

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**BIODISPONIBILIDADE E EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO
DE L E DL-METIONINA NA INTEGRIDADE INTESTINAL E
ESTADO OXIDATIVO DE LEITÕES NA FASE DE CRECHE**

Raphael Perini Caetano

Zootecnista

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**BIODISPONIBILIDADE E EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO
DE L E DL-METIONINA NA INTEGRIDADE INTESTINAL E
ESTADO OXIDATIVO DE LEITÕES NA FASE DE CRECHE**

Discente: Raphael Perini Caetano

Orientador: Prof. Dr. Luciano Hauschild

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Reis Furtado Campos

Coorientador: Prof. Dr. Luan Sousa dos Santos

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre Zootecnia**

2019

C128b	<p>Caetano, Raphael Perini</p> <p>Biodisponibilidade e efeitos da suplementação de L e DL-metionina na integridade intestinal e estado oxidativo de leitões na fase de creche / Raphael Perini Caetano. -- Jaboticabal, 2019</p> <p>59 p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Luciano Hauschild</p> <p>Coorientador: Paulo Henrique Reis Furtado Campos</p> <p>1. Aminoácidos na nutrição animal. 2. Nutrição animal. 3. Suinocultura. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: BIODISPONIBILIDADE E EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE L E DL-METIONINA NA INTEGRIDADE INTESTINAL E ESTADO OXIDATIVO DE LEITÕES NA FASE DE CRECHE

AUTOR: RAPHAEL PERINI CAETANO

ORIENTADOR: LUCIANO HAUSCHILD

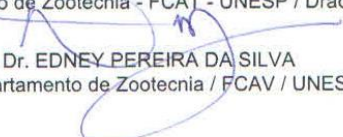
COORIENTADOR: PAULO HENRIQUE REIS FURTADO CAMPOS

COORIENTADOR: LUAN SOUSA DOS SANTOS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. GUSTAVO DO VALLE POLYCARPO
Curso de Zootecnia - FCAT - UNESP / Dracena/SP


Prof. Dr. EDNEY PEREIRA DA SILVA
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 10 de outubro de 2019

DADOS CURRÍCULARES DO AUTOR

RAPHAEL PERINI CAETANO – nascido em Ribeirão Preto/SP, no dia 05 de agosto de 1990. Ingressou no curso de Zootecnia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Unesp – Câmpus de Ilha Solteira, em agosto de 2011, graduando-se em agosto de 2016. Durante o período de 2013 a 2014 foi bolsista de Iniciação Científica da FAPESP sob orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos de Laurentiz e presidente do Centro Acadêmico da Zootecnia de Ilha Solteira – CAZIS na gestão 2013/2014. No período de 2014 a 2015 foi bolsista de Intercâmbio AREX/Unesp, na Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, Espanha, também sob orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos de Laurentiz. Em março de 2017 iniciou os estudos no curso de mestrado do Programa de Pós-graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp – Câmpus de Jaboticabal, sendo bolsista da CAPES e, posteriormente, FAPESP. Realizou estágio no exterior entre 2018 e 2019, financiado pela BEPE/FAPESP, na “University of Manitoba”, Winnipeg, Canadá, sob orientação do Prof. Dr. Luciano Hauschild e supervisão do Prof. Dr. Charles Martin Nyachoti.

“É exatamente disso que a vida é feita, de momentos. Momentos que temos que passar, sendo bons ou ruins, para o nosso próprio aprendizado. Nunca esquecendo do mais importante: nada nessa vida é por acaso. Absolutamente nada. Por isso, temos que nos preocupar em fazer a nossa parte, da melhor forma possível. A vida nem sempre segue a nossa vontade, mas ela é perfeita naquilo que tem que ser.”

Chico Xavier

DEDICO

Aos meus pais Sérgio e Milna, à minha irmã Jéssica, aos meus avós José e Irene e à minha tia Wilma, que me apoiaram, me encorajaram e sempre foram estímulo e exemplo de vida fundamentais.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre iluminar meu caminho e minhas escolhas, por me dar forças para superar minhas dificuldades e por conceder tantas oportunidades e bênçãos em minha vida.

À minha família por todo amor e dedicação, pela educação que me deram, pelos valores que me ensinaram e por todos os sacrifícios que realizaram por mim.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luciano Hauschild por ter acreditado em mim, me concedido a oportunidade de desenvolver este projeto e pela excepcional orientação e apoio.

À Prof^a Dr^a Luciane Helena Gargaglioni Batalhão pelo auxílio e orientação burocrática referente à bolsa.

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Luan Sousa dos Santos e Prof. Dr. Paulo Henrique Reis Furtado Campos pela ajuda com a elaboração do projeto, estatística, artigo, pelos conselhos e contribuições que me deram durante o curso.

À equipe do LabSui (Laboratório de Estudos em Suinocultura), por ter me acolhido e contribuído tanto para a realização de meus trabalhos quanto para meu crescimento profissional, especialmente Alicia, Alini, Estefânia e Jaqueline, que sempre estiveram ao meu lado e me ajudaram nas correrias e nos momentos difíceis.

Ao Welex e ao Sr. José Antônio Segecic pela amizade, parceria, paciência, apoio e pelos ensinamentos que dividiram comigo em todas as etapas do experimento e fora deles.

Aos meus amigos Hanay, Heloisa e Renan pelo apoio nas disciplinas e pelos momentos de diversão.

A todos os estagiários que participaram dos experimentos que conduzi e que agregaram fortemente nas ações diárias e tarefas pesadas: Bárbara, Brandon, Eunice, Fernanda, Gabriel H., Gabriel S., Heloísa, Janine, Joseane, Larissa, Marina, Natália, Raissa e Vitor.

Ao Prof. Dr. Charles Martin Nyachoti e sua equipe, por terem me permitido realizar estágio de pesquisa na “University of Manitoba”, me acolhido de forma tão calorosa e me possibilitado participar de palestras e estudos tão enriquecedores.

À Tais Sasahara, à Prof^a Dr^a Marcia Rita Fernandes Machado e à equipe do Laboratório de Morfologia de Invertebrados, DBAA, FCAV, especialmente ao Prof. Dr. Fernando José Zara, Márcia Fiorese Mataqueiro e Maria Alice Garcia Bento pela paciência e auxílio com as análises de morfologia intestinal.

À equipe da Prof^a Dr^a Priscila L. Gratão, principalmente à Sonia Maria R. Carregari pela orientação e ajuda com a coleta e processamento das amostras para análises de estado oxidativo.

À equipe do Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior, especialmente à Paula Payão Ovidio e à Tania Riul pela ajuda com as análises laboratoriais e pela grande amizade.

À Ana Paula de Oliveira Sader e ao Sr. Orlando Agostini por todo carinho, auxílio, orientação e confiança.

Às bancas de defesa de projeto, qualificação e defesa de dissertação pelas sugestões e por agregarem enormemente ao trabalho.

Aos animais que deram a vida para que este projeto se concretizasse.

A todos os professores, técnicos, funcionários e alunos que me auxiliaram durante o mestrado e durante a elaboração e execução do experimento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. O projeto também foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - Nº Processo 2017/10354-5 e da Evonik Nutrition & Care GmbH.

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	2
2.1. Morfofisiologia intestinal	2
2.2. Aminoácidos na nutrição animal	4
2.3. A isomeria dos aminoácidos	5
2.4. A importância da metionina para o equilíbrio oxidativo	7
3. Objetivos	9
3.1. Objetivo geral	9
3.2. Objetivos específicos	9
4. Referências	9
CAPÍTULO 2 - Effects of L-Methionine and DL-Methionine on bioavailability, intestinal morphology and oxidative status of weaned and growth pigs	13
Abstract	15
1. Introduction	16
2. Material and Methods	17
2.1. Animals, housing and experimental diets	17
2.2. Nitrogen (N) Balance	19
2.3. Sampling and collection (blood and tissues)	19
2.4. Chemical analysis	20
2.4.1. Preparation of tissue homogenate	20
2.4.2. Determination of total proteins	20
2.4.3. Determination of carbonyl level	20
2.4.4. Determination of the level of Malondialdehyde (MDA)	21
2.4.5. Determination of the Level of Reduced Glutathione (GSH), Oxidized Glutathione (GSSG), GSH : GSSG and Total Glutathione	21
2.5. Intestinal morphology	22
2.6. Statistical analysis	22
3. Results	23

3.1. Diets and AA levels	23
3.2. Experiment 1	23
3.2.1. N balance assay.....	23
3.2.2. Oxidative status	24
3.2.3. Intestinal Morphology	24
3.3. Experiment 2	25
3.3.1. N Balance assay	25
3.3.2. Oxidative status	25
3.3.3. Intestinal Morphology	26
4. Discussion.....	26
4.1. N Balance	26
4.2. Oxidative Status.....	27
4.3. Intestinal Morphology.....	28
5. Conclusions	29
Conflict of interest	29
Acknowledgement	30
References	30

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal




CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Biodisponibilidade e efeitos da suplementação de L e DL-metionina na integridade intestinal e equilíbrio oxidativo de leitões na fase inicial**", protocolo nº 4931/17, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luciano Hauschild, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 06 de abril de 2017.

Vigência do Projeto	01/05/2017 a 31/08/2017
Espécie / Linhagem	<i>Sus scrofa</i> / Comercial
Nº de animais	84
Peso / Idade	10-25kg/30-60 dias
Sexo	Machos Castrados
Origem	Granja comercial

Jaboticabal, 06 de abril de 2017.


Prof.ª Dr.ª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

BIODISPONIBILIDADE E EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE L E DL-METIONINA NA INTEGRIDADE INTESTINAL E ESTADO OXIDATIVO DE LEITÕES NA FASE DE CRECHE

RESUMO - Dois estudos foram conduzidos com objetivo de comparar a biodisponibilidade relativa de L-Met e DL-Met com base em ensaio de balanço de N e os efeitos promovidos por ambas as fontes na morfologia intestinal e no sistema antioxidante de suínos em fase inicial e final de creche. Em cada experimento foram utilizados 42 suínos machos castrados (Agroceres PIC, Rio Claro, SP, Brazil: CamboroughTM x AGPIC 337TM) com peso inicial de $10,7 \pm 1,09$ kg e $20,5 \pm 1,55$ kg, respectivamente para o experimento 1 e o experimento 2. Cada experimento foi dividido em dois períodos experimentais com 21 suínos. Cada período experimental correspondeu a um bloco. Três suínos foram distribuídos aleatoriamente em 7 dietas experimentais dentro de cada bloco, resultando em um total de 6 repetições por tratamento. As dietas basais (DB) foram formuladas com deficiência de 68% em metionina, porém adequadas para os demais aminoácidos. Três níveis graduados de DL-Met e L-Met (0,03, 0,06 e 0,09%) foram suplementados à dieta basal para criar as dietas 2-7 em ambos os estudos. No experimento 1, ambas as fontes de metionina reduziram linearmente o N excretado pela urina e aumentaram linearmente a retenção de N (% de absorvido) ($P \leq 0,03$). A biodisponibilidade relativa estimada para L-Met em comparação a DL-Met foi de 106% (intervalo de confiança – IC de 95%: 39 a 173%) para retenção de N (% de absorvido) em uma base equi-molar. No experimento 2, a suplementação com ambas as fontes de Met diminuiu linearmente a excreção de N urinário e aumentou linearmente o total de N retido, a retenção de N (% de ingerido e % de absorvido) ($P \leq 0,04$). A biodisponibilidade estimada de L-Met em comparação a DL-Met foi de 95% (IC 95%: 13 a 177%) para retenção de N (% da ingerido) e 94% (IC 95%: 20 a 167%) para retenção de N (% de N absorvido), respectivamente em uma base equi-molar. Em ambos os experimentos, houve concentrações semelhantes de proteína carbonil e MDA no plasma, duodeno e fígado de suínos alimentados com dietas contendo L-Met ou DL-Met ($P > 0,05$). Não houve diferenças estatísticas na altura das vilosidades, largura das vilosidades, profundidade da cripta e razão entre altura das vilosidades : profundidade da cripta de duodeno, jejuno e íleo para ambas as fontes de Met ($P \geq 0,07$). Os resultados indicam que DL-Met e L-Met são igualmente biodisponíveis como fontes de metionina e impactam positivamente na morfologia intestinal e no sistema antioxidante de suínos em fase inicial e final de creche.

Palavras-chave: Aminoácido, Isomeria, Monogástrico, Morfologia Intestinal, Nutrição Animal, Suinocultura

BIOAVAILABILITY AND EFFECTS OF L AND DL-METHIONINE SUPPLEMENTATION ON GUT INTEGRITY AND OXIDATIVE STATUS OF WEANED PIGS

ABSTRACT - Two studies were conducted to compare the relative bioavailability of L-Met and DL-Met based on N balance assay and the effects promoted by both sources on intestinal morphology and antioxidant system of weaned and growing pigs. In each experiment were used 42 barrows (Agroceres PIC, Rio Claro, SP, Brazil: CamboroughTM x AGPIC 337TM) with initial body weight of 10.7 ± 1.09 kg and 20.5 ± 1.55 kg, respectively for Experiment 1 and Experiment 2. Each experiment was divided into two batches with 21 pigs. Each batch corresponded to a block. Three pigs were randomly assigned to 7 experimental diets within each block, resulting in a total of 6 replicates per treatment. Basal diets (BD) were formulated with 68% methionine deficiency, but adequate for the other amino acids. Three graded levels of DL-Met and L-Met (0.03, 0.06 and 0.09%) were supplemented to the basal diet to create diets 2-7 in both studies. In experiment 1, both sources of methionine linearly reduced N excreted in the urine and linearly increased N retention (% absorbed) ($P \leq 0.03$). The estimated relative bioavailability for L-Met compared to DL-Met was 106% (95% CI - confidence interval: 39 to 173%) for N retention (% absorbed) on an equi-molar basis. In experiment 2, supplementation with both Met sources linearly decreased urinary N excretion and linearly increased total N retention, N retention (% ingested and % absorbed) ($P \leq 0.04$). The estimated bioavailability of L-Met compared to DL-Met was 95% (95% CI: 13 to 177%) for N retention (% of intake) and 94% (95% CI: 20 to 167%) for N retention (% absorbed N), respectively on an equi-molar basis. In both experiments, there were similar concentrations of carbonyl protein and MDA in plasma, duodenum and liver of pigs fed diets containing L-Met or DL-Met ($P > 0.05$). There were no statistical differences in villus height, villus width, crypt depth and villus height: crypt depth ratio of duodenum, jejunum and ileum for both Met sources ($P \geq 0.07$). The results indicate that DL-Met and L-Met are equally bioavailable as methionine sources and positively impact on intestinal morphology and antioxidant system of weaned and growing pigs.

Keywords: Amino Acid, Isomeria, Monogastric, Intestinal Morphology, Animal Nutrition, Pig Farming

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1. Introdução

O processo de desmame figura como um dos momentos mais críticos da suinocultura. Nessa fase, os leitões são submetidos a mudanças abruptas, como: separação da mãe, mistura com animais de outras leitegadas, alojamento em novos locais e alteração na alimentação de uma fonte líquida e altamente digestível (leite) para uma sólida e menos digestível. Estes fatores geram estímulos estressores que modificam a arquitetura entérica e a atividade enzimática. Adicionalmente, em função da imaturidade imunológica destes animais, a instalação de patógenos na região entérica também é favorecida, o que leva ao desenvolvimento de lesões que prejudicam a absorção de nutrientes (Lalles et al. , 2007).

Com o intuito de minimizar os efeitos do desmame no desempenho e fisiologia dos animais, diferentes estratégias nutricionais têm sido utilizadas para amenizar o impacto do desmame em leitões. Dentre estas, destaca-se o uso de aminoácidos (AA) cristalinos em substituição ao farelo de soja, uma vez que leitões são mais propensos a reações de hipersensibilidade transitória aos antígenos da soja, podendo ocorrer lesões nos enterócitos (Resende, 2014). A redução do uso de farelo de soja nas dietas de leitões recém-desmamados tem-se mostrado benéfica para o desenvolvimento e manutenção da saúde do trato gastrointestinal (Ren et al. , 2014).

Dentre os AA cristalinos disponíveis, a metionina tem sido utilizada em ampla escala na alimentação de suínos não apenas por contribuir com a fração proteica da dieta, mas por desempenhar, também, importantes funções no organismo. O principal destino da metionina retida nos tecidos intestinais é a produção de substâncias utilizadas para manter o sistema antioxidante das células e garantir a divisão e renovação celular. Estas ações possuem especial importância neste órgão, devido à constante renovação celular ocasionada pelas descamações naturais decorrentes do atrito com o alimento e também por agressões causadas por microrganismos que podem gerar inflamações (Oliveira Neto, 2014).

Em termos de nutrição animal, as fontes de metionina usualmente utilizadas

são o ácido DL-2-amino-4 (metiltio) butanóico (DL-Met) e o ácido DL-2-hidroxi-4 (metilo) butanóico, mais conhecido como metionina hidróxi análoga (MHA-FA) (Visentini et al. , 2005). Contudo, para que o organismo consiga utilizar os aminoácidos é necessário que estes estejam na conformação de L-aminoácidos (Nelson e Cox, 2014). Portanto, quando D-aminoácidos são ingeridos, estes devem ser convertidos na forma L para sua utilização. Esse processo de conversão é mediado pela enzima D-aminoácido oxidase (Findrik e Vasić-Rački, 2007). Alguns autores têm relatado valores de biodisponibilidade similares entre DL-Metionina e L-metionina para suínos (Baker, 2006; Oliveira Neto, 2014). Em função desse aspecto, atualmente, a DL-metionina tem sido utilizada como fonte principal deste aminoácido nas dietas para todas as fases.

Uma vez que a metionina é um aminoácido que desempenha funções biológicas de grande relevância em suínos, podendo otimizar o tempo de recuperação das áreas absortivas do trato gastrointestinal posteriormente aos estímulos estressores promovidos pela desmama, torna-se essencial para o desenvolvimento de programas nutricionais mais eficientes, sustentáveis e viáveis, o conhecimento de sua forma isomérica mais biodisponível e os efeitos por ela desempenhados a nível bioquímico e fisiológico.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Estudar a similaridade de duas fontes isoméricas de metionina e seus efeitos no desenvolvimento intestinal e estado oxidativo de plasma e tecidos de leitões em fase inicial e final de creche.

3.2. Objetivos específicos

- Estimar a biodisponibilidade dos isômeros L e DL-metionina para leitões nas fases inicial e final de creche por meio da realização de balanço de nitrogênio;
- Avaliar possíveis efeitos das fontes isoméricas oferecidas na manutenção da integridade intestinal dos leitões, por meio de morfometria intestinal.
- Avaliar por meio de análise de marcadores oxidativos em tecidos envolvidos com a metabolização da metionina, se a forma isomérica interfere no equilíbrio oxidativo dos leitões.

4. Referências

Baker DH (2006) Comparative species utilization and toxicity of sulfur amino acids. **The Journal of Nutrition** 136:1670S-1675S.

Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RDCG, Paula SO, Minim VPR, Bressan J (2010) Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição** 23:629-643.

Barreiro EJ, Ferreira VF, Costa PRR (1997) Substâncias enantiomericamente puras (sep): a questão dos fármacos quirais. **Química Nova**, 20: 647-656.

Berne RB, Levy MN (2009) Tratado De Fisiologia Humana. 6. Ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 864p.

Bucco RD (2013) **A produção de L-aminoácidos e a sua aplicação na fertilização foliar**. 39 f. Monografia (Engenharia Bioquímica) - Universidade de São Paulo, Lorena.

Daniel E, Ruiz US, Thomaz MC, Furlan RL (2014). Anatomia e fisiologia do sistema digestório de suínos. In.: Sakomura, NK, Silva JHV, Costa FGP, Fernandes JBK, Hauschild L (Eds.) **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.18-32

Dantas WMF (2014) **Perfil bioquímico sanguíneo e ganho de peso corporal de suínos em crescimento alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de fosfato bicálcico mantidos em estresse por calor**. 74 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Domingues DL, Marques LGA, Freitas ALP (2015) Produção de aminoácidos e seus derivados: Prospecção tecnológica. **GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias** 5:2597-2603.

Findrik Z, Vasić-Rački Đ (2007) Biotransformation of D-methionine into L-methionine in the cascade of four enzymes. **Biotechnology and bioengineering** 98:956-967.

Girôto Júnior C, Brustolini P, Silva F, Donzele J, Ferreira A, Nalon P, Campos P, Moutinho J (2013) Suplementação de aminoácidos para redução da proteína bruta em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 65:1131-1138.

Gusmão GODM (2014) **Estudo das propriedades vibracionais do aminoácido DL-metionina por Espectroscopia Raman**. 70 f. Tese (Doutorado em Física), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

Junqueira OM, Silz LZT, Araújo LF, Pereira AA, Laurentiz AC, Filardi RS (2008) Avaliação de níveis e fontes de proteína na alimentação de leitões na fase inicial de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia** 37:1622-1627.

Klein BG (2014) Cunningham tratado de fisiologia veterinária. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 624p.

Lalles JP, Bosi P, Smidt H, Stokes CR (2007) Nutritional management of gut health in pigs around weaning. **Proceedings of the Nutrition Society** 66:260-268.

Lima VLE (1997) Os fármacos e a quiralidade: uma breve abordagem. **Química Nova** 20:657-663.

Maiorka A (2004) Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. In: V SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais**. Chapecó: SBSA, p. 26-41.

Marcolla CS, Ribeiro AML (2015) Efeitos do fornecimento de dietas pré-desmame para leitões: uma revisão. **Boletim de Indústria Animal** 72:77-90.

Marion J, Petersen YM, Romé V, Thomas F, Sangild PT, Dividich JL, Huërou-Luron I (2005) Early weaning stimulates intestinal brush border enzyme activities in piglets, mainly at the posttranscriptional level. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition** 41:401-410.

Marzzoco A, Torres, BB (2015) Bioquímica básica. 4. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 392p.

Moura AMA, Melo TV, Miranda DJA (2010) Utilização da DL-metionina e metionina hidróxi-análoga na alimentação de aves. **Boletim de Indústria Animal** 67:97-107.

Nelson DL, Cox MM (2014) *Princípios de Bioquímica: Lehninger*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 1328p.

Oliveira VD (2004) **Efeito de níveis de proteína da ração no balanço de nitrogênio e composição corporal de suínos em crescimento**. 98 f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Oliveira Neto AR (2014). Metabolismo e Exigência de Metionina. In.: Sakomura, NK, Silva JHV, Costa FGP, Fernandes JBK, Hauschild L (Eds.) **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.186-217

Pinheiro RW, Fontes DDO, Silva F, Souza LPO, Vidal TZB (2015) Níveis de metionina+ cistina para leitões dos 6 aos 16 kg submetidos a diferentes graus de ativação do sistema imune. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** 16:827-838.

Remus A (2015) **Modelos para estimar exigências nutricionais de aminoácidos e resposta à ingestão de metionina: sistema tradicional por fases x nutrição de precisão**. 98 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal.

Ren M, Liu C, Zeng X, Yue L, Mao X, Qiao S, Wang J (2014) Amino acids modulates the intestinal proteome associated with immune and stress response in weaning pig. **Molecular Biology Reports** 41:3611-3620.

Resende MQ (2014) **Concentrado proteico de soja em dietas pré-iniciais de leitões**. 50 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal De Goiás, Goiânia, 2014.

Resende M (2016) **Desempenho e saúde intestinal de leitões suplementados com DL ou L-metionina na fase de creche**. 43 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

Rostagno HS, Bünzen S, Sakomura NK, Albino LFT (2007) Avanços metodológicos na avaliação de alimentos e de exigências nutricionais para aves e suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia** 36:295-304.

Sakomura NK, Rostagno HS (2016) *Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos*. Jaboticabal: Funep, 262p.

Shen YB, Weaver AC, Kim SW (2014) Effect of feed grade L-methionine on growth performance and gut health in nursery pigs compared with conventional DL-methionine. **Journal of Animal Science** 92:5530–5539.

Stefanello FM (2008) **Metionina altera parâmetros bioquímicos e comportamentais em ratos: estudos *in vitro* e *in vivo***. 125 f. Tese (Doutorado em Bioquímica), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

Tucci F, Thomaz MC, Nakaghi L, Hannas MI, Scandolera A, Budiño F (2011). Efeito da adição de agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a estrutura e ultraestrutura do intestino delgado e sobre o desempenho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 63:931-940.

Valente C (2012) **Efeito do estresse pelo frio sobre células embriogênicas de *Araucaria angustifolia* em cultura: disfunção mitocondrial e estresse oxidativo.** 132 f. Tese (Doutorado em Ciências - Bioquímica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

Van Milgen J, Dourmad, JY (2015) Concept and application of ideal protein for pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 6:15.

Visentini P, Lopes J, Toledo GS, Costa PT (2005) Níveis de substituição da DL-metionina pela metionina hidróxi análoga em base equimolar, em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural** 35:1400-1405.

Zangeronimo MG, Fialho ET, Murgas LDS, Fonseca R, Rodriguez P (2007) Desempenho e excreção de nitrogênio de leitões dos 9 aos 25 kg alimentados com dietas com diferentes níveis de lisina digestível e proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia** 36:1382-1387.

Zlotowski P, Driemeier D, Barcellos D (2008) Patogenia das diarreias dos suínos: modelos e exemplos. **Acta Scientiae Veterinariae** 36:81-86.