

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

METIONINA E CISTINA PARA SUÍNOS DOS 15 AOS 30 KG

Autora: Camila Francisca Muniz
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
Coorientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan

MARINGÁ
Estado do Paraná
Novembro - 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

METIONINA E CISTINA PARA SUÍNOS DOS 15 AOS 30 KG

Autora: Camila Francisca Muniz
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
Coorientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan

“Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal”.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Novembro - 2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

M966m Muniz, Camila Francisca
 Metionina e Cistina para suínos dos 15 aos 30 KG
 / Camila Francisca Muniz. -- Maringá, 2014.
 71 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza.
 Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Furlan.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2014.

1. Suínos - Nutrição. 2. Suínos - Nutrição e alimentação. 3. Aminoácidos sulfurosos. 4. Homocisteína. 5. Metionina - Níveis de avaliação. 6. Cistina - Níveis de avaliação. 7. Suínos - Características de carcaça e desempenho. I. Pozza, Paulo Cesar, orient. II. Furlan, Antonio Claudio, co-orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 22. ed. 535.3

MGC - 001129



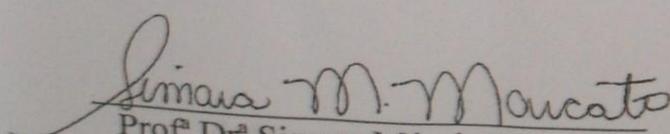
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

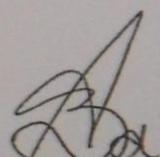
**METIONINA E CISTINA PARA
SUÍNOS DOS 15 AOS 30 KG**

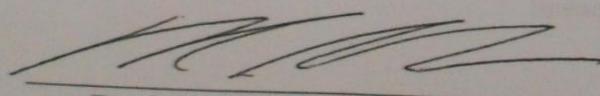
Autora: Camila Francisca Muniz
Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 20 de novembro de 2014.


Profª Drª Simara Márcia Marcato


Profª Drª Ana Maria Bridi


Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza
(Orientador)

“Podemos continuar sendo matéria-prima, ou então sermos polidos ao grau máximo. Nosso valor é determinado pelo que fazemos de nós.”

Spencer W. Kimball

Ao meu Deus, o Pai, e a Jesus Cristo, meu Salvador;

A minha mãe, mulher guerreira, exemplar e que nunca deixou que eu desanimasse, sempre lutou muito para que eu chegasse até aqui;

Aos meus avós (in memoriam) que são meus padrinhos e quem me criaram até a idade adulta, ao meu padrasto Marco Antônio de Oliveira e ao meu pai Cláudio Muniz;

A minha grande amiga e irmã, Carina Aparecida Muniz, por me fazer sorrir nos momentos mais difíceis e me acalmar com as palavras mais consoladoras, por ser meu ombro amigo e minha companheira.

Ao meu noivo e principalmente grande amigo, Fernando Lenon dos Santos Pereira, por acreditar em mim, por todos os momentos de felicidade compartilhados comigo e pela amizade.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Novamente, agradeço ao meu Pai Celeste, que nunca me desamparou e sempre ouvi minhas orações. Ao meu salvador e amigo, Jesus Cristo, por ter dado sua vida por mim e expiado meus pecados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, por todas as oportunidades que foram proporcionadas;

Ao Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo, fundamental para a realização deste estudo.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Departamento de Zootecnia, pelos conhecimentos da minha formação acadêmica;

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza, pela incansável paciência ao ensinar-me, por não ter desistido de mim, ter sido um orientador em todos os sentidos da palavra e pela grande dedicação para ser o profissional que é;

Ao professor Carlos Antonio Lopes de Oliveira, pela paciência e ajuda com as análises estatísticas, por dedicar seu tempo e inteligência ao meu trabalho;

Ao professor Antônio Cláudio Furlan pela dedicação e exemplo de profissional;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pelos ensinamentos.

Aos professores do Departamento de Física, Antônio Medina Neto, Mauro Luciano Baesso, Francielle Sato e ao COMCAP/FINEP, pela utilização do microscópio confocal SENTERRA Bruker Raman (Bruker Optik GmbH, Ettingen, Alemanha);

À Evonik Industries pela determinação dos aminoácidos nos ingredientes;

Ao meu melhor amigo, Leandro Dalcin Castilha, que foi meu braço direito em tudo que fiz, que me deu conselhos, carinho e compartilhou experiências, que foi a melhor conquista desses últimos anos, uma amizade que levarei para a vida toda;

Aos amigos: Lucas Antônio Costa Esteves, Cleiton Pagliari Sangali e Vinícius Cambito de Paula, não tenho palavras para expressar a gratidão, carinho e amizade que sinto por vocês;

Aos colegas do grupo de pesquisa: Simona Renata Mileo, Paulo Levi de Oliveira Carvalho, Tiago Junior Pasquetti, Laura Marcela Diaz Huepa, Isabela Leal, Lucas Pimentel Bonagurio, Marcelise Regina Fachinello, Bruno Henrique Monteiro e Bruno de Souza Campos, pela compreensão, ajuda e todos os momentos de descontração que vivenciamos durante esta fase de minha vida;

A Alessandra Lonardon e Joyce Sato, pelo auxílio com as análises de pelos, conhecimento adquirido e momentos de descontração;

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, Senhores João Salvalágio, Antônio Donizete de Moraes e Carlos José da Silva;

Gratidão é a única palavra que me vem à mente para expressar o que sinto por todos que de alguma forma me ajudaram, ensinaram, compartilharam de seus conhecimentos.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

CAMILA FRANCISCA MUNIZ, filha de Cláudio Muniz e Célia Francisca Diniz Oliveira, nasceu em Assis, SP, em 15 de março de 1987.

No ano de 2007, iniciou sua graduação na Universidade Estadual de Maringá (UEM) no Curso de Zootecnia, concluindo-o em dezembro de 2011.

Em março de 2012, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UEM, em nível de Mestrado, na área de Nutrição em Monogástricos, submetendo-se à defesa da dissertação em 20 de novembro de 2014.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
I – INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Balanço aminoacídico ideal.....	04
1.2. Relação metabólica entre a metionina e a cistina.....	05
1.3. Exigências de metionina e cistina para suínos.....	07
1.4. Consequências de altos níveis metabólicos de homocisteína.....	09
1.5. Citação bibliográfica.....	11
II – OBJETIVOS GERAIS.....	15
III – A exigência de metionina+cistina não depende de suas mesmas proporções na dieta de suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg.....	16
Resumo.....	16
Abstract.....	17
Introdução.....	18
Material e Métodos.....	19
Resultados e Discussão.....	24
Conclusões.....	32
Referências.....	32
IV – Níveis de metionina+cistina digestível e suas relações para fêmeas suínas dos 15 aos 30 kg.....	36
Resumo.....	36

Abstract.....	37
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	39
Resultados e Discussão.....	44
Conclusões.....	51
Referências.....	52
V – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Composição centesimal das rações contendo diferentes níveis de metionina e de cistina digestíveis (Met+Cis dig) para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg.....	21
TABELA 2 - Desempenho, profundidade do músculo <i>longissimus dorsi</i> , espessura de toucinho e comprimento de onda da área entre bandas dos estiramentos S-S dos pelos (Raman), para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg, recebendo rações com diferentes níveis de metionina (Met) e de cistina (Cis) digestíveis (dig).....	25
TABELA 3 - Parâmetros bioquímicos do sangue de suínos machos castrados, dos 15 aos 30 kg, recebendo rações com diferentes níveis de metionina (Met) e de cistina (Cis) digestíveis (dig)...	30
TABELA 4 - Composição centesimal das rações contendo diferentes níveis de metionina e de cistina digestíveis (Met+Cis dig) para fêmeas suínas dos 15 aos 30 kg.....	41
TABELA 5 - Desempenho, profundidade do músculo <i>longissimus dorsi</i> , espessura de toucinho e comprimento de onda da área entre bandas dos estiramentos S-S dos pelos (Raman), para fêmeas suínas, dos 15 aos 30 kg, recebendo rações com diferentes níveis de metionina (Met) e de cistina (Cis) digestíveis (dig)...	45
TABELA 6 - Parâmetros bioquímicos do sangue de fêmeas suínas, dos 15 aos 30 kg, recebendo rações com diferentes níveis de metionina (Met) e de cistina (Cis) digestíveis (dig).....	49

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Metabolismo da Metionina.....	06
FIGURA 2 - Peso final (a) e ganho de peso diário (b) em função dos níveis de metionina+cistina digestíveis, em diferentes relações metionina:cistina, para suínos machos castrados dos 15 aos 30kg.....	26
FIGURA 3 - Consumo diário de metionina+cistina ($CD_{met+cis}$) para suínos machos castrados dos 15 aos 30kg.....	27
FIGURA 4 - Espectros obtidos para o estiramento das pontes dissulfeto (S-S) nos pelos de suínos machos castrados através do microscópio confocal Senterra Bruker Raman.....	28
FIGURA 5 - Peso final em função de níveis de metionina+cistina digestíveis, com diferentes relações metionina:cistina, para fêmeas suínas dos 15 aos 30kg.....	46
FIGURA 6 - Consumo diário de metionina+cistina digestível ($CD_{met+cis}$) em função de níveis de metionina+cistina digestível, mantendo as relações met:cis de 50% ou não, para fêmeas suínas dos 15 aos 30kg.....	47
FIGURA 7 - Espectros obtidos para o estiramento das pontes dissulfeto (S-S) nos pelos de fêmeas suínas através do microscópio confocal Senterra Bruker Raman.....	48
FIGURA 8 - Glicose plasmática em função de níveis de metionina+cistina digestíveis, mantendo as relações met+cis dig 1:1 ou não, para fêmeas suínas dos 15 aos 30kg.....	50

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos com o objetivo de avaliar níveis de metionina e de cistina para suínos, machos castrados e fêmeas, na fase inicial, sobre o desempenho, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho, parâmetros bioquímicos do sangue, níveis séricos de homocisteína e estiramento de pontes dissulfeto nos pelos. Em cada experimento, foram utilizados 70 suínos, machos castrados (Experimento I) e fêmeas (Experimento II), com peso inicial de 15,216 ±0,540 kg e 15,193 ±0,580 kg, respectivamente, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 3 + 1, com cinco repetições e dois animais por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos pela manutenção da relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados (suplementação de DL-metionina e L-cistina sintéticas) ou não (suplementação somente de DL-metionina), três níveis de metionina+cistina digestíveis (met+cis dig): 0,580; 0,640 e 0,700%; e uma ração contendo baixo nível (0,520%) de met+cis dig (ração basal). A ração basal (0,520% de met+cis dig) foi formulada para apresentar a proporção de 50% de metionina (0,26%) e 50% de cistina (0,26%) digestíveis, sendo comum para ambos os tratamentos. No Experimento 1, o peso final apresentou a resposta (P=0,019) em função dos níveis crescentes de met+cis dig quando não foi mantida a relação (1:1) entre os aminoácidos, cujo maior peso final foi obtido ao nível de 0,663% de met+cis dig. O ganho de peso diário máximo foi obtido ao nível de 0,661% de met+cis dig (P=0,003), sem manter a relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados. A glicose plasmática aumentou (P=0,006) em função dos níveis de met+cis dig quando a relação met:cis não foi mantida. O colesterol total apresentou resposta linear decrescente (P=0,003) à medida que os níveis de met+cis dig aumentaram na dieta, sem manter a relação entre estes, de modo que o menor nível de met+cis dig avaliado (0,52%) resultou em 64,00

mg/dL e o maior nível (0,70%) resultou em 50,30 mg/dL de colesterol plasmático. A homocisteína no soro sanguíneo não foi influenciada ($P>0,05$); tanto com a suplementação de DL-metionina e L-cistina quanto somente a DL-metionina. No Experimento 2, o peso final apresentou a resposta linear crescente ($P=0,017$) para os tratamentos cuja relação met:cis foi de 1:1. Para os tratamentos cujas relações met:cis não foram mantidas (1:1) o melhor peso final foi obtido para o nível de 0,589% de met+cis dig. A profundidade do músculo *longissimus dorsi* apresentou a resposta linear crescente ($P=0,005$) aos níveis de met+cis dig quando as relações met:cis não foram mantidas (1:1). Houve efeito linear crescente ($P=0,001$) para o HDL plasmático em função dos níveis de met+cis dig em que a relação met:cis foi 1:1. Conclui-se que as exigências de metionina+cistina digestíveis, para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg, é de 7,88g/dia, que corresponde a 0,661% na dieta e, para fêmeas suínas, na mesma fase, é necessária a quantidade de 6,83 e 7,81g/dia, respectivamente para melhor peso ao final da fase e profundidade do músculo *longissimus dorsi*, que corresponde a 0,589% e o mínimo de 0,700%, respectivamente, não havendo necessidade de manter a mesma proporção entre os aminoácidos sulfurados para ambos os sexos.

Palavras-chave: nutrição de suínos, aminoácidos sulfurados, homocisteína.

ABSTRACT

Two experiments were carried out to evaluate levels of methionine and cystine on performance, depth of *longissimus dorsi* muscle, backfat thickness, biochemical parameters of blood, serum homocysteine and straightening of disulfide bonds in bristle of barrows and gilts in the initial phase. In each experiment, 70 barrows (Experiment I) and gilts (Experiment II) were used, with initial weight of 15.216 ± 0.540 kg and 15.193 ± 0.580 kg, respectively, distributed in an experimental design of randomized blocks in a factorial scheme $2 \times 3 + 1$, with five replicates and two animals per experimental unit. Treatments were constituted by maintaining the ratio 1:1 among sulfur amino acids (DL-methionine and L-cysteine synthetic supplementation) or not (only DL-methionine supplementation), 3 levels of digestible met+cys (0.580, 0.640 and 0.700%) and a diet containing low level (0.520%) of digestible met+cys (basal diet). The basal diet (0.520% met+cys) was formulated to provide a 1:1 ratio of digestible methionine (0.26%) and digestible cystine (0.26%), being common to both treatments. In Experiment 1, the final weight answered ($P=0.019$) as a function of increasing dig met+cys levels when the relationship (50%) was not maintained between amino acids, which the highest value was obtained at the level of 0.663% dig met+cys. The maximum daily weight gain was obtained at the level of 0.661% dig met+cys ($P=0.003$) when the 1:1 ratio between the sulfur amino acids was not kept. Plasma glucose increased ($P=0.006$) as the levels of dig met+cys increased when the met:cys ratio was not kept in 50%. Total cholesterol decreased linearly ($P=0.003$) as the levels of dig met+cis increased in the diet, when the ratio was not kept between both, so that the lowest level of dig met+cys rated (0.52%) resulted in 64.00 mg/dL, and the highest level (0.70%) resulted in 50.30 mg/dL of plasma cholesterol. Homocysteine in the blood

serum was not influenced ($P>0.05$) by treatments with either supplemental DL-methionine and L-cystine as only DL-methionine. In Experiment 2, the final weight presented linear increase ($P = 0.017$) for treatments which met:cys relationship was 1:1. However, for the treatments which relationships were not kept, the best final weight was obtained for the level of 0.589% dig met+cys. The depth of *longissimus dorsi* muscle presented increasing linear answer ($P= 0.005$) when levels of me+cys were evaluated which met:cys relationships were not constant. There was increasing linear effect ($P=0.001$) for plasma HDL as a function of dig met+cys levels in treatments which met:cys relationships was 1:1. We concluded that digestible methionine + cystine requirements for barrows from 15 to 30 kg is 7.88g/day, which corresponds to 0.661% in the diet, and for gilts, at the same phase, it is necessary an amount of 6.83 and 7.81g/day, respectively for better weight at the end of phase and depth of *longissimus dorsi* muscle, which corresponds to 0.589% and a minimum of 0.700%, respectively, without the need to keep the same ratio between sulfur amino acids for both sexes.

Key words: swine nutrition, sulfur amino acids, homocysteine.

I – INTRODUÇÃO

A suinocultura tem importante papel no agronegócio brasileiro e paranaense. No quarto trimestre de 2013 foram abatidos 9,35 milhões de cabeças de suínos no país, representando o crescimento na ordem de 5,3% comparado com o mesmo trimestre de 2012. Entre os Estados, o Paraná é o terceiro maior produtor de carne suína do país, ficando atrás apenas dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Desta forma, a Região Sul do País se destaca como a principal na produção de suínos, respondendo por 65,9% do volume produzido no país (IBGE, 2013).

As dietas práticas para suínos são formuladas principalmente à base de milho e farelo de soja, suprimindo as necessidades de proteína sem, contudo, fornecer aos animais o balanço exato de aminoácidos, podendo ser corrigido com a suplementação das rações com fontes industriais de aminoácidos.

O uso de aminoácidos industriais nas rações permite, ainda, a redução dos níveis de proteína bruta sem comprometer o suprimento de aminoácidos, que pode aumentar a energia líquida das rações e melhorar sua eficiência de utilização pelos suínos (Santos et al., 2007).

A metionina e a cistina são aminoácidos de grande importância em rações para suínos à base de milho e farelo de soja. Segundo Loughmiller et al. (1996), esses aminoácidos são usados, principalmente, para a manutenção do tecido intestinal. Por isso, a determinação de sua exigência, considerando o ambiente no qual o animal está inserido, é importante quando a finalidade é maximizar o crescimento e o desenvolvimento, principalmente dos animais jovens (Vaz et al., 2005).

A metionina é muito importante para o organismo animal, porque é através de sua presença que toda a cadeia polipeptídica é iniciada e assim a síntese proteica pode ocorrer. Além de ser o "primer", na síntese proteica, a metionina exerce papel fundamental como

doador de grupos metil (Simon, 1999), como doador de enxofre (Wu & Davis, 2005) e como participante na síntese de cistina e da S-adenosilmetionina, sendo este composto responsável pelas metilações essenciais para a biossíntese de uma variedade de compostos celulares, como creatina, carnitina, fosfolípidos e proteínas (Stipanuk, 2004). No entanto, o excesso de metionina pode manifestar a redução da ingestão do alimento pelo animal.

A cistina, por sua vez, está presente na constituição de muitas proteínas, como as imunoglobulinas, insulina, enzimas digestivas, queratina e outros. Além das funções acima citadas ocorre ainda formação de piruvato e a utilização na síntese de vários compostos contendo enxofre, incluindo a taurina, um aminoácido que participa na formação de ácido biliar. Por outro lado, Dilger & Baker (2007) concluíram que o excesso deste aminoácido, administrados a pintos e ratos, pode levar à mortalidade.

A metionina é metabolicamente ligada à cistina, via ciclo de transsulfuração unidirecional, e a cistina pode ser sintetizada a partir da metionina e o reverso não acontece. Portanto, a metionina pode atender a necessidade total de aminoácidos sulfurados, sendo que a via da transsulfuração envolve ainda a síntese da homocisteína.

A homocisteína foi descoberta por De Vigneaud, em 1932, e participa dos ciclos de remetilação e transsulfuração da metionina, que pode ser proveniente tanto dos alimentos, quanto do catabolismo de proteínas endógenas (Lewis & Southern, 2001).

A homocisteína tem sido amplamente estudada nestes últimos anos sob diversos aspectos, inclusive a respeito de mecanismos que envolvem sua ação em doenças vasculares (Janosikova et al., 2003). Em níveis moderados a homocisteína ajuda no crescimento e manutenção dos tecidos, mas sua alta concentração no plasma sanguíneo mostra que ela é um metabólito aterogênico (Haddad, 2001). Assim, o excesso de homocisteína pode ser prejudicial aos animais e pode causar doenças vasculares, mas sem que haja consenso sobre os valores que mostram o potencial citotóxico para o desenvolvimento dessas doenças.

A regulação do metabolismo da homocisteína se deve a interação de vários fatores que envolvem a dieta e a concentração dos substratos que estão envolvidos nos caminhos intermediários desta via. Dessa forma, quanto maior o aporte de metionina na dieta, visando atender as exigências de metionina e de cistina, maior será a síntese de homocisteína pela via da transsulfuração.

O uso de metionina sintética é uma prática adotada para atender as exigências de metionina e de cistina para suínos, em suas diferentes fases de produção. Por outro lado, para suínos machos castrados e fêmeas, dos 15 aos 30 kg de peso vivo, Rostagno et al. (2011)

apresentam a recomendação de 50% de cada aminoácido sulfurado na dieta. A mesma proporção entre os aminoácidos sulfurosos pode ser observada nas recomendações apresentadas pelo NRC (2012), para suínos a partir dos 25 até os 135 kg de peso vivo.

Portanto, torna-se importante o conhecimento da exigência de metionina e de cistina para suínos, assim como o adequado conhecimento da relação entre os aminoácidos sulfurados na dieta destes animais.

1. Revisão de Literatura

1.1. Balanço aminoacídico ideal

As dietas para suínos eram formuladas com base na proteína bruta, podendo subestimar ou superestimar as reais exigências dos animais e utilizar ingredientes de forma inadequada e desbalanceada (Nones et al., 2002). Sabendo que as proteínas são compostas de aminoácidos, e são eles os nutrientes realmente essenciais por atender as exigências de manutenção e deposição de proteína corporal (Bikker & Bosch, 1996; Cromwell et al., 1998), é que se vê a necessidade de uma dieta equilibrada.

O valor nutritivo de uma proteína intacta, uma proteína hidrolisada ou uma mistura de aminoácidos, é dependente da sua digestibilidade e do seu balanço e conteúdo de aminoácidos indispensáveis (Chung & Baker, 1992).

O conceito de proteína ideal foi primeiramente definido por Mitchell, em 1964, como sendo a mistura de aminoácidos, ou proteína, sem excessos, que estivessem presentes na dieta para atender as necessidades requeridas para manutenção e crescimento.

Precisamente, a definição de proteína ideal leva em consideração o balanço ideal dos aminoácidos que provêm da dieta em relação à lisina, que é apresentada como uma referência (Braga & Baião, 2001). Quando este conceito é aplicado na formulação da dieta dos animais, a ração fornece o equilíbrio de aminoácidos que faz com que a proteína, de uma forma geral, seja melhor aproveitada, otimizando assim a retenção dos nutrientes necessários para manutenção e produção, e ainda diminui a excreção do nitrogênio na forma amoniacal (Araújo & Sobreira, 2008).

As proteínas dietéticas são essenciais para o crescimento normal e para a reprodução animal. A qualidade da proteína dietética é determinada por seu conteúdo de aminoácidos, por sua digestibilidade e disponibilidade no trato digestório do animal. Esta qualidade pode ser considerada como o grau entre a composição de aminoácidos absorvidos de acordo com o balanço exigido pelo animal.

Muitos pesquisadores têm focado suas atenções no conceito de proteína ideal, para melhor desempenho dos animais através da eficiente utilização dos nutrientes dos alimentos (Han & Lee, 2000).

Quando a ração é balanceada, com níveis ótimos de aminoácidos, a eficiência alimentar e a taxa de crescimento são melhorados e o rendimento econômico reflete positivamente essa

melhora (Kiefer et al., 2005). No entanto, para que haja esse equilíbrio dos aminoácidos da dieta o estado fisiológico e o nível de produtividade do animal devem ser levados em consideração.

Ao se utilizar o conceito de proteína ideal a retenção proteica é aumentada e a excreção de nitrogênio é diminuída (Zangeronimo et al., 2006; Suida, 2007). Neste sentido, muitas pesquisas foram realizadas visando a redução na produção desses poluidores e a alimentação balanceada dos animais é uma das maiores preocupações dos pesquisadores (Caldara et al., 2003).

Ferket et al. (2002) afirmaram que a eficiência de utilização de nitrogênio dietético varia de acordo com a espécie, e são dependentes do grau de digestibilidade do nitrogênio, absorção ou disponibilidade dos aminoácidos, exigência metabólica de nitrogênio, e desbalanço de aminoácido da dieta. Estas diferenças na utilização de nitrogênio entre as espécies são, em parte, pela partição do nitrogênio utilizado para manutenção, metabolismo e crescimento, mostrando novamente que o conhecimento da utilização de aminoácidos para síntese de proteína e manutenção são críticas, mas necessárias, pois o perfil preciso de proteína ideal minimiza a excreção de nitrogênio.

1.2. Relação metabólica entre a metionina e a cistina

Metionina e cistina são metabolicamente relacionadas via ciclo de transsulfuração unidirecional, que permite a metionina servir como fonte de enxofre para síntese de cistina. Em mamíferos, a metionina é um aminoácido essencial e a cistina é um aminoácido não essencial, podendo ser sintetizada a partir da metionina (Stipanuk, 2004), que pode ser catabolizada à cistina em um processo irreversível (Kiefer et al., 2005). Quando a exigência de cistina é maior do que a taxa de síntese da mesma, ela passa a ser considerada como um aminoácido condicionalmente essencial.

As recomendações nutricionais são expressas como metionina+cistina, pelo fato da metionina participar na síntese de cistina, cujo processo, como dito anteriormente, é irreversível. Além dessa participação, a metionina condensa-se enzimaticamente com a adenosina (da adenosina trifosfato – ATP) que dá origem a S-adenosil-metionina (Figura 1). O resultado da retirada do grupo metil do S-adenosil-metionina é a S-adenosil-homocisteína, que é o único precursor de homocisteína, por meio de reação irreversível catalisada pela S-adenosil-homocisteína hidrolase (Stipanuk, 2004).

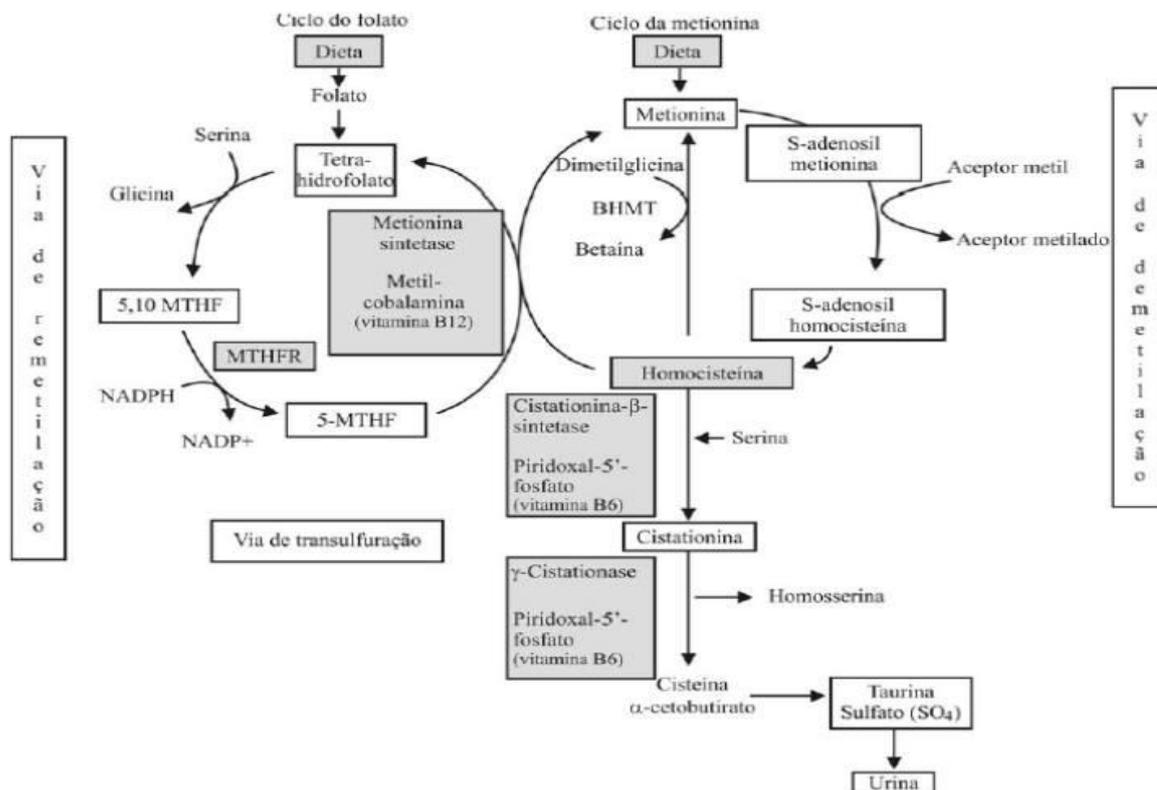


Figura 1. Metabolismo da Metionina (Fonte: Venâncio, Burini e Yoshida, 2010).

O enxofre da metionina é utilizado para formar a cisteína, com a participação da serina, através dos estágios de homocisteína e cistationina. A metionina está envolvida no metabolismo da homocisteína através de duas rotas biológicas: a remetilação e a transsulfuração. A homocisteína é convertida de volta em metionina pela remetilação, por intermédio das enzimas metionina sintetase e a betaína-homocisteína metiltransferase. Pela ação da metionina sintetase, enzima dependente de vitamina B12, o metiltetrahidrofolato doa um grupo metil para a homocisteína, que é convertida então em metionina. A reação catalisada pela betaína:homocisteína metiltransferase ocorre de maneira similar, entretanto, neste caso o grupo metil é doado pela betaína (Stipanuk, 2004).

Em grandes quantidades de metionina, ou de S-adenosil-metiltransferase, a rota de transsulfuração é a mais ativada, havendo maior produção de cisteína (Finkelstein, 1998). Esta rota ocorre principalmente no fígado e nos rins, em duas etapas. Na primeira, ocorre a reação da homocisteína com a serina, pela ação da cistationina beta-sintase, resultando em cistationina. Na segunda, a cistationina é metabolizada, com ação da cistationina beta-liase, ocorrendo a síntese de cisteína (Stipanuk, 2004; Pinto et al., 2009).

A remetilação é favorecida quando há baixas concentrações de metionina ou de S-adenosil-metiltransferase. Nessa etapa, a homocisteína adquire um grupo metil de N5-metiltetrahidrofolato, ou de betaina, para formar metionina. A síntese de N5-metiltetrahidrofolato é dependente da enzima metiltetra-hidrofolato redutase (Pinto et al., 2009). Essa via, conhecida como ciclo do folato, ocorre em muitos tecidos e para seu funcionamento normal requer o suprimento adequado de vitamina B12 e ácido fólico (Emmert et al., 1996). Assim sendo, a falta de vitamina B12, ou níveis baixos desta vitamina, pode levar ao acúmulo de homocisteína (Smolin et al., 1983).

1.3. Exigências de metionina e cistina para suínos

Existem diversos fatores que podem influenciar as exigências dos suínos, entre eles estão a raça, o sexo, a heterose, o estado de desenvolvimento do animal, o consumo de ração, a disponibilidade de nutrientes, a temperatura e umidade relativa do ambiente e o estado sanitário do animal (Rostagno et al. 2000).

Na produção de suínos, os animais nas fases de crescimento e terminação são divididos em três categorias (machos inteiros, machos castrados e fêmeas), que apresentam diferenças no desempenho e nas características de carcaça e, conseqüentemente, nas exigências nutricionais.

Em dietas para suínos, à base de grãos e oleaginosas, os aminoácidos sulfurados são normalmente o segundo, terceiro ou quarto limitantes (Lewis et al., 2001) e, devido a esta importância, inúmeras pesquisas têm buscado maiores informações sobre os aminoácidos sulfurados em suínos, a fim de desvendar a verdadeira relação entre eles. Chung & Baker (1992) concluíram que é extremamente importante conhecer os níveis dietéticos de ambos (metionina e aminoácidos sulfurados), sendo que a suplementação de metionina é benéfica para o crescimento do suíno. No entanto, Bell et al. (1950) foram os primeiros a mostrar que a metionina é um aminoácido indispensável para o crescimento de suínos.

A oxidação de aminoácidos sulfurados ocorre quando a metionina e a cistina estão presentes em quantidades maiores do que a exigida para a síntese de proteína (Patience, 1990). O aumento da dose de metionina produz resposta evidente no crescimento (Baker, 2009).

Os níveis de metionina+cistina, mesmo se apresentando inferior ou superior às exigências na dieta de suínos, não alteram o consumo diário dos animais, havendo assim o aumento do consumo de aminoácidos sulfurados conforme o consumo de ração é aumentado (Vaz et al., 2005).

Dilger et al. (2007) avaliando o excesso de cistina, proporcionado por diferentes fontes (Cys, forma oxidada e Cys-Cys, forma reduzida) nas rações de leitões, obtiveram diminuição de 84% no ganho de peso médio quando estes animais foram alimentados com 40g/kg de Cys ou Cys-Cys, mostrando que após 14 dias de exposição a esta dieta os resultados foram evidentes, já que experimentos com excesso de metionina não apresentam resultados tão prejudiciais se comparados a este, portanto, mais pesquisas devem ser feitas, já que não existe algo que demonstre a toxicidade causada pelo excesso de cistina nas dietas de animais explorados economicamente.

Rostagno et al. (2011) propuseram, para animais de alto potencial genético com desempenho superior, um nível de metionina + cistina de 0,612% e 0,605%, para machos castrados e fêmeas, respectivamente, dos 15 aos 30 kg de peso vivo. Por outro lado, o National Research Council - NRC (2012) apresenta, para animais em crescimento, um nível de metionina+cistina de 0,680%, para ambos os sexos, para suínos dos 11 aos 25 kg de peso vivo.

Shoveller et al. (2003), trabalhando com leitões de 2 dias de idade, encontraram níveis plasmáticos de cisteína maiores quando os animais foram alimentados com excesso de cistina, mas não quando foram alimentados apenas com metionina. A ingestão de metionina pelos animais não influenciou as concentrações plasmáticas de aminoácidos livres. Estes mesmos pesquisadores concluíram que o grande problema ao formular dietas para leitões é que as recomendações, que provêm dos experimentos feitos a campo, geralmente são feitas com animais mais velhos, mas ainda assim, estima-se que a relação entre metionina e cistina seja de 50%.

Para leitões machos com 15 kg de peso vivo e ganho de peso diário de 0,45 kg/dia, foi observado que o nível de metionina + cistina que melhor mostrou resultados de desempenho foi de 0,45% na dieta, já para leitões machos, pesando 45 kg, com ganho de peso diário de 0,70 kg/dia, o melhor nível de metionina + cistina foi de 0,40% na dieta (Yang, 1997).

Vaz et al. (2005) encontraram melhores resultados de desempenho para o nível de 0,588% de metionina+cistina, para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg, lembrando que estes animais foram submetidos ao estresse térmico durante o experimento, e apresentaram a relação de metionina+cistina:lisina digestíveis de 0,60. Já Kiefer et al. (2005) utilizando suínos machos castrados dos 30 aos 60 kg, observaram que o melhor nível de metionina+cistina digestível, para ganho de peso diário, foi de 0,549%, resultando em uma relação de metionina+cistina: lisina digestível de 0,66.

Utilizando suínos machos castrados, de alto potencial genético dos 95 aos 125 kg, Santos et. al (2011) não encontraram diferenças estatísticas em relação ao peso das carcaças e espessura de toucinho entre os diferentes níveis de metionina+cistina avaliados, mas os resultados mais eficientes para estes parâmetros, e para o desempenho, foi obtido com o nível de 0,427% na dieta, atendendo assim as exigências para suínos machos castrados nesta fase, proporcionando a relação de 0,57 com a lisina digestível. Deve-se ressaltar que os autores utilizaram apenas a DL-metionina para atingir os níveis de metionina+cistina avaliados.

1.4. Consequências de altos níveis metabólicos de homocisteína

A homocisteína, em níveis moderados, ajuda no crescimento e manutenção dos tecidos, mas sua concentração no plasma sanguíneo mostra que ela é um metabólito aterogênico (Haddad, 2001). Níveis elevados de homocisteína (hiper-homocisteinemia), entretanto, apresentam íntima relação com várias doenças cardiovasculares em humanos, em que se observa insuficiência cardíaca crônica, efeitos de doenças vasculares, aterosclerose, além de estresse oxidativo, diabetes tipo I, obesidade e homocisteinúria (McCully, 1969; Emmert et al., 1996; Welch, 1998; Gascon et al., 2010).

França et al. (2006), trabalhando com suínos, observaram alteração no nível de homocisteína plasmática ao utilizar excesso de metionina na dieta em relação ao tratamento controle, durante o período experimental de 30 dias. Os níveis plasmáticos de colesterol total, triglicerídeos e HDL, não foram influenciados pelo excesso de metionina na dieta, mas foi concluído que a ingestão do excesso de metionina, para induzir a homocisteinemia, causa aterogênese ilíaca em suínos. Lentz (1996) encontrou alteração vascular em primatas, que pode ser comparada a aterosclerose e trombose em humanos. Para coelhos, recebendo dieta rica em metionina, a homocisteína plasmática foi elevada e produziu severa aterogênese nos animais (Stahlk et al., 2005).

Matte et al. (2012) relataram que após submissão de 12 horas de jejum, a homocisteína plasmática pode apresentar um pico que estará superestimando o real valor de homocisteína presente no sangue, a duração do período de jejum é, portanto, um fator crítico para a interpretação confiável da homeostase da homocisteína em suínos; e essas informações se aplicam para humanos.

Rolland et al. (1995) ao estudar os efeitos que os altos níveis de metionina causaria em minipigs, observou elevada concentração de homocisteína plasmática nesses animais que foram expostos a dieta por quatro meses.

Ainda existem contestações quanto aos níveis de homocisteína que individualizam a hiperhomocisteinemia. A classificação mais comumente encontrada para humanos, de acordo com Nerbass et al. (2005), é a seguinte:

- Níveis normais de homocisteína: entre 5 a 15 μ mol/L;
- Hiperhomocisteinemia moderada: 16 a 30 μ mol/L;
- Hiperhomocisteinemia intermediária: 31 a 100 μ mol/L;
- Hiperhomocisteinemia severa: >100 μ mol/L.

Como demonstrado, a homocisteína pode levar a doenças cardíacas de acordo com sua concentração no plasma sanguíneo, tanto em humanos quanto em animais. O metabolismo, em geral, mantém as concentrações de homocisteína no plasma em níveis baixos, mas a sua elevação no sangue possui causas multifatoriais, entre elas a ingestão elevada de metionina (Emmert et al., 1996; Lima et al., 2007), doenças e questões genéticas.

1.5. Citação bibliográfica

- ARAÚJO, W.A.G.; SOBREIRA, G.F. Proteína ideal como estratégia nutricional na alimentação de suínos. **Revista Eletrônica Nutrime**, 5(2); 537-545, 2008.
- BAKER, D.H. Advances in protein-amino acid nutrition of poultry. **Amino Acids**, 37; 29–41, 2009.
- BELL, J.M.; WILLIAMS, H.H.; LOOSLI, J.K.; MAYNARD, L.A. The effect of methionine supplementation of a soybean oil meal purified ration for growing pigs. **Journal of Nutrition**, 40; 551-561, 1950.
- BIKKER, P., BOSCH, M. Nutrient requirements of pigs with high genetic potential for lean gain. In: Simpósio internacional sobre exigências nutricionais de aves e suínos, 1996, Viçosa, MG. **Anais...Viçosa: UFV**, 223-239, 1996.
- BRAGA, P.J.; BAIÃO, C.N. O Conceito de Proteína Ideal na Formulação de Ração para Frangos de Corte. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, 34; 29-37, 2001.
- CALDARA, F.R.; BERTO, D.A.; BISINOTO, K.S.; NETO, M.A.T.; WECHSLER, F.S. Exigência em metionina de leitões de 6 a 11 kg com base no conceito da proteína ideal. **Acta Scientiarum. Maringa**, 25(1); 129-135, 2003.
- CHUNG, T.K. AND BAKER, D.H. Methionine requirement of pigs between 5 and 20 kilograms body weight. **Journal of Animal Science**, 1857-1863, 1992.
- CROMWELL, G.J., CLINE, T.R., CRENSHAW, J.D. et al. The dietary protein and (or) lysine requirements of barrows and gilt. *Journal of Animal Science*, 71(6):1510-1519, 1993.
- DILGER, R.N.; BAKER, D.H. Oral N-acetyl-L-cysteine is a safe and effective precursor of cysteine. **Journal of Animal Science**, 85:1712-1718, 2007.
- DILGER, R.N.; TOUE, S.; KIMURA, T.; SAKAI, R.; BAKER, D.H. Excess Dietary L-Cysteine, but Not L-Cystine, Is Lethal for Chicks but Not for Rats or Pigs. **The Journal of Nutrition**, 137: 331–338, 2007.
- EMMERT, J.L.; GARROW, T.A.; BAKER, D.H. Hepatic betaine homocysteine methyltransferase activity in the chicken is influenced by dietary intake of sulfur amino acids, choline and betaine. **Journal of Nutrition**, 126 (8): 2050–2058, 1996.
- FERKET, P.R. et al. Nutritional strategies to reduce environmental emissions from nonruminants. **Journal Animal Science**, 80 (E. Suppl. 2): 168-182, 2002.
- FINKELSTEIN, J.D. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. **European Journal of Pediatrics**, 157: 40, 1998.

- FRANÇA, L.H.G. et al. Aterogênese em artéria ilíaca comum de suínos submetidos à homocisteinemia induzida pela ingestão de metionina. **Jornal Vascular Brasileiro**, 5(1):11-16,2006.
- GASCÓN, M.T. et al. Avaliação do método de quimioluminescência na análise de homocisteína plasmática e sua comparação com o método de HPLC em amostras de crianças. **Einstein**, 8(2 Pt 1):187-191, 2010.
- HADDAD, R. **Homocisteína: um novo método de análise utilizando o sistema DIMP/T&R-MIMS**. 2001. 100f. Dissertação (mestrado em ciências médicas)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- HAN, K. AND LEE,J.H. The role of synthetic amino acids in monogastric animal production. **Journal of Animal Science**. 13(4):543-560, 2000.
- IBGE. Estatística da produção pecuária. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/default.shtm>. Acesso em: 11 de agosto de 2014. **IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**.
- KIEFER, C. et al. Exigência de metionina mais cistina digestíveis para suínos machos castrados mantidos em ambiente de alta temperatura dos 30 aos 60 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 34(3):847-854, 2005.
- JANOSIKOVÁ, B. et al. Genetic variants of homocysteine metabolizing enzymes and the risk of coronary artery disease. **Molecular genetics and metabolism**, 79(3):167-175, 2003.
- LENTZ, S.R. et al. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced Hyperhomocyst(e)inemia. **The Journal of Clinical Investigation**. 98(1):24-29, 1996.
- LEWIS, A.J. Amino acids in swine nutrition. In: LEWIS, A.J. and SOUTHERN, L.L. **Swine nutrition**, 2nd. CRC Press, Boca Raton, Flórida, 131, 2001.
- LIMA, L.M.; CARVALHO, M.G.; FERNANDES, A.P.; SABINO, A.P.; LOURES VALE, A.A.; NETO, C.P.F.; GARCIA, J.C.F.; SAAD, J.A.; SOUSA, M.O. Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase in subjects undergoing coronary angiography. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, 2007.
- LOUGHMILLER, J.A.; TOKACH, M.D.; GOODBAND, R.D.; et al. Dietary total sulfur amino acid requirement for optimal growth performance and carcass characteristics in finishing gilts. **Swine Day**, 1996.
- MATTE, J.J.; GUAY, F. AND GIRARD, C. L. The contribution of portal drained viscera to circadian homocysteinemia in pigs. **Journal of Animal Science**, 90:68-70, 2012.
- McCULLY K.S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. **The American Journal Pathology**, 56(1):111-128, 1969.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of swine**. XEd, Washington, D.C.: National Academic of Science, 2012.

- NERBASS, F.B.; DRAIBE, S.A.; CUPPARI, L. Hiperhomocisteinemia na insuficiência renal crônica. **Revista de Nutrição**, Campinas, 18(2):239-249, 2005.
- NONES, K.; DE LIMA, G.J.M.M; BELLAVER, C.; RUTZ, F.. Formulação das dietas, desempenho e qualidade da carcaça, produção e composição de dejetos de suínos. **Scientia Agricola** (Piracicaba, Braz),59:635-644, 2002.
- PATIENCE, J.F. A review of the role of acid-base balance in amino acid nutrition. **Journal of Animal Science**, 68(2):398-408, 1990.
- PINTO, W.J.; AREAS, M.A.; MARIALVA, J.E.; CARDOSO, S.M.G.; PINTO, E.G. Homocisteína e risco cardiovascular. **Revista Ciências Médicas**, Campinas:.259-268, 2009.
- ROLLAND, P.H.; FRIGGI, A.; BARLATIER, A.; PIQUET, P.; LATRILLE, V.; FAYE, M. M.; CHARPIOT, P.; BODARD, H.; GHIRINGHELLI, O.; CALAF, R.; LUCCIONI, R.; GARCON, D. Hyperhomocysteinemia-Induced Vascular Damage in the Minipig. **Circulation**, 91(4):1161-74, 1995.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos; composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.Ed. Viçosa, MG: UFV, 2011.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos: tabelas brasileiras**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 141p.
- SANTOS, F.A.; DONZELE, J.L.; SILVA, F.C.O.; OLIVEIRA, R.F.M.; ABREU, M.L.T.; SARAIVA, A.; HAESE, D.; KILL, J.L. Levels of digestible methionine+cystine in diets for high genetic potential barrows from 95 to 125 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(3): 581-586, 2011.
- SANTOS, F.A.; DONZELE, J.L.; OLIVEIRA, R.F.M.; SILVA, F.C.O.; ABREU, M.L.T.; SARAIVA, A.; BRUSTOLINI, P.C. Exigência de metionina + cistina digestíveis em suínos machos castrados de alto potencial genético na fase dos 60 aos 95 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36(6):2047-2053, 2007.
- SHOVELLER, A.K.; BRUNTON, J.A.; HOUSE, J.D.; PENCHARZ, P.B.; BALL, R.O. Dietary Cysteine Reduces the Methionine Requirement by an Equal Proportion in Both Parenterally and Enterally Fed Piglets. **The Journal of Nutrition**, 133:4215-4224, 2003.
- SMOLIN, L.A.;CRENSHAW, D.K.; BENEVENGA, N.J. Homocyst(e)ine Accumulation in Pigs Fed Diets Deficient in Vitamin B-6: Relationship to Atherosclerosis. **The Journal of Nutrition**:2122-2133, 1983.
- SIMON, J. Choline, betaine and methionine interactions in chickens, pigs and fish (including crustaceans). **Worlds Poultry Science Journal**, 55:353-374, 1999.
- STAHLKE JR., H.J.; FRANÇA, L.H.G.; STAHLKE, P.H.; STALHKE, P.S. Hiperhomocisteinemia causando aterogênese na aorta de coelhos – modelo experimental. **Jornal Vascular Brasileiro**,3(1), 2003.

- STIPANUK, M.H. Sulfur amino acid metabolism: Pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. **Annual Review of Nutrition**, 24:539-577, 2004.
- SUIDA, D. **Formulação por Proteína Ideal e Conseqüências Técnicas, Econômicas e Ambientais**. In: I Simpósio Internacional de Nutrição Animal: Proteína ideal, energia líquida e modelagem – Santa Maria, RS – Brasil:1-17, 2007.
- VAZ, R.G.M.V.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L.; FERREIRA, A.S.; BRUSTOLINI, P.C.; KIEFER, C.; ORLANDO, U.A.D. Exigência de aminoácidos sulfurados digestíveis para suínos machos castrados mantidos em ambiente termoneutro dos 15 aos 30kg. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinaria Zootecnia**, 57(3):345-352, 2005.
- VENÂNCIO, L.S.; BURINI, R.C.; YOSHIDA, W.B. Tratamento dietético da hiperhomocisteinemia na doença arterial periférica. **Jornal Vascular Brasileiro**, 9(1):28-41, 2010.
- YANG, C.J.; LEE, D.W.; CHUNG, L.B.; CHO, Y.M.; SHIN, I.S.; CHAE, B.J.; KIM, J.H.; HAN, I.K. Developing Model Equation to Subdivide Methionine+Cystine Requirements into Requirements for Growth and Maintenance in Pigs. **AJAS**, 10(1):86-97, 1997.
- WELCH G.H.; LOSCALZO, J. Homocysteine and atherothrombosis. **New England Journal of Medicine**. 338(15):1042-1050, 1998.
- WU, G.; DAVIS, D.A. Interrelationship among methionine, choline and betaine in channel catfish – *Ictalurus punctatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 36(3):337-345, 2005.
- ZANGERONIMO, M.G.; FIALHO, E.T.; LIMA, J.A.F.; RODRIGUES, P.B.; MURGAS, L.D.S. Redução do nível de proteína bruta da ração com suplementação de aminoácidos sintéticos para leitões na fase inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35(3):849-856, 2006.

II – OBJETIVOS GERAIS

Avaliar níveis de metionina e de cistina para suínos, machos castrados e fêmeas, na fase inicial, sobre o desempenho, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho, parâmetros bioquímicos do sangue, níveis séricos de homocisteína e estiramento de pontes dissulfeto nos pelos;

III – A exigência de metionina+cistina não depende de suas mesmas proporções na dieta de suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg¹

RESUMO – O trabalho objetivou determinar as exigências de metionina+cistina digestíveis (met+cis dig) para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg, mantendo ou não a relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados. Foram utilizados 70 suínos, machos castrados (Topigs 20 x Tybor), com peso inicial de 15,216±0,540 kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, em esquema fatorial 2X3+1, com cinco repetições e dois animais por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos pela manutenção da relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados (suplementação de DL-metionina e L-cistina sintéticas) ou não (suplementação somente de DL-metionina), três níveis de met+cis dig (0,580; 0,640 e 0,700%) e uma ração contendo baixo nível (0,520%) de met+cis dig (ração basal). A ração basal (0,520% de met+cis) foi formulada para apresentar a proporção de 50% de metionina (0,26%) e 50% de cistina (0,26%) digestíveis, que correspondeu a relação met:cis dig de 1:1. Foram avaliados o desempenho, parâmetros bioquímicos do sangue, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho e ligações S-S nos pelos dos animais. O peso final apresentou a resposta (P=0,019) em função dos níveis crescentes de met+cis dig quando não foi mantida a relação (50%) entre os aminoácidos, cujo maior valor foi obtido ao nível de 0,663% de met+cis dig. O ganho de peso diário máximo foi obtido ao nível de 0,661% de met+cis dig (P=0,003), sem manter a relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados. A glicose plasmática aumentou (P=0,006) em função dos níveis de met+cis dig quando a relação met:cis não foi mantida. O colesterol total apresentou resposta linear decrescente (P=0,003) à medida que os níveis de met+cis dig aumentaram na dieta, sem manter a relação entre estes, de modo que o menor nível de met+cis dig avaliado (0,52%) resultou em 64,00 mg/dL e o maior nível (0,70%) resultou em 50,30 mg/dL de colesterol plasmático. A homocisteína no soro sanguíneo não foi influenciada (P>0,05) pelos níveis dos tratamentos, tanto com a suplementação de DL-metionina e L-cistina quanto somente a DL-metionina. A exigência de metionina+cistina digestível, para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg de peso vivo, é de 7,88g/dia para o máximo ganho de peso diário, o que corresponde ao nível de 0,661% na dieta, sem a necessidade de manter a proporção 1:1 entre os aminoácidos sulfurados.

Palavras-chave: aminoácidos sulfurados, características de carcaça, homocisteína.

¹ Artigo formatado de acordo com as normas da revista *Ciência e Agrotecnologia* (ISSN: 1413-7054), em anexo.

The methionine+cystine requirement does not depend on its equal proportion in barrows' diet from 15 to 30 kg

ABSTRACT – This study aimed to determine the requirements of digestible methionine + cystine (dig met+cys) for barrows (Topigs 20 x Tybor), from 15 to 30 kg, keeping or not the ratio of 1:1 between the sulfur amino acids. Seventy crossbred barrows with initial weight of 15.216 ± 0.540 kg were used, distributed in an experimental design of randomized blocks in a factorial scheme $2 \times 3 + 1$, with five replicates and two animals per experimental unit. Treatments were constituted by maintaining the ratio 1:1 among sulfur amino acids (DL-methionine and L-cysteine synthetic supplementation) or not (only DL-methionine supplementation), 3 levels of digestible met+cys (0.580, 0.640 and 0.700%) and a diet containing low level (0.520%) of digestible met+cys (basal diet). The basal diet (0.520% met+cys) was formulated to provide a 1:1 ratio of digestible methionine (0.26%) and digestible cystine (0.26%). Performance, blood biochemical parameters, *longissimus dorsi* muscle depth, backfat thickness and S-S bonds in the animals' bristles were evaluated. The final weight answered ($P=0.019$) as a function of increasing dig met+cys levels when the relationship (50%) was not maintained between amino acids, which the highest value was obtained at the level of 0.663% dig met+cys. The maximum daily weight gain was obtained at the level of 0.661% dig met+cys ($P=0.003$) when the 1:1 ratio between the sulfur amino acids was not kept. Plasma glucose increased ($P=0.006$) as the levels of dig met+cys increased when the met:cys ratio was not kept in 50%. Total cholesterol decreased linearly ($P=0.003$) as the levels of dig met+cis increased in the diet, when the ratio was not kept between both, so that the lowest level of dig met+cys rated (0.52%) resulted in 64.00 mg/dL, and the highest level (0.70%) resulted in 50.30 mg/dL of plasma cholesterol. Homocysteine in the blood serum was not influenced ($P>0.05$) by treatments with either supplemental DL-methionine and L-cystine as only DL-methionine. The requirement of methionine+cystine for barrows from 15 to 30 kg is 7.88g/day for a maximum daily weight gain, which corresponds to a level of 0.661% in the diet, and it is not necessary to keep the ratio 1:1 among sulfur amino acid.

Key words: sulfur amino acids, carcass traits, homocysteine.

Introdução

A sucessiva seleção para maior deposição de proteína, em detrimento da deposição de gordura, tem demandado a reavaliação constante das exigências nutricionais dos suínos, uma vez que mudanças nas taxas de deposição de tecidos corporais geram diferença na exigência diária de nutrientes, sobretudo aminoácidos (Kiefer et al., 2005).

O fornecimento de níveis adequados de aminoácidos para os animais vem sendo amplamente estudado por muitos anos. A maioria dos estudos tem sido realizada com o intuito de se estabelecer as exigências para um único aminoácido, em particular, para os aminoácidos essenciais mais limitantes em dietas comerciais.

Neste sentido, existem muitas informações sobre as exigências de lisina para suínos de diferentes grupos genéticos, categorias e sexo (Santos et al., 2011). No entanto, há escassez de estudos a respeito das exigências de metionina e sua relação com a cistina para suínos na fase inicial. A metionina normalmente é o segundo ou terceiro aminoácido limitante, e o uso de dietas com redução no conteúdo proteico requer maior inclusão de lisina sintética, havendo ainda a necessidade de maior suplementação de metionina (Moehn et al., 2008).

As exigências de metionina e de cistina, para manutenção e produção, podem variar de acordo com o critério de resposta e modelos matemáticos. Limitações nutricionais, condições ambientais e potencial genético influenciam o consumo e a taxa de deposição de proteína, e podem ser considerados importantes fatores (Yang et al., 1997). A metionina é um aminoácido que visa suprir a necessidade dela mesma e da cistina, apresentando a relação de 50%, através de um ciclo que também abrange a homocisteína; quando a cistina é fornecida na dieta, a necessidade de metionina tende a diminuir (Polese, 2012).

Os níveis dietéticos de metionina+cistina para suínos, mesmo sendo inferiores ou superiores às exigências, não alteram o consumo diário desses aminoácidos sulfurados pelos animais, havendo o aumento do consumo de metionina e de cistina em consequência do aumento no consumo de ração (Vaz et al., 2005).

Avaliando o excesso de cistina, proporcionado por diferentes fontes (forma oxidada e reduzida) nas rações de leitões, Dilger et al. (2007) observaram a redução de 84% no ganho de peso médio quando a dieta destes animais foi suplementada com 40g/kg de cistina oxidada ou reduzida, sendo que os resultados foram evidentes após 14 dias de experimento. Portanto, mais pesquisas devem ser realizadas para avaliar as exigências e as relações existentes entre a metionina e a cistina.

Dessa forma, objetivou-se determinar as exigências de metionina+cistina digestíveis (met+cis dig) para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg, mantendo ou não a relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá (CCA/UEM), localizada no Estado do Paraná (23°21'S, 52°04'W, a altitude de 564m), no período de julho de 2013 a janeiro de 2014.

As temperaturas mínima e máxima médias, registradas no período experimental, foram de 16,5 ±4,58°C e 27,6 ±5,00°C, respectivamente. A umidade relativa média do ar no período experimental foi de 65,91 ±15,90. A precipitação pluviométrica total no período experimental foi de 743 mm.

Foram utilizados 70 suínos, machos e castrados (Topigs 20 x Tybor), com peso inicial de 15,216±0,540 kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, em virtude do efeito temporal, em esquema fatorial 2 x 3 + 1, com cinco repetições e dois animais por unidade experimental.

Os tratamentos foram constituídos pela manutenção da relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados (suplementação de DL-metionina e L-cistina sintéticos) ou não (suplementação somente de DL-metionina), três níveis de met+cis dig (0,580; 0,640 e 0,700%) e uma ração contendo baixo nível (0,520%) de met+cis dig (ração basal) que foi comum para ambos os tratamentos.

A ração basal (0,520% de met+cis dig) foi formulada para apresentar a relação de 50% de metionina (0,26%) e 50% de cistina (0,26%) digestíveis. A utilização da DL-metionina e da L-cistina, simultaneamente nas rações experimentais, foi feita com o intuito de se manter a relação 1:1 de metionina e de cistina digestíveis para os níveis de 0,580; 0,640 e 0,700% de met+cis dig. Para atender a estes mesmo níveis também foi utilizada somente a DL-metionina, com o intuito de atender os mesmos níveis (0,580; 0,640 e 0,700%) de met+cis dig, somente com o uso dessa forma sintética, sem manter a relação (1:1) entre a metionina e a cistina digestíveis.

Os animais foram alojados em baias de creche suspensas, com comedouros frontais e bebedouros tipo nipple. As rações e a água foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental. Os animais foram pesados no início e no final do experimento e as rações

experimentais foram pesadas sempre que fornecidas aos animais. Com estes dados foram calculados os consumos diários de ração (CDR), de metionina (CDmet), de cistina (CDcis) e de met+cis (CDm+c), assim como o ganho diário de peso (GDP) e a conversão alimentar (CA).

As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho, farelo de soja, minerais, vitaminas e aditivos, para atender, em no mínimo, as recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al. (2011).

As composições aminoacídicas do milho e do farelo de soja, utilizados na formulação das rações, foram analisadas na Evonik Industries, e foram aplicados os coeficientes de digestibilidade ileal propostos por Rostagno et al. (2011), para estimar os valores de aminoácidos digestíveis destes alimentos.

Para atender os níveis de metionina e de cistina digestíveis foram utilizadas a DL-metionina e a L- cistina, às custa do inerte. O ácido glutâmico foi utilizado nas rações experimentais para proporcionar que as mesmas apresentassem o mesmo nível de nitrogênio. O balanço eletrolítico da dieta (BED) foi calculado com base nos níveis de Na, K e Cl dos ingredientes contidos nas rações (Mongin, 1980).

Ao final do experimento foram colhidas amostras de sangue de um animal de cada unidade experimental, para determinação de ureia, creatinina, proteínas totais, triglicerídeos, HDL, colesterol total e glicose no plasma sanguíneo, utilizando os *kits* específicos e seguindo os procedimentos operacionais padrões (POP) descritos nos mesmos.

Antes da coleta de sangue, os animais permaneceram em jejum por aproximadamente 6 horas. As amostras de sangue foram obtidas através da punção na veia cava anterior, com auxílio de agulhas descartáveis de 40x12 mm de comprimento (Moreno et al., 1997).

Foram colhidos aproximadamente 20 mL de sangue, que foram divididos em tubos devidamente identificados contendo EDTA, para as análises de ureia, creatinina, proteínas totais, triglicerídeos, HDL, colesterol e hematócritos. O fluoreto foi utilizado nos tubos destinados a análise de glicose.

As amostras contendo EDTA e fluoreto foram centrifugadas (3.000 rpm por 15 minutos) para obtenção do plasma. Em seguida, 3 mL de plasma foram transferidos, com auxílio de uma pipeta automática, para tubos do tipo "ependorfs" devidamente identificados.

Tabela 1 – Composição centesimal das rações contendo diferentes níveis de metionina e de cistina digestíveis (Met+Cis dig) para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg

	Níveis (%)						
Met + Cis. dig	0,520	0,580	0,640	0,700	0,580	0,640	0,700
Metionina dig.	0,260	0,290	0,320	0,350	0,320	0,380	0,440
Cistina dig.	0,260	0,290	0,320	0,350	0,260	0,260	0,260
<i>Ingredientes</i>							
Milho	69,913	69,913	69,913	69,913	69,913	69,913	69,913
Farelo de Soja	25,400	25,400	25,400	25,400	25,400	25,400	25,400
Fosfato Bicálcico	1,525	1,525	1,525	1,525	1,525	1,525	1,525
Calcário	0,829	0,829	0,829	0,829	0,829	0,829	0,829
Bicarbonato de Sódio	0,528	0,528	0,528	0,528	0,528	0,528	0,528
Sal comum	0,096	0,096	0,096	0,096	0,096	0,096	0,096
Óleo de Soja	0,706	0,692	0,677	0,662	0,696	0,683	0,669
L-Lisina HCL	0,404	0,404	0,404	0,404	0,404	0,404	0,404
DL- Metionina	0,021	0,052	0,082	0,113	0,082	0,143	0,204
L- Cistina	-	0,033	0,065	0,098	-	-	-
L- Treonina	0,139	0,139	0,139	0,139	0,139	0,139	0,139
L- Triptofano	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
L- Valina	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
Ácido Glutâmico	0,200	0,151	0,103	0,054	0,128	0,064	0,001
Inerte	-	-	-	-	0,021	0,037	0,053
Antioxidante ²	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Promotor de Crescimento ³	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Mistura Vitamínica ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura Mineral ¹	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
<i>Composição Calculada</i>							
Energia Metab. (kcal/kg)	3.230	3.230	3.230	3.230	3.230	3.230	3.230
Proteína Bruta (%)	17,10	17,10	17,10	17,10	17,10	17,10	17,10
Cálcio (%)	0,768	0,768	0,768	0,768	0,768	0,768	0,768
Fósforo Disponível (%)	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
Sódio (%)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Potássio (%)	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467
Cloro (%)	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190
Lisina Digestível (%)	1,093	1,093	1,093	1,093	1,093	1,093	1,093
Met + Cist Digestível (%)	0,520	0,580	0,640	0,700	0,580	0,640	0,700
Metionina Digestível (%)	0,260	0,290	0,320	0,350	0,320	0,380	0,440
Cistina Digestível (%)	0,260	0,290	0,320	0,350	0,260	0,260	0,260
Treonina Digestível (%)	0,689	0,689	0,689	0,689	0,689	0,689	0,689
Triptofano Digestível (%)	0,197	0,197	0,197	0,197	0,197	0,197	0,197
Arginina Digestível (%)	1,055	1,055	1,055	1,055	1,055	1,055	1,055
Valina Digestível (%)	0,754	0,754	0,754	0,754	0,754	0,754	0,754
Leucina Digestível (%)	1,384	1,384	1,384	1,384	1,384	1,384	1,384
Isoleucina Digestível (%)	0,634	0,634	0,634	0,634	0,634	0,634	0,634
Histidina Digestível (%)	0,433	0,433	0,433	0,433	0,433	0,433	0,433
Fenilalanina Digestível (%)	0,770	0,770	0,770	0,770	0,770	0,770	0,770
Met:Cis digestível (%)	50,00	50,00	50,00	50,00	55,17	59,38	62,86
Met+Cis:Lisina dig. (%)	47,57	53,06	58,55	64,04	53,06	58,55	64,04
BED (mEq/kg)	152,80	152,80	152,80	152,80	152,80	152,80	152,80

¹Suplemento vitamínico e mineral para suínos na fase inicial (Conteúdo/kg: Vit. A – 1800000.00 UI; Vit. D3 – 360000.00 UI; Vit. E – 4000.00 mg; Vit. K3 – 600.00 mg; Vit. B1 – 280.00 mg; Vit. B2 – 800.00 mg; Vit. B6 – 300.00 mg; Vit. B12 – 3600.00 mcg; Ácido pantotênico - 3200.00 mg; Niacina – 6000.00 mg; Ácido fólico 80.00 mg; Biotina - 20.00 mg; Colina – 31.20g; Cobre – 50.00 g; Ferro – 20.00 g; Manganês – 11.00g; Cobalto – 120.00mg; Iodo – 200.00mg; Zinco- 18.00g; Selênio – 60.00mg; Lisina- 140.4 g); ² BHT; ³ Tylosina.

As amostras de sangue, coletadas em tubos contendo um gel sem propriedades físico-químicas, foram refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório São Camilo Veterinária para análise de homocisteína, que foi determinada pelo equipamento Immulite® (Siemens), por meio da técnica de quimioluminescência (Demuth et al., 2004).

Os tubos contendo EDTA foram utilizados para a determinação dos hematócritos, sendo posteriormente homogeneizados e o sangue foi transferido para microcapilares (75mm), que foram vedados em uma das extremidades. Os microcapilares foram submetidos a centrifugação (10.000 rpm) por 5 minutos e em seguida foi realizada a leitura da concentração de hematócritos (Gomes et al., 2006).

As avaliações da espessura de toucinho (ET) e profundidade de músculo (PM) foram realizadas ao final do experimento, quando os animais atingiram o peso médio de $31,17 \pm 2,31$ kg, e foi utilizado um conjunto de equipamentos constituídos de uma ecocamera (Aloka® SSD-500 Vet) e uma probe de 11,5 cm e 3,5 MHz. As medidas foram realizadas na região P2, entre a última e penúltima costela torácica, a 4 cm da linha média, sendo a região previamente depilada no sentido crânio-caudal e dorso-ventral, conforme descrito por Dutra Jr. et al. (2001), obtendo-se duas imagens da região. As mensurações foram realizadas por meio do *software* Image Pro Plus®.

A coleta de pelos foi realizada manualmente, utilizando luvas de látex. Para tanto, uma quantidade média de 20 cerdas foi extraída da região dorso-cervical de modo a preservar pontas e raízes. As cerdas foram acondicionadas em eppendorfs devidamente etiquetados e mantidos em temperatura ambiente. As cerdas foram lavadas com água destilada e seca em temperatura ambiente por 24 horas e, posteriormente, foram determinados os espectros referentes às ligações S-S por meio de espectrometria de óptica Raman.

Os espectros do Raman foram coletados à temperatura ambiente de 19°C, em uma geometria de espalhamento por meio do microscópio confocal SENTERRA Bruker Raman (Bruker Optik GmbH, Ettingen, Alemanha). Os espectros foram excitados por uma fonte de laser 785 nm e registrados na faixa espectral de 440 e 1.800 cm^{-1} . A potência do laser foi de 50 mW e focado na amostra através de um microscópio óptico com lente objetiva de 20x (0,75 NA). Os dados espectrais obtidos foram processados com o *software* OPUS®.

A resolução espacial foi de 3 a 5 cm^{-1} , o tempo de integração do detector foi de 3 segundos, e cada curva final resultou de uma média de 100 espectros. Além disso, para melhorar a qualidade do sinal, a temperatura do detector foi diminuída para $-90,15 \text{ °C}$. Todos os espectros foram recolhidos sob as mesmas condições e a área central mais plana da

superfície (em que as escamas apareciam melhor) do pelo foi selecionada e fotografada para assegurar que as medições seguintes fossem repetidas no mesmo local.

Os resultados obtidos para o estiramento das pontes dissulfeto foram avaliados através da normalização dos espectros, utilizando como referência o pico de fenilalanina (1004 cm^{-1}) e corrigida com linha de base via *software*, as medidas da área dos espectros foram obtidas pela largura da banda de 550 a 480 cm^{-1} .

Como procedimentos estatísticos foram testados quatro modelos para avaliar a existência de coeficientes lineares e quadráticos de regressão, comuns ou específicos, para os tratamentos que mantiveram ou não a relação de 50% entre a metionina e a cistina digestíveis nas rações experimentais.

O modelo completo considerou coeficientes lineares e quadráticos de regressão específicos para a manutenção ou não da relação de 50% entre a metionina e a cistina digestíveis. O modelo 2 estimou um único coeficiente linear de regressão e coeficientes quadráticos específicos para cada forma de suplementação. No modelo 3, os coeficientes lineares foram específicos e o coeficiente quadrático único. Por fim, no modelo 4, foram estimados coeficientes lineares e quadráticos de regressão única para ambas as formas de suplementação.

Utilizou-se o teste de verossimilhança para determinar o modelo de melhor ajustamento. O modelo estatístico utilizado para as análises das variáveis de desempenho, parâmetros bioquímicos do sangue, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho, níveis séricos de homocisteína e pontes dissulfeto nos pelos foi o seguinte:

$$Y = \mu + T_i + BL_j + b_1(PI_k) + b_2(\text{met}_{1l}) + b_3(\text{met}_{1l})^2 + b_4(\text{met}_{2m}) + b_5(\text{met}_{2m})^2 + e_{ijklm}$$

Em que:

Y = variáveis de desempenho, parâmetros bioquímicos do sangue, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho, níveis séricos de homocisteína e pontes dissulfeto nos pelos, referentes ao nível de met+cis dig i no bloco j ;

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento i , sendo $i = 0,520; 0,580; 0,640; 0,700$;

BL_j = efeito do bloco j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5$;

b_1 = covariável peso inicial;

b_2 = coeficiente de regressão linear em função dos níveis de met+cis dig, mantendo a relação met:cis, sendo $l = 1:1$ (50%);

b_3 = coeficiente de regressão quadrática em função dos níveis de met+cis dig, mantendo a relação met:cis, sendo $l = 1:1$ (50%);

b_4 = coeficiente de regressão linear em função dos níveis de met+cis dig, em diferentes relações met:cis, sendo $m= 50,00; 55,17; 59,38$ e $62,86\%$.

b_5 = coeficiente de regressão quadrática em função dos níveis de met+cis dig, em diferentes relações met:cis, sendo $m= 50,00; 55,17; 59,38$ e $62,86\%$.

Eijklm = erro aleatório associado a cada observação.

Os dados foram submetidos às análises estatísticas, utilizando o Statistical Analysis System – SAS e o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 2000). O peso inicial dos suínos foi utilizado como covariável para a avaliação do desempenho e características de carcaça.

Os graus de liberdade referentes aos níveis de met+cis dig foram desdobrados em polinômios. A estimativa do melhor nível de met+cis dig foi feita com base nos resultados de desempenho, parâmetros sanguíneos, características de carcaça e níveis séricos de homocisteína, utilizando o modelo Linear Response Plateau.

Resultados e Discussão

Não houve influência ($P>0,05$) dos níveis de met+cis dig (Tabela 2), quando foi mantida a relação 1:1 entre a metionina e a cistina, sobre o peso final, consumo diário de ração (CDR), ganho de peso diário (GPD), conversão alimentar (CA), profundidade do músculo *longissimus dorsi* (PM) e espessura de toucinho (ET). Apesar da cistina ser sintetizada a partir do catabolismo da metionina, através da via de transsulfuração no fígado (Rezaei et al., 2013) em que a metionina serve de fonte de enxofre para a síntese de cistina, a suplementação de diferentes níveis de metionina e cistina, em uma proporção de 50% de cada aminoácido na dieta, não proporcionou diferenças ($P>0,05$) para as variáveis de desempenho e características de carcaça entre os níveis de met+cis avaliados. Entretanto, quando a relação entre a metionina e a cistina não foi mantida, ou seja, quando foi utilizada somente a metionina sintética nas rações experimentais, obteve-se resposta significativa para o peso final ($P=0,019$) e GPD ($P=0,003$) para o ajuste do modelo de segundo grau (Tabela 2).

Tabela 2 – Desempenho, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho e comprimento de onda da área entre bandas dos estiramentos S-S dos pelos (Raman), para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg, recebendo rações com diferentes níveis de metionina (Met) e de cistina (Cis) digestíveis (dig)

Met + Cis dig (%)	0,52	0,58	0,64	0,70	P-valor		0,58	0,64	0,70	P-valor		Erro padrão (%)
Met dig (%)	0,26	0,29	0,32	0,35			0,32	0,38	0,44			
Cis dig (%)	0,26	0,29	0,32	0,35	1º grau	2º grau	0,26	0,26	0,26	1º grau	2º grau	
Peso Inicial (kg)	15,45	15,37	15,14	15,11	-	-	15,24	15,16	15,24	-	-	0,078
Peso Final (kg)	30,01	31,77	32,00	31,66	-	-	30,66	32,32	32,60	-	0,019 ⁹	0,272
CDR (g) ¹	1137	1192	1193	1148	-	-	1138	1188	1200	-	-	11,310
CDmet+cis (g) ²	5,91	6,91	7,64	8,03	0,002 ¹⁰	-	6,60	7,61	8,40	0,001 ¹¹	-	0,119
CDmet (g) ³	2,96	3,46	3,82	4,02	0,003 ¹²	-	3,64	4,52	5,28	-	0,001 ¹³	0,092
CDcis (g) ⁴	2,96	3,46	3,82	4,02	0,001 ¹⁴	-	2,96	3,09	3,12	-	0,043 ¹⁵	0,059
GPD (g) ⁵	530	573	619	589	-	-	564	613	625	-	0,003 ¹⁶	6,856
CA ⁶	2,15	2,10	1,93	1,95	-	-	2,02	1,94	1,92	-	-	0,019
PM (cm) ⁷	2,21	2,38	2,43	2,50	-	-	2,37	2,53	2,71	-	-	0,030
ET (cm) ⁸	0,50	0,59	0,53	0,48	-	-	0,46	0,45	0,48	-	-	0,009
Raman	44,35	46,22	45,99	45,25	-	-	43,34	42,94	44,93	-	-	0,674

¹ CDR - Consumo diário de ração; ² CDmet+cis - Consumo diário de metionina e de cistina; ³ CDmet - Consumo diário de metionina; ⁴ CDcis - Consumo diário de cistina; ⁵ GPD - ganho de peso diário; ⁶ CA - conversão alimentar; ⁷ PM - profundidade do músculo *Longissimus dorsi*; ⁸ ET - espessura de toucinho; ⁹ $Y = 19,8317 + 19,25 X$ ($R^2=0,94$); ¹⁰ $Y = -8,9744 + 11,8264X$ ($R^2=0,57$); ¹¹ $Y = 1,47868 + 14,1100X$ ($R^2=0,87$); ¹² $Y = 1,0135 + 4,662X$ ($R^2=0,053$); ¹³ $Y = 1,013 + 2,539 - 10,086X + 18,476X^2$ ($R^2 = 0,62$); ¹⁴ $Y = 0,984 + 4,657X$ ($R^2 = 0,12$); ¹⁵ $Y = 0,984 + 2,394 - 1,693X + 2,331X^2$ ($R^2 = 0,38$); ¹⁶ $Y = 167,8334 + 691,667X$ ($R^2=0,99$).

O CDR, a CA, a profundidade do músculo *longissimus dorsi* e espessura de toucinho não foram influenciados ($P>0,05$) por estes mesmos tratamentos.

Os melhores níveis de met+cis dig estimados para o peso final e GPD foram de 0,663 e 0,661%, respectivamente (Figura 2a e 2b). Estes resultados demonstram a efetividade de se utilizar somente a metionina sintética para atender as exigências de met+cis para suínos machos castrados na fase inicial, que é uma prática adotada nas formulações de rações para suínos.

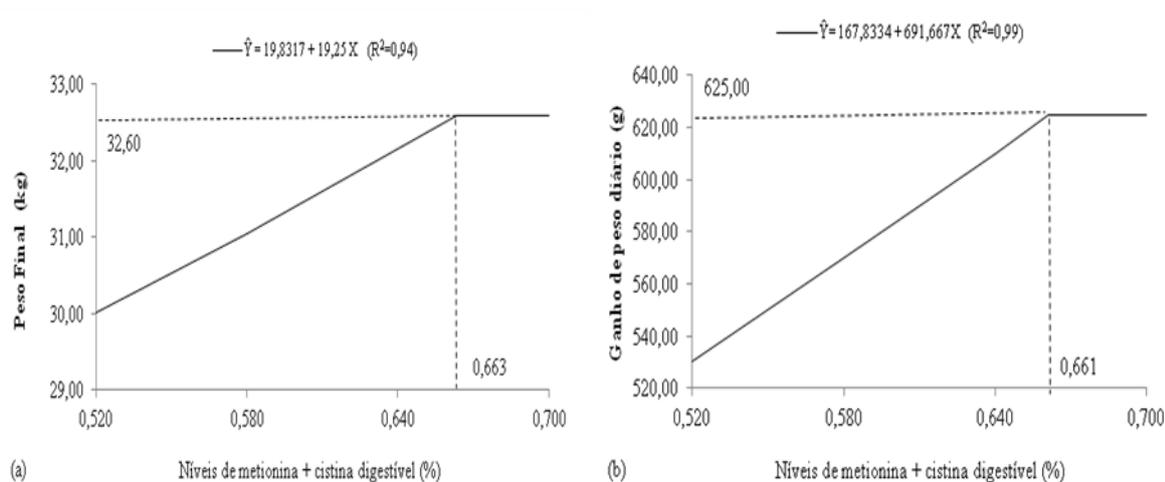


Figura 2. Peso final (a) e ganho de peso diário (b) em função dos níveis de metionina+cistina digestíveis, em diferentes relações metionina:cistina, para suínos machos castrados dos 15 aos 30kg.

Ao avaliarem níveis 0,502 a 0,614% de met+cis dig, para suínos machos castrados e fêmeas dos 15 aos 30 kg, Moura et al. (2006) observaram melhor GPD (678g/dia) para o nível de 0,582% de metionina+cistina digestível, sendo inferior aos obtidos no presente trabalho para as mesmas variáveis. No entanto, o NRC (2012) propõe a exigência de 0,680% de metionina+cistina digestíveis para suínos machos castrados e fêmeas, mostrando-se superior ao nível ótimo obtido no presente estudo.

A exigência de metionina+cistina proposta por Rostagno et al. (2011), para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg de alto potencial genético e desempenho superior, é inferior (0,612%) aos níveis ótimos obtidos no presente trabalho para as variáveis peso final e GPD. Embora a relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados seja apresentada em algumas recomendações, não significa que tal relação deva ser mantida ao se formular rações, a exemplo dos resultados obtidos no presente trabalho. Neste sentido, Rostagno et al. (2011) relataram que as exigências de met+cis dig foram estabelecidas com base em que um mínimo de 50% dos aminoácidos sulfurados deve ser suprido por metionina. Da mesma forma, Wu

(2014) apresentou a relação de 1:1 entre a metionina e a cisteína para suínos dos 5 aos 110 kg de peso vivo.

Houve aumento ($P < 0,01$) no consumo diário de met+cis dig ($CD_{met+cis}$), consumo diário de metionina (CD_{met}) e consumo diário de cistina (CD_{cis}) em função dos níveis de met+cis dig ao se manter a relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados (Tabela 2). A mesma resposta ($P < 0,01$) foi obtida para os níveis de met+cis dig, em que as relações não foram mantidas, apresentando melhor ajuste (R^2) em relação ao modelo de segundo grau. Esse resultado já era esperado, uma vez que os tratamentos avaliados consistiram de níveis crescentes dos aminoácidos sulfurados.

Ao manter a relação entre os aminoácidos sulfurados nas dietas, observou-se a redução no $CD_{met+cis}$ em relação ao uso somente de metionina sintética nas rações, à medida que os níveis de metionina+cistina aumentaram (Figura 3).

No entanto, o uso de metionina e/ou de cistina sintéticos não influenciou o CDR ($P > 0,05$), resposta contrária a encontrada por Dilger et al. (2007), que ao avaliarem o excesso de cistina em dietas para leitões após 14 dias, observaram a redução no consumo de alimento e ganho de peso. Houve a redução de 84% no ganho de peso médio, quando a dieta destes animais foi suplementada com 40g/kg de cistina, tanto na forma oxidada quanto reduzida. Algumas explicações podem ser dadas para o resultado obtido, e duas delas são que o nível do excesso de cistina foi abaixo do limite considerado mortal para o suíno e a absorção da cistina sintética é ineficaz em níveis excedentes.

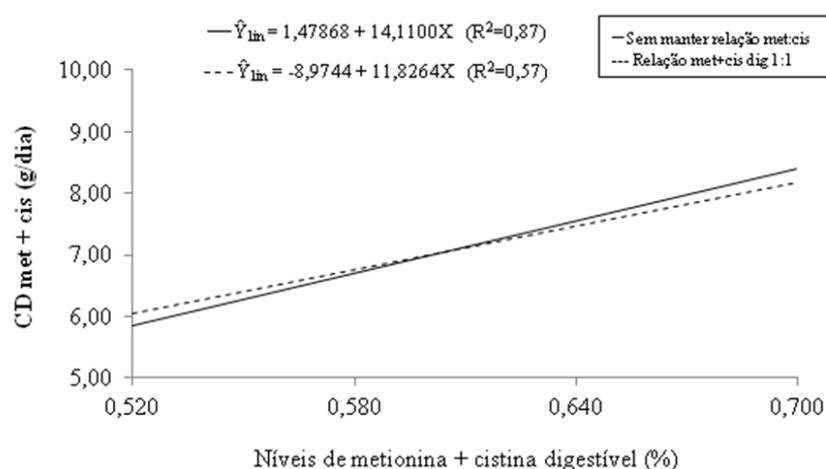


Figura 3. Consumo diário de metionina+cistina ($CD_{met+cis}$) para suínos machos castrados dos 15 aos 30kg.

De acordo com Frantz et al. (2009), a metionina é um aminoácido essencial utilizado na síntese proteica. No entanto, a profundidade do músculo *longissimus dorsi* não foi influenciada ($P>0,05$) pelos níveis de met+cis dig em suas diferentes relações nas dietas.

Por outro lado, ao suplementar DL-metionina em rações para suínos, Ly et al. (2012) observaram a redução na deposição de gordura, que não foi observado no presente trabalho (Tabela 2), mantendo ou não a relação entre a metionina e a cistina.

As células da cutícula da fibra capilar possuem várias camadas que apresentam diferentes concentrações de cistina. Na camada A, pode ser encontrada mais de 30%, a camada B possui aproximadamente 15% e a endocutícula apresenta em torno de 3% (Velasco et al., 2009). No entanto, não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de met+cis dig sobre o comprimento de onda da área entre bandas, referente às ligações S-S dos pelos dos animais (Tabela 2). Este resultado demonstra que tanto o uso de metionina quanto de cistina, nas rações experimentais, não influenciaram as pontes dissulfeto no pelo dos suínos, que são ligações características da cistina observadas no espectro (Figura 4).

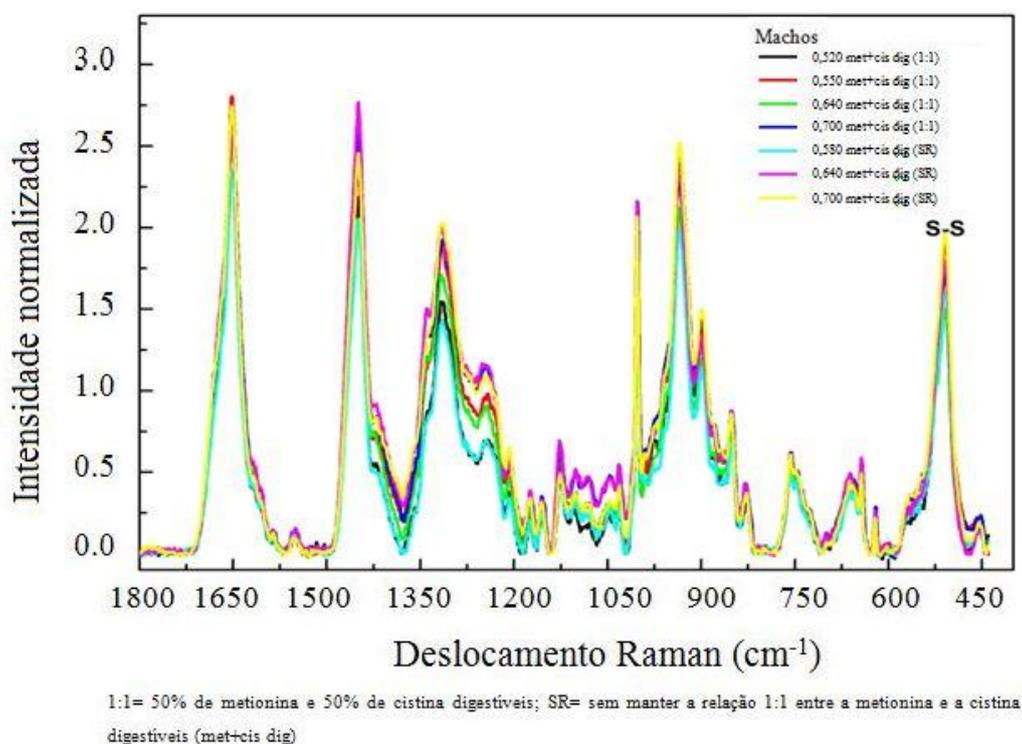


Figura 4. Espectros obtidos para o estiramento das pontes dissulfeto (S-S) nos pelos de suínos machos castrados através do microscópio confocal Senterra Bruker Raman.

Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para a ureia, triglicerídeos, proteínas totais, creatinina, hematócritos, homocisteína e HDL entre os níveis de metionina e de cistina estudados (Tabela 3).

Embora a glicose plasmática não tenha sido influenciada ($P > 0,05$) quando foram mantidas as relações entre os aminoácidos sulfurados, observou-se o aumento ($P = 0,006$) neste parâmetro quando foi utilizada somente a metionina sintética, sem manter a relação entre os aminoácidos sulfurados. Esse efeito pode estar relacionado ao fato da metionina ser um aminoácido glicogênico, pois, após sua deaminação é gerado o α -cetoácido succinil-CoA, o qual será convertido a piruvato. Em seguida, o piruvato pode ser empregado no ciclo do ácido cítrico, gerando energia, ou poderá ser empregado na via da gliconeogênese, recuperando moléculas de glicose (Nelson & Cox, 2011).

O colesterol total reduziu ($P = 0,003$), em função do aumento dos níveis de met+cis dig, somente quando a relação entre estes aminoácidos não foi mantida na dieta, representando a redução de 21,40% no teor de colesterol total. O efeito depressor da metionina sobre o colesterol no organismo de mamíferos pode estar relacionado à capacidade da metionina em gerar peroxidação lipídica nos componentes de membrana celular (colesterol, gangliosídeos, glicoesfingolipídeos e glicerofosfolipídeos insaturados), uma vez que foram observados índices superiores de peroxidação de lipídeos (TBARS) no córtex cerebral de ratos submetidos a infusão de metionina (Stefanello et al., 2005). Assim, os autores concluíram que a hipermetioninemia induzida em ratos resultou em elevação da peroxidação lipídica em nível de córtex cerebral, reduzindo os níveis de colesterol.

Ao avaliarem duas rações, para suínos dos 15 aos 25 kg (0,46% e 3,46% met+cis), França et al. (2006) observaram que o colesterol plasmático não foi influenciado pelos tratamentos. Os autores também observaram maiores teores de homocisteína ao suplementarem a metionina sintética nas rações, cujos valores obtidos para os níveis de 0,46 e 3,46% de metionina+cistina dietética foram de 16,73 e 59,80 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente.

A homocisteína não foi influenciada ($P > 0,05$) pelos níveis de met+cis dig avaliados, mantendo ou não a relação entre os aminoácidos sulfurados nas rações (Tabela 3). Os valores obtidos são relativamente elevados em relação aos verificados para seres humanos, pois Nerbass, Draibe & Cuppari (2005) classificaram como quadro clínico de hiperhomocisteinemia intermediária os níveis compreendidos entre 31 e 100 $\mu\text{mol/L}$.

Tabela 3 – Parâmetros bioquímicos do sangue de suínos machos castrados, dos 15 aos 30 kg, recebendo rações com diferentes níveis de metionina (Met) e de cistina (Cis) digestíveis (dig)

Met + Cis. dig (%)	0,52	0,58	0,64	0,70	P-valor		0,58	0,64	0,70	P-valor		Erro padrão (%)
	0,26	0,29	0,32	0,35			0,32	0,38	0,44			
Cis dig (%)	0,26	0,29	0,32	0,35	1º grau	2º grau	0,26	0,26	0,26	1º grau	2º grau	
Ureia (mg/dL)	26,56	27,12	26,80	26,10	-	-	27,30	28,10	21,30	-	-	0,661
Triglicerídeos (mg/dL)	43,90	45,00	42,50	43,60	-	-	44,72	42,50	43,80	-	-	1,314
Proteínas Totais (g/dL)	5,88	5,97	5,95	5,73	-	-	6,13	5,96	5,84	-	-	0,041
Creatinina (mg/dL)	0,97	1,26	1,26	1,14	-	-	1,03	1,09	1,14	-	-	0,027
Hematócitos (%)	36,05	33,80	34,70	37,00	-	-	37,20	38,10	38,00	-	-	0,317
Glicose (mg/dL)	77,10	84,13	85,75	86,20	-	-	80,00	83,10	90,30	0,006 ²	0,006 ³	0,996
Homocisteína (µmol/L)	53,13	52,64	52,13	51,00	-	-	50,00	50,60	50,20	-	-	0,268
Colesterol total (mg/dL)	64,00	61,83	60,40	55,30	-	-	63,60	60,60	50,30	0,003 ⁴	-	1,058
HDL (mg/dL) ¹	22,90	25,70	26,20	25,10	-	-	21,50	25,30	24,90	-	-	0,509

¹ HDL – High density lipoprotein; ² $Y = 39,2133 + 71,1667X$ ($R^2=0,32$); ³ $Y = 148,983 - 293,139X + 298,611X^2$ ($R^2= 0,34$); ⁴ $Y = 105,529 - 65,00X$ ($R^2 =0,52$).

A metionina está envolvida no metabolismo da homocisteína através de duas rotas biológicas: a remetilação e a transsulfuração. A homocisteína é reconvertida em metionina pela via da remetilação, por intermédio das enzimas metionina sintase e a betaína-homocisteína metiltransferase. Pela ação da metionina sintase, enzima dependente de vitamina B12, o metiltetrahidrofolato doa um grupo metil para a homocisteína, que é convertida então em metionina (Stipanuk, 2004).

Em grandes quantidades de metionina, ou de S-adenosil-metiltransferase, a rota de transsulfuração é ativada, havendo maior produção de cisteína. A remetilação é favorecida quando existem baixas concentrações de metionina ou de S-adenosil-metiltransferase. Nessa etapa, a homocisteína adquire um grupo metil de N5-metiltetrahidrofolato, ou de betaína, para formar metionina (Finkelstein, 1998). No entanto, no presente trabalho não foi observada relação ($P>0,05$) entre as concentrações plasmáticas de homocisteína em função dos níveis crescentes de met+cis dig, mantendo ou não a relação entre os aminoácidos.

Esta resposta pode estar associada à quantidade de metionina sintética utilizada nas rações experimentais, pois França et al. (2006) observaram maiores teores de homocisteína ao suplementarem a metionina sintética nas rações para atenderem 3,46% de metionina + cistina dietética, que é um nível expressivamente superior aos utilizados no presente trabalho.

Não houve influência ($P>0,05$) dos níveis de met+cis dig sobre o colesterol HDL. Por outro lado, França et al. (2006) observaram que o nível de 3,46% de metionina+cistina na dieta elevou a concentração de HDL em relação ao nível de 0,46%; mas, como já mencionado anteriormente, os níveis de metionina+cistina utilizados pelos autores foi expressivamente maior em relação aos níveis avaliados no presente trabalho.

À exceção do consumo de aminoácidos sulfurados, não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para os demais parâmetros avaliados quando foi mantida a relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados nos níveis de met+cis dig avaliados. Deve-se considerar que entre 20 e 48% do total da metionina consumida pode ser destinada ao tecido esplâncnico (Stoll & Burrin, 2006), o qual compreende todos os tecidos drenados pela circulação da veia porta, dentre eles o fígado, em que se dá grande parte das reações metabólicas envolvendo a metionina (Riedijk et al., 2007). Além disso, Stoll & Burrin (2006) relataram que cerca de 70% da cistina dietética é metabolizada no

intestino, não chegando à corrente sanguínea, o que limita a utilização metabólica deste aminoácido decorrente da dieta.

O melhor nível de met+cis dig obtido foi de 0,661%, com base no GPD, que corresponde a exigência de 7,88g/dia, sem a necessidade de se manter a relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados. Rostagno et al. (2011) propuseram a exigência de met+cis dig de 0,612%; para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg, e a exigência de metionina de 0,306%; o que corresponde a relação de 50% para cada aminoácido sulfurado. O NRC (2012) propõe, para suínos dos 11 aos 25 kg de peso vivo, a exigência de 0,680% de metionina+cistina digestível para ambos os sexos, correspondendo a relação metionina:cistina de 53%.

Embora a metionina atenda a necessidade de cistina, muitas pesquisas diferem quanto à relação ideal entre a metionina e a cistina. A exigência obtida neste trabalho (0,661%) corresponde a relação metionina:cistina de 61%, mostrando superior às relações calculadas com base nos dados de diferentes literaturas (Rostagno et al., 2011 e NRC, 2012). Ainda assim, Wu (2014) apresentaram a relação de 1:1 entre a metionina e a cisteína, para suínos dos 5 aos 110 kg de peso vivo, que também foi apresentada por Chung & Baker (1992), para leitões dos 10 aos 20 kg.

Por outro lado, Roth & Kirchgessner (1989) observaram melhor GPD, para suínos dos 30 os 60 kg, quando a relação metionina:cistina foi de 55% e, para animais pesando entre 60 e 90 kg, o melhor GPD foi observado quando esta relação foi de 57%.

Conclusões

A exigência de metionina+cistina digestíveis, para suínos machos castrados dos 15 aos 30 kg de peso vivo, é de 7,88g/dia para ganho máximo de peso diário, correspondendo ao nível de 0,661%; sem a necessidade de manter a mesma proporção entre os aminoácidos sulfurados.

Referências

- CHUNG, T.K. and BAKER, D. H. Maximum portion of the young pig's sulfur amino acid requirement that can be furnished by cystine. **Journal of Animal Science**, 70: 1182–1187, 1992.
- DEMUTH, K. et al. Evaluation of advia centaur automated chemiluminescence immunoassay for determining total homocysteine in plasma. **Clinica Chimica Acta**, 349(1-2): 113-20, 2004.

- DILGER, R.N.; TOUE, S.; KIMURA, T.; SAKAI, R.; BAKER, D.H. Excess Dietary L-Cysteine, but Not L-Cystine, Is Lethal for Chicks but Not for Rats or Pigs. **The Journal of Nutrition**, 137: 331–338, 2007.
- DUTRA JR, W. M.; FERREIRA, A. S.; TAROUCO, J. U. et al. Predição de características quantitativas de carcaças de suínos pela técnica de ultra sonografia em tempo real. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, 30(4):1251-1257, 2001.
- FINKELSTEIN, J.D. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. **European Journal of Pediatrics**, 157:40, 1998.
- FRANÇA, L.H.G. et al. Aterogênese em artéria ilíaca comum de suínos submetidos à homocisteinemia induzida pela ingestão de metionina. **Jornal Vascular Brasileiro**, 5(1):11-16,2006.
- FRANTZ, N.Z. et al. The optimal standardized ileal digestible lysine and total sulfúrico amino acid requirement for finishing pigs fed ractopamine hydrochloride. **The professional animal scientist**, 25: 161-168, 2009.
- GOMES, K. R. et al. Avaliação de hematócrito e proteína plasmática de sangue hemodiluído. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, 3:1-5, 2006.
- KIEFER, C.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.F.M. et al. Exigência de metionina mais cistina digestíveis para suínos machos castrados mantidos em ambiente de alta temperatura dos 30 aos 60 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 34(3):847-854, 2005.
- LY, N.T.H. et al. Pig performance increases with the addition of DL-methionine and L-lysine to ensiled cassava leaf protein diets. **Tropical animal health production**, 44: 165-172, 2012
- MOEHN, S. et al. An estimate of the methionine requirement and its variability in growing pigs using the indicator amino acid oxidation technique. **Journal of Animal Science**, 86:364-369, 2008.
- MONGIN, P. Role of sodium, potassium and chloride in eggshell quality. In: NUTRITION CONFERENCE OF FLORIDA, Florida, 1980. **Proceedings...** Florida:114-117, 1980.
- MORENO, A.M.; SOBESTYANKY, J.; LOPEZ, A.C. et al. **Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 41):30, 1997.
- MOURA, J. O. et al. Exigências de aminoácidos sulfurados digestíveis para suínos machos castrados e fêmeas de 15 a 30kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35(3):1085-1090, 2006.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of swine**. XEd, Washington, D.C.: National Academic of Science, 2012.
- NELSON, D.L. & COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. São Paulo: SARVIER, 5Ed., p.1247, 2011.
- NERBASS, F.B.; DRAIBE, S.A.; CUPPARI, L. Hiperhomocisteinemia na insuficiência renal crônica. **Revista de Nutrição**, Campinas: 239-249, 2005.
- POLESE, C. et al. Quantidade de metionina+cistina digestível para poedeiras semipesadas de 75 a 91 semanas de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 64(6):1682-1690, 2012.
- REZAEI, R. et al. Biochemical and physiological bases for utilization of dietary amino acids by young pigs. **Journal of animal Science and biotechnology**, 4:7, 2013.
- RIEDIJK, M.A. et al. Methionine transmethylation and transsulfuration in the piglet gastrointestinal tract. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 104(9):3408-3413, 2007.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos; composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.Ed. Viçosa, MG: UFV, 2011
- ROTH, F.X. and KIRCHGESSNER, M. Influence of the methionine:cystine relationship in the feed on the performance of growing pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 61:265-274, 1989.
- SANTOS, F.A. et al. Levels of digestible methionine+cystine in diets for high genetic potential barrows from 95 to 125 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(3):581-586, 2011.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS Institute Inc, SAS 9.1.3 2002-2004. **Help and Documentation**, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- STEFANELLO, F.M. et al. Methionine alters Na⁺, K⁺ - ATPase activity, lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidant defenses in rat hippocampus. **International Journal Developmental Neuroscience**, 23:651-656, 2005.
- STIPANUK, M.H. Sulfur amino acid metabolism: Pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. **Annual Review of Nutrition**, 24:539-577, 2004.
- STOLL, B. and BURRIN, D.G. Measuring splanchnic amino acid metabolism *in vivo* using stable isotopic tracers. **Journal of Animal Science**, 84:60-72, 2006. Supplement
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Sistema para análise estatística e genética - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG: p.142, 2000.

- VAZ, R.G.M.V. et al. Exigência de aminoácidos sulfurados digestíveis para suínos machos castrados mantidos em ambiente termoneutro dos 15 aos 30kg. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 57(3):345-352, 2005.
- VELASCO, M.V.R. et al. Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 45(1): 153-162, 2009.
- YANG, C.J. et al. Developing Model Equation to Subdivide Methionine+Cystine Requirements into Requirements for Growth and Maintenance in Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 10(1): 86-97, 1997.
- WU, G. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition. **Journal of animal Science and biotechnology**, 5:34, 2014.

IV – Níveis de metionina+cistina digestível e suas relações para fêmeas suínas dos 15 aos 30 kg²

RESUMO – O objetivo do presente trabalho foi avaliar diferentes níveis de met+cis digestíveis, em diferentes relações met:cis, para fêmeas suínas dos 15 aos 30 kg, sobre o desempenho, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho, parâmetros bioquímicos do sangue, níveis séricos de homocisteína e pontes dissulfeto (S-S) nos pelos dos animais. Foram utilizadas 70 fêmeas suínas (Topigs 20 x Tybor) com peso médio inicial de 15,193 ±0,580 kg, distribuídas em delineamento experimental de blocos ao acaso, com sete tratamentos em esquema fatorial 2 X 3 + 1, constituído de suplementação de DL-metionina e L- cistina ou somente DL-metionina, 3 níveis de met+cis digestíveis (0,580; 0,640 e 0,700%) e uma ração contendo baixo nível (0,520%) de met+cis digestíveis (ração basal). Foram utilizadas cinco repetições e dois animais por unidade experimental. A ração basal (0,520% de met+cis) foi formulada para apresentar a relação de 50% de metionina (0,26%) e 50% de cistina (0,26%) digestíveis, cuja proporção met+cis foi de 1:1. O peso final apresentou resposta linear crescente (P=0,017) para os tratamentos cuja relação met:cis foi de 1:1. Para os tratamentos cujas relações met:cis não foram mantidas (1:1) o melhor peso final foi obtido para o nível de 0,589% de met+cis digestíveis. A profundidade do músculo *longissimus dorsi* apresentou resposta linear crescente (P=0,005) aos níveis de met+cis digestíveis quando as relações met:cis não foram constantes (1:1). Houve efeito linear crescente (P=0,001) para o HDL plasmático em função dos níveis de met+cis digestíveis em que a relação met:cis foi 1:1. Conclui-se que o nível de 0,589% de metionina+cistina digestíveis proporciona melhor peso ao final da fase inicial e o mínimo de 0,700% é necessário para maior profundidade do músculo *longissimus dorsi* em fêmeas suínas dos 15 aos 30 kg, correspondendo ao consumo diário de 6,83 e 7,81g, respectivamente, sem a necessidade de manter as mesmas proporções entre os aminoácidos sulfurados na dieta.

Palavras-chave: aminoácidos sulfurados, homocisteína, leitões.

²Artigo formatado de acordo com as normas da revista *Ciência e Agrotecnologia* (ISSN: 1413-7054), em anexo.

IV – Digestible methionine+cystine levels and its relationships for gilts from 15 to 30 kg

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate different met+cys levels in different met:cys relationships for gilts from 15 to 30 kg on performance, *longissimus dorsi* muscle depth, backfat thickness, blood biochemical parameters, serum homocysteine and S-S bonds in the animals' bristles. Seventy crossbred gilts with initial weight of 15.193 ± 0.580 kg were used, distributed in an experimental design of randomized blocks with seven treatments in a factorial scheme $2 \times 3 + 1$, constituted by DL-methionine and L-cysteine synthetic supplementation or only DL-methionine, 3 levels of digestible met+cys (0.580, 0.640 and 0.700%) and a diet containing low level (0.520%) of digestible met+cys (basal diet). Five replicates were used and two animals per experimental unit. The basal diet (0.520% met+cys) was formulated to provide a relationship of 50% digestible methionine (0.26%) and 50% digestible cystine (0.26%), which met+cis proportion was 1:1. The final weight (FW) presented linear increase ($P = 0.017$) for treatments which met:cys relationship was 1:1. However, for the treatments which relationships were not stable, the best FW was obtained for the level of 0.589% dig met+cys. The depth of *longissimus dorsi* muscle presented increasing linear answer ($P = 0.005$) when levels of me+cys were evaluated which met:cys relationships were not constant. There was increasing linear effect ($P = 0.001$) for plasma HDL as a function of met+cys levels in treatments which met:cys relationships was 1:1. We concluded that the level of 0.589% methionine+cystine provides better weight at the end of the initial phase and a minimum of 0.700% is necessary for higher depth of *longissimus dorsi* muscle in gilts from 15 to 30 kg, corresponding to daily intake of 6.83 and 7.81g, respectively, without the need to keep the same ratio between the sulfur amino acids in the diet.

Key words: sulfur amino acids, homocysteine, piglets.

Introdução

Para um bom desenvolvimento biológico, e otimização da produção, torna-se cada vez mais necessário o estudo dos nutrientes exigidos para cada fase de produção dos suínos. Neste contexto, os aminoácidos apresentam grande importância e para que tenham a participação positiva neste desenvolvimento é necessário conhecer não apenas as exigências, mas também a relação entre tais elementos.

As dietas para suínos se tornam cada vez mais precisas em relação aos ingredientes e nutrientes e o adequado entendimento das exigências é de fundamental importância para aumentar a produtividade. Os aminoácidos sulfurados, por serem um dos principais limitantes em rações à base de grãos e farelos de oleaginosas (Lewis, 2003), tem se destacado em pesquisas que visam determinar a melhor relação entre eles.

Dentre os aminoácidos sulfurados a metionina apresenta a principal função de ser substrato para síntese de proteínas, sendo precursora de outros aminoácidos sulfurados, notadamente da cisteína que, assim como a metionina, também é utilizada para a síntese de proteína corporal (Brosnan & Brosnan, 2006).

A metionina também desempenha papel importante no metabolismo dos fosfolipídios e a sua deficiência é conhecida por causar prejuízos renais e hepáticos (Kalinowski, Moran & Wyatt, 2003). O cuidado com as concentrações de metionina e cistina devem ser dobrados quando estes se encontram em quantidades que excedem as exigências, pois pode haver toxicidade (Baker, 2006).

A metionina, por estar intimamente ligada a biossíntese de homocisteína e da glutatona, tem chamado atenção dos pesquisadores ao longo dos anos, visto que a homocisteína se mostrou um fator de risco quando encontrada em níveis acima do normal. Em suínos dos 15 aos 25 kg foi observada aterogênese na artéria ílica em função da suplementação excessiva de metionina na dieta, induzindo os animais a homocisteinemia (França et al., 2006).

Shoveller et al. (2003), trabalhando com leitões de 2 dias de idade apontaram que a dificuldade ao formular dietas para esta fase é que as recomendações geralmente são provenientes de experimentos realizados com animais em idades mais avançadas.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar diferentes níveis de metionina+cistina digestível, em diferentes relações metionina:cistina, para fêmeas suínas na fase inicial.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá (CCA/UEM), localizada no Estado do Paraná (23°21'S, 52°04'W, a altitude de 564 m), no período de junho de 2013 a janeiro de 2014.

As temperaturas mínima e máxima médias registradas no período experimental, foram de 16,5 ±4,58°C e 27,6 ±5,00°C, respectivamente. A umidade relativa média do ar no período experimental foi de 65,91 ±15,90. A precipitação pluviométrica total no período experimental foi de 743 mm.

Foram utilizadas 70 fêmeas suínas, de linhagem comercial (Topigs 20 x Tybor), de alto potencial genético e desempenho superior, com peso inicial médio de 15,193 ±0,580kg, distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com sete tratamentos e cinco repetições, sendo a unidade experimental representada por dois animais. Foi utilizado um esquema fatorial 2 X 3 + 1, constituído pela manutenção da relação 1:1 entre os aminoácidos sulfurados ou não, três níveis de met+cis dig (0,580; 0,640 e 0,700%) e uma ração basal (0,520% de met+cis dig).

A ração basal foi formulada para apresentar a relação de 50% de metionina (0,26%) e 50% de cistina (0,26%) digestíveis, sendo assim um nível em comum para ambos os tratamentos. A utilização da DL-metionina e da L-cistina, simultaneamente nas rações experimentais, foi feita com o intuito de se manter a relação 1:1 entre a metionina e a cistina digestíveis para os níveis de 0,580; 0,640 e 0,700% de met+cis dig. Estes mesmos níveis de metionina+cistina digestível (0,580; 0,640 e 0,700%) também foram obtidos utilizando apenas a DL-metionina, sem manter a relação (50%) entre a metionina e a cistina digestível.

Os animais foram alojados em baias de creche suspensas, com comedouros frontais e bebedouro tipo nipple. Durante o período experimental as rações e a água foram fornecidas à vontade. Os animais foram pesados no início e no final do experimento e as rações experimentais foram pesadas sempre que fornecidas aos animais. Com estes dados foram calculados os consumos diários de ração (CDR), de metionina (CDmet), de cistina (CDcis) e de met+cis (CDm+c), assim como o ganho diário de peso (GDP) e a conversão alimentar (CA).

As rações experimentais (Tabela 4) foram formuladas à base de milho, farelo de soja, minerais, vitaminas e aditivos, para atender, em no mínimo, as recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al. (2011).

As composições aminoacídicas do milho e do farelo de soja, utilizados na formulação das rações, foram analisadas na Evonik Industries, e foram aplicados os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira propostos por Rostagno et al. (2011) para estimar os valores de aminoácidos digestíveis destes alimentos.

O ácido glutâmico foi utilizado nas rações experimentais para que apresentassem o mesmo nível de nitrogênio. O balanço eletrolítico da dieta (BED) foi calculado com base nos níveis de Na, K e Cl dos ingredientes contidos nas rações (Mongin, 1980).

Para determinação de ureia, creatinina, proteínas totais, triglicerídeos, HDL, colesterol total e glicose no plasma sanguíneo, foram coletadas amostras de sangue de um animal por unidade experimental, utilizando *kits* específicos, segundo os procedimentos operacionais padrões (POP) descritos nos mesmos.

Foi adotado um período de 6 horas para realização da coleta de sangue. As amostras de sangue foram obtidas através da punção na veia cava anterior, com auxílio de agulhas descartáveis de 40x12 mm de comprimento (Moreno et al., 1997).

Os frascos contendo EDTA, para a coleta do sangue, foram utilizados para determinação da ureia, creatinina, proteínas totais, triglicerídeos, HDL, colesterol e hematócritos. Para a análise de glicose, o sangue foi colhido em frascos contendo fluoreto.

As amostras de sangue foram encaminhadas ao laboratório e foram centrifugadas (3.000 rpm por 15 minutos) para obtenção do plasma. Em seguida, 3 mL de plasma foram transferidos com auxílio de uma pipeta automática para tubos do tipo "eppendorf".

As amostras de sangue, coletadas em tubos contendo um gel sem propriedades físico químicas, foram refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório São Camilo Veterinária para análise de homocisteína, que foi determinada pelo equipamento Immulite® (Siemens), por meio da técnica de quimioluminescência (Demuth et al., 2004).

Tabela 4 – Composição centesimal das rações contendo diferentes níveis de metionina e de cistina digestíveis (Met + Cis dig) para fêmeas suínas dos 15 aos 30 kg

	Níveis (%)						
Met + Cis. dig	0,520	0,580	0,640	0,700	0,580	0,640	0,700
Metionina dig	0,260	0,290	0,320	0,350	0,320	0,380	0,440
Cistina dig	0,260	0,290	0,320	0,350	0,260	0,260	0,260
<i>Ingredientes</i>							
Milho	69,914	69,914	69,914	69,914	69,914	69,914	69,914
Farelo de Soja	25,400	25,400	25,400	25,400	25,400	25,400	25,400
Fosfato Bicálcico	1,536	1,536	1,536	1,536	1,536	1,536	1,536
Calcário	0,835	0,835	0,835	0,835	0,835	0,835	0,835
Bicarbonato de Sódio	0,521	0,521	0,521	0,521	0,521	0,521	0,521
Sal comum	0,101	0,101	0,101	0,101	0,101	0,101	0,101
Óleo de Soja	0,725	0,710	0,696	0,681	0,700	0,674	0,649
L-Lisina HCL	0,389	0,389	0,389	0,389	0,389	0,389	0,389
DL- Metionina	0,021	0,052	0,082	0,113	0,082	0,143	0,204
L- Cistina	-	0,033	0,065	0,098	-	-	-
L- Treonina	0,131	0,131	0,131	0,131	0,131	0,131	0,131
L- Triptofano	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019
L- Valina	0,029	0,029	0,029	0,029	0,029	0,029	0,029
Ácido Glutâmico	0,200	0,151	0,103	0,054	0,164	0,128	0,093
Inerte	-	-	-	-	-	-	-
Antioxidante ²	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Promotor de Crescimento ³	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Mistura Vitamínica ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura Mineral ¹	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
<i>Composição química e energética</i>							
Energia Metab. (kcal/kg)	3,230	3,230	3,230	3,230	3,230	3,230	3,230
Proteína Bruta (%)	17,10	17,10	17,10	17,10	17,10	17,10	17,10
Cálcio (%)	0,773	0,773	0,773	0,773	0,773	0,773	0,773
Fósforo Disponível (%)	0,382	0,382	0,382	0,382	0,382	0,382	0,382
Sódio (%)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Potássio (%)	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467
Cloro (%)	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190	0,190
Lisina Digestível (%)	1,081	1,081	1,081	1,081	1,081	1,081	1,081
Met + Cist Digestível (%)	0,520	0,580	0,640	0,700	0,580	0,640	0,700
Metionina Digestível (%)	0,260	0,290	0,320	0,350	0,320	0,380	0,440
Cistina Digestível (%)	0,260	0,290	0,320	0,350	0,260	0,260	0,260
Treonina Digestível (%)	0,681	0,681	0,681	0,681	0,681	0,681	0,681
Triptofano Digestível (%)	0,195	0,195	0,195	0,195	0,195	0,195	0,195
Arginina Digestível (%)	1,055	1,055	1,055	1,055	1,055	1,055	1,055
Valina Digestível (%)	0,746	0,746	0,746	0,746	0,746	0,746	0,746
Leucina Digestível (%)	1,384	1,384	1,384	1,384	1,384	1,384	1,384
Isoleucina Digestível (%)	0,634	0,634	0,634	0,634	0,634	0,634	0,634
Histidina Digestível (%)	0,433	0,433	0,433	0,433	0,433	0,433	0,433
Fenilalanina Digestível (%)	0,770	0,770	0,770	0,770	0,770	0,770	0,770
Met:Cis digestível (%)	50,00	50,00	50,00	50,00	55,17	59,38	62,86
Met+Cis:Lisina dig. (%)	48,10	53,65	59,20	64,75	53,65	59,20	64,75
BED (mEq/kg)	152,80	152,80	152,80	152,80	152,80	152,80	152,80

¹Suplemento vitamínico e mineral para suínos na fase inicial (Conteúdo/kg: Vit. A – 1800000.00 UI; Vit. D3 – 360000.00 UI; Vit. E – 4000.00 mg; Vit. K3 – 600.00 mg; Vit. B1 – 280.00 mg; Vit. B2 – 800.00 mg; Vit. B6 – 300.00 mg; Vit. B12 – 3600.00 mcg; Ácido pantotênico - 3200.00 mg; Niacina – 6000.00 mg; Ácido fólico 80.00 mg; Biotina - 20.00 mg; Colina – 31.20g; Cobre – 50.00 g; Ferro – 20.00 g; Manganês – 11.00g; Cobalto – 120.00mg; Iodo – 200.00mg; Zinco- 18.00g; Selênio – 60.00mg; Lisina- 140.4 g); ² BHT; ³ Tylosina.

Os tubos contendo EDTA também foram utilizados para a determinação dos hematócritos, sendo posteriormente homogeneizado e o sangue transferido para microcapilares (75mm). Os microcapilares foram submetidos a centrifugação (10.000 rpm) por 5 minutos, e em seguida foi determinada a concentração de hematócritos (Gomes et al., 2006).

As mensurações da espessura de toucinho (ET) e profundidade de músculo (PM) foram realizadas ao final do experimento, em que foram utilizados um conjunto de equipamentos constituídos de uma ecocamera (Aloka® SSD-500 Vet) e uma probe de 11,5 cm e 3,5 MHz. As medidas foram realizadas na região P2, entre a última e penúltima costela torácica, a 4 cm da linha média, sendo a região previamente depilada no sentido crânio-caudal e dorso-ventral, conforme descrito por Dutra Jr. et al. (2001). Posteriormente, as mensurações foram realizadas por meio do *software* Image Pro Plus®.

A coleta de pelos, para determinação do estiramento S-S (pontes dissulfeto), foi realizada manualmente. As cerdas foram acondicionadas em eppendorfs devidamente identificados e mantidas em temperatura ambiente até o momento da análise, quando foram lavadas com água destiladas e secas em temperatura ambiente por 24 horas.

Os espectros do Raman foram coletados a temperatura ambiente de 19°C, em uma geometria de espalhamento por meio do microscópio confocal SENTERRA Bruker Raman (Bruker Optik GmbH, Ettingen, Alemanha). Os espectros foram excitados por uma fonte de laser 785 nm e registrados na faixa espectral de 440 e 1.800 cm^{-1} . A potência do laser foi de 50 mW e focado na amostra através de um microscópio óptico com lente objetiva de 20x (0,75 NA). Os dados espectrais obtidos foram processados com o software OPUS®.

A resolução espacial foi de 3 a 5 cm^{-1} , o tempo de integração do detector foi de 3 segundos, e cada curva final resultou da média de 100 espectros. Além disso, para melhorar a qualidade do sinal, a temperatura do detector foi diminuída para -90,15 °C. Todos os espectros foram recolhidos sob as mesmas condições e a área central mais plana da superfície (em que as escamas apareciam melhor) do pelo foi selecionada e fotografada para assegurar que as medições seguintes fossem repetidas no mesmo local.

A estatística do pelo foi realizada através da normalização dos espectros, utilizando como referência o pico de fenilalanina (1004 cm^{-1}) e corrigida com linha de

base via *software*, as medidas da área dos espectros foram obtidas pela largura da banda de 550 a 480 cm^{-1} .

Para análise estatística foram testados quatro modelos que avaliaram a existência de coeficientes lineares e quadráticos de regressão, comuns ou específicos, para os tratamentos que mantiveram a relação de met+cis dig de 50% ou não nas rações experimentais.

Assim, o modelo completo descrito abaixo (M1) considerou coeficientes lineares e quadráticos de regressão específicos para a manutenção ou não da relação de 50% entre a metionina e a cistina digestíveis. O modelo 2 estimou um único coeficiente linear de regressão e coeficientes quadráticos específicos para cada forma de suplementação. No modelo 3, os coeficientes lineares foram específicos e o coeficiente quadrático único. Por fim, no modelo 4, foram estimados coeficientes lineares e quadráticos de regressão única para ambas as formas de suplementação.

Utilizou-se o teste de verossimilhança para determinar o modelo de melhor ajustamento. O modelo estatístico utilizado para as análises das variáveis de desempenho, parâmetros bioquímicos do sangue, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho, níveis séricos de homocisteína e pontes dissulfeto nos pelos foi o seguinte:

$$Y = \mu + T_i + BL_j + b_1(PI_k) + b_2(\text{met}_{1l}) + b_3(\text{met}_{1l})^2 + b_4(\text{met}_{2m}) + b_5(\text{met}_{2m})^2 + e_{ijklm}$$

Em que:

Y = variáveis de desempenho, parâmetros bioquímicos do sangue, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho, níveis séricos de homocisteína e pontes dissulfeto nos pelos, referentes ao nível de met+cis dig i no bloco j ;

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento i , sendo $i = 0,520; 0,580; 0,640; 0,700$;

BL_j = efeito do bloco j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5$;

b_1 = covariável peso inicial;

b_2 = coeficiente de regressão linear em função dos níveis de met+cis dig, mantendo a relação met:cis, sendo $l = 1:1$ (50%);

b_3 = coeficiente de regressão quadrática em função dos níveis de met+cis dig, mantendo a relação met:cis, sendo $l = 1:1$ (50%);

b_4 = coeficiente de regressão linear em função dos níveis de met+cis dig, em diferentes relações met:cis, sendo $m = 50,00; 55,17; 59,38$ e $62,86\%$.

b_5 = coeficiente de regressão quadrática em função dos níveis de met+cis dig, em diferentes relações met:cis, sendo $m = 50,00; 55,17; 59,38$ e $62,86\%$.

Eijklm = erro aleatório associado a cada observação.

Os dados foram submetidos às análises estatísticas, utilizando o Statistical Analysis System – SAS e o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 2000). Para avaliação do desempenho e características de carcaça, o peso inicial dos suínos foi utilizado como covariável.

Os graus de liberdade referentes aos níveis de met+cis dig foram desdobrados em polinômios. A estimativa do melhor nível de met+cis dig foi feita com base nos resultados de desempenho, parâmetros sanguíneos, características de carcaça e níveis séricos de homocisteína, utilizando o modelo descontínuo Linear Response Plateau.

Resultados e Discussão

Os níveis de met+cis dig não influenciaram (Tabela 5) o consumo diário de ração (CDR), ganho de peso diário (GPD) e conversão alimentar (CA). O peso final aumentou linearmente ($P=0,017$) quando a relação metionina:cistina foi mantida em 1:1, mas apresentou um baixo coeficiente de determinação para ajuste do modelo de primeiro grau ($R^2=0,11$).

Estes resultados no desempenho podem estar relacionados ao fato de aproximadamente 70% da cistina dietética ser metabolizada no intestino, não chegando a corrente sanguínea, limitando a utilização metabólica deste aminoácido decorrente da dieta (Stoll & Burrin, 2006). Além disso, a cisteína presente em proteínas dietéticas pode ser sintetizada a partir do metabolismo da metionina, através da via de transulfuração, que é um processo irreversível (Stipanuk, 2004) e ocorre no fígado (Rezaei et al., 2013).

Tabela 5 – Desempenho, profundidade do músculo *longissimus dorsi*, espessura de toucinho e comprimento de onda da área entre bandas dos estiramentos S-S dos pelos (Raman), para fêmeas suínas, dos 15 aos 30 kg, recebendo rações com diferentes níveis de metionina (Met) e de cistina (Cis) digestíveis (dig)

Met + Cis dig (%)	0,52	0,58	0,64	0,70	P-valor		0,58	0,64	0,70	P-valor		Erro padrão (%)
	0,26	0,29	0,32	0,35	1º grau	2º grau	0,32	0,38	0,44	1º grau	2º grau	
Met dig (%)	0,26	0,29	0,32	0,35	-	-	0,32	0,38	0,44	-	-	
Cis dig (%)	0,26	0,29	0,32	0,35	-	-	0,26	0,26	0,26	-	-	
Peso Inicial (kg)	15,03	15,18	15,10	14,98	-	-	15,25	15,44	15,38	-	-	0,077
Peso Final (kg)	29,82	31,64	31,91	32,19	0,017 ⁹	-	30,65	33,70	31,68	-	0,004 ¹⁰	0,322
CDR (g) ¹	1119	1168	1120	1122	-	-	1141	1199	1116	-	-	12,896
CDmet+cis (g) ²	5,82	6,78	7,17	7,86	-	0,005 ¹¹	6,62	7,67	7,82	-	0,059 ¹²	0,116
CDmet (g) ³	2,91	3,39	3,58	3,93	-	0,013 ¹³	3,65	4,56	4,91	-	0,039 ¹⁴	0,089
CDcis (g) ⁴	2,91	3,39	3,58	3,93	-	0,001 ¹⁵	2,97	3,12	2,90	-	-	0,057
GPD (g) ⁵	545	603	574	588	-	-	559	622	567	-	-	6,983
CA ⁶	2,06	1,94	1,95	1,91	-	-	2,04	1,93	1,98	-	-	0,013
PM (cm) ⁷	2,64	2,63	2,58	2,64	-	-	2,50	2,76	2,86	0,005 ¹⁶	-	0,026
ET (cm) ⁸	0,51	0,50	0,52	0,51	-	-	0,51	0,46	0,49	-	-	0,009
Raman	45,18	49,38	48,50	44,07	-	-	47,09	46,37	42,81	-	-	0,650

¹CDR - consumo diário de ração; ²CD_{met+cis} - consumo diário de metionina e de cistina; ³CD_{met} - consumo diário de metionina; ⁴CD_{cis} - consumo diário de cistina; ⁵GPD - ganho de peso diário; ⁶CA - conversão alimentar; ⁷PM - profundidade do músculo *Longissimus dorsi*; ⁸ET - espessura de toucinho; ⁹Y = 23,8786 + 12,3130X (R²=0,11); ¹⁰Y = 12,6367 + 32,333X (R²= 0,90); ¹¹Y = 0,0650 + 11,250X (R²=0,94); ¹²Y = -2,2383 + 15,417X (R²=0,99); ¹³Y = 0,147896 + 5,4164X (R²=0,57); ¹⁴Y = -3,01847 + 11,5175 X (R²=0,79); ¹⁵Y = 0,147896 + 5,4164X (R²=0,57); ¹⁶Y = 1,74753 + 1,54667X (R²= 0,20).

Quando a relação entre os aminoácidos sulfurados não foi mantida, ou seja, quando apenas a metionina sintética foi suplementada nas rações experimentais, obteve-se resposta significativa ($P=0,004$) para o peso final (Tabela 5) em que o melhor nível de met+cis dig foi estimado em 0,589% (Figura 5).

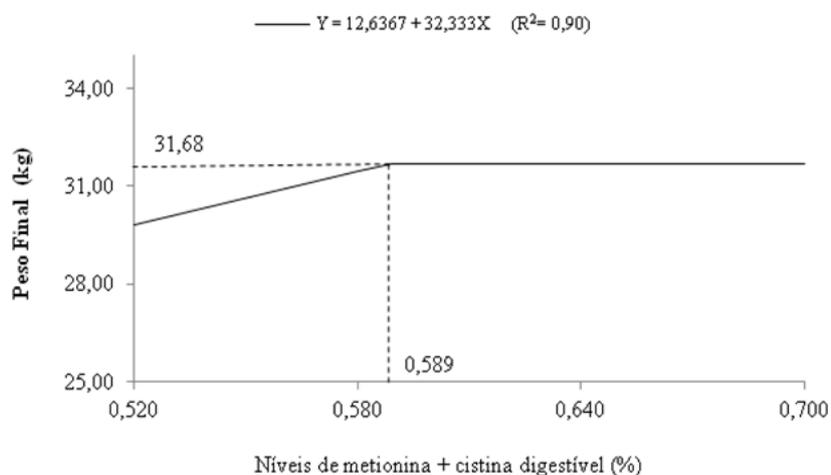


Figura 5. Peso final em função de níveis de metionina+cistina digestíveis, com diferentes relações metionina:cistina, para fêmeas suínas dos 15 aos 30kg.

De acordo com Van de Poll, Dejong e Soeters (2006) a metionina é o único aminoácido sulfurado que pode fornecer enxofre para a síntese de cisteína (forma oxidada da cistina). Essa síntese ocorre através da via de transulfuração, que é um processo irreversível (Stipanuk, 2004) e, desta forma, a metionina pode satisfazer a necessidade de metionina e de cisteína (Lewis et al., 2003).

O consumo diário de metionina+cistina ($CD_{met+cis}$) aumentou (Tabela 5) em função dos níveis de met+cis dig quando a relação entre os aminoácidos sulfurados nas rações foi mantida ($P=0,005$) ou não ($P=0,059$).

Quando a relação entre a metionina e a cistina foi mantida em 1:1 foi observado maior $CD_{met+cis}$ para o nível de 0,693% de met+cis dig e, quando a referida relação não foi mantida, foi obtido um platô ao nível de 0,652% de met+cis dig (Figura 6).

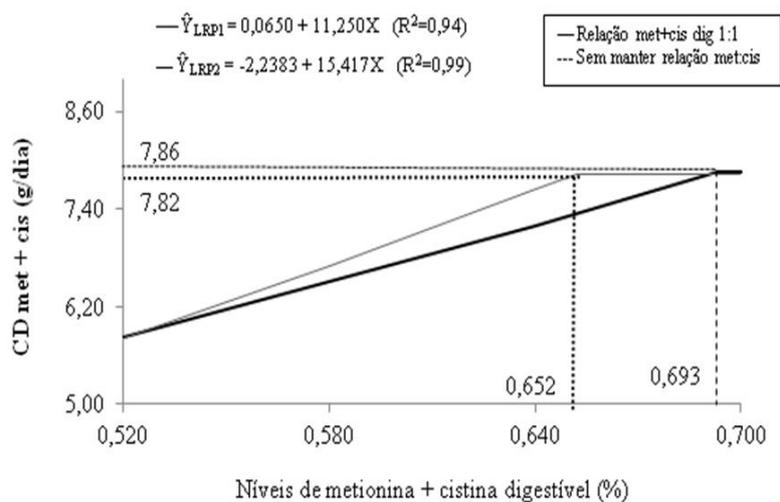


Figura 6. Consumo diário de metionina+cistina digestível ($CD_{met+cis}$) em função de níveis de metionina+cistina digestível, mantendo as relações met:cis de 50% ou não, para fêmeas suínas dos 15 aos 30kg.

Os resultados obtidos para o $CD_{met+cis}$ já eram esperados, pois os tratamentos consistiram de níveis crescentes de met+cis dig, mesmo que o consumo diário de ração não tenha sido influenciado pelos níveis de met+cis dig (Tabela 5). Desta forma, os animais submetidos aos tratamentos contendo níveis crescentes de met+cis, independentemente das relações metionina:cistina, apresentaram aumento no $CD_{met+cis}$.

A PM aumentou linearmente ($P= 0,005$) em função dos níveis de met+cis dig quando a relação entre a metionina e a cistina não foi mantida em 1:1. Este resultado pode estar associado ao fato da metionina ser um aminoácido essencial utilizado na síntese proteica (Frantz et al., 2009), e também pode justificar a ausência de resposta significativa para este parâmetro quando a relação entre a metionina e a cistina foi mantida.

Ly et al. (2012) observaram que a deposição de proteína aumentou nos animais que receberam dietas suplementadas com DL-metionina em relação àqueles que receberam a dieta controle. Resultado semelhante em relação à deposição de proteína foi encontrado por Vaz et al. (2005), que observaram aumento na deposição de proteína na carcaça de suínos, machos castrados dos 15 aos 30kg, ao avaliarem níveis crescentes de metionina+cistina.

O aumento na PM (Tabela 5) pode estar relacionado a maior capacidade de deposição de carne magra das fêmeas em relação aos machos castrados. Essas diferenças podem estar relacionadas, principalmente, com a ausência da testosterona nos machos e a presença de estrogênios nas fêmeas (Vieira et al., 2004).

A espessura de toucinho (ET) não foi influenciada pelos níveis de met+cis dig, independentemente das relações metionina:cistina avaliadas (Tabela 5). No mesmo sentido, Ly et al. (2012) não observaram redução da deposição de gordura na carcaça em função do aumento dos níveis de metionina nas dietas.

Não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de met+cis dig sobre o comprimento de onda da área entre bandas, referente ao estiramento S-S dos pelos dos animais (Tabela 5). Este resultado demonstra que tanto o uso de metionina quanto de cistina, nas rações experimentais, não influenciaram as pontes dissulfeto no pelo dos suínos, que são ligações características da cistina observadas no espectro (Figura 7).

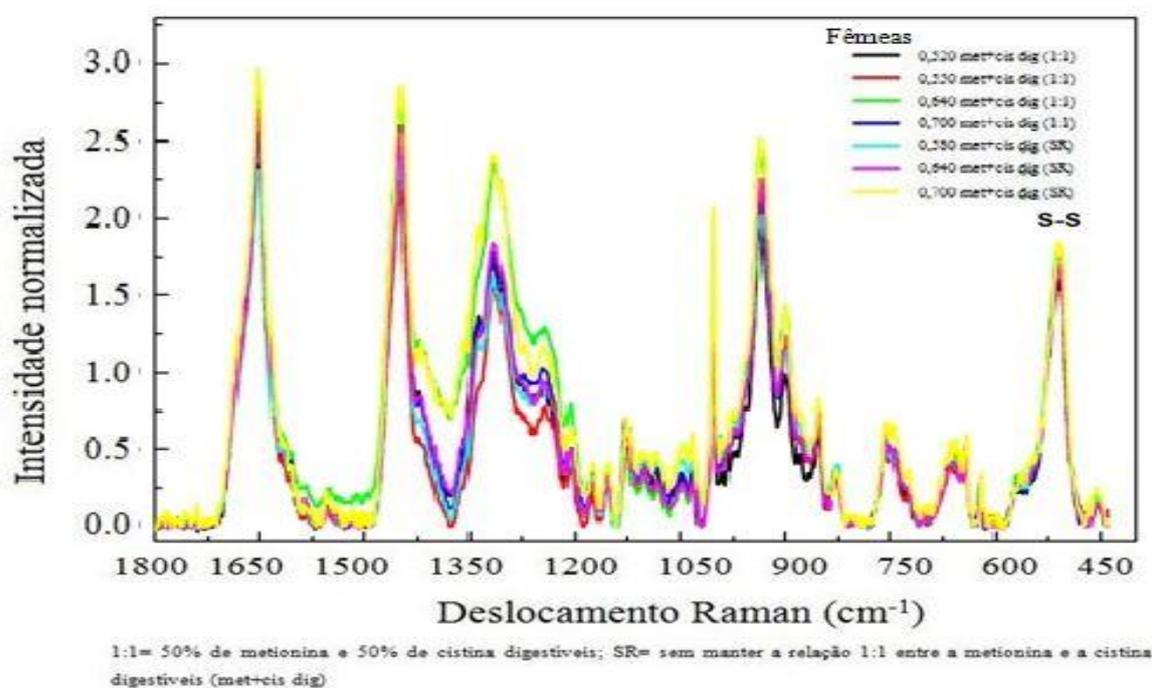


Figura 7. Espectros obtidos para o estiramento das pontes dissulfeto (S-S) nos pelos de fêmeas suínas através do microscópio confocal Senterra Bruker Raman.

Ainda assim, Velasco et al. (2009) explicam que as células da cutícula da fibra capilar possuem várias camadas que apresentam diferentes concentrações de cistina. Na camada A, pode ser encontrada mais de 30%, a camada B possui aproximadamente 15% e a endocutícula apresenta em torno de 3%.

Os níveis plasmáticos de ureia, triglicerídeos, proteínas totais, creatinina e colesterol total não foram influenciados ($P>0,05$), assim como a homocisteína e a concentração de hematócritos (Tabela 6).

Tabela 6 – Parâmetros bioquímicos do sangue de fêmeas suínas, dos 15 aos 30 kg, recebendo rações com diferentes níveis de metionina (Met) e de cistina (Cis) digestíveis (dig)

Met + Cis. dig (%)	0,52	0,58	0,64	0,70	P-valor		0,58	0,64	0,70	P-valor		Erro padrão (%)
Met dig (%)	0,26	0,29	0,32	0,35			0,32	0,38	0,44			
Cis dig (%)	0,26	0,29	0,32	0,35	1º grau	2º grau	0,26	0,26	0,26	1º grau	2º grau	
Ureia (mg/dL)	24,00	23,10	26,70	23,20	-	-	24,30	24,50	21,75	-	-	0,611
Triglicerídeos (mg/dL)	56,40	41,62	45,20	49,70	-	-	53,80	47,10	54,62	-	-	1,684
Proteínas Totais (g/dL)	5,81	6,07	6,30	6,14	-	-	6,29	5,84	5,94	-	-	0,045
Creatinina (mg/dL)	1,200	1,200	1,050	1,150	-	-	1,100	1,100	1,050	-	-	0,024
Hematócritos (%)	38,10	37,20	38,50	37,50	-	-	36,10	37,10	38,80	-	-	0,357
Glicose (mg/dL)	85,60	79,10	81,50	77,00		0,037 ²	74,50	84,50	76,75		0,020 ³	0,961
Homocisteína (µmol/L)	45,75	50,8	52,38	64,81	-	-	57,09	63,52	63,85	-	-	3,209
Colesterol (mg/dL)	68,90	66,50	67,70	66,00	-	-	66,30	61,25	62,50	-	-	0,754
HDL (mg/dL) ¹	22,40	23,40	24,70	29,90	0,001 ⁴	-	24,70	25,80	26,80	-	-	0,507

¹ HDL - High density lipoprotein ; ² Y= 141,9308 - 108,3287X (R2=0,62); ³ Y= 181,7973 - 184,9951X (R2= 0,66); ⁴ Y = 7,780 + 32,692X (R2=0,56).

A glicose plasmática foi influenciada ($P < 0,05$) pelos níveis de met+cis dig, de modo que a menor concentração (79,25mg/dL), quando a relação entre os aminoácidos sulfurados foi mantida (1:1), foi observada ao nível de 0,579% de met+cis dig.

Quando a relação met:cis não foi mantida, a menor concentração de glicose plasmática (80,63 mg/dL) foi observada para o nível de 0,547% de met+cis dig (Figura 8).

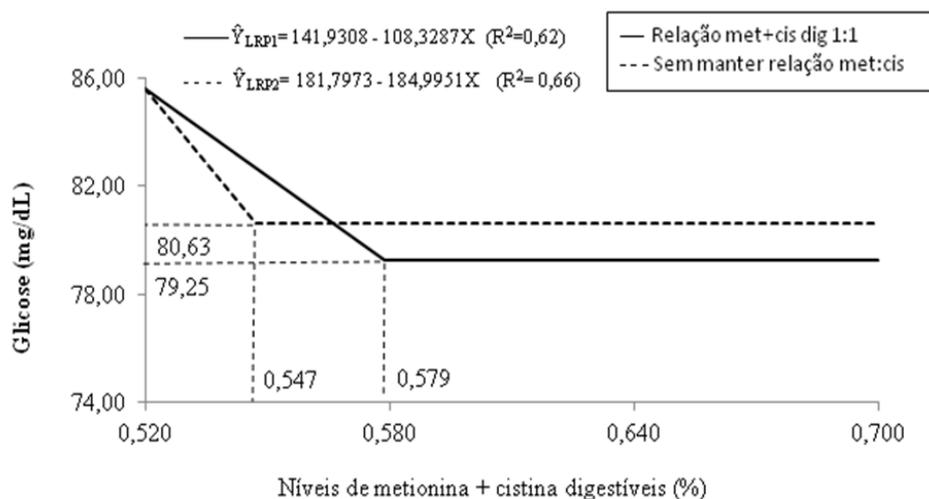


Figura 8. Glicose plasmática em função de níveis de metionina+cistina digestíveis, mantendo as relações met+cis dig 1:1 ou não, para fêmeas suínas dos 15 aos 30kg.

A mensuração da glicose plasmática representa grande importância para a determinação das exigências de met+cis, uma vez que a metionina é classificada por Nelson & Cox (2011) como um aminoácido glicogênico, pois, após sua deaminação é gerado o α -cetoácido succinil-CoA, que será convertido a piruvato. Em seguida, o piruvato será empregado no ciclo do ácido cítrico, gerando energia, ou poderá ser empregado na via da gliconeogênese, recuperando moléculas de glicose, que pode alterar as taxas glicêmicas.

A concentração de homocisteína sérica também não foi influenciada pelos níveis de met+cis dig (Tabela 6). De acordo com Brosnan & Brosnan (2006), níveis dietéticos de metionina podem elevar a concentração plasmática de homocisteína, uma vez que enzimas transferases e hidrolases convertem metionina em homocisteína.

Ainda assim, a enzima cistationina beta-sintase se encarrega de gerar cistationina a partir da homocisteína, reduzindo a concentração deste último composto no organismo, em situações de homeostase bioquímica.

Além disso, Fonseca et al. (2000) demonstraram que ratos insulinoresistentes, submetidos a dietas com alta sacarose, apresentaram redução na atividade da cistationa beta-

sintase, seguida de hiperhomocisteinemia, mesmo havendo elevação compensatória na atividade da 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase.

Ao manter a proporção entre os aminoácidos sulfurados (1:1) observou-se aumento ($P=0,001$) na concentração de colesterol HDL (Tabela 6). Resultado contrário foi obtido por França et al. (2006), em que a maior concentração de colesterol HDL foi observada em suínos que receberam dieta com maior nível de metionina+cistina. No entanto, os autores avaliaram uma dieta com nível de metionina+cistina expressivamente maior (3,46%) em relação aos níveis avaliados no presente trabalho.

Níveis elevados de homocisteína podem estar associados a redução na concentração de HDL plasmático (Mikael, Genest e Rozen, 2006) e esse efeito pode estar relacionado a redução da apolipoproteína A1, que constitui a maior fração do colesterol HDL. Embora os níveis de met+cis dig avaliados (0,52 a 0,70%) não tenham influenciado as concentrações plasmáticas de colesterol HDL, os níveis de homocisteína variaram de 45,75 a 64,81 $\mu\text{mol/L}$, ainda que não significativos. Dessa forma, é possível que níveis de metionina+cistina superiores a 0,70%, em dietas para suínos na fase inicial, possam elevar as concentrações de homocisteína plasmática, bem como reduzir o colesterol HDL.

O melhor peso final dos animais foi obtido para o nível de 0,589% de metionina+cistina, que corresponde a relação metionina:cistina de 55,86%. No entanto, a concentração dietética mínima de 0,700% de met+cis dig, sem manter a relação 1:1 entre estes aminoácidos, é necessária para garantir melhor profundidade do músculo *longissimus dorsi* em fêmeas suínas. Rostagno et al. (2011) propuseram uma exigência de 0,605% de met+cis dig para fêmeas suínas (15 aos 30 kg) de desempenho superior. Já o NRC (2012) propõe, para suínos dos 11 aos 25 kg de peso vivo, a exigência de 0,680% de met+cis dig para ambos os sexos.

Conclusões

O nível de 0,589% de metionina+cistina digestível proporciona melhor peso ao final da fase inicial e um mínimo de 0,700% é necessário para maior profundidade do músculo *longissimus dorsi* em fêmeas suínas dos 15 aos 30 kg, correspondendo ao consumo diário de 6,83 e 7,81g, respectivamente, sem a necessidade de manter as mesmas proporções entre os aminoácidos sulfurados na dieta.

Referências

- BAKER, D.H. Comparative Species Utilization and Toxicity of Sulfur Amino Acids. **The Journal of Nutrition**, 136:1670–1675, 2006.
- BROSNAN, J.T. & BROSNAN, M.E. The Sulfur-Containing Amino Acids: An Overview. **Journal of Nutrition**, 136:1636–1640, 2006.
- DEMUTH, K. et al. Evaluation of advia centaur automated chemiluminescence immunoassay for determining total homocysteine in plasma. **Clinica Chimica Acta**, 349(1-2): 113-20, 2004.
- DUTRA JR, W. et al. Predição de características quantitativas de carcaças de suínos pela técnica de ultra sonografia em tempo real. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, 30(4):1251-1257, 2001.
- FONSECA, V. et al. Effects of a high-fat-sucrose diet on enzymes in homocysteine metabolism in the rat. **Metabolism** 49:736 –741, 2000.
- FRANÇA, L.H.G. et al. Aterogênese em artéria ilíaca comum de suínos submetidos à homocisteinemia induzida pela ingestão de metionina. **Jornal Vascular Brasileiro**, 5(1):11-16,2006.
- FRANTZ, N.Z. et al. The optimal standardized ileal digestible lysine and total sulfúrico amino acid requirement for finishing pigs fed ractopamine hydrochloride. **The professional animal scientist**, 25: 161-168, 2009.
- GOMES, K. R. et al. Avaliação de hematócrito e proteína plasmática de sangue hemodiluído. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, 3:1-5, 2006.
- KALINOWSKI, A.; MORAN, JR. E.T.; WYATT, C. Methionine and cysteine requirements of slow and fast feathering male broilers from three to six weeks of age. **Poultry Science**, 82:1428-1437, 2003.
- LEWIS, A. J. Methionine-cystine relationships in pig nutrition. In: **Amino Acids in Animal Nutrition**, 2nd edn. (Ed. J. P. F. D'Mello) vol. 8, CAB International, Wallingford, UK pp. 143-155. 2003.
- LY, N.T.H. et al. Pig performance increases with the addition of DL-methionine and L-lysine to ensiled cassava leaf protein diets. **Tropical animal health production**, 44: 165-172, 2012.
- MIKAEL, L.G., GENEST, J. JR.; ROZEN, R.. Elevated homocysteine reduces apolipoprotein A-I expression in hyperhomocysteinemic mice and in males with coronary artery disease. **Circulation Research**, 98(4):564–571, 2006.
- MONGIN, P. Role of sodium, potassium and chloride in eggshell quality. In: NUTRITION CONFERENCE OF FLORIDA, Florida, 1980. **Proceedings...** Florida:114-117, 1980.

- MORENO, A.M.; SOBESTYANKY, J.; LOPEZ, A.C. et al. Colheita e processamento de **amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 41):30, 1997.
- NELSON, D.L. & COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. São Paulo: SARVIER, 5Ed., 2011, 1274p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirements of swine**. XEd, Washington, D.C.: National Academic of Science, 2012.
- REZAEI, R. et al. Biochemical and physiological bases for utilization of dietary amino acids by young pigs. **Journal of animal Science and biotechnology**, 4:7, 2013.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos; composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.Ed. Viçosa, MG: UFV, 2011.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM – SAS Institute Inc, SAS 9.1.3 2002-2004. **Help and Documentation**, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- STIPANUK, M.H. Sulfur amino acid metabolism: Pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. **Annual Review of Nutrition**, 24:539-577, 2004.
- STOLL, B. and BURRIN, D.G. Measuring splanchnic amino acid metabolism *in vivo* using stable isotopic tracers. **Journal of Animal Science**, 84:60-72, 2006. Supplement
- SHOVELLER, A.K. et al. Dietary Cysteine Reduces the Methionine Requirement by an Equal Proportion in Both Parenterally and Enterally Fed Piglets. **The Journal of Nutrition**, 133:4215-4224, 2003.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **Sistema para análise estatística e genética - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000, 142p.
- VAN DE POLL, M.C.G.; DEJONG, C.H.C.; SOETERS, P.B. Adequate Range for Sulfur-Containing Amino Acids and Biomarkers for Their Excess: Lessons from Enteral and Parenteral Nutrition. **The Journal of Nutrition**, 136: 1694S–1700, 2006. Supplement
- VAZ, R.G.M.V. et al. Exigência de aminoácidos sulfurados digestíveis para suínos machos castrados mantidos em ambiente termoneutro dos 15 aos 30kg. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 57(3):345-352, 2005.
- VELASCO, M.V.R. et al. Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 45(1): 153-162, 2009
- VIEIRA, A.A. et al. Qualidade da carcaça de suínos machos e fêmeas, abatidos em diferentes pesos, alimentados com dieta contendo dois níveis de energia líquida, sob restrição alimentar na fase de terminação. **Revista Universidade Rural**, Seropédica, RJ, 24(1):155-160, 2004.

V – CONSIDERAÇÕES FINAIS

As exigências de metionina+cistina digestíveis para suínos, machos castrados e fêmeas, na fase inicial (15 aos 30kg) obtidas no presente estudo estiveram próximas às propostas pela literatura contemporânea.

Embora as relações metionina:cistina obtidas nos trabalhos que compõem a presente pesquisa tenham sido distintas, para machos e fêmeas, as relações metionina:cistina nas principais tabelas de exigências para suínos, nacionais e internacionais, apresentam também considerável diferença.

Assim, as exigências de metionina+cistina digestíveis para suínos, machos castrados e fêmeas, dos 15 aos 30kg, foram de 0,661 e 0,700%; respectivamente, sem a necessidade de manter as mesmas proporções entre os aminoácidos sulfurados na dieta.