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. 1994. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, . p. 246.
- MAPA, 2014, Ministério da Agricultura, Pecuária de Abastecimento: Animal, Espécies e Aves.
- MACCORMICK, V. M.; HILL, L. M.; MACNEIL, L. et al., 2004. Elevation of creatine in red blood cells in vegetarians and non vegetarians after creatine supplementation. *Can. J. Appl. Physiol. Rev. Can. Physiol. Appl.* 29:704–713.
- MAPES, J.P.; KREBS, H.A. 1978. Rate-limiting factors in urate synthesis and gluconeogenesis in avian liver. *Biochemistry J.*, 172:193-203.
- MCARDLE, W.D.; KATCH, F.L.; KATCH, V.L. 1992. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,.
- MCCURDY, R.D.; BARBUT, S.; QUINTON, M. 1996. Seasonal effects on pale, soft, exsudative (PSE) occurrence in young turkey breast muscle. *Food Research International, Essex.*, 29(3/4):363-366.
- MCKEE, S. R.; SAMS, A.R. 1997. The effect of season all heat stress on rigor development and the incidence of pale, exudative turkey meat. *Poult. Sci.*, 76 (11) 1616-1620.
- MICHIELS, J.; MAERTENS, L.; BUYSE ,J. et al., 2012. Supplementation of guanidinoacetic acid to broiler diets: Effects on performance, carcass characteristics, meat quality, and energy metabolism. *Poult. Sci.*, 91:402–412.
- MINAJEVA, A.; VENTURA-CLAPIER, R.; VEKSLER, V. 1996. Ca²⁺ uptake by cardiac sarcoplasm icreticulum ATPase in situ strongly depends on bound creatine kinase. *PflugersArch.*;432:904–912
- MUGLER, D.J.; CUNNINGHAM, F.E. 1972. Factors affecting poultry meat color – A review. *World's Poult. Sci. J.* 28(4):400-406
- MURAKAMI, A.E.; RODRIGUEIRO, R.J.B.; SANTOS, T.C. et al., 2013: Ácido guanidinoacético sobre os índices reprodutivos das aves domésticas utilizando

matrizes de codornas para corte como modelo animal. 35 p. Informe Evonik Degussa Brazil.

NAIN, S.; LING, B.; ALCORN, J. et al., 2008. Biochemical factors limiting myocardial energy in a chicken genotype selected for rapid growth. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*; 149:36–43.

NEWSHOLME, P.; BRENNAN, L.; RUBI, B. 2005. New insights into amino acid metabolism, beta-cell function and diabetes. *Clinical Science*, v.108, p.185-194,.

NISSEN, P.M.; YOUNG, J.F. 2006. Creatine monohydrate and glucose supplementation to slow- and fast-growing chickens changes the *post mortem* pH in pectoralis major. *Poult. Sci.*; 85:1038–1044

OLIVEIRA, R.; DONZELE, J.L.; ABREU, M.L.T. et al., 2006. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. *Rev. Br. de Zoot.*, Viçosa, v.35, n.3, p.797-803,.

OLIVO, R.; SOARES, A.L.; IDA, E.I. et al., 2001. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Biochemistry*. 25(4)271-283.

PERSKY, A.M.; BRAZEAU, G.A. 2001. Clinical pharmacology of the dietary supplement creatine monohydrate. *Pharmacol Ver.*; 53(2):161-76.

PETRACCI, M.; FLETCHER, D.L.; NORTHCUTT, J.K. et al., 2001 The effect of holding temperature on live shrink, processing yield, and breast meat quality of broiler chickens. *Poult. Sci.*, Ithaca, v.80, p.670-675.

REHFELDT, C.; FIEDLER, I.; DIETL, G. et al., 2000. Myogenesis and postnatal skeletal muscle cell growth as influenced by selection. *Livestock Production Science*, Amsterdam, v.66, p.177-188.

RINGEL, J.; LEMME, A.; ARAUJO, L.F. 2008. The effect of supplemental guanidineacetic acid in Brazilian type broiler diets at summer conditions. *Poult. Sci.* 87(Suppl. 1):154.

SAMS, A.R. Meat quality during processing. *Poult. Sci.* 1999. 78(4):798-803.

SETOUE, M.; OHUCHI, S.; MORITA, T. et al., 2008. Hyperhomocysteinemia induced by guanidinoacetic acid is effectively suppressed by choline and betaine in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72:1696–1703,.

SOUZA, R.A.; SANTOS, R.M.; OSÓRIO, R.A. et al., 2006. Influência da suplementação aguda e crônica de creatina sobre as concentrações sanguíneas de glicose e lactato de ratos Wistar. *Rev. Br. Med. Esp.*, Rio de Janeiro, v.12, n.6, p.361-5.

SOSNICKI, A.A.; GREASER, M.L.; PIETRZAK, M. et al., 1998. PSE-like syndrome in breast muscle of domestic turkeys: a review. *Journal Muscle Foods*, Trumbull, 9:13-23.

SRINONGKOTE, S.; SMRIGE, M.; TORIDE, Y., 2004. Diet supplied with L-lysine and L-arginine during chronic stress of high stock density normalizes growth of broilers. *Anim. Sci. J.*, 75: 339-343.

STAHL, C.A.; GREENWOOD, M.W.; BERG, E.P. 2003. Growth parameters and carcass quality of broilers fed a corn-soybean diet supplemented with creatine monohydrate. *Int. J. Poult. Sci.*; 2:404–408.

STEAD, L.M.; BROSANAN, J.T.; BROSANAN, M.E. et al., 2006. Is it time to reevaluate methyl balance in humans? *Am. J. Clin. Nutr.* 83:5-10.

STRYER, L. 1995. *Bioquímica*, 4.ed. São Paulo: Guanabara Koogan,.

TAMIR, H.; RATNER, S. 1963. Enzymes of arginine metabolism in chicks. *Archives of Biochemistry and Biophysics*; 102: 249-258.

UNI, Z.; FERKET, R. P. 2003. Enhancement of oviparous species by in ovo feeding. US Patent 6.592.878 B2. 31 Jul. 2001, 15 Jul.

VIEITES, F. M. 1999. Valores energéticos e de aminoácidos digestíveis de farinha de carne e ossos para aves. Viçosa, MG : Universidade Federal de Viçosa, 1999. 75p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa.

VIMINI, R. J. 1996. Overview of typical poultry meat in relation to PSE pork from a global level. In: IFT ANNUAL MEETING, NEW ORLEANS, LA. Abstract 2-1. IFT, Chicago, IL.

WALKER, J. B. 1960. Metabolic control of creatine biosynthesis. I. Effect of dietary creatine. *Journal of Biological Chemistry*, v.235, p.2357-2361.

WIETLAKE, A.W.; HOGAN, A.G.; O'DELL, B.L. et al., 1954. Amino acid deficiencies of casein as a source of protein for the chick. *J. Nutr.* 52:311-323.

WILLIAMS, M.H.; KREIDER, R.B.; BRACH, J.D. 2000. *Creatina*. São Paulo: Manole.

WU, G.; MORRIS, S.M JR. 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Bioch. J.*; 336:1–17.

WU, G.; BAZER, F.W.; JOHNSON, G.A. et al., 2011. TRIENNIAL GROWTH SYMPOSIUM: Important roles for L-glutamine in swine nutrition and production. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.89, n.7, p.2017-2030.

WYSS, M.; KADDURAH-DAUOK, R. 2000. Creatine and creatinine metabolism. *Physiology Reviews.*, v.80, p.1107-1213.

YOSHIZAKI, K.; WATARI, H.; RADDA, G.K. 1990. Role of phosphocreatine in energy transport in skeletal muscle of bull frog studied by ³¹P-NMR. *Biochim. Biophys. Acta.* 1051, 144-150.

YOUNG, P.B.; KENNEDY, S.; MOLLY, A.N. et al., 1997. Lipid peroxidation induced in vivo by hyperhomocysteinaemia in pigs. *Atherosclerosis*; 129(1):67-71.

4. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a suplementação do ácido guanidinoacético em dietas vegetais como poupador de aminoácidos envolvidos em importantes vias metabólicas e sua influência sobre o desempenho produtivo, desenvolvimento e rendimento muscular e na qualidade de carne, em frangos de corte aves submetidos ao estresse térmico no período pré-abate.

4.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Avaliar o efeito do ácido guanidinoacético e da arginina como precursores da creatina em dietas vegetais sobre o desempenho produtivo, desenvolvimento muscular e propriedades funcionais da carne de defrango de corte de 1 a 42 dias de idade.

Avaliar o efeito do ácido guanidinoacético e da arginina como precursores da creatina em dietas vegetais sobre o rendimento de carcaça e as propriedades funcionais da carne de frangos submetidos ou não ao estresse térmico no período pré-abate.

5. CAPITULO 1 - ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E ARGININA EM DIETAS VEGETAIS PARA FRANGOS DE CORTE SOBRE O DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇAÇA E QUALIDADE DA CARNE

RESUMO – Aves alimentadas com dietas vegetais dependem da síntese endógena de creatina, que requer a participação de aminoácidos, alguns deles considerados essenciais para diversas funções fisiológicas e metabólicas, como a arginina (Arg). A creatina limita-se a células de alto gasto energético, em particular as células musculares. O objetivo do trabalho foi avaliar a inclusão do ácido guanidinoacético e de arginina como precursor da creatina em dietas vegetais sobre o desempenho, qualidade e rendimento de carcaça de frangos de corte. Foram utilizados 1260 pintos de corte distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, nove repetições e 35 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por: T1 - dieta a base de milho e farelo de soja; T2- dieta a base de milho, farelo de soja e farinha de carne (3%); T3- dieta a base de milho e farelo de soja acrescida de ácido guanidinoacético (0,8%) e T4- dieta a base de milho e farelo de soja acrescida de L-Arginina (0,8%). Foram registrados o peso médio das aves e o consumo de ração, aos 7, 21 e 42 dias de idade. Aos 7 dias de idade, foram sacrificadas 18 aves por tratamento para o rendimento de peito e pernas. Aos 42 dias de idade, foi realizada a coleta de sangue de 12 aves por tratamento para a determinação das concentrações séricas de ácido úrico, uréia, creatina, lactato e glicose. As mesmas aves foram abatidas, para o cálculo de rendimento de carcaça em relação ao peso vivo e rendimento de cortes nobres. O músculo *pectoralis major* direito de cada ave foi utilizado para as análises de pH, de cor (luminosidade L*, índice de vermelho a* e índice de amarelo b*) e a perda de água por pressão. O músculo *Pectoralis major* do lado esquerdo para as análises de perdas por descongelamento e por cozimento. Os dados foram analisados pelo software SAS. As dietas com adição de farinha de carne ou vegetais acrescidas de ácido guanidionacético ou L-Arginina resultaram em maior peso vivo e percentual de carne de peito aos 7 dias. Para o período total de 1 a 42 dias de idade, observou-se efeito ($p < 0,0002$) sobre a conversão alimentar. As aves suplementadas com dieta vegetal e farinha de carne apresentaram melhor conversão alimentar quando comparada com as demais dietas. Para o rendimento de carcaça e dos cortes comerciais, percentual de perda por cozimento, por pressão e por descongelamento da carne de peito de frangos de corte e para os valores de cor L, a e b e de pH não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Palavras-Chave: ganho de peso, ressíntese de ATP, glicina,

CHAPTER 1 - GUANIDINOACETIC ACID AND ARGININE IN VEGETABLE DIETS FOR BROILER ON PERFORMANCE, CARCASS YIELD AND MEAT QUALITY

ABSTRACT - Birds fed diets depend solely on vegetable synthesis of creatine, which requires the participation of amino acids, some of which are considered essential for many physiological and metabolic functions, such as arginine (Arg). Creatine is limited to high energy expenditure cells, in particular muscle cells. The objective was to evaluate the inclusion of guanidinoacetic acid and arginine as a precursor of creatine in vegetable diets on performance, quality and carcass yield of broilers. 1260 broiler chicks were distributed in a completely randomized design, with four treatments, nine replicates and 35 birds each. The treatments were: T1 - diet based on corn and soybean meal; T2- diet from corn, soybean meal and meat meal (3%); T3 diet based on corn and soybean meal plus guanidinoacetic acid (0.8%) and T4 diet based on corn and soybean meal plus L-arginine (0.8%). It was reported the average weight of the birds and the feed intake at 7, 21 and 42 days of age. At 7 days of age, 18 birds were sacrificed by treatment for breast yield and legs. At 42 days of age, blood collection was held from 12 birds per treatment for the determination of serum uric acid, urea, creatine, lactate and glucose. As same birds were slaughtered for carcass yield calculation in respect live weight and yield of noble cuts. The pectoralis major muscle right of each bird was used for pH, color (brightness L *, a * vermellho index and yellow index b *) and the pressure for water loss. The pectoralis major muscle of the left side for analysis of loss on thawing and cooking. Data were analyzed by SAS software. The diets with addition of meat or vegetables plus guanidionacético acid or L-arginine resulted in higher live weight and percentage of breast meat at 7 days. For the whole period of 1 to 42 days of age, it was observed effect ($p < 0.0002$) on feed conversion. The birds supplemented with vegetable and meat meal diet showed better feed conversion when compared to other diets. For the carcass yield and commercial cuts, cooking for loss percentage, by pressure and by thawing of the breast meat of broilers and the color values L, pH and b and no significant differences were observed between treatments.

Key Words: weight gain, resynthesis of ATP, glycine

5.1. Introdução

A creatina, ácido α -metilguanidinoacético (CREA), como um precursor de creatina fosfato (PCr), tem duas importantes funções no metabolismo muscular; carrega moléculas de fosfato de alta energia a partir das mitocôndrias para os filamentos de miosina e atua como um reservatório de fosfato de alta energia que pode regenerar adenosina tri-fosfato (ATP) a partir de adenosina difosfato (ADP) (WALKER, 1960).

A CREA não ocorre em todas as células, limitando-se a células de alto gasto energético, em particular as células musculares. O armazenamento da CREA ocorre tanto na forma livre quanto na fosforilada. Cerca de 95% da CREA corporal está armazenada na musculatura esquelética. Desta quantidade, cerca de 60-70%, é armazenada na forma de PCr, que é incapaz de passar por membranas, mantendo, dessa forma, a CREA na célula (GREENHAFF, 1997).

Aves alimentadas com dietas vegetais dependem exclusivamente da síntese endógena, que requer a participação de sintetizada a partir dos aminoácidos glicina (Gly), metionina (Met) e arginina (Arg). O primeiro passo na síntese de CREA envolve a transferência reversível do grupo amidino da Arg para Gly a fim de formar GAA e ornitina em uma reação catalisada pela enzima arginina:glicina amidino transferase (AGAT). Numa segunda reação, catalisada pela guanidinoacetato N-metiltransferase, a guanidinoacetato é metilada pela S-adenosilmetionina (SAM) para formar S-adenosilhomocisteína e CREA (BLOCH e SCHOENHEIMER, 1941). A CREA é liberada pelo fígado e captada, principalmente, pelo tecido muscular onde é estocada como PCr ou convertida para creatinina.

Nesse sentido, há uma dependência de Arg e Gly para o fornecimento de CREA para o adequado aporte de energia para a síntese proteica muscular, principalmente quando considerada a velocidade de crescimento muscular das linhagens atuais. Por outro lado, as aves não podem sintetizar Arg e por isso são dependentes do fornecimento deste aminoácido nas dietas, cuja exigência é alta (BALL et al., 2007), seja pela falta de síntese endógena, pelo elevado teor de proteínas e taxa de deposição devido ao rápido crescimento do frango ou pelo antagonismo de interação metabólica entre Lys e Arg (EDMONDS e BAKER, 1987).

A Arg, aminoácido considerado essencial para as aves, também é importante para uma série de funções biológicas e fisiológicas, incluindo a biossíntese de proteínas, o transporte e a excreção de nitrogênio, a produção de poliaminas e de óxido nítrico (NO) e estimulação de secreção hormonal como IGF-I (EFRON e BARBUL, 2000). Já, a Gly considerada aminoácido condicionalmente essencial, além das inúmeras funções na síntese proteica, participa do metabolismo dos ácidos biliares (ácido glicocólico), da glutatona e exerce importante função na excreção de nitrogênio pelo fornecimento de dois átomos de carbono e um de nitrogênio para a síntese de ácido úrico (KIDD e KERR, 1996; MAPES e KREBS, 1978).

Devido às exigências de mercados importadores de carne de frango, o uso de proteína animal, como as farinhas resultantes do abate de aves, suínos e bovinos na formulação de dietas para frango de corte é limitado, apesar de consideradas “economizadoras” de Arg e Gly, uma vez que são fontes de CREA. Desta forma, dietas de frangos de corte elaboradas basicamente com milho e farelo de soja podem comprometer o balanço adequado de nutrientes.

A suplementação das dietas vegetais com CREA não é considerada viável devido a sua instabilidade e custo elevado (WIETLAKE et al., 1954). Assim como, dietas com altos níveis de Arg podem estimular a formação de CREA no tecido muscular de frangos de corte (CHAMRUSPOLLERT et al., 2002), mas esse aminoácido não é disponível comercialmente para dietas animais. Por outro lado, o GAA também referido como glucosamina ou guanidinoacetato é um precursor de CREA e tem potencial econômico para ser utilizado como um aditivo na formulação de ração para frangos de corte. Uma vez que o GAA é um precursor imediato da CREA, necessitando apenas da transferência de um grupo metil da Met, este composto pode poupar Arg dietética e Gly (BAKER, 2009).

Na literatura consultada há relatos de resultados a respeito da suplementação de GAA. Stahl et al., (2003) e Nissen e Young (2006) observaram alteração do pH e luminosidade da carne do peito de frangos quando suplementados com o GAA. Já Ringel et al., (2008) encontraram melhorias significativas de desempenho e uma maior percentagem de carne de peito de suplementação dietética de GAA (0,6 - 1,2 g / kg).

Michiels et al., (2012) utilizaram GAA em dietas vegetais nas mesmas concentrações e observaram aumento da CREA muscular, além de melhor

desempenho produtivo e maior rendimento de peito sem comprometer atributos importantes como a capacidade de retenção de água.

Dilger et al., (2013) utilizaram pintos de 8 a 17 dias de idade como um sensível marcador de deficiência nutricional. Ao adicionarem GAA à dieta a base de dextrose e caseína, portanto deficiente em Arg, observaram melhora significativa no ganho de peso e conversão alimentar. Segundo estes autores, o GAA pode substituir a Arg dietética, o que já havia sido demonstrado com linhagens de frangos de corte da década de 60 (SAVAGE e O'DELL, 1960).

Outro fator importante a ser considerado é que a metilação do GAA para CREA consome mais SAM que todas as outras reações de metilação combinados (STEAD et al., 2001). Altos níveis de homocisteína nos tecidos de suínos, ratos e humanos têm demonstrado induzir à formação de espécies reativas de oxigênio (YOUNG et al., 1997; BYDLOWSKI et al., 1998; HUANG et al., 2001), os quais podem danificar qualquer classe de estrutura celular e promover um stress oxidativo (desequilíbrio entre radicais livres e moléculas antioxidantes).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do ácido guanidinoacético e da arginina em dietas vegetais sobre o desempenho produtivo, desenvolvimento muscular e propriedades funcionais da carne de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.

5.2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. Todos os procedimentos de criação dos animais e de coleta de material biológico foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais em Experimentação.

Foram utilizados 1260 pintos de corte, de 1 dia de idade, sexo misto, da mesma linhagem provenientes de matrizes de cerca de 40 semanas distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, nove repetições e 35 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por:

T1- dieta controle vegetal a base de milho e farelo de soja

T2 - dieta controle vegetal a base de milho farelo de soja acrescida de farinha de carne (3%)

T3- dieta vegetal a base de milho e farelo de soja acrescida de ácido guanidinoacético (0,8%)

T4- dieta vegetal a base de milho e farelo de soja acrescida de L-Arginina (0,8%)

A fonte comercial do ácido guanidinoacético utilizada foi o CreAMINO® (96% ácido guanidinoacético; Evonik Degussa) e a de Arg, a L-Arginina (99% Arginina; Ajinomoto). As rações foram formuladas de acordo com os valores de composição química dos alimentos, e as recomendações nutricionais adotadas pelas integrações avícolas da região, num programa de alimentação composto por 3 fases: Inicial (1 a 21 dias), Crescimento (22 a 37 dias) e Abate (38 a 42 dias) (Tabela 01). As aves receberam ração e água à vontade durante o período experimental.

Foram registrados o peso médio das aves e o consumo de ração, por parcela experimental, aos 7, 21 e 42 dias de idade das aves. Em caso de mortalidade, as aves eram pesadas para a correção do cálculo da conversão alimentar.

Aos 7 dias de idade, foram sacrificadas 18 aves por tratamento através de deslocamento cervical. O músculo *Pectoralis major* e a perna esquerda das duas aves sacrificadas por unidade experimental foram retirados, desossados e pesados. Após a colheita, duas amostras do músculo *Pectoralis major* direito por unidade foram retiradas e mantidas à temperatura ambiente durante 15 minutos (KHAN, 1977). Depois de aparadas e reduzidas a fragmentos de aproximadamente 1 cm x 0,5 cm, as amostras foram identificadas, congeladas e armazenadas em botijão, contendo nitrogênio líquido até o processamento.

Para o processamento do material colhido, os segmentos musculares foram transferidos para a câmara do criostato, utilizando-se para isto o adesivo OCT *Tissue TK*. Os segmentos foram orientados para a obtenção de cortes transversais das fibras, com oito micras de espessura e submetidos à coloração de Hematoxilina-Eosina. A captura de imagens para análise morfométrica foi realizada por meio de câmera digital de alta resolução PRO SERIES da Mídia Cibertecnicos, acoplada ao microscópio Olympus B x40. Para a leitura das imagens, foi utilizado um analisador de imagem computadorizado IMAGE PROPLUS 5.2, da Mídia Cibertecnicos. Foram

capturadas 5 imagens do tecido muscular, por ave avaliada, com ampliação final equivalente a ocular 10X e objetiva 10X. As fibras foram contadas e mensuradas 20 fibras musculares em cada imagem, utilizando-se para isso o método do menor diâmetro conforme DUBOWITZ (1985) e contadas todas as fibras musculares por campo.

Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais nos período inicial de 1 a 21 dias, crescimento de 22 a 37 dias e abate 38 a 42 dias.

Ingredientes, kg	Inicial		Crescimento		Abate	
	T2	T1,T3,T4	T2	T1,T3,T4	T2	T1,T3,T4
Milho	62,20	60,30	65,08	62,64	67,76	65,13
Farelo de Soja	32,40	35,20	27,60	30,80	18,13	17,07
Soja Integral Desativada	-	-	-	-	9,33	14,67
Oleo de Soja	-	0,8	2,2	3,10	-	-
Farinha de Carne	3	-	3	-	2,93	-
Cloreto de Sódio	0,300	0,340	0,280	0,320	0,320	0,373
Caulim ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Calcáreo	0,560	0,940	0,460	0,940	0,480	0,907
Fosfato Bicálcico	0,140	1,060	0,080	0,900	-	0,853
Bicarbonato de Sódio	0,100	0,100	0,100	0,100	-	-
DL-Met 98%	0,284	0,279	0,191	0,183	0,192	0,189
L-Lisina 50,7%	0,385	0,358	0,418	0,372	0,360	0,333
L-Treonina 98%	0,086	0,078	0,032	0,020	0,059	0,053
L-Triptofano 98%	-	-	0,006	-	-	-
Colina %	0,042	0,040	0,045	0,042	0,031	0,025
Premix vit. e mineral ^{2,3}	0,400	0,400	0,400	0,400	0,300	0,300
Valores calculados						
Proteína bruta, %	21,67	21,43	19,64	19,51	18,66	18,44
EM (Kcal/kg)	2950	2950	3130	3130	3153	3153
Cálcio	0,881	0,850	0,817	0,821	0,800	0,786
Fósforo Disponível	0,439	0,442	0,420	0,419	0,400	0,395
Lisina Dig., %	1,199	1,201	1,100	1,101	1,001	0,999
AAS Dig., %	0,864	0,864	0,727	0,727	0,701	0,700
Treonina Dig., %	0,780	0,780	0,660	0,660	0,648	0,648
Triptofano Dig., %	0,222	0,230	0,203	0,208	0,182	0,190
Leucina Dig., %	1,636	1,643	1,510	1,525	1,435	1,432
Isoleucina Dig., %	0,824	0,843	0,737	0,763	0,678	0,690
Valina Dig., %	0,902	0,904	0,816	0,825	0,758	0,753
Arginina Dig., %	1,296	1,297	1,158	1,159	1,080	1,080
Na+K+Cl, meq/100g	236	241	212	219	194	202

¹Caulim: Substituído por GAA e L-Arg (800mg/ton).

²Premix Inicial e crescimento (Conteúdo por kg de premix): Ácido Fólico 625,00MG; Ácido Pantotênico 4500,00MG; Amilase 50000,00U, Bacitracina de Zinco 13,75G; Biotina 50,00MG; Cobre 2000,00MG; Etoxin 16,65G; Ferro 17,50G; Fitase 125000,00U; Iodo 250,00MG, Manganês 30,00G; Niacina 10,00G; Protease 1000000,00U; Selênio 60,00MG; Vitamina A. 3000000,00UI; Vitamina B1.

750,00 mg; Vitamina B12. 5000,00 mg; Vitamina B2. 2000,0 mg; Vitamina B6. 1250,00MG; Vitamina D3. 875000,00UI; Vitamina E. 7500,00UI; Vitamina K3. 750,00 mg; Xilanase 500000,00U; Zinco 25,00G.

³Premix Abate (Conteúdo por Kg de premix): Ácido Fólico 333,40MG; Ácido Pantotênico 4000,00MG; Amilase 66668,00U; Biotina 66,67MG; Cobre 2667,00MG; Ferro 20,00G; Fitase 166570,00U; Hidroxido de Tolueno Butilado 33,33G; Iodo 334,00MG, Manganês 33,33G; Niacina 10,00G; Protease 1333360,00U; Selênio 80,00MG; Vitamina A. 2333333,30UI; Vitamina B1. 500,00 mg; Vitamina B12. 4000,00 mg; Vitamina B2. 1567,00 mg; Vitamina B6. 1187,00MG; Vitamina D3. 833989,00UI; Vitamina E. 5657,00UI; Vitamina K3. 1000,00 mg; Xilanase 565580,00U; Zinco 25,57G.

Aos 42 dias de idade, foi realizada a coleta de sangue de 12 aves por tratamento com peso vivo \pm 2% da média de peso vivo das aves do box para a determinação das concentrações séricas de ácido úrico, uréia, creatina, lactato e glicose. As amostras de soro permaneceram congeladas até o momento das análises bioquímicas, que foram realizadas no analisador químico BS-200 Mindray® (Mindray Medical International Limited). Foram utilizados kits comerciais da marca DIALAB®.

Em seguida, as mesmas aves foram abatidas por atordoamento com eletricidade e posterior sangria e na sequência submetidas à escaldagem, depenagem, evisceração. Para o cálculo de rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada quente, sem os pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo que foi obtido individualmente antes do abate das aves. Para o rendimento dos cortes nobres, foi considerado o rendimento do peito inteiro com pele e ossos e das pernas (coxa e sobrecoxa com ossos e pele) que foi calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada.

A gordura abdominal presente ao redor da cloaca, da bolsa cloacal, moela, pró-ventrículo e dos músculos abdominais adjacentes foi retirada conforme descrito por SMITH (1993). Em seguida, foi pesada e também calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

O músculo *pectoralis major* direito de cada ave foi identificado e mantido em temperatura ambiente por 15 minutos *post-mortem* para as medidas do pH através da introdução direta do eletrodo de vidro na região apical do músculo. As medidas foram realizadas 1 hora (pH inicial) e 24 horas após o abate sob refrigeração de 0 ± 2 °C (pH final), sendo uma leitura em cada tempo.

Nas mesmas amostras, foram realizadas as medidas de cor na face ventral do filé após 24h *post mortem*, tomando três pontos diferentes de leitura por amostra. A medida de cor foi realizada utilizando o colorímetro Minolta CR10. Os valores de

luminosidade L^* , índice de vermelho a^* e índice de amarelo b^* foram expressos no sistema de cor CIELAB.

A perda de água por pressão foi avaliada utilizando-se uma porção de dois gramas da amostra do músculo do peito direito em balança semi-analítica. A amostra foi posicionada entre dois papéis filtro (Whatman n.1) e foi pressionando-se a amostra entre duas placas de acrílico com um peso de 10 kg por cinco minutos. Após a prensagem a amostra foi pesada novamente para ser calculada a perda de água por pressão.

O músculo *Pectoralis major* do lado esquerdo foi pesado e em seguida assado em forno elétrico pré-aquecido a 180°C até atingirem a temperatura interna de 72°C (em torno de 5 minutos de cada lado). Após a cocção, as amostras foram armazenadas resfriadas por 12 horas a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e pesadas novamente para ser calculada a perda por cocção.

O músculo *Pectoralis minor* (sossami) do lado esquerdo foi pesado e congelado e pesado novamente após 24 horas de descongelamento a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ para avaliação da perda de líquido por descongelamento.

Para a análise estatística, os dados foram verificados quanto à presença de valores discrepantes (“outliers”) e testaram-se as pressuposições de normalidade dos erros studentizados (teste de Cramer Von Mises) e de homogeneidade de variância (teste de Brown-Forsythe). Depois de constatada a não violação dessas pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância através do procedimento GLM do programa SAS (SAS Institute, 2002), em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

5.3. Resultados e Discussão

De acordo com os dados da tabela 2, pode ser observado efeito significativo ($p=0,0562$) das dietas sobre o peso vivo das aves aos 7 dias de idade. As dietas com adição de farinha de carne ou vegetais acrescidas de GAA ou L-Arg apresentaram desempenho semelhante. O consumo da dieta exclusivamente vegetal resultou no menor peso vivo das aves na primeira semana de vida.

Entretanto, para o período de 1 a 21 dias e 21 a 42 dias, não foi observada diferença significativa no desempenho de frangos de corte.

Para o período total de 1 a 42 dias de idade, observou-se efeito significativo ($p < 0,05$) sobre a conversão alimentar. O consumo da dieta suplementada com farinha de carne resultou na melhor conversão alimentar quando comparada com as demais dietas.

Tabela 2 - Desempenho produtivo de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg

	1 a 7 dias			
	Peso vivo, g	Consumo de ração, g	Ganho de peso, g	Conversão Alimentar
Dieta Vegetal	204,07 ^b	193,00	159,46	1,210
Dieta Vegetal + FC	212,65 ^a	203,86	168,56	1,209
Dieta Vegetal + GAA	205,98 ^{ab}	197,79	163,44	1,209
Dieta Vegetal + L-Arg	206,23 ^{ab}	198,89	163,05	1,220
CV, %	3,24	5,48	5,07	3,12
Valor de P	0,0562	0,2305	0,1611	0,9052
	1 a 21 dias			
Dieta Vegetal	954,63	1355,94	847,12	1,595
Dieta Vegetal + FC	961,89	1294,04	821,69	1,583
Dieta Vegetal + GAA	942,00	1346,40	863,37	1,588
Dieta Vegetal + L-Arg	954,85	1340,32	837,19	1,606
CV, %	3,13	5,76	4,46	2,62
Valor de P	0,5641	0,3424	0,1599	0,6827
	21 a 42 dias			
Dieta Vegetal		3142,01	1704,12	1,824
Dieta Vegetal + FC		2931,01	1692,23	1,829
Dieta Vegetal + GAA		3078,70	1670,88	1,799
Dieta Vegetal + L-Arg		3097,93	1678,89	1,815
CV, %		5,95	6,30	3,86
Valor de P		0,0992	0,9148	0,8091
	1 a 42 dias			
Dieta Vegetal	2691,67	4498,0	2551,23	1,763 ^a
Dieta Vegetal + FC	2709,03	4225,0	2495,90	1,694 ^b
Dieta Vegetal + GAA	2684,42	4425,1	2354,24	1,746 ^a
Dieta Vegetal + L-Arg	2673,81	4438,2	2516,08	1,764 ^a
CV, %	4,29	4,97	5,09	1,87
Valor de P	0,9302	0,0650	0,8196	0,0002

CV: coeficiente de variação.

Bryant-Angeloni (2010), não observou nenhuma resposta positiva sobre o ganho de peso quando adicionou GAA em dietas deficientes de Arg, no entanto, houve um ganho na conversão alimentar. Entretanto, em dietas suficientes de Arg, os resultados foram significativos no ganho de peso e conversão alimentar. Este

resultado confirma que a adição de GAA pode poupar Arg e pode produzir respostas de desempenho, mesmo quando incluídos em dietas suficientes de Arg.

De acordo com prévios estudos, a alteração do peso corporal em virtude da suplementação com GAA tem mostrado efeito contraditório, pois alguns autores mostram efeitos positivos (VOLEK et. al., 2004, VOLEK e BRANCH, 1998; RINGEL et al., 2008; DILGER et al., 2013), enquanto outros não observam alterações (LOUIS et. al., 2003).

O estudo desenvolvido pelo EFSA Journal (2009) com frangos de corte, utilizando uma dieta vegetal peletizada (milho / trigo / farinha de soja) suplementada com 0 a 800 mg de GAA por Kg, de 1 a 42 dias de idade, mostrou melhorias no ganho de peso com a suplementação de 400mg e 800 mg/kg, enquanto que a conversão alimentar foi significativamente melhorada a partir de 400 mg/kg.

Avaliando a suplementação do GAA (0,04% a 0,12%) em rações de frangos de corte, Rostagno (2005) observou que as aves alimentadas com a ração vegetal + GAA apresentaram melhor conversão alimentar, melhor ganho de peso diário e rendimento de peito quando comparado aos frangos de corte alimentados apenas com a dieta vegetal sem suplementação de GAA.

Esses resultados indicam que ainda há a necessidade de mais estudos envolvendo a suplementação de aditivos visando o fornecimento de substratos energéticos para o músculo. A busca por melhorias no desempenho produtivo é fundamental visto que os investimentos na nutrição são altos e deste modo o retorno deve ser economicamente viável.

Houve efeito significativo das dietas ($p=0,0585$) para o percentual do peso do peito sem osso (Tabela 03). Pintos alimentados com a dieta adicionada de farinha de carne e a dieta vegetal acrescida de GAA resultaram no maior percentual. Esse resultado é interessante, visto as restrições de alguns mercados exportadores quanto ao uso de farinhas de origem animal na dieta das aves. Não houve efeito significativo ($p>0,05$) em relação aos pesos de peito e pernas com e sem osso, assim como para o número e medidas das fibras musculares.

O processo de hipertrofia das fibras musculares pós-eclosão ocorre, primeiramente, no sentido longitudinal da fibra pelo aumento do número de sarcômeros e, posteriormente, ocorre aumento do diâmetro pela deposição de proteínas miofibrilares. Assim, a contribuição do comprimento da fibra, aos 7 dias pode ter sido maior que do diâmetro, já que a soma dos dois fatores resulta no maior

peso do peito, como observado neste trabalho, para as aves que consumiram tanto a dieta acrescida de farinha de carne quanto de GAA.

O número de fibras musculares também pode estar associado aos programas de seleção das linhagens comerciais de corte. Scheurmann et al., (2004) comprovaram que as linhagens de corte têm duas vezes mais fibras neste músculo que as de postura. A contagem de fibras musculares do peito é dificultada pela orientação das fibras musculares, entretanto, podem auxiliar no entendimento das exigências de aminoácidos na deposição de proteína muscular.

Para o peso absoluto e relativo das pernas de frangos de corte (Tabela 04), observou-se resultado similar ao descrito para o percentual peito sem osso. Dietas acrescidas de farinha de carne ou GAA levaram ao maior percentual de pernas sem osso.

Tabela 3 - Desenvolvimento muscular (pesos absolutos e relativos) e número e diâmetro da fibra muscular de peitos de frangos de corte aos 7 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg

Dietas	Peito com osso		Peito sem osso		Fibra muscular	
	g	%	g	%	n/campo	m μ
Vegetal	34,25	15,60	25,53	11,59 ^b	116	21,99
Vegetal + FC	34,37	15,85	26,35	12,14 ^a	117	22,26
Vegetal + GAA	34,68	16,29	26,77	12,70 ^a	115	21,83
Vegetal + L-Arg	32,80	15,36	25,53	11,69 ^b	112	21,57
CV,%	11,923	7,79	15,52	10,58	16,68	20,66
Valor de P	0,5169	0,1481	0,5636	0,0585	0,9430	0,9854

Tabela 4 - Desenvolvimento muscular (pesos absolutos e relativos) de pernas de frangos de corte aos 7 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg

Dietas	Pernas com osso		Pernas sem osso	
	g	%	g	%
Vegetal	34,23	15,59	26,45	11,59 ^b
Vegetal + FC	33,34	15,40	25,61	12,14 ^a
Vegetal + GAA	34,53	15,79	26,62	12,70 ^a
Vegetal + L-Arg	33,47	15,57	25,59	11,69 ^b
CV,%	10,13	4,22	12,73	10,58
Valor de P	0,6748	0,3894	0,6920	0,0585

Fernandes et al., (2009) observaram melhorias significativas no peso do peito, peso do file do peito e aumento no diâmetro da fibra muscular de frangos de corte, quando alimentados com dietas suplementadas com até 300mg/kg de dieta de L-Arg de 1 a 21 dias de idade em comparação com as dietas controle. Entretanto, no presente experimento a suplementação com GAA foi mais efetiva do que com L-Arg.

Os dados referentes à bioquímica sérica são mostrados na Tabela 05. Não houve efeito significativo ($p>0,05$) das dietas sobre nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela 5 - Concentração sérica de ácido úrico, creatina, glicose, lactato e uréia em frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg

Dietas	Ácido úrico, mg/dL	Creatina mg/dL	Glicose mg/dL	Lactato mg/dL	Uréia, mg/dL
Vegetal	3,78	0,19	245,45	5,13	3,94
Vegetal + FC	3,16	0,24	237,66	5,31	4,63
Vegetal + GAA	3,85	0,25	252,25	5,30	4,23
Vegetal + L-Arg	3,20	0,26	247,89	5,66	4,68
CV,%	24,53	53,05	9,69	58,74	27,28
Valor de P	0,0980	0,4265	0,5296	0,9115	0,4379

A composição bioquímica sanguínea reflete de modo fiel a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento dos órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (KANEKO et al., 1997).

A interpretação do perfil bioquímico, tanto aplicado a rebanhos ou lotes quanto a indivíduos é complexa. A variabilidade de respostas apresentadas pelos frangos de corte sugerem que dados dessa natureza deveriam ser observados em um número mais expressivo de aves por tratamento, entretanto, isso se torna inviável em termos de custos e procedimentos.

Considerando esse quadro, é possível destacar o efeito da adição de farinha de carne, GAA ou L-Arg sobre os níveis de CREA quando comparado com a dieta vegetal, indicando que estas dietas podem representar uma reserva extra de energia para as necessidades metabólicas do tecido muscular.

Nas tabelas 06 e 07, estão demonstrados os resultados referentes ao rendimento de carcaça e cortes comerciais, pesos absolutos e relativos, respectivamente. Não foram observados efeitos significativos ($p>0,05$) das dietas sobre estas características.

Tabela 6 - Peso (g) da carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg

Dietas	Carcaça	Peito	Pernas	Filé	Sassami	Gordura
Vegetal	2375,82	811,82	660,64	271,09	57,25	50,18
Vegetal + FC	2390,17	840,17	646,67	282,33	57,48	51,55
Vegetal + GAA	2472,00	881,50	685,00	294,83	63,05	52,97
Vegetal + L-Arg	2409,09	834,33	671,50	273,50	58,07	46,19
CV, %	4,79	8,22	5,42	10,50	9,58	14,78
Valor de P	0,2206	0,1213	0,0786	0,2128	0,0536	0,2091

Tabela 7 - Rendimento (%) de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg

Dietas	Carcaça	Pernas	Peito	Filé	Sassami	Gordura
Vegetal	76,11	27,83	34,12	11,44	2,42	2,09
Vegetal + FC	75,93	27,05	35,15	11,84	2,40	2,25
Vegetal + GAA	76,76	27,73	35,22	11,92	2,55	2,05
Vegetal + L-Arg	75,93	27,57	34,17	11,28	2,38	2,10
CV, %	2,68	5,11	4,31	12,12	9,54	20,42
Valor de P	0,9637	0,5535	0,1532	0,6339	0,3255	0,719

Este resultado encontrado diverge com a literatura consultada. Ringel et al., (2008) encontraram maior percentual de carne de peito de frangos suplementados com GAA (0,6 ta 1,2 g / kg), assim como o estudo desenvolvido pelo EFSA Journal (2009) constatou que o uso de GAA em doses de 800 mg/kg de dieta contribuiu significativamente com o aumento do peso do peito e com a diminuição da gordura abdominal.

Michiels et. al., (2012) também constataram que a suplementação dietética com GAA em dieta vegetal, resultou numa maior porcentagem de carne de peito quando comparada com as aves não suplementadas e as aves alimentadas com a dieta animal. Já o peso de gordura e pernas não apresentou diferença significativa em função da suplementação com GAA.

Os resultados referentes às perdas por cozimento, descongelamento e pressão estão demonstrados na Tabela 08. Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) das dietas para nenhuma das características avaliadas, assim como para os valores referentes à cor (L, a e b) e ao pH aferido antes e após o *rigor mortis* (Tabela 09).

Tabela 8 - Perdas por cozimento, congelamento e pressão de filés de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg

Dietas	Perdas (%)		
	Cozimento	Congelamento	Pressão
Vegetal	24,93	3,98	10,75
Vegetal + FC	26,95	4,71	10,47
Vegetal + GAA	27,78	5,28	10,81
Vegetal + L-Arg	26,23	4,75	11,17
CV, %	13,23	56,82	19,02
Valor de P	0,2525	0,3575	0,8817

Tabela 9 - Valores de luminosidade L*, índice de vermelho a* e índice de amarelo b* (expressos no sistema de cor CIELAB) e pH de filés de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg.

Dietas	Cor			pH	
	L*	a*	b*	antes	depois
Vegetal	50,74	3,04	6,89	6,42	5,58
Vegetal + FC	51,47	2,77	6,19	6,37	5,40
Vegetal + GAA	52,99	2,92	7,23	6,36	5,45
Vegetal + L-Arg	53,77	2,80	6,88	6,46	5,56
CV, %	58,76	38,58	19,28	2,55	4,03
Valor de P	0,9148	0,9299	0,2757	0,4346	0,1660

Michiels et. al., (2012) encontraram o valor de pH ligeiramente mais baixo para as dieta suplementada com GAA quando comparados com a dieta vegetal não suplementada e dieta com proteína animal. A cor valor L* foi maior (carne pálida) para os tratamentos com GAA em comparação com o tratamento de dieta com ingredientes de origem animal, sem, no entanto, comprometer atributos importantes como a capacidade de retenção de água.

Nissen e Young (2006) encontraram um pH *post mortem* inferior e uma cor mais clara na carne de peito de frangos de corte quando suplementados com CREA e glicose por 48 horas antes abate. Stahl et al., (2003) encontraram resultados semelhantes quando os frangos foram suplementados com CREA durante todo o período de criação.

A suplementação de CREA antes do abate em estudos com suínos, mostrou que o declínio do pH muscular foi mais lento, positivamente relacionado com a retenção de água (BERG e ALLEE, 2001; JAMES et al., 2002; YOUNG et al., 2005).

A maioria dos trabalhos científicos a cerca do metabolismo da CREA no tecido muscular foi conduzida com mamíferos, o que dificulta a compreensão dos mecanismos envolvidos, já que o metabolismo aminoacídico em aves é distinto em relação aos mamíferos.

Portanto, os efeitos do GAA sobre as características da carne de frangos de corte devem ser estudados e melhor compreendidos. Nesta linha de estudos, é importante considerar que a suplementação dietética com GAA consideravelmente aumenta a demanda por metilação (MICHIELS et al., 2012), que pode induzir a ao acúmulo de homocisteína no sangue (SETOUE et al., 2008) ou a uma deficiência de metionina, e ainda de colina, ácido fólico, vitamina B₁₂ ou uma combinação destes fatores, dependendo da disponibilidade dietética destes nutrientes na dieta.

5.4. Conclusão

A inclusão de GAA ou L-Arg em dietas vegetais resultou em maior peso vivo, percentual de músculo no peito e pernas de frangos de corte na 1ª semana de idade. Para o período total de criação, de 1 a 42 dias de idade, a conversão alimentar foi melhor nas dietas vegetais acrescidas de farinha de carne.

A inclusão de GAA ou L-Arg em dietas vegetais não influenciou o rendimento e a qualidade de carne de frangos de corte ao abate.

5.5. REFERÊNCIAS

- BAKER, D.H. 2009. Advances in protein-amino acid nutrition of poultry. *Amino Acids*, 37:29-41.
- BALL, R.O.; URSCHEL, K.L.; PENCHARZ, P.B. 2007. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism. *J. Nutri.*, v. 137, n. 6, p. 1626-1641.
- BERG, E.P.; ALLEE, G.L. 2001. Creatine monohydrate supplemented in swine finishing diets and fresh pork quality: I. A controlled laboratory experiment. *J. Anim. Sci.* 79:3075–3080.
- BLOCH, K.; SCHOENHEIMER, R. 1941. The biological precursors of creatine. *J. Biol. Chem.* 138, 167–194
- BRYANT – ANGELONI, K. I. 2010. Dietary guanidino acetic acid spares arginine and dietary l-homoserine spares threonine in the chick. Master of Science in Animal Sciences in the Graduate College of the University of Illinois at Urbana-Champaign.
- BYDLOWSKI, S.P; MAGNANELLI, A.C; CHAMONE, D.A.F. 1998. HiperHomocisteinemia e doenças vaso-oclusivas. *Arq Bras Cardiol.*; 71(1):69-76
- CHAMRUSPOLLERT, M.; PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I. 2002. The influence of labile dietary methyl donors on the arginine requirement of young broiler chicks. *Poult. Sci.*, v.81, n.8, p.1142-1148.
- DILGER, R.N.; BRYANT-ANGEONI, K.; PAYNE, R.L. et al., 2013. Dietary guanidino acetic acid is an efficacious replacement for arginine for young chicks. *Poult. Sci.*, 92:171-177.
- DUBOWITZ, V. 1985. Normal muscle. In: *Muscle Biopsy: A Practical Approach*. 2ª Ed. Bailliere Tindall London, Cap. 03: 41-81.
- EDMONDS, M.S.; BAKER, D.H. 1987. Failure of excess dietary lysine to antagonise arginine in young pigs. *Journal of Nutrition*, Monticello, v.117, p.1396–1401.
- EFSA. 2009. Scientific opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) on a request from the European Commission on the safety and efficacy of CreAmino (guanidinoacetic acid) as feed additive for chickens for fattening. *EFSA J.* 988:1–30.
- EFRON, D.T.; BARBUL, A. 2000. Arginine and immunonutrition: a reevaluation. *Nutrition*. Jan;16(1):73-4.
- FERNANDES, J.I.M.; MURAKAMI, A.E.; MARTINS, E.N. et al., 2009. Effect of arginine on the development of the pectoralis muscle and the diameter and the protein:deoxyribonucleic acid rate of its skeletal myofibers in broilers. *Poultry Science*, v.88, p.1399-1406.

- GREENHAFF, P.L. 1997. The nutritional biochemistry of creatine. *J Nutr Biochem.*; 8(11):610-618.
- HUANG, R.F.; HSU, Y.C.; LIN H.L. et al., 2001. Folate depletion and elevated plasma homocysteine promote oxidative stress in rat livers. *J Nutr* ; 131(1):33-8.
- JAMES, B.W.; GOODBAND, R.D.; UNRUH, J.A. et al., 2002. A review of creatine supplementation and its potential to improve pork quality. *J. Appl. Anim. Res.* 21:1–16.
- KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5th ed., San Diego, Academic Press, 932p.
- KHAN, M.A 1997. The histoenzymology of striated muscle fibres an overview. *Cellular Molecular Biology*, v.22, p.383-93.
- KIDD, M.T.; KERR, B.J. 1996 L-Threonine for poultry: a review. *Journal of Applied Poultry Research*, 5: 358–367.
- LOUIS, M.; POORTMANS, J.R.; FRACAUX, M. et al. 2003. No effect of creatine supplementation on human myofibrillar and sarcoplasmic protein synthesis after resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*; v.285, n.5, p.E1089-94.
- MAPES, J.P.; KREBS, H.A. 1978. Rate-limiting factors in urate synthesis and gluconeogenesis in avian liver. *Biochemistry J.*, 172:193-203
- MICHIELS, J.; MAERTENS, L.; BUYSE ,J. et al., 2012. Supplementation of guanidinoacetic acid to broiler diets: Effects on performance, carcass characteristics, meat quality, and energy metabolism. *Poult. Sci.*, 91:402–412.
- NISSEN, P.M.; YOUNG, J.F. 2006. Creatine monohydrate and glucose supplementation to slow- and fast-growing chickens changes the postmortem pH in pectoralis major. *Poult. Sci.* 85:1038–1044.
- RINGEL, J.,A.; LEMME, L.F.; ARAUJO. 2008. The effect of supplemental guanidine acetic acid in Brazilian type broiler diets at summer conditions. *Poult. Sci.* 87(Suppl. 1):154.
- ROSTAGNO, H.S. 2005. Evaluation of guanidinoacetic acid in broiler chicken diets, July, p.25.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al., 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Departamento de Zootecnia. UFV. Viçosa, MG. 252 p.
- SAVAGE, J. E.; O'DELL, B. L. 1960. Arginine requirement of the chick and the arginine-sparing value of related compounds. *J. Nutr.* 70:129-134.
- SETOUE, M.; OHUCHI, S.; MORITA, T. et al., 2008. Hyperhomocysteinemia induced by guanidinoacetic acid is effectively suppressed by choline and betaine in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72:1696–1703.

SMITH, M.O. 1993. Parts yield of broilers reared under cycling high temperatures. *Poult. Sci.*, v.72, p.1146-1150.

STAHL, C.A.; GREENWOOD, M.W.; BERG, E.P. 2003. Growth parameters and carcass quality of broilers fed a corn-soybean diet supplemented with creatine monohydrate. *Int. J. Poult. Sci.* 2:404–408.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. 2002. User's guide. Cary: SAS Institute,. 525p.

STEAD, L.M.; AU, K.P.; JACOBS, R.L. et al., 2001. Methylation demand and homocysteine metabolism: effects of dietary provision of creatine and guanidinoacetate. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*;281:E1095–1100

VOLEK, M.H.; BRANCH, J.D. 1998. Creatine supplementation and exercise performance: an update . *J Am Coll Nutr.*v.17,n.3,p.216-34.

VOLEK, J.S.; RATAMESS, N.A.; RUBIN, M.R. et al., 2004. The effects of creatine supplementation on muscular performance and body composition responses to short-term resistance training overreaching. *Eur J Appl Physiol.* 91:628-37.

WALKER, J. B. 1960. Metabolic control of creatine biosynthesis. I. Effect of dietary creatine. *Journal of Biological Chemistry*, v.235, p.2357-2361.

WIETLAKE, A.W.; HOGAN, A.G.; O'DELL, B.L. et al., 1954. Amino acid deficiencies of casein as a source of protein for the chick. *J. Nutr.* 52:311-323.

YOUNG, P.B.; KENNEDY, S.; MOLLY, A.N. et al., 1997. Lipid peroxidation induced in vivo by hyperhomocysteinaemia in pigs. *Atherosclerosis*; 129(1):67-71.

YOUNG, J.F.; BERTRAM, H.C.; ROSENVOLD, K. et al., 2005. Dietary creatine monohydrate affects quality attributes of Duroc but not Landrace pork. *Meat Sci.* 70:717–725.

6. CAPITULO 2 - EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO GUANIDINOACÉTICO E ARGININA EM DIETAS VEGETAIS PARA FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS AO ESTRESSE TÉRMICO NO PERÍODO PRÉ-ABATE.

RESUMO - Dietas exclusivamente vegetais, não se constituem em fontes de creatina (CREA) e com isso a exigência de arginina (Arg) é aumentada. Em ambiente termoneuro, Arg interage com metionina através da via de biossíntese da CREA, no entanto, sob condições de estresse térmico, este metabolismo pode diminuir. O ácido guanidinoacético (GAA) é um aditivo alimentar, disponível comercialmente, mais eficaz em comparação com a CREA e Arg, porque é menos oneroso do que qualquer um destes compostos. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do GAA e da Arg como precursores da CREA em dietas vegetais sobre o rendimento de carcaça e as propriedades funcionais da carne de frangos submetidos ao estresse térmico no período pré-abate. Foram utilizados 1260 pintos de corte distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, nove repetições e 35 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por: T1 - dieta a base de milho e farelo de soja; T2- dieta a base de milho, farelo de soja e farinha de carne (3%); T3- dieta a base de milho e farelo de soja acrescida de ácido guanidinoacético (0,8%) e T4- dieta a base de milho e farelo de soja acrescida de L-Arginina (0,8%).. Aos 42 dias de idade as aves foram submetidas ao estresse térmico por 48 horas.. Aos 44 dias de idade, foi realizada a coleta de sangue de 12 aves por tratamento para a determinação das concentrações séricas de ácido úrico, uréia, creatina, lactato e glicose. As mesmas aves foram abatidas, para o cálculo de rendimento de carcaça em relação ao peso vivo e rendimento de cortes nobres. O músculo *pectoralis major* direito de cada ave foi mantido em temperatura ambiente por 15 minutos *post-mortem* para as medidas do pH. Nas mesmas amostras, foram realizadas as medidas de cor na face ventral do filé após 24h *post mortem*. Os valores de luminosidade L*, índice de vermelho a* e índice de amarelo b*. A perda de água por pressão do foi avaliada no musculo do peito. O músculo *Pectoralis major* do lado esquerdo avaliado a perda por cocção. O músculo *Pectoralis minor* (sassami) do lado esquerdo foi avaliado a perda de líquido por descongelamento. A suplementação de dietas vegetais com Arg ou GAA não alterou a bioquímica sérica e a qualidade da carne de frangos submetidos ao estresse térmico. A suplementação de dietas vegetais com Arg ou GAA resultou em maior peso de carcaça e maior rendimento do peito e menor deposição de gordura abdominal em frangos submetidos ao estresse térmico.

Palavras-Chave: carne, pintos, ganho de peso, aminoácidos, estresse térmico.

CHAPTER 2 - EFFECT OF GUANIDINOACETIC ACID SUPPLEMENTS AND ARGININE VEGETABLES DIETS FOR BROILER SUBMITTED TO HEAT STRESS ON PRE-SLAUGHTER PERIOD

ABSTRACT - Only vegetable diets do not constitute sources of creatine (CREA) and with it the requirement for arginine (Arg) is increased. In a thermoneutral environment interacts with Arg methionine through CREA biosynthesis pathway, however, under conditions of thermal stress, this can decrease metabolism. The guanidinoacetic acid (GAA) is a food additive, commercially available more effectively in comparison with the CREA and Arg, because it is less costly than any of these compounds. The objective was to evaluate the effect of the GAA and Arg as precursors of CREA in vegetable diets on carcass yield and the functional properties of broilers submitted to heat stress during pre-slaughter period. 1260 broiler chicks were distributed in a completely randomized design, with four treatments, nine replicates and 35 birds each. The treatments were: T1 - diet based on corn and soybean meal; T2- diet from corn, soybean meal and meat meal (3%); T3 diet based on corn and soybean meal plus guanidinoacetic acid (0.8%) and T4 diet based on corn and soybean meal plus L-arginine (0.8%). At 42 days of age the birds were subjected to heat stress for 48 hours. After 44 days of age, blood samples of 12 birds per treatment for the determination of serum uric acid was carried out, urea, creatine, lactate and glucose. The same birds were slaughtered for carcass yield calculation in relation to body weight and yield of noble cuts. The right pectoralis major muscle of each bird was kept at room temperature for 15 minutes post-mortem measures of pH. In the same samples were performed color measurements on the ventral surface of the fillet after 24 hours post mortem. The lightness values L^* , a^* vermellho index and yellow index b^* . The loss of water pressure was evaluated in the breast muscle. The left side of the pectoralis major muscle rated the cooking loss. The pectoralis minor muscle (sossami) the left side was assessed fluid loss by thawing. Supplementing diets with vegetables Arg or GAA did not change the serum biochemistry and quality of broilers subjected to heat stress. The supplementation of diets with Arg or vegetable GAA resulted in greater yield of the lower chest and abdominal fat in chickens subjected to heat stress.

Key Words: meat, chicken, gain weight, aminoacids, heat stress.

6.1. Introdução

Em ambiente termoneutro, arginina (Arg) interage com metionina (Met) através da via de biossíntese da creatina (CREA). Devido a esta via, qualquer depressão do crescimento devido aos altos níveis de Met é parcialmente atenuada pela suplementação de Arg ou em combinação com glicina (Gly) (BOORMAN E FISHER, 1966; SMITH, 1968). Arg transfere um grupo guanidina para a Gly formar ácido guanidinoacético (GAA) e a síntese de CREA é completada por uma subsequente metilação por S-adenosil-metionina (SAM) (BLOCK E SCHOENHEIMER 1941; BORSOOK e DUBNOFF, 1945). A CREA pode ser armazenado nos músculos ou convertida em creatinina e ambas podem ser excretadas pelos rins, resultando na liberação de grupos metil.

No entanto, sob condições de estresse térmico, este metabolismo pode diminuir como sugerido pelos achados de Chamruspollert (2001) que relataram que os níveis de CREA e creatinina nas excretas de aves estressadas pelo calor diminuíram, sem aumento nas concentrações destas substâncias no músculo, o que implica que aves sob estresse térmico apresentaram menor biossíntese de CREA (GONZALEZ-ESCARA e LEESON, 2006).

Essas alterações são acompanhadas por uma menor atividade da arginase, enzima que hidroliza a Arg em uréia e ornitina (CHAMRUSPOLLERT, 2001). Em consequência, menores níveis plasmáticos de ornitina têm sido relatadas em aves submetidas à elevadas temperaturas ambientais (MAY et al., 1987; BALNAVE e BRAKE, 1999). Isso demonstra que a Arg, nestas condições pode estar sendo utilizada para a síntese de óxido nítrico (NO) (FÖRSTERMANN et al., 1991) via óxido nítrico sintetase (NOS).

O NO funciona como uma importante molécula sinalizadora capaz de facilitar a dilatação dos vasos sanguíneos e de reduzir a resistência vascular (DIMMELER e ZEIHNER, 1999). Esta molécula gasosa se propaga rapidamente através das membranas celulares dentro da parede arterial, onde se une com a enzima guanilato ciclase, ativando-a. Isso desencadeia uma cascata de reações que induz o relaxamento do músculo liso arterial para aumentar o fluxo sanguíneo nos vasos sanguíneos vizinhos (MARLETTA, 1993).

O aumento da atividade da NOS pode ocorrer também quando há um aumento da demanda metabólica no músculo esquelético (depleção de glicogênio). Tem sido relatado em alguns estudos que o NO também desempenha um importante papel no transporte de glicose para o músculo durante a contração muscular (BALON et al., 1997; ROBERTS et al., 1999). Assim, a produção aumentada do NO durante o estresse térmico pode estar envolvida no aumento do fluxo sanguíneo e transporte de glicose para o músculo esquelético, o que sugere que o NO, nestas condições, possa ser um mediador chave no metabolismo (ROBERTS et al., 1999, CARTEE et al., 1989).

Em situações de estresse térmico, além do aumento da temperatura retal das aves, ocorre também aumento da frequência respiratória e consequente consumo das reservas energéticas musculares (SILVA et al., 2001; MACARI et al., 2004). A reserva energética muscular no momento do abate é muito importante, que é ainda, altamente influenciada pela duração do transporte e o estresse antes e durante o abate. O esgotamento *in vivo* do glicogênio gera consequências negativas sobre as propriedades funcionais da carne.

Bianchi et al., (2007) observaram que a incidência de carnes pálidas e com propriedades funcionais prejudicadas é maior no verão, demonstrando a influência do calor para a ocorrência da baixa qualidade em carne de frangos.

No tecido muscular, a CREA desempenha um papel muito importante na transferência de energia e reposição das reservas celulares de adenosina trifosfato (ATP). Nos músculos, é utilizada para alimentar o processo de contração combinando-se com o fosfato e convertendo-se em fosfocreatina (PCr), a qual é essencial para produzir rápidos e curtos surtos de energia (WILLIAMS et al., 2000). Quando ocorre a contração muscular, o combustível inicial é o ATP, este fornece energia através da liberação de uma das moléculas de fosfato, convertendo-se em adenosina difosfato (ADP) (FEBBRAIO et al., 1995). Entretanto, esse sistema é capaz de fornecer energia durante apenas alguns segundos, a partir dos quais se torna necessária a produção de novas moléculas de ATP. O PCr participa doando uma molécula fosfato para o ADP restaurando, dessa forma, o ATP (FEBBRAIO et al., 1995).

Entretanto, há diferenças na concentração intracelular de CREA nos vários tipos de fibras musculares. Músculos constituídos por fibras predominantemente brancas (glicolíticas) como as que compõem a musculatura do peito (*Pectoralis*

major e *Pectoralis minor*), contém 31% mais PCr que o músculo flexor longo do hálux da perna, músculo com predominância de fibras vermelhas (oxidativo).

O conteúdo de CREA no músculo dependendo de sua disponibilidade na dieta e desta forma a suplementação de CREA aumenta os estoques desse nutriente. Entretanto, um fator preocupante e crescente é o atendimento às exigências do mercado consumidor por carne de qualidade e a baixo custo. Em dietas exclusivamente vegetais, a exigência de Arg para a síntese de CREA é aumentada, uma vez que os vegetais não se constituem em fontes de CREA. Por outro lado, os subprodutos de origem animal, apesar de boas fontes de CREA, apresentam restrições em relação ao mercado exportador internacional.

O GAA é um aditivo alimentar, disponível comercialmente, mais eficaz em comparação com a CREA e Arg, porque é menos oneroso do que qualquer um destes compostos é quimicamente mais estável do que a CREA e pode poupar Arg e Gly. Este é um ponto importante, considerando que a Arg é o quinto aminoácido limitante em dietas a base de milho e soja (DILGER et al., 2013), além de que as aves não sintetizam Arg *de novo* e dependem exclusivamente da suplementação dietética (TAMIR e RATNER, 1963; BOORMAN e LEWIS, 1971).

Um estudo desenvolvido por Srinongkote et al., (2004) mostrou que o aumento na suplementação dietética de lisina (Lys) e Arg foi benéfico quando frangos criados em alta densidade foram submetidos à altas temperaturas. Os autores destacaram o efeito positivo sobre o bem estar das aves.

Entretanto, Michiels et. al., (2012) observaram valores menores para o pH final da carne e maior perda de água por pressão e por cozimento quando as aves foram suplementadas com GAA, em comparação a uma dieta controle. Quando comparados estes resultados a uma dieta com ingredientes de origem animal não foram observadas diferenças significativas. Assim como Halle et. al., (2006) que já haviam relatado nenhum efeito da suplementação de CREA obre a qualidade das carcaças de aves.

Neste sentido, o estudo da suplementação de GAA em dietas para frangos de corte submetidos às condições adversas climáticas, como as temperaturas elevadas no período pré-abate, pode contribuir no melhor entendimento da participação do metabolismo da CREA sobre a reserva energética do músculo e a relação com as propriedades funcionais da carne de frangos de corte.

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do GAA e da Arg como precursores da CREA em dietas vegetais sobre o rendimento de carcaça e as propriedades funcionais da carne de frangos submetidos ao estresse térmico no período pré-abate.

6.2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. Todos os procedimentos de criação dos animais e de coleta de material biológico foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais em Experimentação.

Foram utilizados 1260 pintos de corte, de 1 dia de idade, machos e fêmeas, da mesma linhagem provenientes de matrizes de cerca de 40 semanas distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, nove repetições e 35 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por:

T1 - dieta controle vegetal a base de milho e farelo de soja

T2- dieta controle vegetal a base de milho farelo de soja acrescida de farinha de carne (3%)

T3- dieta vegetal a base de milho e farelo de soja acrescida de 0,8% de ácido guanidinoacético

T4- dieta vegetal a base de milho e farelo de soja acrescida de 0,8% de L-Arginina

A fonte comercial do ácido guanidinoacético utilizada foi o CreAMINO® (96% ácido guanidinoacético; Evonik Degussa) e a de arginina, a L-Arginina (99% Arginina; Ajinomoto). As rações foram formuladas de acordo com os valores de composição química dos alimentos, e as recomendações nutricionais adotadas pelas integrações avícolas da região, num programa de alimentação composto por 3 fases: Inicial (1 a 21 dias), Crescimento (22 a 37 dias) e Abate (38 a 44 dias). As aves receberam ração e água à vontade durante o período experimental.

Tabela 10 - Composição nutricional das dietas experimentais nos período inicial de 1 a 21 dias, crescimento de 22 a 37 dias e abate 38 a 44 dias.

Ingredientes, kg	Inicial		Crescimento		Abate	
	T2	T1,T3,T4	T2	T1,T3,T4	T2	T1,T3,T4
Milho	62,20	60,30	65,08	62,64	67,76	65,13
Farelo de Soja	32,40	35,20	27,60	30,80	18,13	17,07
Soja Integral Desativada	-	-	-	-	9,33	14,67
Oleo de Soja	-	0,8	2,2	3,10	-	-
Farinha de Carne	3	-	3	-	2,93	-
Cloreto de Sódio	0,300	0,340	0,280	0,320	0,320	0,373
Caulim ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Calcáreo	0,560	0,940	0,460	0,940	0,480	0,907
Fosfato Bicálcico	0,140	1,060	0,080	0,900	-	0,853
Bicarbonato de Sódio	0,100	0,100	0,100	0,100	-	-
DL-Met 98%	0,284	0,279	0,191	0,183	0,192	0,189
L-Lisina 50,7%	0,385	0,358	0,418	0,372	0,360	0,333
L-Treonina 98%	0,086	0,078	0,032	0,020	0,059	0,053
L-Triptofano 98%	-	-	0,006	-	-	-
Colina %	0,042	0,040	0,045	0,042	0,031	0,025
Premix vit. e mineral ^{2,3}	0,400	0,400	0,400	0,400	0,300	0,300
Valores calculados						
Proteína bruta, %	21,67	21,43	19,64	19,51	18,66	18,44
EM (Kcal/kg)	2950	2950	3130	3130	3153	3153
Cálcio	0,881	0,850	0,817	0,821	0,800	0,786
Fósforo Disponível	0,439	0,442	0,420	0,419	0,400	0,395
Lisina Dig., %	1,199	1,201	1,100	1,101	1,001	0,999
AAS Dig., %	0,864	0,864	0,727	0,727	0,701	0,700
Treonina Dig., %	0,780	0,780	0,660	0,660	0,648	0,648
Triptofano Dig., %	0,222	0,230	0,203	0,208	0,182	0,190
Leucina Dig., %	1,636	1,643	1,510	1,525	1,435	1,432
Isoleucina Dig., %	0,824	0,843	0,737	0,763	0,678	0,690
Valina Dig., %	0,902	0,904	0,816	0,825	0,758	0,753
Arginina Dig., %	1,296	1,297	1,158	1,159	1,080	1,080
Na+K+Cl, meq/100g	236	241	212	219	194	202

¹Caulim: Substituído por GAA e L-Arg (800mg/ton).

²Premix Inicial e crescimento (Conteúdo por kg de premix): Ácido Fólico 625,00MG; Ácido Pantotênico 4500,00MG; Amilase 50000,00U, Bacitracina de Zinco 13,75G; Biotina 50,00MG; Cobre 2000,00MG; Etoxin 16,65G; Ferro 17,50G; Fitase 125000,00U; Iodo 250,00MG, Manganês 30,00G; Niacina 10,00G; Protease 1000000,00U; Selênio 60,00MG; Vitamina A. 3000000,00UI; Vitamina B1. 750,00 mg; Vitamina B12. 5000,00 mg; Vitamina B2. 2000,0 mg; Vitamina B6. 1250,00MG; Vitamina D3. 875000,00UI; Vitamina E. 7500,00UI; Vitamina K3. 750,00 mg; Xilanase 500000,00U; Zinco 25,00G.

³Premix Abate (Conteúdo por Kg de premix): Ácido Fólico 333,40MG; Ácido Pantotênico 4000,00MG; Amilase 66668,00U; Biotina 66,67MG; Cobre 2667,00MG; Ferro 20,00G; Fitase 166570,00U; Hidróxido de Tolueno Butilado 33,33G; Iodo 334,00MG, Manganês 33,33G; Niacina 10,00G; Protease 1333360,00U; Selênio 80,00MG; Vitamina A. 2333333,30UI; Vitamina B1. 500,00 mg; Vitamina B12. 4000,00 mg; Vitamina B2. 1567,00 mg; Vitamina B6. 1187,00MG; Vitamina D3. 833989,00UI; Vitamina E. 5657,00UI; Vitamina K3. 1000,00 mg; Xilanase 565580,00U; Zinco 25,57G.

Aos 42 dias de idade, a temperatura ambiente do aviário foi elevada para 32°C, por 48 horas, sendo mantida a ventilação. Aos 44 dias de idade, foi realizada a coleta de sangue de 12 aves/tratamento com peso vivo \pm 2% da média de peso vivo das aves do box para a determinação das concentrações séricas de ácido úrico, uréia, creatina, lactato e glicose. As amostras de soro permaneceram congeladas até o momento das análises bioquímicas, que foram realizadas no analisador químico BS-200 Mindray® (Mindray Medical International Limited). Foram utilizados kits comerciais da marca DIALAB®.

Em seguida, as mesmas aves foram atordoadas com eletricidade, e posterior abate por sangria, e na sequência submetidas à escaldagem, depenagem, evisceração. Para o cálculo de rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada quente, sem os pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo que foi obtido individualmente antes do abate das aves. Para o rendimento dos cortes nobres, foi considerado o rendimento do peito inteiro com pele e ossos e das pernas (coxa e sobrecoxa com ossos e pele) que foi calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada.

A gordura abdominal presente ao redor da cloaca, da bolsa cloacal, moela, pro-ventrículo e dos músculos abdominais adjacentes foi retirada conforme descrito por SMITH (1993). Em seguida, foi pesada e também calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

O músculo *Pectoralis major* direito de cada ave foi identificado e mantido em temperatura ambiente por 15 minutos post-mortem para as medidas do pH através da introdução direta do eletrodo de vidro na região apical do músculo. As medidas foram realizadas 1 hora (pH inicial) e 24 horas após o abate sob refrigeração de 0 ± 2 °C (pH final), sendo uma leitura em cada tempo.

Nas mesmas amostras, foram realizadas as medidas de cor na face ventral do filé após 24h post mortem, tomando três pontos diferentes de leitura por amostra. A medida de cor foi realizada utilizando o colorímetro Minolta CR10. Os valores de luminosidade L*, índice de vermelho a* e índice de amarelo b* foram expressos no sistema de cor CIELAB.

A perda de água por pressão foi avaliada utilizando-se uma porção de dois gramas da amostra do músculo do peito direito em balança semi-analítica. A amostra foi posicionada entre dois papéis filtro (Whatman n.1) e foi pressionando-se

a amostra entre duas placas de acrílico com um peso de 10 kg por cinco minutos. Após a prensagem a amostra foi pesada novamente para ser calculada a perda de água por pressão.

O músculo *Pectoralis* major do lado esquerdo foi pesado e em seguida assado em forno elétrico pré-aquecido a 180°C até atingirem a temperatura interna de 72°C (em torno de 5 minutos de cada lado). Após a cocção, as amostras foram armazenadas resfriadas por 12 horas a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ e pesadas novamente para ser calculada a perda por cocção.

O músculo *Pectoralis minor* (sossami) do lado esquerdo foi pesado e congelado e pesado novamente após 24 horas de descongelamento a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ para avaliação da perda de líquido por descongelamento.

Para a análise estatística, os dados foram verificados quanto à presença de valores discrepantes (“outliers”) e testaram-se as pressuposições de normalidade dos erros studentizados (teste de Cramer Von Mises) e de homogeneidade de variância (teste de Brown-Forsythe). Após constatada a não violação dessas pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância através do procedimento GLM do programa SAS (SAS Institute, 2002) com nível de 5% de significância e em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

6.3. Resultados e Discussão

Na Tabela 02 estão apresentados os dados referentes à bioquímica sérica de aves suplementadas com farinha de carne, GAA e L-Arg e submetidos ao estresse térmico. Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) das dietas sobre nenhuma das variáveis analisadas.

A CREA é fortemente envolvida no metabolismo energético, através da CREA e PCr. A CREA e a PCr não ocorrem em todas as células; em vez disso, limita-se a células de alto gasto energético, em particular as células musculares. Este sistema funciona como um “*backup*” para o ciclo ADP – ATP com o objetivo de

armazenar e mobilizar energia quando necessário em curto prazo (MICHELIS et al., 2012).

Há indícios também de que a creatina pode tamponar o ácido láctico e melhorar o tempo de recuperação após intenso trabalho muscular decorrente da exposição às altas temperaturas (ROBERGS et al, 2004). Entretanto, este fenômeno ainda não foi comprovado em aves.

Tabela 2 - Concentração sérica de ácido úrico, creatina, glicose, lactato e uréia em frangos de corte aos 44 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.

Dietas	Ácido úrico, mg/dL	Creatina mg/dL	Glicose mg/dL	Lactato mg/dL	Uréia, mg/dL
Vegetal	3,00	0,20	267,58	4,91	4,79
Vegetal + FC	2,87	0,19	272,19	4,99	4,72
Vegetal + GAA	2,83	0,20	265,16	4,85	5,08
Vegetal + L-Arg	2,81	0,21	252,02	5,34	4,31
CV,%	25,41	34,59	5,82	16,25	33,23
Valor de P	0,3955	0,9699	0,6195	0,9117	0,6036

A avaliação do rendimento de carcaça e de cortes comerciais está demonstrada nas tabelas 03 (pesos absolutos) e 04 (pesos relativos). Houve efeito significativo ($p < 0,05$) da adição de GAA e L-Arg sobre o peso da carcaça dos frangos de corte. Em comparação com a dieta vegetal e a dieta acrescida de farinha de carne, o peso da carcaça aumentou em 3,20%. Em relação aos dados de rendimento relativo, observou-se menor rendimento ($p = 0,0685$) para o peito das aves que receberam apenas dietas vegetais em comparação àquelas suplementadas com farinha de carne, GAA ou L-Arg.

A suplementação de GAA pode ser particularmente importante em dietas para linhagens de frangos de corte de rápido crescimento inicial devido a grande demanda de energia para suprir os níveis de CREA muscular (BROSNAN et al., 2009) como em situações de estresse térmico e para ressíntese de ATP a partir da CREA pela fibra muscular cardíaca de frangos (NAIN et al., 2008).

O percentual de gordura abdominal foi menor ($p = 0,0508$) em aves suplementadas com GAA e L-Arg em relação às demais dietas.

O efeito positivo da Arg na redução da gordura abdominal de frangos de corte também foi observado por MENDES et al., (1997) e COSTA et al., (2001). Furtado et. al., (2009) também encontraram efeitos significativos em dietas vegetais

suplementadas com GAA para rendimento de peito e redução na gordura abdominal. Al-Daraji et al., (2011) observaram uma significativa redução da porcentagem de gordura abdominal e uma significativa melhoria no rendimento de carcaça, músculo do peito e perna de codornas aos 42 dias de idade suplementadas com Arg.

Uma hipótese que pode explicar esta ação da Arg pode ser embasada no estudo de SUN et al., (2006), que encontraram uma correlação negativa entre os níveis plasmáticos de fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) e o percentual de gordura das matrizes de corte alimentadas *ad libitum*. A Arg comprovadamente estimula a secreção de hormônio do crescimento (GH) e IGF. McMurtry (1998) em uma revisão a respeito da ação dos fatores do crescimento envolvidos no desenvolvimento pós-natal de aves, também demonstraram que a diminuição da gordura abdominal está associada com o aumento do IGF-I plasmático e que o sistema IGF pode estar mais relacionado ao metabolismo intermediário que propriamente ao crescimento *per se* em frangos de corte.

Tabela 3 - Peso (g) da carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte aos 44 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.

Dietas	Carcaça	Peito	Pernas	Filé	Sassami	Gordura
Vegetal	2492,17 ^b	827,33	680,33	291,66	60,53	60,90
Vegetal + FC	2492,25 ^b	871,17	655,33	309,00	63,44	62,85
Vegetal + GAA	2571,83 ^a	844,80	691,67	298,40	63,53	52,64
Vegetal + L-Arg	2508,00 ^a	856,64	673,83	292,00	60,42	55,11
CV, %	6,06	7,23	7,15	7,81	12,79	24,89
Valor de P	0,0335	0,3658	0,3252	0,2536	0,6332	0,2774

Tabela 4 - Rendimento (%) de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte aos 44 dias de idade recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.

	Carcaça	Pernas	Peito	Filé	Sassami	Gordura
Vegetal	76,24	27,30	33,21 ^b	11,73	2,433	2,75 ^a
Vegetal + FC	76,10	26,29	34,93 ^a	12,42	2,552	2,95 ^a
Vegetal + GAA	76,61	26,90	34,04 ^a	11,62	2,484	1,83 ^b
Vegetal + L-Arg	77,12	26,59	34,81 ^a	11,98	2,408	2,25 ^b
CV, %	1,60	3,97	5,06	9,12	13,41	5,603
Valor de P	0,1921	0,1348	0,0685	0,3160	0,7235	0,0508

Em relação às análises das perdas por cozimento, congelamento e pressão (Tabela 05), houve efeito significativo ($p < 0,05$) das dietas, com menor perda por

cozimento dos filés dos frangos alimentados com dieta suplementada com farinha de carne em relação à dieta vegetal.

Michiels et. al., 2012, observaram que perda de água por pressão e a perda de água por cozimento foi maior para a dieta vegetal suplementada com GAA, em comparação com as do tratamento sem GAA, mas não diferiram da dieta de origem animal.

Os valores de luminosidade, índice de vermelho e amarelo e pH de filés de frangos estão demonstrados na Tabela 06. Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) das dietas sobre essas características. O estresse térmico agudo pode aumentar a atividade creatina quinase (CK) muscular, alterar a integridade da membrana celular no metabolismo glicolítico do músculo do peito e aumentar o efeito osmótico da membrana (WANG et al., 2009).

A reserva energética muscular é muito importante na regulação da queda do pH *post mortem*. Animais com desenvolvimento muscular acelerado podem ter alterações na velocidade da glicólise, o que pode acarretar alterações nas características de qualidade da carne. As aves submetidas ao estresse por calor usam mais rapidamente suas reservas de glicogênio, o que pode resultar em seu esgotamento *in vivo*, que por sua vez gera consequências negativas sobre as propriedades funcionais da carne. No presente trabalho, apesar do estresse térmico ao quais as aves foram submetidas, não foi observado efeito sobre as propriedades funcionais da carne.

Tabela 5 - Perdas por cozimento, congelamento e pressão de filés de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.

Dietas	Perdas (%)		
	Cozimento	Congelamento	Pressão
Vegetal	28,43 ^a	3,56	8,45
Vegetal + FC	24,94 ^b	3,26	8,46
Vegetal + GAA	26,64 ^{ab}	2,93	8,38
Vegetal + L-Arg	26,03 ^{ab}	3,40	10,54
CV, %	7,72	34,48	27,26
Valor de P	0,0068	0,8418	0,0960

Tabela 6 - Valores de luminosidade L*, índice de vermelho a* e índice de amarelo b* (expressos no sistema de cor CIELAB) e pH de filés de frangos de corte recebendo dietas com inclusão de farinha de carne, GAA ou L-Arg e submetidos ao estresse térmico pré-abate.

Dietas	Cor			pH	
	L*	a*	b*	antes	depois
Vegetal	52,64	3,159	6,430	6,16	5,37
Vegetal + FC	52,13	3,310	7,478	6,11	5,40
Vegetal + GAA	53,47	2,321	7,319	6,27	5,34
Vegetal + L-Arg	52,81	3,053	6,229	6,25	5,39
CV, %	7,02	40,16	24,86	3,08	3,7826
Valor de P	0,6650	0,1949	0,1995	0,3083	0,9022

As condições climáticas são as que mais diretamente afetam as aves, por comprometer a manutenção homeotérmica, que é uma função vital (OLIVEIRA et al., 2006). O desequilíbrio fisiológico causado por altas temperaturas e umidade relativa do ar, no momento do abate, tem efeito direto sobre as reservas de glicogênio muscular, responsáveis pelo desenvolvimento das reações bioquímicas *post mortem* (PETRACCI et al., 2001), que determinarão a qualidade da carne e suas propriedades funcionais (CHEFTEL et al., 1989)

Na fisiologia muscular, com oxigênio, a degradação do glicogênio se dá via glicólise aeróbica, onde o ácido pirúvico produzido continua com o ciclo dos ácidos tricarboxílicos, formando, em última instância, dióxido de carbono (CO²) e água (H₂O) liberando energia na forma de ATP. Já no *post mortem*, com ausência de oxigênio, a degradação do glicogênio muscular ocorre via glicólise anaeróbica e leva à formação de ácido láctico a partir do piruvato, reduzindo o pH muscular. Essa redução é necessária para uma correta maturação da carne no processo denominado conversão do músculo em carne.

Lemme et al., (2007) suplementaram GAA nas rações dos frangos de corte e mostraram aumento gradual no conteúdo de CREA muscular. Uma hora *post mortem*, o conteúdo de ATP muscular foi significativamente maior quando comparado àqueles que não receberam GAA, provavelmente devido à melhoria no metabolismo energético celular.

Srinongkote et al., (2004) relataram que o aumento da suplementação com Lys e Arg reduziu os efeitos negativos do estresse crônico em frangos de corte criados em alta densidade de alojamento.

A falta de resultados mais consistentes em relação à suplementação de Arg e GAA na dieta de frangos de corte submetidos ao estresse térmico pode ser atribuída aos níveis altos de Arg nas dietas controle: 1,296; 1,158 e 1,159%, respectivamente nas dietas iniciais, crescimento e final. Desta forma, provavelmente os níveis de Arg eram suficientes para o ciclo Arg-NO e Arg-CREA mesmo em situações de estresse térmico.

Aparentemente, a suplementação dietética com Arg em situações de estresse térmico, mostra ser benéfica baseada em três mecanismos inter-relacionados e interdependentes, os quais são desencadeados simultaneamente pela vasodilatação: o aumento da perfusão sanguínea (MENEILLY et al., 2001), que facilita o aporte de oxigênio e nutrientes aos tecidos; a maior oferta de glicose para o músculo em atividade proporcionando mais substrato energético para a contração muscular e a redução da concentração plasmática de amônia e lactato (SCHAEFER et al., 2002).

Schaefer et al.. (2002) afirmam ainda, que a suplementação de Arg favorece o mecanismo Arg-NO desencadeado pelo exercício físico, aumentando a formação de NO a partir da Arg, e agir sobre a vasodilatação dos vasos sanguíneos com conseqüente aumento da perfusão muscular. Assim, a suplementação com GAA poderia poupar Arg para essa função e servir de substrato para a formação de CREA muscular, fundamental na conservação de energia muscular.

A maior parte destes trabalhos com suplementação de Arg ou CREA foi desenvolvida com atletas, porém mostram que há um grande potencial de aplicação na produção de frangos de corte em condições de altas temperaturas ambientais ou em altas densidades de alojamento. O metabolismo da Arg em aves difere em relação aos mamíferos e por isso mais estudos são necessários para permitir a aplicação destes conceitos na cadeia avícola.

6.4. Conclusão

A suplementação de dietas vegetais com L-Arg ou GAA não alterou a bioquímica sérica e a qualidade da carne de frangos submetidos ao estresse

térmico, e resultou em maior rendimento do peito e menor deposição de gordura abdominal em frangos submetidos ao estresse térmico.

6.4. REFERÊNCIAS

- AL-DARAJI, H.J.; AL-MASHADANI, A.A.; AL-HAYANI, W.K. et al., 2011. Influence of in ovo injection of L-arginine on productive and physiological performance of quails. *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.*, 7: 463-467.
- BALNAVE, D.; BRAKE, J. 1999. Responses of broilers to sodium bicarbonate supplementation of diets containing varying arginine: Lysine ratios. *Aust. J. Agric. Res.* 50:425-430.
- BALON, T. W.; NADLER, J. L. 1997. Evidence that oxide nitric increases glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 82: 359-363.
- BIANCHI, M. et al. 2007. The influence of the season and Market class of broiler chickens. *Poultry Science*, Ithaca, v.86, p.959- 963. BIANCHI, M; PETRACCI, M; SIRRI, F. et al., 2007. The influence of the season and Market class of broiler chickens. *Poult Sci*, Ithaca, v.86, p.959- 963.
- BOORMAN, K. N.; FISHER, H. 1966 The arginine-lysine interaction in the chick. *Brit. Poultry Sci.*, 7: 39.
- BOORMAN, K. N.; LEWIS, D. 1971. Protein metabolism. Pages 339–372 in: Vol. I, *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. D. J. Bell and B. M. Freeman, ed. Academic Press, New York, NY.
- BROSNAN, J. T.; WIJEKOON, E. P.; WARFORD-WOOLGAR, L. et al., 2009. Creatine synthesis is a major metabolic process in neonatal piglets and has important implications for amino acid metabolism and methyl balance. *J. Nutri.*, 139:1292-1297.
- CARTEE, G.D.; YOUNG, M.D.; SLEEPER, M. D. et al., 1989. Prolonged increase in insulin stimulated glucose transport in muscle after exercise. *Am J Physiol.* 256; E494-E499.
- CHAMRUSPOLLERT, M. 2001. Interrelationships between dietary arginine, methionine, and environmental temperature affect growth and creatine biosynthesis in young broiler chicks. Athens, Georgia: University of Georgia, 2001. 236p. (PhD Thesis) - University of Georgia.
- CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. et al. 1989. *Proteínas alimentares: bioquímica - propriedades funcionales - valor nutritivo – modificaciones químicas*. (Tradução de Francisco López Capont). Zaragoza: Acribia, 346p
- COSTA, F.G.P.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T. et al. 2001 Efeito da relação arginina-lisina sobre o desempenho e qualidade da carcaça de frangos de corte de 3 a 6 semanas de idade, em condições de alta temperatura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6, p.2021-2025.

DILGER, R.N.; BRYANT-ANGEONI, PAYNE, K. et al., 2013. Dietary guanidino acetic acid is an efficacious replacement for arginine for young chicks. *Poult. Sci.*, 92:171-177.

DIMMELER, S.; ZEIHNER, A.M. 1999 Nitric oxide-an endothelial cell survival factor. *Cell Death & Differentiation*; 6(10), 964-8.

FEBBRAIO, M.; FLANAGAN, T.; SNOW, R. et al., 1995. Effect of creatine supplementation on intramuscular TCr, metabolism and performance during intermittent, supramaximal exercise in humans. *Acta Physiologica Scandinavica*, 155, 387-395.

GONZALEZ-ESQUERRA, R.; LEESON, S. 2006. Concentrations of putrescine, spermidine, and spermine in duodenum and pancreas as affected by the ratio of arginine to lysine and source of methionine in broilers under heat stress. *Poultry Science*; 85:1398-1408.

LEMME, A.; RINGEL, J.; STERK, A. et al., 2007. Supplemental guanidino acetic acid affect energy metabolism of broiler. 16 th European Symposium on Poultry Nutrition, 26 a 30 de Agosto, Strasbourg, França, p. 339 a 342.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; MAIORKA, A. 2004. Aspectos fisiológicos e de manejo para manutenção da homeostase térmica e controle de síndromes metabólicas. In: MENDES, A.A.; NÄÄS, I.A.; MACARI, M. (Eds.). *Produção de frangos de corte*. Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas,. p.137-155.

MARLETTA, M.A. 1993. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *Journal of Biological Chemistry*; 268:12231-234.

MCMURTRY, J. P. 1998. Nutritional and developmental roles of insulin-like growth factors in poultry. *J. Nutr.* 128 (2 Suppl.):302S–305S.

MENDES, A.A.; WATKINS, S.E.; ENGLAND, J.A. et al. 1997. Influence of dietary lysine levels and arginine:lysine ratios on performance of broilers exposed to heat or cold stress during the period of three to six weeks of age. *Poult. Sci.*, 76:472-481.

MENEILLY, G.S.; BATTISTINI, B.; FLORAS. J.S. 2001. Contrasting effects of L-arginine on insulin-mediated blood flow and glucose disposal in the elderly. *Metabolism*.;50(2): 194-9.

MICHIELS, J.; MAERTENS, L.; BUYSE, J. et al., 2012. Supplementation of guanidinoacetic acid to broiler diets: Effects on performance, carcass characteristics, meat quality, and energy metabolism. *Poult. Sci.*, 91:402–412.

NAIN, S.; LING, B.; ALCORN, J. et al., 2008. Biochemical factors limiting myocardial energy in a chicken genotype selected for rapid growth. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 149:36–43.

OLIVEIRA, R.; DONZELE, J.L.; ABREU, M.L.T. et al., 2006. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. *Rev. Br. de Zoot.*, Viçosa, v.35, n.3, p.797-803,.

PETRACCI, M.; FLETCHER, D.L.; NORTHCUTT, J.K. et al., 2001 The effect of holding temperature on live shrink, processing yield, and breast meat quality of broiler chickens. *Poult. Sci.*, Ithaca, v.80, p.670-675.

ROBERGS, R.A.; GHASVAND, F.; PARKER, D. 2004. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R502–R516.

ROBERTS, C. K.; BARNARD, R. J.; JASMAN, A. et al., 1999. Acute exercise increases nitric oxide synthase activity in skeletal muscle. *Am J Physiol.* 277: E390-E394.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. User's guide. Cary: SAS Institute, 2002. 525p.

SCHAEFER, A.; PIQUARD, F.; GENY, B. et al., 2002. Arginine reduces exercise-induced increase in plasma lactate and ammonia. *Int J Sports Med.*;403-7.

SILVA, M.A.N.; SILVA, I.J.O.; PIEDADE, S.M.S. et al. 2001. Resistência ao estresse calórico em frangos de corte de pescoço pelado. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.3, n.1, p.27-33.

SMITH, R. E. 1968. Effect of arginine upon the toxicity of excesses of single amino acids in chicks. *J. Nutr.* 95:547–553

SMITH, M.O. 1993. Parts yield of broilers reared under cycling high temperatures. *Poult. Sci.*, v.72, p.1146-1150.

SRINONGKOTE, S.; SMRIGE, M.; TORIDE, Y., 2004. Diet supplied with L-lysine and L-arginine during chronic stress of high stock density normalizes growth of broilers. *Anim. Sci. J.*, 75: 339-343.

SUN, J.M.; RICHARDS, M.P.; ROSEBROUGH, R.W. et al., 2006. The relationship of body composition, feed intake, and metabolic hormones for broiler breeder females. *Poult. Sci.* 85: 1173-1184.

TAMIR, H.; RATNER, S. 1963. Enzymes of arginine metabolism in chicks. *Archives of Biochemistry and Biophysics*; 102: 249-258.

WANG, R. R.; PAN, X.J.; PENG, Z.Q. 2009. Effects of heat exposure on muscle oxidation and protein functionalities of pectoralis majors in broilers *Poultry Science* 88 :1078–1084.

WILLIAMS, M.H.; KREIDER, R. B.; BRANCH, J. D. 2000. *Creatina*, Manole.

7. CONCLUSÕES GERAIS

Devido às exigências de mercados importadores de carne de frango, o uso de proteína animal, como as farinhas resultantes do abate de aves, suínos e bovinos na formulação de dietas para frango de corte é limitado. Deficiências nutricionais específicas em dietas exclusivamente vegetais já são conhecidas, como de creatina. Desta forma, a suplementação de aminoácidos sintéticos e compostos biológicos poupadores de aminoácidos essenciais pode corrigir essa deficiência.

As dietas vegetais acrescidas de GAA ou L-Arg resultaram em melhor peso vivo ao final da primeira semana de vida dos pintos. Este resultado é bastante animador, uma vez que as dietas foram elaboradas com altos níveis de proteína, os quais atendiam plenamente as exigências em aminoácidos. Níveis proteicos estão sendo reduzidos seja pelo alto custo ou em detrimento ao efeito poluidor e tóxico da liberação de nitrogênio nas excretas das aves, o que implica na suplementação de aditivos que possam manter a máxima produtividade, a lucratividade e principalmente a produção de carne de frango de qualidade que atenda aos altos padrões do consumidor, não somente em termos de preço e inocuidade, mas também sob os aspectos de criação e bem estar.

Em situações de estresse térmico, a suplementação de dietas vegetais acrescidas com L-Arg ou GAA resultou em maior peso de carcaça, rendimento do peito e menor deposição de gordura abdominal quando comparado às dietas de origem animal.

Há uma perspectiva otimista em relação ao uso de Arg e GAA em dietas exclusivamente vegetais como precursores da creatina, principalmente em condições de altas temperaturas ambientais ou em altas densidades de alojamento. Entretanto, a maior parte dos trabalhos com suplementação de Arg ou creatina é desenvolvida com humanos, além de diferenças marcantes no metabolismo da Arg nas aves em relação aos mamíferos. Assim, muitos estudos ainda são necessários para uma aplicação efetiva destes conceitos na produção de frangos de corte.