

EFEITOS DO ÁCIDO L-GLUTÂMICO E DA VITAMINA K NO COMPRIMENTO E NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA PARCIAL DE TÍBIAS E FÊMURES DE PINTOS DE CORTE¹

Ana Claudia Peres Rodrigues²
George Henrique Kling de Moraes³
Horácio Santiago Rostagno⁴
José Brandão Fonseca⁴

1. INTRODUÇÃO

A elevada incidência de anomalias nas pernas de pintos de corte alimentados com dietas purificadas, contendo baixos níveis de nitrogênio não-específico fornecidos por ácido L-glutâmico (L-Glu), ou L-alanina (L-Ala), ou misturas isonitrógenas destes, foi observada por RIBEIRO *et alii* (23), RODRIGUES e MORAES (24), GUIMARÃES *et alii* (9) e SILVA e MORAES (27). Essas anomalias surgem entre o sexto e oitavo dias de idade e, após, agravam-se, resultando em elevada taxa de mortalidade devido, principalmente, à dificuldade de locomoção, que dificulta a alimentação tanto em baterias como no chão. MORAES *et alii* (17) verificaram que as deformações não são caracterizadas por manifestação específica, mas por pernas arqueadas, torcidas, espalhadas, dentre outras, com maior ou menor grau de severidade. Essas anormalidades, genericamente denominadas problemas de pernas, não são associadas à

¹ Aceito para publicação em 20.11.1995.

² Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora. 36015-000 Juiz de Fora, MG.

³ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

⁴ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, MG.

deficiência de nutrientes envolvidos em desordens ósseas.

Tem sido demonstrado que a elevação do nível de nitrogênio não-específico melhora o desempenho (ganho de peso e conversão alimentar) e reduz a incidência de problemas de pernas. Todavia, a eliminação das deformações nas pernas não tem sido verificada de forma definitiva (2, 6, 23, 27).

A composição química tem sido, também, objeto de estudos. Foi observado que animais com problemas de pernas apresentaram altos teores de proteínas não-colagenosas (PNC) ou extraíveis com EDTA (2, 6, 24), com pequenas alterações nos teores de proteínas colagenosas (PC) e de alguns constituintes da fração mineral de tíbias e fêmures (27). Uma proteína de baixo peso molecular denominada osteocalcina encontrada na fração PNC contém resíduos do aminoácido gama-carboxi-glutâmico (GLA). Esses são oriundos da carboxilação, após a síntese protéica, de resíduos de L-Glu, mediante processo catalisado por um complexo multienzimático, dependente de vitamina K (14, 19). A osteocalcina apresenta alta capacidade de complexar cálcio e, por isso, tem sido sugerida sua participação no metabolismo mineral do tecido ósseo (10, 27). DEFTOS *et alii* (3) observaram que humanos com desordens no tecido ósseo apresentaram altos teores de proteínas que contêm GLA no plasma, e, após tratamento específico, houve redução acentuada.

MORAES (16) verificou que aumentando o nível dietético de vitamina K (Vit. K) de 2,0 para 10,0 mg/kg de dieta e este combinado com 5 ou 12,5% de L-Glu não eliminou ou mesmo reduziu as deformações de pernas de pintos jovens. RODRIGUES e MORAES (24) observaram que a incidência de problemas de pernas não estavam relacionadas com níveis subótimo, ótimo e superótimo de Vit. K. Admite-se que esses problemas sejam produzidos pela má formação óssea, provavelmente por alterações na matriz orgânica dos ossos (12). O requerimento de Vit. K para aves de corte é maior que para outros animais monogástricos, porque a biossíntese microbiana da Vit. K no trato intestinal é menos eficiente (19). Assim, a Vit. K tem sido incluída em dietas purificadas em nível recomendado de 2,0 mg/kg de dieta (5).

O presente trabalho teve como objetivo verificar se a Vit. K suplementada na dieta afeta a composição química de tíbias e fêmures de pintos de corte. Assim, dietas purificadas foram formuladas com dois níveis de L-Glu (5,0 e 12,5%) combinados com três níveis de Vit. K (0,2; 2,0; e 20,0 mg/kg de dieta) e fornecidas a pintos de corte de um a 14 dias.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. *Procedimentos Gerais*

Foram utilizados 120 pintos de um dia, machos, Hubbard, os quais foram criados em bateria aquecida com piso de tela elevado e recebendo dietas e água à vontade, por um período de 14 dias, na seção de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. As dietas experimentais (tratamentos) foram formuladas conforme descritas no Quadro 1, contendo todos os L-aminoácidos essenciais, minerais e vitaminas (exceto a Vit. K) em níveis recomendados (5, 25), ácido L-glutâmico (5,0 ou 12,5%) e vitamina K (0,2; 2,0; 20,0 mg/kg de dieta), segundo combinação fatorial de 2 x 3. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de cinco pintos cada. Durante todo o período experimental, a água foi trocada e as dietas revolvidas nos comedouros diariamente.

2.2. *Coletas de Fêmures*

Ao término do experimento, nove pintos de cada dieta experimental foram sacrificados por deslocamento cervical e as tíbias e os fêmures de ambas as pernas removidos, limpos de todo tecido aderente e seus comprimentos medidos com paquímetro. A seguir, foram cortados longitudinalmente com bisturi, medulas ósseas retiradas com jatos de água destilada e desionizada e desengordurados com éter de petróleo em aparelho de Soxhlet por 12 horas. Os ossos das pernas esquerdas foram utilizados (QUADRO 1) para determinações dos teores de proteínas não-colagenosas (PNC), colagenosas (PC) e totais (PT) e os das direitas para determinações dos teores de cinzas e de cálcio, fósforo e magnésio nas cinzas.

2.3. *Determinações dos Teores de PNC, PC e PT*

Após o desengorduramento, cinco ossos (tíbias e fêmures) de pintos de cada tratamento foram pesados e desmineralizados separadamente com EDTA, sal dissódico, 0,5 M, pH 8,2, para a extração das PNC (12, 13). Nos extratos, assim obtidos, foram determinados os teores de PNC de acordo com o método de BRADFORD (1) e usando albumina bovina sérica como padrão.

Os mesmos ossos, após a desmineralização, foram lavados exaustivamente com água destilada e desionizada, para remoção do EDTA, e usados para determinar os teores de PC pelo método descrito

QUADRO 1 - Dietas purificadas utilizadas

| Ingredientes | Dietas | | | | | |
|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Aminoácidos essenciais* (%) | 8,94 | 8,94 | 8,94 | 8,94 | 8,94 | 8,94 |
| Mistura vitamínica** (%) | 4,48 | 4,48 | 4,48 | 4,48 | 4,48 | 4,48 |
| Mistura mineral*** (%) | 9,10 | 9,10 | 9,10 | 9,10 | 9,10 | 9,10 |
| Bicarbonato de sódio (%) | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| Óleo de soja (%) | 15,00 | 15,00 | 15,00 | 15,00 | 15,00 | 15,00 |
| Ácido L-glutâmico (%) | 5,00 | 5,00 | 5,00 | 12,50 | 12,50 | 12,50 |
| Menadiona sódio bissulfito (mg/kg) | 0,20 | 2,00 | 20,00 | 0,20 | 2,00 | 20,00 |
| Amido (%) q.s.p. | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |

*Em % da dieta: L-Arg.HCl = 1,15; L-His.HCl.H₂O = 0,41; L-Lis.HCl = 1,14; L-Trp = 0,45; L-Fen = 0,5; L-Trp = 0,15; L-Met = 0,35; L-Cis = 0,35; L-Tre = 0,65; L-Leu = 1,0; L-Iso = 0,6; L-Val = 0,69; L-Pro = 0,4; e Gli = 1,0.

**Quantidade/kg de dieta: Colina 70% = 3,3 g; Retinil palmitato = 5.000 U.I.; Colecalciferol = 2.250 U.I.; D-alfa-Tocoferil acetato = 22 U.I.; Inositol = 1 g; Riboflavina = 9 mg; Tiamina.HCl = 6 mg; Pantotenato de cálcio = 20 mg; Niacina = 50 mg; Piridoxina = 8 mg; Ácido fólico = 2 mg; Biotina = 0,3 mg; B₁₂ (0,1 %) = 20 mg; BHT = 0,125 mg; e Excipiente = 30 g.

***Em mg/kg de dieta: CaCO₃ = 18.625; CaHPO₄.2 H₂O = 30.530; K₂HPO₄ = 11.220; NaCl = 6.000; FeSO₄ = 200; ZnO = 122,5; CuSO₄.5 H₂O = 15; MnSO₄.H₂O = 510; KI = 40; MgCO₃ = 2.500; NaMoO₄.2 H₂O = 1,0; NaSeO₃ = 0,22; e Excipiente = 30.300.

por GUIMARÃES (6), usando sulfato de amônia anidro como padrão. Os teores de PT foram obtidos pelo somatório dos teores de PNC e PC.

2.4. *Determinações dos Teores de Cinzas e de Cálcio, Fósforo e Magnésio nas Cinzas*

Cinco tíbias e cinco fêmures de pintos de cada tratamento, após o desengorduramento, foram calcinados, separadamente, em forno Mufla a, aproximadamente, 600°C por duas horas para determinação dos seus respectivos teores de cinzas. Os teores de cálcio e magnésio nas cinzas dos ossos foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica e os de fósforo foram determinados por colorimetria, utilizando metodologias descritas por SILVA (26).

2.5. *Análises Estatísticas*

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância segundo o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + V_j + (GV)_{ij} + E_{ijk}, \text{ em que}$$

μ = média geral

G_i = efeito dos níveis de L-Glu

V_j = efeito dos níveis de Vit. K

GV_{ij} = efeito da interação

E_{ijk} = erro experimental, NID (0, σ^2)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. *Comprimentos de Tíbias e Fêmures*

O crescimento médio máximo das tíbias e dos fêmures obtido pelos animais submetidos às dietas experimentais constam do Quadro 2. Não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) dos níveis de Vit. K e interação L-Glu x Vit. K. Pintos alimentados com 12,5% de L-Glu apresentaram melhor crescimento ósseo que aqueles que receberam 5,0% ($P < 0,01$), confirmando que o nível de nitrogênio não-específico de dietas purificadas é fundamental para o desenvolvimento corporal de pintos, conforme observações feitas por FEATHERSTON (4), MARUYAMA (15), MORAES *et alii* (18), GUIMARÃES *et alii* (8, 9), RIBEIRO *et alii* (23) e RODRIGUES e MORAES (24). O nível é, ainda, variável conforme observações feitas por diversos autores. MORAES *et alii* (17) e GUIMARÃES *et alii* (9) verificaram ser necessário 10,0% de L-Glu ou

quantidades isonitrógenas da mistura L-Glu e L-Ala para pintos criados em bateria aquecida ou no chão. SILVA e MORAES (27) observaram que, para crescimento adequado de tíbias e fêmures de pintos de corte, foi necessário o mínimo de 7,5% de L-Glu.

CORNÉLIO (2) obteve maiores tíbias e fêmures em pintos alimentados com 12,5% de L-Glu que com 5,0%. Em relação à Vit. K, mesmo em nível 10 vezes o recomendado, não foi observado efeito sobre o desenvolvimento ósseo.

3.2. Teores de Proteínas Não-Colagenosas (PNC), Colagenosas (PC) e Totais (PT)

Os teores de PNC, PC e PT dos ossos estudados estão nos Quadros 3 e 4. Embora a Vit. K seja essencial para a γ -carboxilação de resíduos de Glu de proteínas ósseas (19), os níveis estudados não afetaram as frações não-colagenosas e colagenosas das tíbias e dos fêmures. A ausência ou mesmo a deficiência de Vit. K reduz a γ -carboxilação e, conseqüentemente, as proteínas não terão resíduos de Gla e perderiam suas funções, principalmente aquelas envolvidas no metabolismo ósseo (19, 22, 28). Entretanto, o menor nível (0,2 mg/kg de dieta) da Vit. K utilizado pode não ter sido suficientemente baixo para promover deficiência necessária para alterar os teores da PNC e PC pelas mesmas explicações dadas no subtítulo 3.1. Não houve interação significativa ($P > 0,05$) entre os níveis de L-Glu e de Vit. K.

Por outro lado, houve efeito significativo do nível de L-Glu nos teores de PNC e PC nas tíbias e nos fêmures. As aves que receberam 5,0% de L-Glu tiveram maiores e menores teores de PNC e PC, respectivamente, em ambos os ossos estudados. O inverso foi observado nos animais que receberam 12,5% de L-Glu.

A elevação do nível de L-Glu de 5,0 para 12,5% aumentou a fração colagenosa e diminuiu a fração não-colagenosa. Isso pode explicar a redução da incidência de problemas de pernas observada por RODRIGUES e MORAES (24), em pintos de corte alimentados com 12,5% de L-Glu, em relação àqueles que foram submetidos a dietas com 5,0% de L-Glu. Essa relação entre os teores de PNC e a incidência de problemas de pernas é explicável, considerando que aumento de Gla-proteínas (componentes das PNC) não somente inibe a mineralização óssea como, também, pode estimular o aumento da liberação de cálcio do osso (21, 22).

De modo geral, a redução dos teores de PNC em ossos das pernas de pintos de corte, alimentados com níveis considerados adequados de

QUADRO 2 - Comprimentos de tíbias e fêmures de pintos de corte, machos, aos 14 dias de idade

| | | Tíbias | | Fêmures | | | | |
|----------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | Vitamina K | | Vitamina K | | | | |
| (%) |(mg/kg de dieta)..... |(mg/kg de dieta)..... |(mg/kg de dieta)..... |(mg/kg de dieta)..... |(mg/kg de dieta)..... | | | |
| | 0,2 | 2,0 | 20,0 | Médias* | 0,2 | 2,0 | 20,0 | Médias* |
| |(mm)..... | |(mm)..... | |(mm)..... | |(mm)..... | |
| 5,0 | 44,05 | 44,83 | 44,07 | 44,07 ^b | 35,93 | 35,02 | 35,34 | 35,34 ^b |
| 12,5 | 50,40 | 50,93 | 50,86 | 50,90 ^c | 39,16 | 39,48 | 39,55 | 39,40 ^c |
| Médias** | 47,47 ^A | 47,88 ^A | 47,46 ^A | 47,46 ^A | 37,54 ^A | 37,25 ^A | 37,44 ^A | 37,44 ^A |

*Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, nas colunas, diferem entre si a 1% de probabilidade.

**Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade.

QUADRO 3 - Teores médios de proteínas não-colagenosas (PNC), colagenosas (PC) e totais (PT) de fíbias de pintos de corte, machos, aos 14 dias de idade

| | | PNC | | | PC | | | PT | | | | |
|----------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------|--------------------|
| L-Glu | | Vitamina K | | | Vitamina K | | | Vitamina K | | | | |
| (%) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | (mg/kg de dieta) | | |
| 0,2 | 2,0 | 20,0 | Médias* | 0,2 | 2,0 | 20,0 | Médias* | 0,2 | 2,0 | 20,0 | Médias* | |
| 5,0 | 4,40 | 4,53 | 4,63 | 4,52 ^a | 26,26 | 26,16 | 25,91 | 25,91 ^b | 29,99 | 30,69 | 30,57 | 30,42 ^a |
| 12,5 | 2,13 | 2,32 | 2,12 | 2,19 ^b | 28,55 | 28,22 | 28,65 | 28,47 ^a | 30,69 | 30,54 | 30,78 | 30,67 ^a |
| Médias** | 3,26 [^] | 3,42 [^] | 3,37 [^] | 27,09 [^] | 27,19 [^] | 27,30 [^] | 30,34 [^] | 30,62 [^] | 30,67 [^] | | | |

*Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, nas colunas, diferem entre si a 1% de probabilidade.

**Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade.

QUADRO 4 - Teores médios de proteínas não-colagenosas (PNC), colagenosas (PC) e totais (PT) de fêmeas de pintos de corte, machos, aos 14 dias de idade

| | PNC | | | PC | | | PT | | | | | |
|----------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|---------------|--------------------|
| L-Glu | Vitamina K | | | Vitamina K | | | Vitamina K | | | | | |
| (%) | (mg/kg de dieta) | | | (mg/kg de dieta) | | | (mg/kg de dieta) | | | | | |
| | 0,2 | 2,0 | 20,0 | Médias* | 0,2 | 2,0 | 20,0 | Médias* | 0,2 | 2,0 | 20,0 | Médias* |
| |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |(%)..... |
| 5,0 | 4,33 | 4,48 | 4,68 | 4,50 ^a | 25,89 | 26,47 | 25,95 | 26,10 ^b | 30,23 | 30,95 | 30,51 | 30,57 ^a |
| 12,5 | 2,42 | 2,41 | 2,32 | 2,38 ^b | 28,59 | 28,30 | 28,68 | 28,53 ^a | 31,01 | 30,71 | 31,01 | 31,91 ^a |
| Médias** | 3,38 ^a | 3,44 ^a | 3,50 ^a | 27,24 ^a | 27,34 ^a | 27,32 ^a | 30,62 ^a | 30,83 ^a | 30,76 ^a | | | |

*Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, nas colunas, diferem entre si a 1% de probabilidade.

**Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade.

nitrogênio não-específico, tem sido observada (2, 6, 23). Todavia, não tinha sido, ainda, verificado aumento significativo dos teores de PC, mas sim uma tendência. Os teores de PT, que são o somatório de PNC e PC, não foram afetados pelas dietas experimentais.

3.3. Teores de Cinzas e de Cálcio, Fósforo e Magnésio nas Cinzas

Os teores de Ca, P e Mg nas cinzas de tíbias e fêmures e os de cinzas de fêmures não foram afetados pelos níveis de L-Glu e de Vit. K e, também, não foi observada interação significativa L-Glu x Vit. K ($P > 0,05$). Apenas os teores de cinzas das tíbias foram influenciados pelas dietas experimentais. Os pintos submetidos às dietas com 5,0% de L-Glu apresentaram menores teores de cinzas que aqueles alimentados com 12,5% ($P < 0,01$) e os níveis de Vit. K não alteraram os teores de cinzas ($P > 0,05$), conforme pode ser observado no Quadro 5. Embora não tenha havido interação significativa L-Glu x Vit. K para os teores de cinzas nas tíbias, os dados do Quadro 5 mostram que houve tendência à redução nos teores de cinzas nas tíbias com aumentos do nível de Vit. K nos pintos submetidos a 5,0% de L-Glu. Naquelles que receberam 12,5% de L-Glu, houve tendência à elevação dos conteúdos de cinzas, aumentando-se os níveis de Vit. K.

Pode ser verificado que pintos de corte submetidos a dietas padronizadas com baixo nível de nitrogênio não-específico (5,0% de L-Glu) apresentaram alteração nos teores de cinzas nas tíbias. Essas aves

QUADRO 5 - Teores médios de cinzas de tíbias de pintos de corte, machos aos 114 dias de idade

| L-Glu (%) | Teores de cinzas | | | Médias* |
|-----------|-----------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| | Vitamina K (mg/kg de dieta) | | | |
| | 0,2 | 2,0 | 20,0 | |
| | (%) | | | |
| 5,0 | 40,72 | 37,05 | 35,58 | 37,78 ^b |
| 12,5 | 40,85 | 41,53 | 43,49 | 41,96 ^a |
| Médias*** | 40,79 ^{AA} | 39,30 ^{AA} | 39,53 ^{AA} | |

*Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na coluna, diferem entre si, a 1% de probabilidade.

***Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade.

apresentaram alta incidência de problemas nas pernas, de acordo com observações feitas por RODRIGUES e MORAES (24). Isso sugere, de alguma forma, que as alterações na matriz orgânica óssea, conforme sugeridas por MORAES *et alii* (17) e GUIMARÃES e MORAES (7), podem, também, estar associadas à parte mineral do tecido ósseo. Todavia, como os elementos pesquisados (Ca, P e Mg) não foram afetados pelos tratamentos, outros elementos devem ser analisados em pesquisas futuras.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Com o objetivo de estudar os efeitos de 5,0 e 12,5% de ácido L-glutâmico (L-Glu) combinados cada um com 0,2, 2,0 e 20,0 mg de vitamina K (Vit. K) por kg de dieta na composição química parcial de tíbias e fêmures de pintos de corte, foi conduzido experimento fatorial de 2 x 3, inteiramente casualizado, com quatro repetições de cinco pintos cada. O experimento teve duração de 14 dias e utilizaram-se pintos de um dia, machos, Hubbard. Os pintos foram criados em baterias aquecidas e alimentados à vontade com dieta básica contendo os L-aminoácidos essenciais, minerais e vitaminas (exceto a Vit. K) suplementada com L-Glu e Vit. K. Ao término do período experimental, os pintos foram sacrificados por deslocamento cervical, as tíbias e os fêmures removidos tiveram seus comprimentos medidos e, posteriormente, desengordurados. Foram determinados os teores de proteínas não-colagenosas (PNC), colagenosas (PC) e totais (PT) e de cinzas e cálcio, fósforo e magnésio nas cinzas.

Não foram observados efeitos significativos ($P > 0,05$) da interação L-Glu x Vit. K e dos níveis de Vit. K ($P > 0,05$) sobre as variáveis estudadas. Os pintos alimentados com 12,5% de L-Glu tiveram maiores comprimentos de tíbias e fêmures, maiores teores de PC e menores teores de PNC que aqueles alimentados com dietas com 5,0% de L-Glu ($P < 0,01$). As dietas experimentais afetaram apenas os teores de cinzas das tíbias e não influenciaram os teores de Ca, P e Mg das cinzas dos ossos. O aumento do nível de nitrogênio não-específico melhorou o teor de cinzas nas tíbias ($P < 0,01$).

Os dados obtidos permitem concluir que os níveis de Vit. K de 0,2 a 20,0 mg/kg de dieta não afetaram as frações orgânica e mineral de tíbias e fêmures e que o nível de nitrogênio não-específico está relacionado com a fração orgânica e o crescimento ósseo.

5. SUMMARY

(EFFECTS OF DIETARY L-GLUTAMIC ACID AND VITAMIN K ON LENGTH AND PARTIAL CHEMICAL COMPOSITION OF TIBIA AND FEMUR OF CHICKS)

The contents of non collagenous (NCP), collagenous (CP) and total proteins (TP), ash and some minerals (Ca, P and Mg) in tibia and femur of chicks were the object of this study. Chicks were reared in wire cages in two-step batteries in a room electrically heated and fed purified L-aminoacid diets *ad libitum* with two levels (5 and 12.5 %) of L-glutamic acid (L-Glu). Each was combined with three levels (0.2, 2.0 and 20.0 mg/kg of diet) of menadione sodium bisulfite (Vit.K). The trial was a 2 x 3 factorial in a completely randomized design using 4 replicates of 5 chicks each. At 14 days of age, chicks were sacrificed by cervical dislocation; tibia and femur bones were removed, thoroughly cleaned, measured and unfatted with petroleum ether. No significant ($P > 0,05$) L-Glu x Vit. K interaction and Vit. K effects were observed on protein, ash and ash mineral contents of both tibia and femur. Chicks fed 12.5% L-Glu showed lower contents of NPC ($P < 0,01$) and higher levels of CP ($P < 0,01$) in tibia and femur than those fed 5.0% L-Glu. The TP contents were similar ($P > 0,05$) in tibia and femur of chicks fed all experimental diets. Chicks fed 12.5% L-Glu had a significantly ($P < 0,01$) higher level of ash in tibia only, than those fed 5 % L-Glu. The mineral contents of ash in tibia and femur were not affected by the dietary levels of non specific nitrogen (5 or 12.5% L-Glu). It was concluded that the bone organic matrix formation requires a high non specific nitrogen level and, although Vit.K is required for the biosynthesis of one of the major components of NCP, the levels of Vit. K studied did not influence it. Although the highest level of L-Glu did improve the ash content of tibia ($P < 0,01$), it seems that, based on the data on mineral contents, the level of dietary non specific nitrogen did not affect bone mineralization.

6. LITERATURA CITADA

1. BRADFORD, M. A. Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-254, 1976.
2. CORNÉLIO, L. dos R. *Efeitos do ácido L-glutâmico e da relação cálcio e fósforo no desempenho e anormalidades de pernas de pintos de corte*. Viçosa, MG, UFV, 1995. 54p. (Tese M.S.).
3. DEFTOS, L. J.; PARTHEMORE, J. G. & PRICE, P. A. Changes in plasma bone GLA protein treatment of bone disease. *Calc. Tissue Int.*, 34:121-124, 1982.

4. FEATHERSTON, W. R. Adequacy of glutamic acid synthesis by the chick for maximal growth. *Poultry Sci.*, 53:680-686, 1976.
5. FEATHERSTON, W. R. & ROGLER, J. C. Methionine-cystine interrelationship in chicks fed diets containing suboptimal levels of methionine. *J. Nutr.*, 108:954-958, 1978.
6. GUIMARÃES, V. M. *Efeito de aminoácidos dispensáveis no desempenho e anomalias das pernas de pintos de corte*. Viçosa, MG, UFV, 1988. 54p. (Tese M.S.).
7. GUIMARÃES, V. M. MORAES, G. H. K. de. Effects of dispensable aminoacids on chick growth and incidence of leg abnormalities. *Arq. Biol. Tecnol.* 30:144, 1987.
8. GUIMARÃES, V. M.; MORAES, G. H. K. de; FONSECA, J. B. & ROSTAGNO, H. S. Efeitos do ácido L-glutâmico, L-prolina e L-lisina da dieta no desenvolvimento e incidência de problemas de pernas em pintos de corte. *Rev. Soc. Bras. Zoot.*, 22:584-590, 1993.
9. GUIMARÃES, V. M.; MORAES, G. H. K. de; ROSTAGNO, H. S. & FONSECA, J. B. Efeitos de aminoácidos não essenciais no desenvolvimento e incidência de problemas de pernas em pintos de corte. *Rev. Soc. Bras. Zoot.*, 22:699-705, 1993.
10. HAUSCHKA, P. V. Osteocalcin and its functional domains. In: BUTLER, W. T. (ed). *The Chemistry and Biology of Mineralized Tissues*. Birmingham, EBSCO Media, 1985. p.149-158.
11. HAUSCHKA, P. V. Osteocalcin: the vitamin K dependent calcium binding protein of bone matrix. *Haemostasis*, 16:258-272, 1986.
12. HAUSCHKA, P. V. & GALLOP, P. M. Purification and calcium binding properties of osteocalcin, the gammacarboxy-glutamic acid-containing proteins of bone. In WEISSIERMAN, R. H. *et alii* (ed.). *Calcium Binding Proteins and Calcium Function*. Amsterdam, Elsevier, 1977. p.338-347.
13. HAUSCHKA, P. V.; LIAN, J. B. & GALLOP, P. M. Direct identification of the calcium binding aminoacid gamma-carboxyglutamic in mineralized tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 70: 3925-3929, 1975.
14. LIAN, J. B.; REIT, B.; ROUFOSSE, A. H.; GIMCHER, M. J. & GALLOP, P. M. Osteocalcin developing bone systems In: SUTIE, J.W. (ed.). *Vitamin K metabolism and vitamin K dependent proteins*. Baltimore, Univ. Park Press, 1979. p.237-244.
15. MARUYAMA, K.; SUNDE, M. L. & HARPER, A. E. Is glutamic acid nutritionally a dispensable amino acid for the young chick? *Poultry Sci.*, 55:45-60, 1976.
16. MORAES, G. H. K. de. *Studies on non-specific nitrogen and D-aminoacid metabolism in the chicks*. West Lafayette, Indiana, EUA, Purdue University, 1980. 117p. (Tese Ph.D.).
17. MORAES, G. H. K. de; ROGLER, J. C. & FEATHERSTON, W. R. Effects of a non specific nitrogen deficiency on growth rate and leg problems in chicks. *Poultry Sci.*, 63:344-353, 1984.
18. MORAES, G. H. K. de; ROGLER, J. C. & FEATHERSTON, W. R. Effects of D-amino acids on growth rate and kidney D-amino acid oxidase in chicks. *Poultry Sci.*, 66:98-102, 1987.
19. OLSON, R. E. The function and metabolism of vitamin K. *Ann. Rev. Nutr.*, 4:281-337, 1984.
20. PRICE, P. A. Vitamin K-dependent formation of bone Gla-protein (osteocalcin) and its function. In: AUBARCH, G. D. (ed.). *Vitamins and Hormones*. New York, Academic Press, 1985. vol. 42, p.65-109.
21. PRICE, P. A. & BAUKOL, S. A. 1,25-dihydroxy vitamin D₃ increases synthesis of the vitamin-K-dependent bone protein by osteosarcoma cells. *J. Biol. Chem.*

- 225:11660-11663, 1980.
22. PRICE, P. A.; WILLIAMSON, M. K. & BAUKOL, S. A. The vitamin K-dependent bone protein and the biological response of bone to 1,25-dihydroxy vitamin D₃. In: VEIS, A. (ed). *The Chemistry and Biology of Mineralized Connective Tissues*. Amsterdam, Elsevier, 1981. p.327-335.
23. RIBEIRO, M.; MORAES, G. H. K. de & FONSECA, J. B. Efeitos de fontes e níveis de nitrogênio não específico em dietas purificadas no desenvolvimento de pintos de corte. *Rev. Soc. Bras. Zoot.*, 24:88-98, 1995.
24. RODRIGUES, A. C. P. & MORAES, G. H. K. de. Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina K da dieta no desempenho e nas anomalias nas pernas de pintos de corte. *Rev. Ceres*, 42:270-278, 1995.
25. SASSE, C. E. & BAKER, D. H. Modification of the Illinois reference standard amino acid mixture. *Poultry Sci.*, 52:1970-1972, 1973.
26. SILVA, D. J. *Análise de Alimentos (Métodos Químicos e Biológicos)*. Viçosa, MG, Imprensa Universitária, 1990. 166p.
27. SILVA, F. A. & MORAES, G. H. K. de. Effects of L-glutamic acid on growth and partial chemical composition of tibia and femur of chicks. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR, 24, Caxambu, MG, 1995. Anais, São Paulo, SBBQ, 1995. p.51.
28. VERMEER, C.; JIE, K. S. G. & KNAPEN, H. J. Role of vitamin K in bone metabolism. *Ann. Rev. Nutr.*, 15:1-22, 1995.