



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
CURSO DE ZOOTECNIA

ALINI MARI VEIRA

**RESPOSTA INDIVIDUAL DE SUÍNOS A NÍVEIS CRESCENTES DE VALINA
E ISOLEUCINA**

FORTALEZA

2014

ALINI MARI VEIRA

**RESPOSTA INDIVIDUAL DE SUÍNOS A NÍVEIS CRESCENTES DE VALINA
E ISOLEUCINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe.

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

V713r Vieira, Alini Mari
 Resposta individual de suínos a níveis crescentes de valina e isoleucina / Alini Mari Vieira. –
 2014.
 31 f. : il., color. , enc. ; 30 cm.

 Relatório (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,
 Departamento de Zootecnia, Curso de Zootecnia, Fortaleza, 2014.
 Orientação: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe.
 Coorientação: Prof. Dr. Luciano Hauschild.

 1. Suíno – Alimentação e rações. 2. Nutrição animal. 3. Aminoácidos na nutrição animal. 4.
 Zootecnia. I. Título.

CDD 636.08

ALINI MARI VEIRA

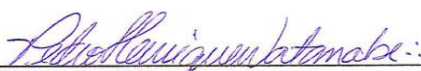
**RESPOSTA INDIVIDUAL DE SUÍNOS A NÍVEIS CRESCENTES DE VALINA
E ISOLEUCINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe.

Aprovado em: 12/11/2014

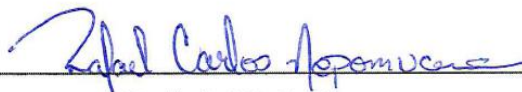
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe



Prof. Dr. Luiz Euquerio de Carvalho



Dr. Rafael Carlos Nepomuceno

A Deus. Por sempre me colocar no caminho certo e por realizar obras maravilhosas em minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me colocar no caminho certo, realizando obras maravilhosas em minha vida, me aproximando de pessoas incríveis e me dando forças para superar os momentos difíceis.

A minha família, por todo apoio e dedicação. Em especial, a minha amada mãe, Emília, por toda dedicação, amor, amizade e por me fazer sentir bem diante de qualquer situação, sempre me apoiando em minhas escolhas, perante todas as dificuldades. Uma vida é pouco para poder te agradecer, mãe.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe, por todos os ensinamentos, pela confiança em meu trabalho, por despertar em mim a vocação para pesquisa, por ser um exemplo de profissional e ser humano, sempre disposto a ajudar, não despertando o sentimento de medo em seus orientandos, mas o sentimento de nunca querer decepcioná-lo. Você tem minha eterna gratidão e admiração, professor.

Aos meus amados amigos, por serem verdadeiros anjos em minha vida, fazendo-a mais feliz e divertida. Aos que me acompanharam durante a graduação, dividindo momentos bons e ruins, Ana Rosa, Heitor, Anderson, Lucas Barbosa, Raquel, Bárbara, Lucas Lima. Aos amigos que o tempo não afastou, que tenho muito orgulho em tê-los sempre comigo, Daiana, Taynan, Fernanda, Carlos, Lucas Freitas, Jarbas, Mauricio. Vocês são a melhor parte de mim.

Aos pós-graduandos que pude conviver e que muito me ensinaram durante a graduação, aos que são meus irmãos de orientação e, também, aos que são de outras áreas de estudo. Em especial, Rafael e Manu, por terem sido os melhores “chefes” que eu poderia ter, compartilhando seus conhecimentos, me incentivando a permanecer na pesquisa e construindo uma amizade que espero sempre carregar. A Kassia, por todos os ensinamentos e por despertar em mim um grande amor pela suinocultura.

A Universidade Federal do Ceará, em especial, ao departamento de zootecnia por toda a estrutura e oportunidades.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, pela oportunidade de estágio.

Ao Prof. Dr. Luiz Euquerio de Carvalho, pela oportunidade de pertencer ao setor de suinocultura, por todos os ensinamentos na área, pela amizade e pelo seu bom-humor contagiante.

Ao Prof. Dr. Luciano Hauschild, por ter me recebido e orientado durante o estágio de conclusão de curso, pela confiança depositada em mim para condução de um experimento e desenvolvimento de metodologias de trabalho, pelo exemplo de profissional e ser humano.

A todos os professores do departamento de zootecnia, por se dedicarem a passar seus conhecimentos para formação de novos zootecnistas. Em especial, Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas, Profa. MSc. Maria Elizimar Felizardo Guerreiro, Profa. Dra. Maria Socorro de Souza Carneiro, Profa. Dra. Andréa Pereira Pinto, Profa. Dra. Sônia Maria Pinheiro de Oliveira.

Aos integrantes do Laboratório de Modelagem e Exigências Nutricionais de Suínos da UNESP, Dani, Tarcísio, Ines, Renan, Aline, Jaqueline, Marcos, Leury, Daniela, Gabriel, Natália, Gustavo, por toda ajuda no experimento e por terem me recebido muito bem no grupo.

As meninas que foram minha família nesses meses longe de casa, Melanie, Franciely, Monique, Camila e Anny. Aos amigos que fiz em Jaboticabal.

Aos funcionários, Marcos e Jamilton do setor de suinocultura da UFC, Clécio da secretaria, Helena do Laboratório de Nutrição Animal e Wilson e José do setor de suinocultura da UNESP.

A funcionária do Laboratório de Nutrição Animal, Roseane Maria, por todos os ensinamentos, pelos longos dias de trabalho que compartilhamos, por suas orações, apoio e amizade.

Aos meus colegas de turma, de curso e do setor de suinocultura, por tudo que passamos juntos.

Ao Núcleo de Ensino e Estudos em Suinocultura, NESUI-UFC, por ter contribuído para minha formação pessoal e profissional.

A Empresa Júnior de Consultoria e Assessoria Zootecnica da UFC, Emzootec Jr, por todas as oportunidades, conhecimentos que obtive e momentos incríveis que dividi com esse grupo.

Ao Laboratório de Nutrição Animal, LANA-UFC.

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, PIBIC-UFC.

Aos animais, por toda sua inocência e pureza. Devido aos mesmos pude conhecer a zootecnia.

A todos que fizeram parte da minha graduação e deste trabalho e contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

“As pessoas têm medo das mudanças. Eu tenho medo que as coisas nunca mudem. Eu digo que tenho medo das pessoas que não mudam nem permitem a mudança alheia. Tenho medo da estagnação, da mediocridade. Eu quero sempre mais. Quero mudança. Quero criar asas. Quero poder viver minha felicidade nada clandestina.” (Chico Buarque)

RESUMO

A constante busca por um entendimento cada vez maior da exigência nutricional dos suínos permitiu inúmeros avanços na determinação da exigência nutricional e na formulação de dietas que atendam precisamente as necessidades dos animais, reduzindo os custos para o produtor, aumentando a porcentagem de carne magra e causando menores danos ao meio ambiente. O melhor conhecimento das exigências nutricionais individuais permite uma nutrição mais precisa, possibilitando ao nutricionista uma formulação com menor teor de proteína bruta e maior quantidade de aminoácidos industriais. No entanto, a despeito do conhecimento sobre alguns aminoácidos, como lisina e metionina, pouco se sabe a respeito da exigência individual de valina e isoleucina para suínos, sendo necessário mais pesquisas com esses aminoácidos. Desta forma, o presente estágio teve como objetivo o acompanhamento de um ensaio dose-resposta com níveis crescentes de valina e isoleucina para suínos em crescimento. O estágio de conclusão de curso foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, localizada na cidade de Jaboticabal, São Paulo, no período de 4 de agosto a 3 de novembro de 2014. Foram desenvolvidas diversas atividades acadêmicas, tais como: revisão de literatura, formulação de rações e acompanhamento de experimentos, tendo como objetivo principal a condução do presente estudo. A determinação da exigência individual de valina e isoleucina para suínos é fundamental para a nutrição de precisão, visto que, dessa maneira, é possível uma redução significativa no teor de proteína bruta das dietas e, como consequência, redução de custos e de elementos potencialmente poluidores. O acompanhamento de um ensaio dose-resposta com níveis crescentes de aminoácidos foi de fundamental importância para o presente trabalho de conclusão de curso. Novas metodologias, técnicas e conceitos foram observadas, proporcionando tamanho crescimento profissional na área de nutrição de monogástricos.

Palavras-chave: aminoácidos de cadeia ramificada, suínos em crescimento, dose-resposta.

ABSTRACT

The constant search of increasing understanding of the nutritional requirements of pigs allowed numerous advances in the determination of nutritional requirements and formulating diets that precisely meet the needs of the animals, reducing costs to the producer, increasing the percentage of lean meat and causing less damage to the environment. A better knowledge of individual nutritional requirements allows a nutrition more precise, allowing the nutritionist a formulation with lower crude protein and higher amounts of industrialist amino acid. However, despite the knowledge of some amino acids such as lysine and methionine, little is known about the individual requirement of valine and isoleucine for pigs, more research is necessary with these amino acids. This way, this stage was aimed at tracking a test dose response with increasing levels of valine and isoleucine for growing pigs. The stage course conclusion was held at the Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", located in Jaboticabal, São Paulo, in the period from August 4 to November 3, 2014. Academic activities were developed such as: literature review, feed formulation and monitoring of experiments, having as main objective the conduct of this study. Determining the individual requirement of valine and isoleucine for pigs is essential for the precision nutrition, since in this way it is possible a significant reduction in potentially polluting crude protein content of the diets and, consequently, reduce costs and potentially polluting elements. Tracking a test dose response with increasing levels of amino acids was crucial for this study course conclusion. New methodologies, techniques and concepts been observed, providing professional growth size in nutrition of monogastric.

Keywords: branched chain amino acids, growing pigs, dose-response.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Imagem 1 - Galpão experimental e gaiolas metabólicas.....	21
Imagem 2 - Misturador tipo “Y”	26
Imagem 3 - Urina coletada em baldes plásticos.....	28
Imagem 4 - Material utilizado para medir o volume de urina diário.....	28
Imagem 5 - Urina homogeneizada para armazenamento em freezer.....	29
Imagem 6 - Material utilizado para coleta de sangue.....	29
Imagem 7 - Coleta de sangue.....	30
Imagem 8 - Centrifugação das amostras para extração do plasma.....	30
Imagem 9 – Pesagem dos animais.....	31
Gráfico 1 - Médias de temperatura acompanhada de máxima e mínima durante o período experimental.....	22
Gráfico 2 - Níveis crescentes de valina e isoleucina de acordo com o período experimental.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição percentual e nutricional das rações experimentais contendo níveis crescentes de valina para suínos na fase de crescimento.....	24
Tabela 2 - Composição percentual e nutricional das rações experimentais contendo níveis crescentes de isoleucina para suínos na fase de crescimento.....	25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
1.1.1. Proteína.....	16
1.1.2. Proteína Bruta.....	16
1.1.3. Proteína Ideal.....	17
1.2. Aminoácidos.....	17
1.2.1. Aminoácidos essenciais.....	18
1.2.2. Aminoácidos não essenciais.....	18
1.2.3. Aminoácidos semiessenciais.....	18
1.2.4. Aminoácido limitante.....	19
1.3. Aminoácidos de cadeia ramificada.....	19
1.4. Ensaio dose-resposta.....	19
1.5. Nitrogênio da ureia do plasma.....	20
2. DESENVOLVIMENTO.....	21
2.1 Local e galpão experimental.....	21
2.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	22
2.3. Dietas experimentais.....	22
2.4. Consumo de ração.....	26
2.4.1. Período de adaptação.....	26
2.4.2. Período experimental.....	26
2.5. Coleta de dados.....	27
2.5.1. Coleta de fezes.....	27
2.5.2. Coleta de urina.....	27
2.5.3. Coleta de sangue.....	29
2.6. Pesagem dos animais.....	30
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
REFERÊNCIAS.....	33

1. INTRODUÇÃO

A constante busca por um entendimento cada vez maior da exigência nutricional dos suínos permitiu inúmeros avanços na determinação da exigência nutricional e na formulação de dietas que atendam precisamente as necessidades dos animais, reduzindo os custos para o produtor, aumentando a porcentagem de carne magra e causando menores danos ao meio ambiente.

O entendimento e aplicação do conhecimento de diversas áreas como do metabolismo proteico, avaliação bromatológica dos ingredientes presentes nas rações e a utilização de aminoácidos industriais possibilitaram grandes melhorias nas dietas, que buscam fornecer a quantidade ideal de nutrientes a fim de que o animal maximize sua resposta, ocorra diminuição de custos de produção e excreção de nutrientes ao meio ambiente. Desta forma, houve inúmeros avanços na área de biotecnologias, permitindo a fabricação de aminoácidos industriais, a fim de fornecer ao animal a quantidade exata do mesmo, diminuindo o teor de proteína bruta das dietas.

No entanto, sabe-se que a resposta individual a ingestão de determinado nutriente varia em cada indivíduo. Em suínos, Bertolo et al. (2005) utilizando a técnica da oxidação de aminoácidos, verificaram que existe uma variabilidade na exigência de lisina entre animais de 9%. Considerando esta variabilidade dentro da população à deposição de proteína no músculo como uma resposta da inclusão destes aminoácidos, é fundamental que as dietas contenham as quantidades necessárias de proteína disponível para manutenção e crescimento. Os avanços nas formulações de rações passaram da utilização do conceito de proteína bruta para proteína ideal seguindo para aminoácidos totais e hoje já é utilizado o conceito de aminoácidos digestíveis na formulação de dietas para suínos.

Os aminoácidos possuem diferentes funções no organismo do animal, sendo que alguns são exigidos em maiores quantidades para manutenção e sistema imune, enquanto outros para síntese de proteína corporal. Embora haja conhecimento a respeito da metabolização e anabolismo proteico de alguns aminoácidos, como a lisina e metionina, a aplicação de outros ainda é pouco esclarecida. Assim, os aminoácidos de cadeia ramificada (valina, isoleucina e leucina) são ligados diretamente com a deposição de proteína no músculo, porém as informações a respeito da exigência individual dos mesmos para suínos são pouco conhecidas.

O melhor conhecimento das exigências nutricionais individuais dos suínos permite uma nutrição mais precisa, possibilitando ao nutricionista uma formulação com menor teor de proteína bruta e maior quantidade de aminoácidos industriais, diminuindo custos e causando impactos menores ao meio ambiente. Pouco se sabe a respeito da exigência individual de valina e isoleucina para suínos, sendo necessário mais pesquisas com esses aminoácidos. Desta forma, o presente estágio teve como objetivo o acompanhamento de um ensaio dose-resposta com níveis crescentes de valina e isoleucina para suínos em crescimento.

1.1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1. Proteína

As proteínas são as macromoléculas mais abundantes nas células vivas apresentando grande diversidade de funções biológicas. Nos animais domésticos as proteínas estão localizadas principalmente nos músculos, mas apresentam outras funções vitais, em enzimas, hormônios, anticorpos, transportadores, além de expressar a informação genética de todos os seres vivos.

As fontes de proteína presente na dieta dos suínos são de origem vegetal, normalmente, com baixo valor biológico. No processo digestivo, as proteínas sofrem ação de enzimas e são reduzidas a moléculas menores e, por fim, a aminoácidos. Os aminoácidos desempenham diversas funções nas células, entre elas o catabolismo e o anabolismo, que ocorrem diariamente no organismo.

O teor de proteína de um alimento é mensurado a partir do teor de nitrogênio presente na amostra analisada, sendo estimado, normalmente, em porcentagem de proteína bruta, que considera o nitrogênio total do alimento, participando, na maioria das vezes, em 16% da composição das proteínas.

1.1.2. Proteína Bruta

O conceito de proteína bruta foi utilizado por muitos anos para formular rações para suínos. A utilização desse conceito nas formulações ocasiona um conteúdo de aminoácidos abaixo ou acima do requerido pelos animais, não permitindo que os mesmos expressem seu potencial genético ou, até mesmo, que esses aminoácidos sejam excretados, prejudicando o retorno econômico para o produtor.

No entanto, o conceito de proteína bruta apresenta as limitações, visto que, analiticamente, a proteína bruta estima o quantitativo total de moléculas proteicas, porém não qualifica os aminoácidos presentes. Nesse sentido, como a composição aminoacídica é mais importante que o valor em proteína bruta em um alimento, o valor de proteína bruta apresenta-se como uma informação incompleta a respeito do valor biológico da proteína do alimento aos animais, sendo substituída por determinações de aminoácidos e suas relações, como no conceito de proteína ideal.

1.1.3. Proteína Ideal

A proteína ideal é conceituada como sendo o conjunto de aminoácidos e proteína com disponibilidade total na digestão e metabolismo atendendo as exigências para manutenção e crescimento dos animais (MITCHELL, 1964).

A utilização do conceito de proteína ideal permite aos nutricionistas a formulação de rações adequadas as exigências nutricionais de determinada categoria animal, otimizando a eficiência de utilização dos nutrientes presentes nos ingredientes e reduzindo a excreção de nutrientes nitrogenados.

Para utilização do conceito de proteína ideal, é necessário um conhecimento prévio acerca dos aminoácidos limitantes e uma correlação desses aminoácidos com a lisina, por esta última ser o aminoácido referência, devido a sua função única de deposição muscular. Outro fator importante que torna a lisina o primeiro aminoácido limitante em dietas para suínos é a utilização de grandes quantidades de matérias-primas ricas em carboidrato (milho, sorgo, farelo de trigo), esses ingredientes apresentam quantidades mínimas de lisina. O elevado número de pesquisas realizadas com este aminoácido também é um fator que contribuiu para que a lisina fosse o aminoácido referência.

1.2. Aminoácidos

Os aminoácidos são as unidades básicas que formam as proteínas. São estruturados por um grupo amino e um grupo carboxila ligado ao átomo de carbono. Os aminoácidos diferem entre si devido a suas cadeias laterais ou grupos R, que variam em estrutura, tamanho e carga elétrica.

Todas as proteínas são formadas por um grupo de 20 aminoácidos, que além de estarem ligados com a formação de proteínas simples e complexas também exercem papel importante na regulação de vias metabólicas que são necessárias para manutenção das

atividades fisiológicas, crescimento e reprodução dos animais, além de estarem presentes no sistema imune dos organismos (LEHNINGER et al., 2002).

Nesse sentido, os suínos destinados ao abate necessitam dos aminoácidos para manutenção de suas atividades fisiológicas e para deposição de proteína em compostos úteis, ou seja, a carne, sendo necessário a determinação da exigência aminoacídica, para prover o desenvolvimento tecidual adequado de acordo com a fase do animal.

1.2.1. Aminoácidos essenciais

Os aminoácidos essenciais são aqueles que devem ser fornecidos na ração, visto que os animais não são capazes de sintetizá-los em quantidades suficientes e na velocidade necessária para o completo desenvolvimento das funções fisiológicas. Determinados aminoácidos são exigidos em maior quantidade do que outros, em determinado momento da vida do animal.

Os aminoácidos essenciais para nutrição dos suínos são: lisina, metionina, triptofano, valina, histidina, fenilalanina, leucina, isoleucina, treonina e arginina (BERTECHINI, 2006).

1.2.2. Aminoácidos não essenciais

Os aminoácidos não essenciais são aqueles que podem ser sintetizados pelo animal, seja a partir de intermediários anfibólicos, aminoácidos essenciais ou a partir de metabólitos intermediários.

Segundo Bertechini (2006), os aminoácidos não essenciais são: glicina, serina, alanina, ácido aspártico, ácido glutâmico, cistina, prolina, tirosina, asparagina e glutamina.

1.2.3. Aminoácidos semiessenciais

Os aminoácidos semiessenciais são aqueles que podem ser sintetizados a partir de outros aminoácidos essenciais.

Para suínos, a arginina é considerada um aminoácido semiessencial, pois pode ser sintetizada a partir da citrulina como precursor imediato nas células. A citrulina é sintetizada no intestino delgado da maioria dos mamíferos (WU & MORRIS, 1998).

1.2.4. Aminoácido limitante

Os aminoácidos limitantes são aqueles que quando estão presentes na dieta, mas em quantidade inferior a requerida pelo animal para o máximo desenvolvimento, limitando a absorção dos outros aminoácidos, podendo ser essencial ou não. Os ingredientes presentes na ração podem interferir na ordem desses aminoácidos. Normalmente, para suínos, quando utiliza-se milho e farelo de soja como ingredientes na ração, o primeiro aminoácido limitante é a lisina. No entanto, além dos ingredientes utilizados, vários outros fatores podem interferir se um aminoácido é limitante ou não, tais como: idade, sexo, genética, quantidade de proteína bruta da ração.

Dentre os aminoácidos essenciais, os estudos relacionados com a determinação e exigência nutricional de lisina, metionina, treonina e triptofano para suínos são amplamente conhecidos. Entretanto, para outros, como os aminoácidos de cadeia ramificada, as informações são escassas, havendo maior número de avaliações para os mesmos.

1.3. Aminoácidos de cadeia ramificada

A valina, isoleucina e leucina são aminoácidos essenciais de cadeia ramificada e estão diretamente ligadas com a deposição de proteína no músculo. Considerando as rações para suínos com uso principalmente de milho e farelo de soja, a lisina é o primeiro aminoácido limitante, tendo como segundo, terceiro e quarto limitantes a treonina, metionina e triptofano, respectivamente (JOHNSTON et al., 2000).

No entanto, Figueroa et al. (2000) observaram que ao se reduzir a proteína bruta da dieta em três a quatro unidades percentuais, a isoleucina, valina e histidina passam a ser limitantes. Mavromichalis et al. (1998) relataram que a valina foi limitante, assim como o triptofano, treonina e metionina em uma dieta a base de milho e farelo de soja, com 13,5% de proteína bruta, para suínos com 10 kg de peso vivo. Isto sugere que a exigência de valina para suínos de 10 kg pode ser maior do que o proposto pelo NRC (2012), e os resultados mostraram ainda que a valina antecedeu a isoleucina na ordem de limitância.

1.4. Ensaio dose-resposta

Atualmente dois métodos são utilizados para determinar a exigência nutricional de animais monogástricos. O método fatorial, onde a exigência é estimada pela soma dos

nutrientes destinados às funções fisiológicas (manutenção, crescimento, reprodução, lactação) e o método dose-resposta, onde a exigência é determinada a partir da resposta dos animais alimentados com dietas contendo níveis crescentes do nutriente a ser estudado.

De acordo com Sakomura & Rostagno (2007), quando se acrescenta um ingrediente na ração partindo de níveis baixos e aumentando gradualmente esse nível na dieta, ocorre um fenômeno que pode ser descrito em quatro etapas, sendo um efeito inicial, onde ocorre apenas a manutenção do animal, devido à insuficiência do nível para proporcionar o crescimento, seguido pela resposta aos crescentes níveis, onde os indivíduos começam a apresentar crescimento e melhor eficiência alimentar até estabilizar a produção, até a fase estável, onde não ocorre resposta à produção, mas os níveis não são suficientes para prejudicar a mesma. Em alguns casos, observa-se ainda a fase tóxica, onde o nível elevado do nutriente pode causar uma redução na produção.

1.5. Nitrogênio da ureia do plasma

A concentração de metabólitos no sangue constitui uma ferramenta utilizada para descrever o estado nutricional dos animais, permitindo avaliar os metabólitos após o fornecimento de rações com redução de proteína bruta e utilização de aminoácidos, que podem ou não apresentar seus níveis alterados, tanto no sangue como na excreção de alguns deles através de fezes e urina.

Parte dos aminoácidos presentes no sangue é usado pelo fígado e tecidos extra-hepáticos para formação de proteína e outros compostos nitrogenados essenciais ao metabolismo. Os suínos, assim como todos os mamíferos, têm capacidade limitada para armazenar aminoácidos, então todo o excesso ingerido é desaminado e o grupo amino é usado para sintetizar ureia. De acordo com Coma et al. (1995^a) e Wei & Zimmerman (2003) a concentração de ureia no sangue é um fator a ser utilizado para avaliar a qualidade da proteína consumida.

O nitrogênio da ureia plasmática (NUP) pode ser utilizado como um indicador da máxima utilização de aminoácidos podendo assim ser alcançado um maior equilíbrio no balanço de nitrogênio (COMA et al., 1995b). Sendo assim, o aumento do nitrogênio da ureia plasmática pode indicar baixa eficiência na utilização dos aminoácidos (GASPAROTTO et al., 2001). Diante disso, a ureia pode ser utilizada como um indicador da utilização dos aminoácidos.

2. DESENVOLVIMENTO

O presente estágio de conclusão de curso foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, localizada na cidade de Jaboticabal, São Paulo, no período de 4 de agosto a 3 de novembro de 2014. Foram desenvolvidas diversas atividades acadêmicas, tais como: revisão de literatura, formulação de rações e acompanhamento de experimentos, tendo como objetivo principal o relato sobre a condução do presente estudo. Nesse sentido, este estudo teve por objetivo, verificar a resposta individual de suínos em fase de crescimento a níveis crescentes dos aminoácidos valina e isoleucina.

2.1 Local e galpão experimental

Os estudos foram desenvolvidos no Setor de Suinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo, no período de 30 de agosto a 19 de setembro de 2014, totalizando 21 dias. Antes do início do experimento foi realizada adaptação dos animais as gaiolas metabólicas e ao galpão, durante um período de 7 dias (23 a 29 de agosto de 2014).

Foram realizados dois ensaios de metabolismo, utilizando níveis crescentes dos aminoácidos valina e isoleucina. Os ensaios foram realizados em galpão experimental com ambiente parcialmente controlado através de um ar condicionado e um monobloco, mantendo a temperatura de conforto dos animais. Segundo Whittemore et al. (1998), a temperatura recomendada para suínos na fase de crescimento é entre 24 e 26°C. O experimento foi realizado em galpão totalmente fechado, utilizando 16 gaiolas metabólicas (Imagem 1). Durante o período experimental a temperatura foi mantida com média de 24°C, sendo a mínima de 20°C e a máxima de 28°C (Gráfico 1).



Imagem 1. Galpão experimental e gaiolas metabólicas.

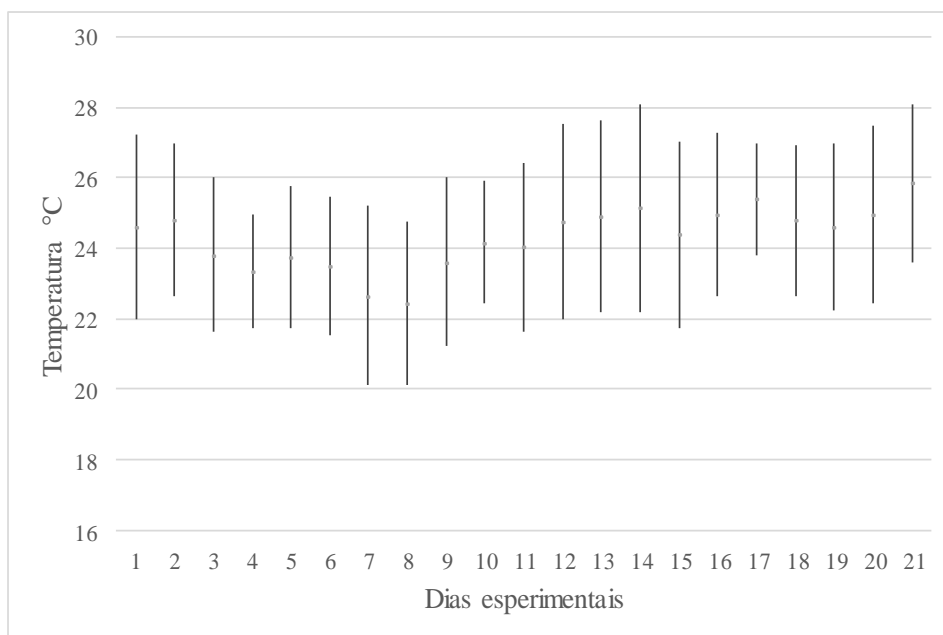


Gráfico 1. Médias de temperatura acompanhada de máxima e mínima durante o período experimental.

2.2 Tratamentos e delineamento experimental

O experimento consistiu em dois ensaios dose-resposta, no qual foram utilizados 16 suínos machos castrados em fase de crescimento, sendo 8 animais para testar o aminoácido valina e 8 para o aminoácido isoleucina. Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado utilizando 7 níveis de cada aminoácido e 8 repetições, sendo o animal a unidade experimental. Os dois ensaios ocorreram simultaneamente fornecendo aos animais as mesmas condições de manejo e ambiência.

Para o ensaio utilizando o aminoácido teste valina, os animais apresentaram peso médio inicial de $20,8 \pm 1,51$ kg e peso médio final de $31,8 \pm 2$ kg, apresentando um ganho médio de peso diário de 0,524 kg durante o período total do experimento. As rações continham níveis crescentes de valina (0,56 a 0,74%), que apresentaram um aumento gradual dos níveis (Gráfico 2).

Para a isoleucina, os animais apresentaram peso médio de $21,9 \pm 2,17$ kg e final de $32,7 \pm 2$ kg, apresentando um ganho médio de peso diário de 0,514 kg durante o período experimental. As rações continham níveis crescentes de isoleucina (0,43 a 0,61%) também apresentando um aumento gradual dos níveis (Gráfico 2).

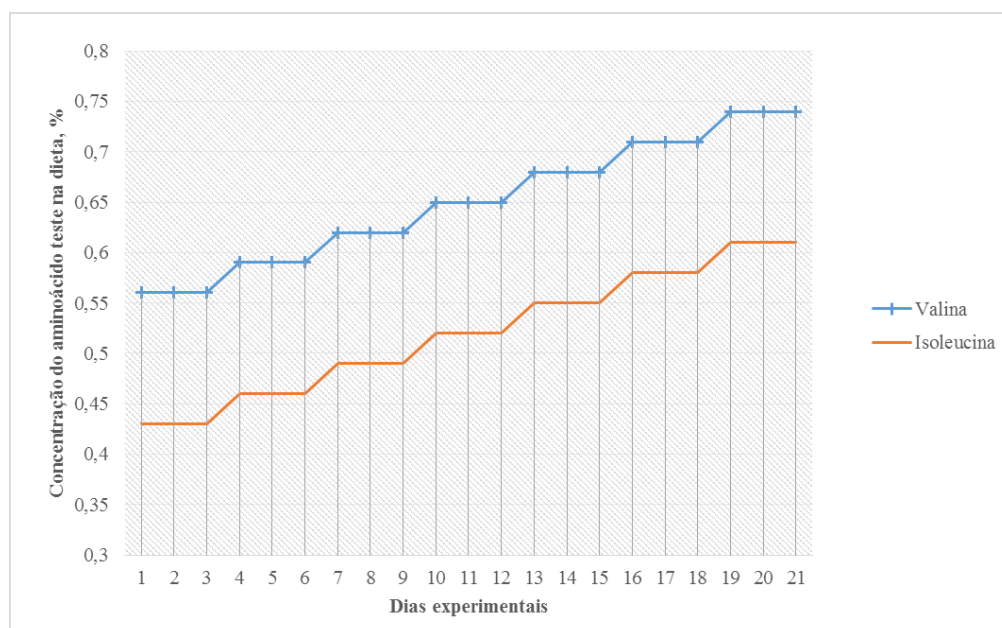


Gráfico 2. Níveis crescentes de valina e isoleucina de acordo com o período experimental.

2.3. Dietas experimentais

As dietas foram formuladas seguindo a relação de proteína ideal preconizada pelo NRC, (2012). A exigência nutricional dos animais foi a recomendada pelo NRC (2012) para suínos dos 11 aos 25 kg de peso vivo. As dietas experimentais foram isonutritivas menos nos aminoácidos teste, o qual foram utilizados os níveis preconizados, a fim do animal responder aos mesmos.

As dietas foram formuladas utilizando principalmente milho, farelo de soja (Tabelas 1 e 2). Antes do início do experimento, foi realizado aminograma dos ingredientes, a fim de se obter os valores de aminoácidos totais. A partir destes valores, foram utilizados os coeficientes de digestibilidade ileal preconizados por Rostagno et al. (2011) para o milho e farelo de soja. Foram utilizados os aminoácidos industriais ácido glutâmico e L-glicina, a fim de manter um teor adequado de proteína bruta na dieta. Este cuidado foi tomado durante a formulação a fim de evitar a falta de nitrogênio para a síntese de outros aminoácidos, podendo prejudicar a resposta dos aminoácidos teste. As rações contendo cada nível do aminoácido teste eram fornecidas por um período de três dias aos animais, ou seja, de três em três dias a ração era trocada atendendo ao aumento gradual dos aminoácidos em teste. As dietas foram batidas em misturador tipo “Y” (Imagem 2), a fim de evitar contaminação com outros ingredientes. O tempo de batida foi estabelecido em 15 minutos, permitindo mistura homogênea dos ingredientes.

Tabela 1. Composição percentual e nutricional das rações experimentais contendo níveis crescentes de valina para suínos na fase de crescimento.

Ingredientes	Tratamentos (%)						
	0,56	0,59	0,62	0,65	0,68	0,71	0,74
Milho grão	77,733	77,736	77,739	77,742	77,745	77,748	77,752
Farelo de soja	14,326	14,326	14,326	14,326	14,326	14,326	14,326
Óleo de soja	1,588	1,574	1,561	1,547	1,534	1,520	1,507
Fosfato bicálcico	1,421	1,421	1,421	1,421	1,421	1,421	1,421
Calcário calcítico	0,939	0,939	0,939	0,939	0,939	0,939	0,939
Suplemento mineral e vitamínico	0,310	0,310	0,310	0,310	0,310	0,310	0,310
Sal comum	0,457	0,457	0,457	0,457	0,457	0,457	0,457
Ácido glutâmico	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
L-Glicina	0,993	0,972	0,951	0,930	0,910	0,889	0,868
L-Lisina HCl	0,627	0,627	0,627	0,627	0,627	0,627	0,627
L-Treonina	0,289	0,289	0,289	0,289	0,289	0,289	0,289
DL-Metionina	0,140	0,140	0,140	0,140	0,140	0,140	0,140
L-Isoleucina	0,102	0,102	0,102	0,102	0,102	0,102	0,102
L-Triptofano	0,071	0,071	0,071	0,071	0,071	0,071	0,071
L-Valina	0,000	0,031	0,062	0,093	0,124	0,155	0,186
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional							
Energia metabolizável suínos (kcal/kg)*	3.300	3.300	3.300	3.300	3.300	3.300	3.300
Proteína bruta (%)*	14,610	14,610	14,610	14,610	14,610	14,610	14,610
Fibra bruta (%)*	2,364	2,364	2,364	2,364	2,364	2,364	2,364
Fósforo disponível (%)*	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
Cálcio (%)*	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760
Cloro (%)*	0,318	0,318	0,318	0,318	0,318	0,318	0,318
Potássio (%)*	0,487	0,487	0,487	0,487	0,487	0,487	0,487
Sódio (%)*	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Lisina digestível (%) ^a	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Treonina digestível (%) ^a	0,630	0,630	0,630	0,630	0,630	0,630	0,630
Metionina digestível (%) ^a	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320
Met + Cist digestível (%) ^a	0,559	0,559	0,559	0,559	0,559	0,559	0,559
Isoleucina digestível (%) ^a	0,550	0,550	0,550	0,550	0,550	0,550	0,550
Leucina digestível (%) ^a	1,092	1,092	1,092	1,092	1,092	1,092	1,092
Fenil+Tir digestível (%) ^a	0,967	0,967	0,967	0,967	0,967	0,967	0,967
Triptofano digestível (%) ^a	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180
Valina digestível (%) ^a	0,560	0,590	0,620	0,650	0,680	0,710	0,740
Arginina digestível (%) ^a	0,789	0,789	0,789	0,789	0,789	0,789	0,789
Histidina digestível (%) ^a	0,312	0,312	0,312	0,312	0,312	0,312	0,312

*NRC (2012).

^a Coeficientes de digestibilidade ileal (ROSTAGNO et al., 2011).

Tabela 2. Composição percentual e nutricional das rações experimentais contendo níveis crescentes de isoleucina para suínos na fase de crescimento.

Ingredientes	Tratamentos (%)						
	0,43	0,46	0,49	0,52	0,55	0,58	0,61
Milho grão	78,973	78,980	78,988	78,996	79,003	79,011	79,007
Farelo de soja	13,053	13,053	13,053	13,053	13,053	13,053	13,053
Óleo de soja	1,534	1,513	1,493	1,473	1,453	1,433	1,414
Fosfato bicálcico	1,429	1,429	1,429	1,429	1,429	1,429	1,429
Calcário calcítico	0,941	0,941	0,941	0,941	0,941	0,941	0,941
Suplemento mineral e vitamínico	0,310	0,310	0,310	0,310	0,310	0,310	0,310
Sal comum	0,457	0,457	0,457	0,457	0,457	0,457	0,457
Ácido glutâmico	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
L-Glicina	0,962	0,943	0,925	0,907	0,888	0,870	0,862
L-Lisina HCl	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667
L-Treonina	0,301	0,301	0,301	0,301	0,301	0,301	0,301
DL-Metionina	0,145	0,145	0,145	0,145	0,145	0,145	0,145
L-Valina	0,146	0,146	0,146	0,146	0,146	0,146	0,146
L-Triptofano	0,077	0,077	0,077	0,077	0,077	0,077	0,077
L-Isoleucina	0,000	0,031	0,062	0,092	0,123	0,154	0,185
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional							
Energia metabolizável suínos (kcal/kg)*	3.300	3.300	3.300	3.300	3.300	3.300	3.300
Proteína bruta (%)*	14,190	14,190	14,190	14,190	14,190	14,190	14,190
Fibra bruta (%)*	2,312	2,312	2,312	2,312	2,312	2,312	2,312
Fósforo disponível (%)*	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
Cálcio (%)*	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760	0,760
Cloro (%)*	0,318	0,318	0,318	0,318	0,318	0,318	0,318
Potássio (%)*	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467	0,467
Sódio (%)*	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Lisina digestível (%) ^a	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Treonina digestível (%) ^a	0,624	0,624	0,624	0,624	0,624	0,624	0,624
Metionina digestível (%) ^a	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320
Met + Cist digestível (%) ^a	0,554	0,554	0,554	0,554	0,554	0,554	0,554
Isoleucina digestível (%) ^a	0,430	0,460	0,490	0,520	0,550	0,580	0,610
Leucina digestível (%) ^a	1,065	1,065	1,065	1,065	1,065	1,065	1,065
Fenil+Tir digestível (%) ^a	0,931	0,931	0,931	0,931	0,931	0,931	0,931
Triptofano digestível (%) ^a	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180
Valina digestível (%) ^a	0,679	0,679	0,679	0,679	0,679	0,679	0,679
Arginina digestível (%) ^a	0,751	0,751	0,751	0,751	0,751	0,751	0,751
Histidina digestível (%) ^a	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300

*NRC (2012).

^a Coeficientes de digestibilidade ileal (ROSTAGNO et al., 2011).



Imagem 2. Misturador tipo “Y”.

2.4. Consumo de ração

O arraçoamento dos animais era realizado duas vezes ao dia (7h30min e 15h30min) durante todo o período experimental e de adaptação. A água foi fornecida à vontade durante todo o período, exceto no momento da alimentação, quando o registro da água era desligado e ligado após o consumo.

2.4.1. Período de adaptação

Durante o período de adaptação dos animais às gaiolas experimentais, a ração foi fornecida à vontade sendo umedecida com água na proporção de 1:1, com o objetivo de evitar o desperdício e melhorar o consumo pelos animais. Nos quatro dias iniciais do período de adaptação os animais de ambos os ensaios consumiram uma ração formulada para atender as exigências da fase de crescimento. Nos três dias restantes os animais consumiram a ração com o primeiro nível do aminoácido teste, sendo 0,56% para valina e 0,43% para isoleucina.

2.4.2. Período experimental

A quantidade de ração foi controlada, utilizando a equação preconizada pelo ARC (1981) assumindo 2,5 vezes a exigência de energia metabolizável para manutenção e dividindo pela quantidade de energia metabolizável fornecida na ração. Quantidade de ração fornecida (kg/dia) = $(PV^{0,75} * 109 \text{ kcal} * 2,5) / 3.300 \text{ kcal}$.

Diariamente era realizada ajuste do peso vivo do animal assumindo que os animais ganhavam em média 450 g/dia.

2.5. Coleta de dados

2.5.1. Coleta de fezes

Para coleta de fezes foi adotado o método de coleta total, sendo realizadas duas coletas diárias, a primeira após o arraçoamento da manhã e a segunda após o arraçoamento da tarde, a fim de evitar perdas por volatilização do nitrogênio. As fezes foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados, pesadas e armazenadas em freezer a -8°C.

Não foi utilizado nenhum tipo de marcador nas rações. O início do período de coleta foi determinado como sendo 24h após o primeiro fornecimento da ração com o nível de aminoácido a ser testado e o fim como sendo 72h após a primeira coleta.

Ao final do experimento, as fezes coletadas durante os três dias de coleta para cada nível de aminoácido teste para cada animal foram descongeladas, homogeneizadas e colocadas em estufa de ventilação forçada por 72h para retirar toda a umidade. As análises químico-bromatológicas não foram finalizadas até o final do estágio, estando as amostras ainda em processamento para então serem analisadas em laboratório para determinar a porcentagem de nitrogênio presente nas mesmas.

2.5.2. Coleta de urina

A coleta de urina era realizada uma vez ao dia, sempre no período da manhã. A urina foi coletada em baldes plásticos (Imagem 3) contendo 20 ml de solução de HCl 1:1 (água destilada e ácido clorídrico), no intuito de evitar proliferações bacterianas e possíveis perdas de nitrogênio. A mensuração do volume de urina produzido por cada animal era feita com proveta e retirava-se uma alíquota de 20% do volume total, que foi armazenada em garrafas plásticas e mantidas em freezer (Imagem 4).



Imagem 3. Urina coletada em baldes plásticos.



Imagem 4. Material utilizado para medir o volume de urina diário.

Ao final do terceiro dia, a urina era descongelada, homogeneizada e retirava-se uma amostra composta que voltava a ser armazenada no freezer (Imagem 5), onde permanecerão para posteriores análises de nitrogênio.



Imagem 5. Urina homogeneizada para armazenamento em freezer.

2.5.3. Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada sempre no último dia do fornecimento da ração contendo o nível do aminoácido teste, ou seja, coletava-se sangue dos animais de três em três dias. A coleta era realizada quatro horas após o arraçoamento da manhã (11h30min).

Os animais foram contidos e foi retirado da veia cerca de 5 ml de sangue utilizando em seringa contendo anticoagulante (EDTA) (Imagem 6 e 7). O sangue foi colocado em *tubo vacutainer*, visto que o objetivo foi a extração do plasma, e levado para centrífuga onde foi centrifugado por 10 minutos a uma rotação de 3.000 rpm (Imagem 8). Após a centrifugação, o plasma foi colocado em *tubo eppendorf* e armazenado em freezer com temperatura -20°C para posteriores análises de nitrogênio da uréia do plasma (NUP).



Imagem 6. Material utilizado para coleta de sangue.



Imagem 7. Coleta de sangue.



Imagem 8. Centrifugação das amostras para extração do plasma.

2.6. Pesagem dos animais

Os animais foram pesados a cada 7 dias sempre após o arraçoamento da tarde (Imagem 9).



Imagem 9. Pesagem dos animais.

3. CONCLUSÃO

As pesquisas relacionadas aos aminoácidos de cadeia ramificada necessitam de mais atenção, devido à importância no metabolismo proteico e a deposição de carne magra. A determinação da exigência individual de valina e isoleucina para suínos é fundamental para a nutrição de precisão, visto que, dessa maneira, é possível uma redução significativa no teor de proteína bruta das dietas e, como consequência, redução de custos e de elementos potencialmente poluidores.

O acompanhamento de um ensaio dose-resposta com níveis crescentes de aminoácidos é de fundamental importância para o presente trabalho de conclusão de curso. Novas metodologias, técnicas e conceitos foram observadas, proporcionando tamanho crescimento profissional na área de nutrição de monogástricos.

REFERÊNCIAS

- ARC. 1981. **The nutrient requirements of pigs**. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, England.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2006.
- BERTOLO R, MOEHN S, PENCHARZ P AND BALL R. 2005. Estimate of the variability of the lysine requirement of growing pigs using the indicator amino acid oxidation technique. **Journal of Animal Science**. 83: 2535-2542.
- COMA, J.; CARRION, D.; ZIMMERMAN, D. R. Use of plasma urea nitrogen as a rapid response criterion to determine the lysine requirement of pigs. **Journal of Animal Science**. 1995a.
- COMA, J.; ZIMMERMAN, D. R.; CARRION, D. Relationship of rate lean tissue growth and other factors to concentration of urea in plasma of pigs. **Journal of Animal Science**. 1995b.
- FIGUEROA, J. L. et al. Growth performance of gilts fed low crude protein diets supplemented with crystalline amino acids including valine, isoleucine and histidine. **Journal of Animal Science**. 2000.
- GASPAROTTO, L. F. et al. Exigência de lisina, com base no conceito de proteína ideal, para suínos machos castrados de dois grupos genéticos, na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa. 2001.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 3ª ed. São Paulo. 2002.
- MAVROMICHALIS, I. et al. Limiting order of amino acids in a low-protein corn-soybean meal- whey-based diet for nursery pigs. **Journal of Animal Science**. 1998.
- MITCHELL, H.H. **Comparative nutrition of man and domestic animals**. Academic Press, New York, NY. 1964.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of swine**. 11.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2012.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos; composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, 2011.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP. p.283. 2007.

WHITTEMORE, C. **The science and practice of pig production**. Ed. 2. Blackwell Science Ltd, 1998.

WEI, R.; ZIMMERMAN, D.R. An evaluation of the NRC (1998) growth model in estimating lysine requirements of barrows with a lean growth rate of 348 g/d. **Journal of animal science**. 2003.

WU, G.; MORRIS, S.M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Journal of Biochemistry**. 1998.