

**STEPHANE ALVERINA BRIGUENTE DA MOTTA**

**Efeito da Relação Triptofano: Lisina Digestíveis Sobre o Desempenho e Respostas Imunológicas em Suínos Desafiados Com LPS e Digestibilidade de Fontes de Aminoácidos**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Melissa Izabel Hannas

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M921e  
2024 Motta, Stephane Alverina Brigunte da, 1999-  
Efeito da relação triptofano:lisina digestíveis: sobre o  
desempenho e respostas imunológicas em suínos desafiados com  
LPS e digestibilidade de fontes de aminoácidos / Stephane  
Alverina Brigunte da Motta. – Viçosa, MG, 2024.  
1 dissertação eletrônica (61 f.): il.

Inclui apêndice.

Orientador: Melissa Izabel Hannas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Zootecnia, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.491>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Suínos - Registros de desempenho. 2. Aminoácidos na  
nutrição animal. 3. Triptofano. 4. Lisina. 5. Imunidade.  
I. Hannas, Melissa Izabel, 1974-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Zootecnia. Mestrado em Zootecnia.  
III. Título.

CDD 22. ed. 636.0852


**STEPHANE ALVERINA BRIGUENTE DA MOTTA**

**Efeito da Relação Triptofano: Lisina Digestíveis Sobre o Desempenho e Respostas Imunológicas em Suínos Desafiados Com LPS e Digestibilidade de Fontes de Aminoácidos**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 22/02/2024

Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 **STEPHANE ALVERINA BRIGUENTE DA MOTTA**  
Data: 13/08/2024 12:42:18-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Stephane Alverina Brigunte da Motta**  
Autor

Documento assinado digitalmente  
 **MELISSA IZABEL HANNAS**  
Data: 16/08/2024 19:29:26-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Melissa Izabel Hannas**  
Orientadora

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado força para lutar e correr atrás dos meus objetivos.

Aos meus pais Cidélia Brigunte da Motta e Moacir Antônio da Motta, ao meu irmão Giovanni Brigunte da Motta por sempre estarem ao meu lado, me ajudarem e me apoiarem em todas as decisões que tomo em minha vida.

Aos meus amigos Kaique, Careli, Nathana, Hallef, Kelly, Carlos, Artur, Antônio, Lucimauro, Rogervânia, Carol e Gustavo pelas conversas, conselhos, momentos de descontração durante esse importante período de minha vida.

Agradeço à minha orientadora, a professora Melissa Izabel Hannas, pela oportunidade concedida, pelo apoio constante e pelos valiosos ensinamentos ao longo do meu período de mestrado. Suas orientações foram fundamentais para o meu crescimento tanto pessoal quanto profissional.

A toda equipe NUPENSA, por todo aprendizado e ajuda durante a condução do experimento, os quais fazem parte dessa conquista.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da UFV, em especial ao “Dedeco”, Arlindo, Valdeir, Leandro e Fernando por todo auxílio, companheirismo e por terem me proporcionado um excelente ambiente de trabalho durante a condução da pesquisa.

A UFV, todos os professores e funcionários por todos conhecimentos passados, suporte e apoio durante o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo apoio na realização do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À empresa CJ do Brasil pelo financiamento da pesquisa.

A vocês, muito obrigada!

## RESUMO

MOTTA, Stephane Alverina Briguenta da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Efeito da Relação Triptofano: Lisina Digestíveis Sobre o Desempenho e Respostas Imunológicas em Suínos Desafiados Com LPS e Digestibilidade de Fontes de Aminoácidos.** Orientadora: Melissa Izabel Hannas.

Objetivou-se avaliar a relação Trip DIE: Lis DIE sobre desempenho e respostas imunológicas em suínos em crescimento após desafio com LPS, cento e vinte suínos machos inteiros com peso médio de  $16.5 \pm 0.50$  kg, foram distribuídos em blocos casualizados, em 4 tratamentos com 10 repetições e 3 animais por unidade experimental (UE). Os tratamentos experimentais consistiram em relações Trip DIE: Lis DIE de 16%, 18%, 21% e 24% na dieta, obtidas a partir da suplementação de L-triptofano. Foram avaliados o peso corporal (PC) final, ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD) e conversão alimentar (CA) dos animais. Amostras de sangue foram coletadas aos 21 dias de experimento para dosagem de serotonina sérica, e aos 26 dias foi realizada a inoculação de lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) para indução do desafio imunológico dos animais e, posteriormente foi realizada coleta de sangue para avaliar as citocinas pró-inflamatórias. Suínos alimentados com a relação de 16% Trip DIE: Lis DIE apresentaram menor PC final. Respostas quadráticas ( $P < 0.05$ ) foram observadas para PC final e CA com o aumento da Trip DIE: Lis DIE, com maior PC final e menor CA observados com 22.05 e 21% de Trip DIE: Lis DIE, respectivamente. As relações Trip DIE: Lis DIE promoveram aumento linear ( $P < 0.05$ ) no GPMD e tendência linear ( $P = 0.056$ ) do CRMD. Não foram observados efeitos ( $P > 0.10$ ) das relações de Trip DIE: Lis DIE sobre a concentração de serotonina. Aumento na dosagem das citocinas (GM-CSF, IFN  $\gamma$ , IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18 e TNF $\alpha$ ) foram observados nos suínos desafiados com LPS ( $P < 0.10$ ) quando comparados aos animais não desafiados. Houve efeito de interação ( $P < 0.10$ ) para IL-2 e IL-18. As relações Trip DIE: Lis DIE entre 21 e 24% otimizam as respostas de desempenho para os leitões de 16 a 33 kg de peso vivo, e possibilitam uma modulação na resposta imunológica quando os animais são submetidos a desafios agudo com LPS. Foi determinada a digestibilidade ileal estandardizada (DIE) de aminoácidos em diferentes fontes de triptofano. Doze suínos com cânula T no íleo, com peso inicial de  $44,78 \pm 3,63$  kg, foram distribuídos em um delineamento de quadrado latino incompleto

composto por três tratamentos, cada um com três repetições e dois blocos repetidos ao longo do tempo, totalizando seis repetições por tratamento experimental. Os tratamentos consistiram em uma mistura de aminoácidos cristalinos com L-triptofano (LAAs), resíduo de biomassa de triptofano (Prosin) e uma dieta isenta de proteína (DIP). Os resultados indicaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos coeficientes de DIE da proteína bruta, com maior digestibilidade para LAAs (101,26%) em comparação com o Prosin (73,40%). Para os aminoácidos essenciais, observaram-se diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) na DIE para Trip, Fen, His, Ile, Leu, Lis, Met, Met + Cis, Tre e Val. LAAs mostraram uma digestibilidade superior de Trip (107,73%) em relação ao Prosin (89,25%). Para os demais aminoácidos, as comparações entre LAAs e Prosin revelaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ), com digestibilidade superior para os LAAs. Os aminoácidos não essenciais também apresentaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) em todas as comparações entre LAAs e Prosin, com LAAs mostrando coeficientes de DIE superiores. Os valores de aminoácidos digestíveis ileais confirmam que os aminoácidos essenciais de LAAs são altamente digestíveis para suínos em crescimento, enquanto a biomassa de triptofano demonstra valores consideráveis de digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos, especialmente para o triptofano, o que sugere sua viabilidade na formulação de dietas para suínos.

Palavras-chave: L-Triptofano. Aminoácidos. Desempenho. Digestibilidade. Suínos. Desafio.

## ABSTRACT

MOTTA, Stephane Alverina Briguenta da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Effect of Digestible Tryptophan: Lysine Ratio on Performance and Immune Responses in Pigs Challenged with LPS and Digestibility of Amino Acid Source.** Advisor: Melissa Izabel Hannas.

The objective was to evaluate the effect of the SID Tryp: SID Lys ratio on performance and immune responses in growing pigs after an LPS challenge. One hundred and twenty intact male pigs with an average weight of  $16.5 \pm 0.50$  kg were randomly assigned to a block design, consisting of four treatments with 10 replicates and 3 animals per experimental unit (EU). The experimental treatments consisted of SID Tryp: SID Lys ratios of 16%, 18%, 21%, and 24% in the diet, obtained from L-tryptophan supplementation. Final body weight (BW), average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI), and feed conversion ratio (FCR) were evaluated. Blood samples were collected on day 21 of the experiment to measure serum serotonin levels, and on day 26, *E. coli* lipopolysaccharide (LPS) was administered to induce immune challenge in the animals, followed by blood collection to evaluate pro-inflammatory cytokines. Pigs fed the 16% SID Tryp: SID Lys ratio had the lowest final BW. Quadratic responses ( $P < 0.05$ ) were observed for final BW and FCR with increasing SID Tryp: SID Lys ratios, with the highest final BW and lowest FCR observed at 22.05% and 21% SID Tryp: SID Lys, respectively. The SID Tryp: SID Lys ratios promoted a linear increase ( $P < 0.05$ ) in ADG and a linear trend ( $P = 0.056$ ) in ADFI. No effects ( $P > 0.10$ ) of SID Tryp: SID Lys ratios on serotonin concentration were observed. Increased cytokine levels (GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, and TNF $\alpha$ ) were observed in LPS-challenged pigs ( $P < 0.10$ ) compared to non-challenged animals. An interaction effect ( $P < 0.10$ ) was observed for IL-2 and IL-18. SID Tryp: SID Lys ratios between 21% and 24% optimize performance responses for pigs weighing 16 to 33 kg and allow for modulation of the immune response when animals are subjected to an acute LPS challenge. The standardized ileal digestibility (SID) of amino acids in different tryptophan sources was determined. Twelve pigs with T-cannulas in the ileum, with an initial weight of  $44.78 \pm 3.63$  kg were allocated in an incomplete Latin square design with three treatments, each with three repetitions and two blocks repeated over time, totaling six repetitions per experimental treatment. The treatments consisted of a crystalline amino acid

mixture with L-tryptophan (LAAs), tryptophan biomass residue (Prosin), and a protein-free diet (PFD). The results indicated significant differences ( $P < 0.05$ ) in SID coefficients of crude protein, with higher digestibility for LAAs (101.26%) compared to Prosin (73.40%). For essential amino acids, significant differences ( $P < 0.05$ ) were observed in SID for Tryp, Phe, His, Ile, Leu, Lys, Met, Met+Cys, Thr, and Val. LAAs showed higher Tryp digestibility (107.73%) compared to Prosin (89.25%). For the other amino acids, comparisons between LAAs and Prosin revealed significant differences ( $P < 0.05$ ), with higher digestibility for LAAs. Non-essential amino acids also showed significant differences ( $P < 0.05$ ) in all comparisons between LAAs and Prosin, with LAAs demonstrating superior SID coefficients. The digestible ileal amino acid values confirm that the essential amino acids in LAAs are highly digestible for growing pigs, while tryptophan biomass demonstrates considerable standardized ileal digestibility values for amino acids, especially tryptophan, suggesting its viability in swine diet formulation.

Keywords: L-Tryptophan. Amino acids. Performance. Digestibility. Pigs. Challenge.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I .....	10
1. Introdução .....	13
2. Material e Métodos .....	14
2.1 Delineamento experimental, animais e dietas .....	14
2.2 Desempenho .....	15
2.3 Serotonina .....	15
2.4 Citocinas .....	16
2.5 Análise estatística .....	16
3. Resultados .....	17
3.1 Desempenho .....	17
3.2 Serotonina .....	18
3.3 Citocinas .....	18
4. Discussão .....	19
5. Conclusões .....	24
6. Referências .....	25
7. Tabelas .....	30
CAPÍTULO II .....	39
1. Introdução .....	42
2. Material e Métodos .....	43
2.1 Implantação da cânula T simples .....	43
2.2 Delineamento experimental, animais e dietas .....	44
2.3 Coleta de digesta .....	45
2.4 Processamento do material coletado e análise .....	45
2.5 Cálculo da determinação da digestibilidade .....	46
2.6 Análise estatística .....	46

3. Resultados .....	47
3.1 Coeficientes de digestibilidade ileal aparente.....	47
3.2 Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizado .....	47
4. Discussão.....	48
5. Conclusões.....	50
6. Referências .....	51
7. Tabelas.....	54
8. Declarações .....	61

## CAPÍTULO I

### **Relação de Trip DIE: Lis DIE sobre desempenho de suínos e resposta imunológica após desafio com LPS**

Stephane A. B. Da Motta<sup>1\*</sup>, Melissa Izabel Hannas<sup>2</sup>

*<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.  
[stephane.motta@ufv.br](mailto:stephane.motta@ufv.br) Orcid number (<https://orcid.org/0009-0006-8759-5693>)*

*<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.  
[melissa.hannas@ufv.br](mailto:melissa.hannas@ufv.br) Orcid number (<https://orcid.org/0000-0003-3198-0155>)*

\* Autor correspondente

## RESUMO

MOTTA, Stephane Alverina Briguenta da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Relação de Trip DIE: Lis DIE sobre desempenho de suínos e resposta imunológica após desafio com LPS.** Orientadora: Melissa Izabel Hannas.

Para avaliar o efeito da relação Trip DIE: Lis DIE sobre desempenho e respostas imunológicas em suínos em crescimento posteriormente desafiados com LPS, cento e vinte suínos machos inteiros com peso médio de  $16.5 \pm 0.50$  kg, foram distribuídos em blocos casualizados, em 4 tratamentos com 10 repetições e 3 animais por unidade experimental (UE). Os tratamentos experimentais consistiram em relações Trip DIE: Lis DIE de 16%, 18%, 21% e 24% na dieta, obtidas a partir da suplementação de L-triptofano. Foram avaliados o peso corporal (PC) final, ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CRMD) e conversão alimentar (CA) dos animais. Amostras de sangue foram coletadas aos 21 dias de experimento para dosagem de serotonina sérica, e aos 26 dias foi realizada a inoculação de lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) para indução do desafio imunológico dos animais e, posteriormente foi realizada coleta de sangue para avaliar as citocinas pró-inflamatórias. Os resultados mostraram que suínos alimentados com a relação de 16% Trip DIE: Lis DIE apresentaram menor PC final. As relações Trip DIE: Lis DIE influenciaram os parâmetros de desempenho avaliados. Respostas quadráticas ( $P < 0.05$ ) foram observadas para PC final e CA com o aumento da Trip DIE: Lis DIE, com maior PC final e menor CA observados com 22.05 e 21% de Trip DIE: Lis DIE, respectivamente. As relações Trip DIE: Lis DIE promoveram aumento linear ( $P < 0.05$ ) no GPMD e tendência linear ( $P = 0.056$ ) do CRMD. Não foram observados efeitos ( $P > 0.10$ ) das relações de Trip DIE: Lis DIE sobre a concentração de serotonina e sobre as citocinas inflamatórias. Aumento na dosagem das citocinas (GM-CSF, IFN  $\gamma$ , IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18 e TNF $\alpha$ ) foram observados nos suínos desafiados com LPS ( $P < 0.10$ ) quando comparados aos animais não desafiados. Houve efeito de interação ( $P < 0.10$ ) para IL-2 e IL-18. As relações Trip DIE: Lis DIE entre 21 e 24% otimizam as respostas de desempenho para os leitões de 16 a 33 kg de peso vivo, e possibilitam uma modulação na resposta imunológica quando os animais são submetidos a desafios agudo com LPS.

Palavras-chave: L-Triptofano. Desempenho. Suínos. Desafio.

## ABSTRACT

MOTTA, Stephane Alverina Briguente da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Effect of SID Tryp: SID Lys Ratio on Pig Performance and Immune Response after LPS Challenge.** Advisor: Melissa Izabel Hannas.

To evaluate the effect of the SID Tryp: SID Lys ratio on performance and immune responses in growing pigs after LPS challenge, one hundred and twenty entire male pigs with an average weight of  $16.5 \pm 0.50$  kg were randomly assigned in blocks to 4 treatments with 10 replicates and 3 animals per experimental unit (EU). The experimental treatments consisted of SID Tryp: SID Lys ratios of 16%, 18%, 21%, and 24% in the diet, obtained from L-tryptophan supplementation. Final body weight (BW), average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI), and feed conversion ratio (FCR) were evaluated. Blood samples were collected on day 21 of the experiment to measure serum serotonin levels, and on day 26, *E. coli* lipopolysaccharide (LPS) was administered to induce immune challenge in the animals, followed by blood collection to evaluate pro-inflammatory cytokines. The results showed that pigs fed with the 16% SID Tryp: SID Lys ratio had lower final BW. The SID Tryp: SID Lys ratios influenced the evaluated performance parameters. Quadratic responses ( $P < 0.05$ ) were observed for final BW and FCR with increasing SID Tryp: SID Lys ratios, with higher final BW and lower FCR observed at 22.05% and 21% Trip DIE: Lis DIE, respectively. The SID Tryp: SID Lys ratios promoted a linear increase ( $P < 0.05$ ) in ADG and a linear trend ( $P = 0.056$ ) in ADFI. No effects ( $P > 0.10$ ) of the SID Tryp: SID Lys ratios were observed on serotonin concentration or inflammatory cytokines. Increases in cytokine levels (GM-CSF, IFN  $\gamma$ , IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, and TNF $\alpha$ ) were observed in pigs challenged with LPS ( $P < 0.10$ ) compared to non-challenged animals. There was an interaction effect ( $P < 0.10$ ) for IL-2 and IL-18. SID Tryp: SID Lys ratios between 21 and 24% optimize performance responses for piglets weighing 16 to 33 kg live weight, and allow for modulation of the immune response when animals are subjected to acute LPS challenges.

Keywords: L-Tryptophan. Performance. Pigs. Challenge.

## 1. Introdução

O triptofano é um aminoácido essencial, que deve ser suplementado através da dieta, visto que suínos não têm a capacidade de sintetizá-los endogenamente. Assim como outros aminoácidos essenciais, sua quantidade limitada compromete a eficácia na utilização dos demais aminoácidos na deposição proteica. Além do seu papel na síntese proteica, o triptofano participa da produção de importantes metabólitos, como a niacina (vitamina B3) e a melatonina (neuro-hormônio) produzida a partir da serotonina (Pereira, 2014; Henry et al., 1992). A serotonina, por sua vez, é um neurotransmissor de importância significativa no controle do consumo alimentar, na regulação do sono, na temperatura corporal, na sensibilidade à dor e no comportamento agressivo (Li et al., 2006; Richard et al., 2009).

Ademais, o triptofano exerce efeitos benéficos no sistema imunológico, incluindo capacidade antioxidante, manutenção da integridade da mucosa, modulação na composição da microbiota e promoção da saúde intestinal. Tais benefícios são atribuídos aos metabólitos resultantes do catabolismo do triptofano, os quais ativam o sistema imunológico por meio da interação com o receptor de hidrocarboneto aril, que é expresso em várias células imunológicas, incluindo células dendríticas, macrófagos e linfócitos (Marsland, 2016; Wenzel et al., 2020).

Nesse contexto, a avaliação da resposta imunológica de animais suplementados com triptofano em situações de desafios pode proporcionar informações importantes sobre a capacidade desses animais em lidar com infecções e processos inflamatórios. Essas são informações importantes na determinação dos níveis adequados de triptofano na dieta de suínos (Guzik et al., 2005).

Para uma suplementação adequada de triptofano em suínos na fase inicial, é essencial atender à relação ideal de triptofano:lisina digestível ileal estandardizada (Trip DIE: Lis DIE) nas dietas. Conforme as diretrizes de Rostagno et al. (2011), a recomendação estabelecida é de 18%, enquanto o NRC (2012) sugere 16%, e Rostagno et al. (2017) propõem 19%. Estes valores indicam uma divergência em relação as recomendações, e, de acordo com os valores propostos por Rostagno et al., (2011) e Rostagno et al., (2017) sugere-se um aumento crescente na relação Trip DIE: Lis DIE, evidenciando a necessidade de atualizações periódicas desta relação.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da relação de Trip DIE: Lis DIE mediante a suplementação de diferentes níveis de L-triptofano sobre

desempenho de suínos e resposta imunológica após um desafio com *lipopolissacarídeo de E. Coli* (LPS).

## **2. Material e Métodos**

O experimento foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Produção e Nutrição de Suínos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, durante o período de setembro a outubro de 2022. Todos os procedimentos adotados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP) da Universidade Federal de Viçosa, conforme protocolo de número 59/2023, e seguiram as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA (Brasil, 2008).

### **2.1 Delineamento experimental, animais e dietas**

O experimento foi conduzido com 120 suínos machos inteiros, híbridos comerciais (Camborough x AGPIC 338) de alto potencial genético adquiridos pela (Agroceres PIC, Patos de Minas - MG), com peso médio de  $16.5 \pm 0.50$  kg. Os animais foram distribuídos em blocos casualizados (DBC), considerando o peso, com 4 tratamentos dietéticos x 10 repetições com 3 animais por baia, sendo a baia a unidade experimental.

Os tratamentos dietéticos foram constituídos por: T1 Dieta basal deficiente em triptofano, correspondente à razão Trip DIE: Lis DIE igual a 16% sem adição de L-Triptofano; T2 relação Trip DIE: Lis DIE igual a 18%; T3 relação Trip DIE: Lis DIE igual a 21% e T4 relação Trip DIE: Lis DIE igual a 24%. A suplementação de triptofano foi realizada a partir da suplementação da fonte L-Triptofano-98% fornecido pela empresa CJ do Brasil (Piracicaba, São Paulo, Brasil), descrito na (Tabela 1).

As dietas experimentais foram formuladas a base e milho e farelo de soja e foram devidamente suplementadas com minerais e vitaminas (Tabela 2). Os níveis de aminoácidos com exceção do triptofano, foram mantidos iguais nos quatro tratamentos. O percentual de lisina digestível da dieta foi inferior ao nível recomendado por Rostagno et al. (2017) para a categoria de suínos na fase inicial, garantindo que assim que este não fosse um fator limitante. Todos os ingredientes utilizados foram submetidos à análise dos teores de aminoácidos, e com base no coeficiente de digestibilidade sugerido por Rostagno et al. (2017), sendo estimados os

valores de aminoácidos digestíveis da dieta experimental. Amostras das dietas experimentais foram coletadas, enviadas ao Laboratório CBO (Valinhos, São Paulo, Brasil) para análise de concentração de proteína bruta e de aminoácidos totais de acordo com os métodos descritos por White et al. (1986), Hagen et al. (1989) e Lucas & Sotelo (1980) utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) (Tabela 3).

Durante o período experimental, os animais foram alojados em gaiolas metálicas suspensas, com piso e laterais telados, equipadas com comedouros semiautomáticos e bebedouros tipo chupeta. Cada baia continha 3 animais, proporcionando uma área disponível de 0,544 m<sup>2</sup> por animal. Galpão em alvenaria, com piso de concreto, cobertura de telha cerâmica e forro de madeira. A sala estava equipada com aquecedores elétricos. Ao longo do período experimental de 26 dias, todos os animais tiveram acesso livre à água e à ração *ad libitum*.

## 2.2 Desempenho

No início e ao término do experimento, todos os animais foram submetidos a pesagem, e durante o período experimental a quantidade de ração fornecida e as sobras de ração foram quantificadas. Com base nos dados coletados, foram calculados o ganho de peso médio diário (GPMD), o consumo de ração médio diário (CRMD), e a conversão alimentar (CA), como respostas às diferentes relações de Trip DIE: Lis DIE dietéticas.

## 2.3 Serotonina

Aos 21 dias do período experimental, foi realizada a coleta de sangue de 40 animais, sendo selecionado aleatoriamente um animal de cada repetição, totalizando 10 repetições, para a dosagem da concentração de serotonina. A coleta foi realizada no sinus orbital, utilizando tubos sem anticoagulante, imediatamente colocados em gelo e, em seguida centrifugado a 1.500 × g a 4 °C (centrífuga R/5702, Copyright Eppendorf AG, Alemanha) para obtenção de amostras de soro. Foi utilizado um kit imunoenzimático (ELISA) da marca Cloud-Clone Corp para avaliar os níveis de serotonina do soro obtido. As análises foram realizadas pelo Laboratório Especializado em Análises Científicas (LEAC), localizado em Santana, São Paulo, Brasil.

## 2.4 Citocinas

Aos 26 dias de experimento, dois animais foram selecionados de seis repetições de cada tratamento para realizar o desafio imunológico. O desafio consistiu na administração intramuscular (IM) de *lipopolissacarídeo de Escherichia coli* (LPS) do sorotipo O55:B5, fornecido pela Sigma-Aldrich. Para cada repetição, um animal foi escolhido para receber a dose de LPS e outro para receber solução salina estéril. O animal selecionado para receber LPS recebeu uma dose de 30 µg de LPS/kg de PC por animal, de acordo com a metodologia descrita por Mc Gilvray et al. (2018). Os animais designados para o grupo não desafiado (controle) receberam injeções IM de solução salina estéril (0.9%) simultaneamente aos animais desafiados com LPS.

Após a administração da solução de LPS ou solução salina, foi aguardado um intervalo de três horas, e em seguida prosseguiu-se a coleta de sangue. O sangue foi coletado através da via sinus orbital e em tubos sem anticoagulante. Os tubos foram imediatamente colocados em suporte com gelo e, posteriormente, centrifugados para obtenção de soro. As amostras foram centrifugadas a  $1.900 \times g$  a  $4^\circ\text{C}$  (centrífuga R/5702, Copyright Eppendorf AG, Alemanha). Posteriormente as amostras de soro foram armazenadas em tubos do tipo Eppendorf e conservados à  $-20^\circ\text{C}$  para preservar a integridade da amostra até a análise. Foi utilizado um kit MILLIPLEX<sup>®</sup>MAP (Porcine Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel Cat#PCYTMAG-23K) para avaliar a resposta inflamatória do Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF), Interferon-Gama (IFN $\gamma$ ), Interleucina-1 Alfa (IL-1 $\alpha$ ), Interleucina-1 Beta (IL-1 $\beta$ ), Interleucina-1 Receptor Antagonista (IL-1ra), Interleucina-2 (IL-2), Interleucina-4 (IL-4), Interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), Interleucina-10 (IL-10), Interleucina-12 (IL-12), Interleucina-18 (IL-18) e fator de necrose tumoral (TNF $\alpha$ ). As análises foram realizadas no Laboratório Especializado em Análises Científicas (LEAC), localizado em Santana, São Paulo, Brasil.

## 2.5 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R versão 4.3.1 (RStudio, 2023). Os dados de desempenho foram submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando as diferenças como significativas se  $P < 0.05$  usando a instrução LSMEANS. O efeito fixo da dieta e efeito do bloco foram incluídos

no modelo, a baía foi considerada como a unidade experimental para as variáveis resposta de desempenho. Contrastes polinomiais ortogonais foram utilizados para determinar os efeitos lineares e quadráticos das relações Trip DIE: Lis DIE nos critérios de resposta de desempenho.

Os níveis de serotonina foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as diferenças foram consideradas significativas se  $P < 0.05$  usando a instrução LSMEANS. O efeito fixo da dieta e efeito do bloco foram incluídos no modelo, o animal da repetição foi considerado a unidade experimental.

Os dados de citocinas foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as diferenças foram consideradas significativas se  $P < 0.10$  usando a instrução LSMEANS. Sendo incluídos no modelo o efeito fixo da dieta, do desafio e efeito do bloco.

### **3. Resultados**

#### **3.1 Desempenho**

Os resultados referentes ao desempenho estão apresentados na Tabela 4. A análise do peso inicial dos animais não revelou diferenças estatisticamente significativas, indicando homogeneidade entre as amostras testadas e confirmando sua não influência nos resultados obtidos. Foram observados efeito das relações Trip DIE: Lis DIE sobre o peso corporal final (PCF) ganho de peso médio diário (GPMD) e sobre a conversão alimentar ( $P < 0.05$ ). O aumento da relação Trip DIE: Lis DIE na dieta dos suínos promoveu resposta quadrática sobre o PCF dos animais. A partir dos valores obtidos pela equação foi possível calcular o valor máximo de PCF para a relação Trip DIE: Lis DIE, alcançando  $PCF = 32.709$  quando  $X = 22.05$ , de acordo com o modelo de regressão polinomial quadrática.

As relações Trip DIE: Lis DIE indicaram aumento crescente no GPMD e CRMD ( $p < 0.05$ ) pelo método linear até o máximo nível testado 24% (GPMD = 0,777) e (CRMD = 1,184).

Houve influência significativa ( $p = 0.0323$ ) na conversão alimentar (CA), onde foi observado que a menor relação de 16% promoveu maior (CA = 1.585) e a relação de 21% o menor valor (CA = 1.509). Os resultados mostraram ser significativos para equações tanto lineares quanto quadráticas. O valor mínimo calculado para a conversão alimentar foi estimado em CA = 1.505 quando  $X = 21.15$ , considerando a

relação de Trip DIE: Lis DIE de acordo com o modelo de regressão polinomial quadrática.

### 3.2 Serotonina

Os efeitos da relação Trip DIE: Lis DIE sobre os níveis de serotonina são apresentados na Tabela 5. Não foram observadas diferenças ( $p > 0.05$ ) entre os níveis, indicando que as relações Trip DIE: Lis DIE dietéticas, não influenciaram nos níveis de serotonina.

### 3.3 Citocinas

A Tabela 6 apresenta os resultados da concentração de citocinas sanguíneas em suínos, submetidos ou não ao desafio com LPS de *E. coli*, após o consumo de dietas com diferentes relações de Trip DIE: Lis DIE. Todos os resultados se mostraram significativos ( $p < 0,10$ ) para a resposta ao desafio. No entanto, não houve efeito significativo ( $p < 0,10$ ) para os níveis de Trip DIE: Lis DIE na resposta das citocinas avaliadas. Foram observados efeitos de interação entre as relações de Trip DIE: Lis DIE e o desafio imunológico sobre as concentrações de IL-2 ( $P = 0,050$ ) apresentadas na Tabela 7, e IL-18 ( $P = 0,064$ ) apresentadas na Tabela 8.

O desdobramento de IL-2 mostrou que a relação Trip DIE: Lis DIE influenciou significativamente os resultados do grupo controle ( $P = 0.009$ ), com a maior resposta de IL-2 observada na relação de 21% de Trip DIE: Lis DIE. No grupo de animais desafiados com LPS, não houve diferença significativa entre os níveis de triptofano ( $P = 0.789$ ). No entanto, houve uma diferença significativa ( $P = 0.033$ ) entre os grupos controle e LPS no nível de 24% de Trip DIE: Lis DIE, onde a resposta de IL-2 foi superior no grupo desafiado com LPS (0.182) em comparação com o grupo controle (0.065).

A relação Trip DIE: Lis DIE influenciou significativamente os resultados de IL-18 nos grupos controle e desafiado com LPS. No grupo controle, não houve diferença significativa nos níveis de triptofano na resposta de IL-18 ( $P = 0.427$ ). No entanto, no grupo desafiado com LPS, a relação de 24% de Trip DIE: Lis DIE resultou na maior resposta de IL-18 (1.417), com significância ( $P = 0.076$ ). Houve diferença significativa para os níveis de triptofano de 16% ( $P = 0.024$ ), 18% ( $P = 0,003$ ) e 24% ( $P < 0,001$ ),

que apresentaram aumento na concentração IL-18 quando foram desafiados com LPS.

#### **4. Discussão**

A garantia de uma alimentação precisa, que atenda às exigências nutricionais dos suínos na fase inicial, é crucial tanto do ponto de vista econômico quanto ambiental na produção animal, incluindo a determinação da relação ideal de triptofano para lisina.

O estudo demonstrou que os níveis de triptofano influenciaram o PCF dos animais com resposta quadrática, sendo o valor máximo calculado para PCF 32.709 quando  $X = 22.05$ , de acordo com o modelo de regressão polinomial quadrática, indicando esta como a relação ideal de triptofano DIE para lisina DIE para suínos na fase inicial para obter maior PCF.

Oliveira et al. (2016), também avaliaram diferentes relações Trip DIE: Lis DIE para suínos na fase inicial, e obtiveram maior PCF com a suplementação máxima que foi de 23%. No entanto o Modelo de Resposta Linear-Plateau (LRP) mostrou que o PCF máximo obtido foi quando a relação foi de 22%, consistentes com os achados neste estudo. O peso máximo dos animais atrelados aos maiores níveis de suplementação de triptofano pode ser uma indicação do uso eficiente de nutrientes e um efeito limitante do triptofano no desenvolvimento de animais com baixas relações Trip DIE: Lis DIE, esses valores corroboram com vários achados para suínos nas fases iniciais e em crescimento (Le Floc'h et al., 2009; Pasquetti et al., 2015; Liu et al., 2019). Capozzalo et al. (2020) testando níveis para suínos na fase inicial encontraram maior GPMD quando a relação foi de 23 e 24%, consistentes ao encontrado neste estudo, onde o maior nível de 24% expressou maior GPMD dos animais, com efeito linear para a relação Trip DIE: Lis DIE. Em outro estudo, uma meta análise realizada por Simongiovanni et al. (2012) demonstrou que o aumento da relação Trip DIE: Lis DIE de 17% para 22% aumentou o GPMD em 8%, sendo um valor considerável na produção de suínos. Estes estudos comprovam que o triptofano tem influência sobre o ganho de peso dos animais, que pode estar relacionado ao consumo.

O aumento do consumo também mostrou uma relação linear com os níveis de triptofano na dieta. No presente estudo, observou-se um aumento de 5% no consumo ao elevar os níveis de triptofano de 16% para 24%, em consonância com descobertas anteriores de Pasquetti et al. (2015), Guzik et al. (2002) e Zhang et al. (2007), os quais

também registraram um efeito linear dos níveis de triptofano sobre o consumo de ração. Este efeito pode ser explicado pela influência das quantidades ideais de triptofano no aumento da produção de serotonina, estimulando a ingestão de ração (Henry et al., 1992). Segundo Le Floc'h et al. (2009), a deficiência de triptofano pode reduzir o consumo de ração em leitões devido ao aumento de aminoácidos neutros, como valina, leucina, isoleucina e fenilalanina, que podem interferir na disponibilidade de triptofano para produção de serotonina, diminuindo conseqüentemente a ingestão de ração.

Entretanto, neste estudo, não foi observado nenhum efeito da relação Trip DIE: Lis DIE nas concentrações de serotonina. Woong et al. (2022) investigaram os efeitos da relação Trip DIE: Lis DIE e os níveis de serotonina no plasma e no hipotálamo. Os resultados indicaram que as concentrações de serotonina no plasma não puderam ser explicadas pelos níveis de triptofano, enquanto a concentração no hipotálamo aumentou linearmente com o aumento do nível de triptofano. Em estudo conduzido por Liu et al. (2013) os autores demonstraram que as respostas da serotonina estavam associadas aos níveis de triptofano quando avaliados no hipotálamo. Esses resultados sugerem que o hipotálamo pode oferecer uma indicação mais precisa da concentração de serotonina em comparação com os parâmetros sanguíneos.

Adicionalmente, a falta de efeito observada pode ser atribuída ao momento das coletas dos dados. No presente estudo, os níveis de serotonina foram avaliados aos 21 dias de experimento. É plausível considerar que, nesse período, os animais já estivessem adaptados aos níveis de triptofano presentes na dieta, o que poderia ter mitigado qualquer resposta mensurável ao aumento ou diminuição dos níveis de serotonina em resposta à relação Trip DIE: Lis DIE.

O aumento do consumo é particularmente relevante, especialmente porque animais em estágios iniciais normalmente diminuem a ingestão nas primeiras semanas após o desmame, prejudicando o desempenho. O estímulo ao consumo proporcionado pelo triptofano pode desempenhar um papel fundamental na melhoria do desempenho desses animais durante a fase inicial. Portanto, pesquisas futuras são necessárias para investigar os efeitos da relação Trip DIE: Lis DIE em diferentes momentos durante o experimento, permitindo uma compreensão mais abrangente dos efeitos do triptofano na regulação da serotonina e, conseqüentemente, no comportamento alimentar dos animais.

Os valores ideais para relação Trip DIE: Lis DIE propostos pelo NRC (2012) sugerem 16%, enquanto Rostagno et al. (2017) sugerem 19% para suínos em fases iniciais, sendo estas as principais referências utilizadas para formulação de rações. Em estudos adicionais avaliando essa relação para suínos na fase inicial, Quant et al. (2012), Nørgaard et al. (2015), Gonçalves et al. (2015) e Liu et al. (2019) encontraram valores ideais de 15%, 16%, 17% e 19%, respectivamente. No entanto, esses valores estão abaixo da relação ideal identificada neste estudo, que foi de 21% para alcançar o valor mínimo de Conversão Alimentar (CA), um parâmetro crucial para determinar o desempenho animal. Estudos mais recentes, como o de Capozzalo et al. (2020), corroboram os resultados deste estudo, encontrando também uma melhor CA com 21%. Nossas descobertas, juntamente com os valores obtidos na literatura, sugerem um aumento nas exigências de Trip DIE: Lis DIE, possivelmente associado ao potencial genético dos animais e às condições ambientais.

A influência do sexo também pode ser um aspecto relevante a se considerar, conforme evidenciado por Pasquetti et al. (2020), que avaliou a relação de Trip DIE: Lis DIE em marrãs com peso inicial de 15 kg. Os resultados dessa pesquisa sugeriram uma relação ideal de 15%, o que é consideravelmente menor do que os valores identificados neste estudo. Essa discrepância sugere que o sexo pode ter exercido uma influência significativa sobre esses resultados.

Além disso, abordagens relacionadas a desafios imunológicos sugerem um aumento na exigência de aminoácidos, incluindo o triptofano, durante a estimulação do sistema imunológico dos animais (Le Floc'h et al. 2004; Melchior et al. 2004). Observações semelhantes foram feitas por Ridder et al. (2012) e Trevisi et al. (2010), que notaram um aumento na necessidade de triptofano em suínos em crescimento durante estados inflamatórios. Esse aumento na demanda por triptofano em situações de exposição a patógenos e condições sanitárias desfavoráveis sugere uma modificação no metabolismo desse aminoácido, possivelmente direcionando-o da função de crescimento para uma função de suporte imunológico.

Nosso estudo teve como objetivo avaliar a resposta inflamatória aguda em suínos na fase inicial, com intenção de compreender como esses animais reagiriam a um desafio após terem sido suplementados previamente com dietas contendo diferentes níveis de triptofano. A hipótese era que os animais que recebessem maiores níveis de triptofano poderiam apresentar respostas distintas sobre o desafio aplicado,

uma vez que teriam uma melhor imunidade estabelecida através da suplementação com triptofano, e com isso apresentariam uma melhor resposta imunológica.

O aumento das citocinas após o desafio com LPS, demonstrou a eficácia do desafio proposto em estimular as vias de sinalização que levam à secreção de citocinas em resposta à inflamação causada pelo LPS (Kruse et al., 2008). As citocinas pró-inflamatórias têm papel fundamental na resposta imune, sendo liberadas rapidamente com a presença do LPS, encontrados na parede celular de bactérias gram-negativas (Degré, 1996).

Gu et al. (2023) e Liu et al. (2022) realizaram estudos para investigar o efeito do triptofano na resposta imunológica de suínos desafiados com LPS. Eles observaram uma redução significativa nas citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ , avaliadas no fígado e cólon dos suínos. Esses resultados sugerem que a inclusão de triptofano na dieta pode ter atenuado a resposta inflamatória desencadeada pelo LPS. Embora esses estudos considerem que uma resposta inflamatória menor seja desejável, devido à redução da ingestão de ração e à realocação de nutrientes destinados ao crescimento (Webel et al., 1997; Daiwen et al., 2008), é essencial ter cautela. A ausência de resposta também pode sinalizar que o sistema imunológico do animal não está em condições adequadas para enfrentar o desafio, o que poderia afetar negativamente seu desempenho futuro.

Por outro lado, houve interações significativas para as interleucinas IL-2 e IL-18 em suínos submetidos ao desafio com LPS de *E. coli*, após o consumo de dietas com diferentes relações de Trip DIE: Lis DIE. Essas interações são fundamentais para compreender como diferentes proporções de aminoácidos dietéticos podem modular a resposta imunológica. O desdobramento de IL-2 revelou que a relação Trip DIE: Lis DIE influenciou significativamente os resultados no grupo controle, com a maior resposta de IL-2 observada na relação de 21% de Trip DIE: Lis DIE. Este achado sugere que, em condições normais, uma relação específica de triptofano e lisina na dieta pode otimizar a produção de IL-2, importante na ativação de linfócitos T. No entanto, no grupo de animais desafiados com LPS, não houve diferença significativa entre os níveis de triptofano, indicando que o desafio imunológico pode mascarar os efeitos das relações dietéticas específicas de Trip DIE: Lis DIE sobre IL-2.

Houve diferença significativa entre os grupos controle e LPS com a relação de 24% de Trip DIE: Lis DIE, onde a resposta de IL-2 foi superior no grupo desafiado com LPS. Isso indica que um alto nível de triptofano na dieta, quando associado a um

desafio, resulta em uma maior resposta de IL-2. O aumento de IL-2 em condições de desafio agudo, como as induzidas neste experimento, é esperado. A elevação dos níveis de IL-2, juntamente com uma proporção de 24% de triptofano, sugere uma resposta mais rápida ao desafio, facilitando uma recuperação mais eficiente dos danos através da ativação de citocinas pró-inflamatórias.

A relação Trip DIE: Lis DIE influenciou os resultados de IL-18 nos grupos controle e desafiado com LPS. No grupo controle, não houve diferença significativa nos níveis de triptofano na resposta de IL-18, sugerindo que, na ausência de estresse imunológico, as variações na proporção de triptofano e lisina na dieta não afetam a produção de IL-18. Entretanto, no grupo desafiado com LPS, a relação de 24% de Trip DIE: Lis DIE resultou na maior resposta de IL-18. Isso é consistente com os resultados de Liu et al. (2022), que observaram um aumento linear significativo de IL-18 com a adição de 0.2% e 0.4% de triptofano na dieta de leitões desafiados com LPS. Este achado destaca a importância do triptofano na modulação da resposta imunológica e inflamatória intestinal, especialmente em condições desafiadoras.

A interação significativa das interleucinas IL-2 e IL-18 sugere que a relação Trip DIE: Lis DIE modula a resposta imunológica dos suínos, especialmente sob desafio com LPS. Essas descobertas têm implicações práticas para a formulação de dietas que melhoram a saúde imunológica dos suínos, ajudando-os a responder melhor aos desafios comuns na produção e aumentando sua resistência a situações de estresse.

A falta de resultados significativos nesse estudo pode ser atribuída a algumas limitações do experimento. Diferentemente de outras pesquisas, nosso estudo focou especificamente na análise das concentrações de citocinas no sangue. Além disso, apenas a resposta aguda das citocinas foi analisada, sem levar em consideração a recuperação dos animais após o desafio inflamatório. É possível que os animais respondessem de maneira diferente durante a fase de recuperação, o que poderia influenciar os resultados, sendo relevante para a escolha da relação Trip DIE: Lis DIE.

Portanto, embora nossos resultados tenham mostrado significância para o desafio inflamatório e algumas interações, a falta de efeitos significativos dos níveis de triptofano sugere a necessidade de investigações mais aprofundadas, considerando não apenas a resposta aguda, mas também a recuperação dos animais e os efeitos ao longo do tempo. Essa abordagem mais abrangente pode fornecer respostas mais completas sobre o papel do triptofano na resposta imunológica dos suínos.

## 5. Conclusões

Considerando a relação Trip DIE: Lis DIE que otimizam as respostas de desempenho para os leitões, estão acima das sugeridas na literatura, recomendando-se as relações de Trip DIE: Lis DIE de 21% a 24% para obtermos as melhores respostas de CA e GPMD respectivamente, e ainda considerando que essas possibilitam uma melhor resposta imunológica quando os animais são submetidos a desafios.

Além disso, é evidente que novos estudos são necessários para uma compreensão mais aprofundada da resposta imunológica dos animais e dos efeitos da relação Trip DIE: Lis DIE sobre os níveis de serotonina. Essas investigações podem fornecer orientações valiosas para a formulação de dietas mais eficazes e para a promoção do bem-estar e da saúde dos suínos.

## 6. Referências

Capozzalo, M. M., Kim, J. C., Htoo, J. K., de Lange, C. F. M., Mullan, B. P., Resink, J. W., et al. (2020). Estimating the standardised ileal digestible tryptophan requirement of pigs kept under commercial conditions in the immediate post-weaning period. *Animal Feed Science and Technology*, 259, 114342. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114342>

Daiwen, C., Keying, Z. e Chunyan, W. (2008). Influências do desafio imunológico induzido por lipopolissacarídeos no desempenho e na renovação proteica de todo o corpo em leitões desmamados. *Ciência Pecuária*, 113 (2-3), 291-295. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.06.011>

De Ridder, K., Levesque, C. L., Htoo, J. K., & De Lange, C. F. M. (2012). Immune system stimulation reduces the efficiency of tryptophan utilization for body protein deposition in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 90(10), 3485-3491. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4830>

DEGRÉ, M. (1996). Interferons and other cytokines in bacterial infections. *Journal of interferon & cytokine research*, 16(6), 417-426. <https://doi.org/10.1089/jir.1996.16.417>

Gonçalves, M. A. D., Nitikanchana, S., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Bello, N. M., Goodband, R. D., et al. (2015). Effects of standardized ileal digestible tryptophan: lysine ratio on growth performance of nursery pigs. *Journal of animal science*, 93(8), 3909-3918. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9083>

Gu, K., Wang, F., Sun, W., Liu, G., Jia, G., Zhao, H., et al. (2023). Tryptophan alleviates lipopolysaccharide-induced liver injury and inflammation by modulating necroptosis and pyroptosis signaling pathways in piglets. *Animal Biotechnology*, 1-12. <https://doi.org/10.1080/10495398.2023.2255064>

Guzik, A. C., Shelton, J. L., Southern, L. L., Kerr, B. J., & Bidner, T. D. (2005). The tryptophan requirement of growing and finishing barrows. *Journal of animal science*, 83(6), 1303-1311. <https://doi.org/10.2527/2005.8361303x>

Guzik, A. C., Southern, L. L., Bidner, T. D., & Kerr, B. J. (2002). The tryptophan requirement of nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 80(10), 2646-2655. <https://doi.org/10.1093/ansci/80.10.2646>

Henry, Y., Sève, B., Colleaux, Y., Ganier, P., Saligaut, C., & Jégo, P. (1992). Interactive effects of dietary levels of tryptophan and protein on voluntary feed intake and growth performance in pigs, in relation to plasma free amino acids and hypothalamic serotonin. *Journal of animal science*, 70(6), 1873-1887. <https://doi.org/10.2527/1992.7061873x>

Henry, Y., Sève, B., Colleaux, Y., Ganier, P., Saligaut, C., & Jégo, P. (1992). Interactive effects of dietary levels of tryptophan and protein on voluntary feed intake and growth performance in pigs, in relation to plasma free amino acids and hypothalamic serotonin. *Journal of animal science*, 70(6), 1873-1887. <https://doi.org/10.2527/1992.7061873x>

Kruse, R., Essén-Gustavsson, B., Fossum, C., & Jensen-Waern, M. (2008). Blood concentrations of the cytokines IL-1beta, IL-6, IL-10, TNF-alpha and IFN-gamma during experimentally induced swine dysentery. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-50-32>

Kwon, W. B., Soto, J. A., & Stein, H. H. (2022). Effects of dietary leucine and tryptophan on serotonin metabolism and growth performance of growing pigs. *Journal of animal science*, 100(1), skab356. <https://doi.org/10.1093/jas/skab356>

Le Floc'h, N., Lebellego, L., Matte, J. J., Melchior, D., & Sève, B. (2009). The effect of sanitary status degradation and dietary tryptophan content on growth rate and tryptophan metabolism in weaning pigs. *Journal of Animal Science*, 87(5), 1686-1694. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1348>

Le Floc'h, N., Melchior, D., & Obled, C. (2004). Modifications of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. *Livestock Production Science*, 87(1), 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2003.09.005>

Li, Y. Z., Kerr, B. J., Kidd, M. T., & Gonyou, H. W. (2006). Use of supplementary tryptophan to modify the behavior of pigs. *Journal of animal science*, 84(1), 212-220. <https://doi.org/10.2527/2006.841212x>

Liu, G., Lu, J., Sun, W., Jia, G., Zhao, H., Chen, X., et al. (2022). Tryptophan supplementation enhances intestinal health by improving gut barrier function, alleviating inflammation, and modulating intestinal microbiome in lipopolysaccharide-challenged piglets. *Frontiers in Microbiology*, 13, 919431. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.919431>

Liu, G., Tao, J., Lu, J., Jia, G., Zhao, H., Chen, X., ... & Wang, J. (2022). Dietary tryptophan supplementation improves antioxidant status and alleviates inflammation, endoplasmic reticulum stress, apoptosis, and pyroptosis in the intestine of piglets after lipopolysaccharide challenge. *Antioxidants*, 11(5), 872. <https://doi.org/10.3390/antiox11050872>

Liu, H. W., Shi, B. M., Liu, D. S., & Shan, A. S. (2013). Supplemental dietary tryptophan modifies behavior, concentrations of salivary cortisol, plasma epinephrine, norepinephrine and hypothalamic 5-hydroxytryptamine in weaning piglets. *Livestock Science*, 151(2-3), 213-218. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.11.003>

Liu, J. B., Yan, H. L., Cao, S. C., Liu, J., Li, Z. X., & Zhang, H. F. (2019). The response of performance in grower and finisher pigs to diets formulated to different tryptophan to lysine ratios. *Livestock Science*, 222, 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.01.016>

Marsland, B. J. (2016). Regulating inflammation with microbial metabolites. *Nature medicine*, 22(6), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nm.4117>

McGilvray, W. D., Klein, D., Wooten, H., Dawson, J. A., Hewitt, D., Rakhshandeh, A. R., et al. (2019). Immune system stimulation induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide alters plasma free amino acid flux and dietary nitrogen utilization in growing pigs. *Journal of animal science*, 97(1), 315-326. <https://doi.org/10.1093/jas/sky401>

Melchior, D., Sève, B., & Le Floc'H, N. (2004). Chronic lung inflammation affects plasma amino acid concentrations in pigs. *Journal of Animal Science*, 82(4), 1091-1099. <https://doi.org/10.2527/2004.8241091x>

National Research Council, Southern, L. L., Adeola, O., & de Lange, C. F. (2012). *Nutrient requirements of swine*. National Academies Press.

Nørgaard, J. V., Pedersen, T. F., Soumeh, E. A., Blaabjerg, K., Canibe, N., Jensen, B. B., & Poulsen, H. D. (2015). Optimum standardized ileal digestible tryptophan to lysine ratio for pigs weighing 7–14 kg. *Livestock science*, 175, 90-95. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.02.012>

Oliveira, G. M., Ferreira, A. S., Campos, P. F., Rodrigues, V. V., Silva, F. C. O., Santos, W. G., et al. (2016). Digestible tryptophan to lysine ratios for weaned piglets at 26 days of age. *Animal Production Science*, 57(10), 2027-2032. <https://doi.org/10.1071/an15504>

Pasquetti, T. J., Esteves, L. A. C., de Paula, V. R. C., Bonagúrio, L. P., Tanamati, W., Fachinello, M. R., et al. (2020). Standardized ileal digestible tryptophan and lysine for 15–30 kg gilts. *The Journal of Agricultural Science*, 158(7), 624-631. <https://doi.org/10.1017/S0021859620000933>

Pasquetti, T. J., Pozza, P. C., Moreira, I., Santos, T. C., Diaz-Huepa, L. M., Castilha, L. D., et al. (2015). Simultaneous determination of standardized ileal digestible tryptophan and lysine for barrows from 15 to 30 kg live weight. *Livestock Science*, 181, 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.09.021>

Quant, A. D., Lindemann, M. D., Kerr, B. J., Payne, R. L., & Cromwell, G. L. (2012). Standardized ileal digestible tryptophan-to-lysine ratios in growing pigs fed corn-based and non-corn-based diets. *Journal of animal science*, 90(4), 1270-1279. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4537>

Richard, D. M., Dawes, M. A., Mathias, C. W., Acheson, A., Hill-Kapturczak, N., & Dougherty, D. M. (2009). L-tryptophan: basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. *International Journal of Tryptophan Research*, 2, IJTR-S2129. <https://doi.org/10.4137/IJTR.S2129>

Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura, N. K., Perazzo, F. G., et al. (2017). Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais, 3ª Edição. Universidade Federal de Viçosa–Departamento de Zootecnia, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 488p.

Rostagno, H. S., Albino, L. T., Donzele, J. L., Gomes, P. C., Oliveira, R. F., Lopes, D. C., et al. (2011). Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais, 3ª Edição. Universidade Federal de Viçosa–Departamento de Zootecnia, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 252p.

Simongiovanni, A., Corrent, E., Le Floc'H, N., & Van Milgen, J. (2012). Estimation of the tryptophan requirement in piglets by meta-analysis. *Animal*, 6(4), 594-602. <https://doi.org/10.1017/S1751731111001960>

Trevisi, P., Corrent, E., Messori, S., Casini, L., & Bosi, P. (2010). Healthy newly weaned pigs require more tryptophan to maximize feed intake if they are susceptible to *Escherichia coli* K88. *Livestock Science*, 134(1-3), 236-238. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.151>

Webel, DM, Finck, BN, Baker, DH e Johnson, RW (1997). Evolução temporal do aumento de citocinas plasmáticas, cortisol e nitrogênio ureico em porcos após injeção intraperitoneal de lipopolissacarídeo. *Jornal de ciência animal*, 75 (6), 1514-1520. <https://doi.org/10.2527/1997.7561514x>

Wenzel, T. J., Gates, E. J., Ranger, A. L., & Klegeris, A. (2020). Short-chain fatty acids (SCFAs) alone or in combination regulate select immune functions of microglia-like cells. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 105, 103493. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2020.103493>

Zhang, H., Yin, J., Li, D., Zhou, X., & Li, X. (2007). Tryptophan enhances ghrelin expression and secretion associated with increased food intake and weight gain in weanling pigs. *Domestic Animal Endocrinology*, 33(1), 47-61. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2006.04.005>

## 7. Tabelas

**Tabela 1.** Descrição dos tratamentos.

	<b>Relação Trip DIE: Lis DIE</b>	<b>Fonte de Triptofano<sup>1</sup></b>	<b>% Trip DIE, %</b>
T1	16%	Sem L-Trip	0.194
T2	18%	L-Trip-98%	0.219
T3	21%	L-Trip-98%	0.255
T4	24%	L-Trip-98%	0.291

<sup>1</sup>L-triptofano foi obtido na CJ do Brasil (Piracicaba, São Paulo, Brasil).

**Tabela 2.** Dietas experimentais.

<b>Ingredientes</b>	<b>Relação Trip DIE: Lis DIE</b>			
	<b>16%</b>	<b>18%</b>	<b>21%</b>	<b>24%</b>
Milho 7.88%	65.54	65.54	65.54	65.54
Farelo de Soja 45%	28.28	28.28	28.28	28.28
Óleo de Soja	1.05	1.05	1.05	1.05
Fosfato Bicálcico	1.92	1.92	1.92	1.92
Calcário Calcítico	0.87	0.87	0.87	0.87
Sal	0.48	0.48	0.48	0.48
Premix Vitaminico <sup>1</sup>	0.30	0.30	0.30	0.30
Premix Mineral <sup>2</sup>	0.25	0.25	0.25	0.25
L-Lisina-HCL	0.49	0.49	0.49	0.49
L-Treonina	0.25	0.25	0.25	0.25
L-Metionina	0.21	0.21	0.21	0.21
L-Valina	0.11	0.11	0.11	0.11
Antioxidante	0.01	0.01	0.01	0.01
Inerte	0.20	0.17	0.13	0.09
L-Triptofano <sup>3</sup>	0.00	0.02	0.06	0.10
	100.00	100.00	100.00	100.00
<b>Teores esperados</b>				
Energia Met. kcal/kg	3,239.20	3,239.20	3,239.20	3,239.20
Energia Líq. kcal/kg	2,470.00	2,470.00	2,470.00	2,470.00
EE	4.09	4.09	4.09	4.09
FB, %	2.50	2.50	2.50	2.50
FDN, %	12.89	12.89	12.89	12.89
FDA, %	4.26	4.26	4.26	4.26
Ca, %	0.91	0.91	0.91	0.91
P, %	0.67	0.67	0.67	0.67
P Disp. %	0.45	0.45	0.45	0.45
K, %	0.72	0.72	0.72	0.72
Na, %	0.20	0.20	0.20	0.20
Cl, %	0.36	0.36	0.36	0.36
PB, %	18.82	18.82	18.82	18.82
PB Dig. %	16.21	16.21	16.21	16.21
Lisina Dig. %	1.21	1.21	1.21	1.21
Metionina Dig. %	0.46	0.46	0.46	0.46
Met + Cis Dig. %	0.73	0.73	0.73	0.73
Treonina Dig. %	0.83	0.83	0.83	0.83
Triptofano Dig. %	0.19	0.21	0.25	0.29
Arginina Dig. %	1.10	1.10	1.10	1.10
Valina Dig. %	0.88	0.88	0.88	0.88
Isoleucina Dig. %	0.68	0.68	0.68	0.68

Leucina Dig. %	1.44	1.44	1.44	1.44
Histidina Dig. %	0.44	0.44	0.44	0.44
Fenilalanina Dig. %	0.81	0.81	0.81	0.81

<sup>1</sup>Fornecer as seguintes quantidades por quilograma de dieta completa: Se, selenito de sódio e levedura de selênio, 75.00 mg/kg; vitamina A, acetato de retinila, 2,000.00 UI/kg; vitamina D3, colecalciferol, 375,000.00 UI/kg; vitamina E, DL-alfa tocoferil, 6,250.00 UI/kg; vitamina K3, bissulfato de menadiona nicotinamida 750.00 mg/kg; tiamina, mononitrato de tiamina, 500.00 mg/kg; riboflavina, 1,500.00 mg/kg; piridoxina, cloridrato de piridoxina, 500.00 mg/kg; vitamina B12, 7,500.00 mcg/kg; ácido fólico, 250.00 mg/kg; ácido pantotênico, pantotenato de D-cálcio, 5,000.00 mg/kg; niacina, 8,750.00 mg/kg; biotina, 37.50 mg/kg.

<sup>2</sup>Fornecer as seguintes quantidades por quilograma de dieta completa: Fe, 15.00 g/kg sulfato de ferro, Cu, 40.00 g/kg sulfato de cobre, Mn, 13.00 g/kg monóxido de manganês; Zn, 25.00 g/kg sulfato de zinco; I, 350.00 mg/kg iodato de cálcio.

<sup>3</sup>L-triptofano foi fornecido pela CJ do Brasil (Piracicaba, São Paulo, Brasil).

**Tabela 3.** Composição química analisada das dietas experimentais (Matéria natural).

<b>Ingredientes</b>	<b>Relação Trip DIE: Lis DIE</b>			
	<b>16%</b>	<b>18%</b>	<b>21%</b>	<b>24%</b>
Matéria Seca, %	88.65	88.59	88.55	88.54
Ácido Aspártico, %	1.84	1.73	1.93	1.89
Ácido Glutâmico, %	3.38	3.37	3.51	3.43
Serina, %	0.84	0.86	0.88	0.88
Glicina, %	0.77	0.78	0.80	0.79
Histidina, %	0.48	0.49	0.50	0.50
Taurina, %	ND	0.02	0.02	ND
Arginina, %	1.16	1.17	1.23	1.18
Treonina, %	0.89	0.91	0.92	0.98
Alanina, %	0.99	0.98	1.02	1.00
Prolina, %	1.08	1.08	1.11	1.09
Tirosina, %	0.61	0.60	0.63	0.61
Valina, %	0.92	0.91	0.96	0.94
Metionina, %	0.38	0.44	0.40	0.41
Cisteína, %	0.27	0.18	0.26	0.26
Isoleucina, %	0.74	0.73	0.77	0.74
Leucina, %	1.57	1.55	1.62	1.58
Fenilalanina, %	0.93	0.94	0.97	0.94
Lisina, %	1.33	1.43	1.43	1.39
Triptofano, %	0.23	0.26	0.22	0.32
Hidroxiprolina, %	0.03	0.04	0.03	0.03
Soma de Aminoácidos, %	18.42	18.48	19.21	18.97
PB, %	18.63	19.49	19.45	19.44
N, %	2.98	3.12	3.11	3.11

**Tabela 4.** Desempenho de suínos em crescimento recebendo dietas com diferentes relações de Trip DIE: Lis DIE obtidas a partir da suplementação de L-Triptofano.

Parâmetros	Relações Trip DIE: Lis DIE				Contraste Polinomiais <sup>1</sup>			
	16%	18%	21%	24%	ANOVA	EPM	LP P-valor	QP P-valor
PC Inicial, kg	16.310	16.690	16.630	16.560	0.241	0.085	0.276	0.154
PC Final, kg	30.731	32.685	32.203	32.709	< 0.001*	0.172	< 0.001*	0.019*
GPMD, kg/dia	0.691	0.769	0.742	0.770	< 0.001*	0.007	< 0.001*	0.142
CRMD, kg/dia	1.121	1.179	1.147	1.184	0.031*	0.009	0.056*	0.639
CA	1.585	1.533	1.509	1.529	0.032*	0.010	0.044*	0.029*

O modelo testado é significativo  $P < 0.10$ .

Erro Padrão da Média (EPM); modelo de regressão polinomial linear (LP), modelo de regressão polinomial quadrática (QP); Peso Corporal (PC); Ganho de Peso Médio Diário (GPMD); Consumo de Ração Médio Diário (CRMD); Conversão Alimentar (CA).

<sup>1</sup>Contrastes polinomiais: PCF =  $28.4219 + 0.1850 \text{ Trip}$ ; PCF =  $10.5808 + 2.0093 \text{ Trip} - 0.0456 \text{ Trip}^2$ ; GPMD =  $0.5966 + 0.0075 \text{ Trip}$ ; CRMD =  $1.0480 + 0.0055 \text{ Trip}$ ; CA =  $1.6629 - 0.0062 \text{ Trip}$  e CA =  $2.8157 - 0.1238 + 0.0029 \text{ Trip}^2$ .

**Tabela 5.** Concentração de serotonina sanguínea em suínos em crescimento recebendo dietas com diferentes relações de Trip DIE: Lis DIE obtidas a partir da suplementação de L-Triptofano.

Parâmetros	Relações Trip DIE: Lis DIE				ANOVA		P-Valor	
	16%	18%	21%	24%	P- Valor	EPM	LP	QP
Serotonina $\eta$ g/mL	237.73	300.67	208.49	268.41	0.193	15.912	0.903	0.778

Teste ANOVA ( $P < 0.05$ ).

Erro Padrão da Média (EPM); modelo de regressão polinomial linear (LP), modelo de regressão polinomial quadrática (QP);

Dados coletados de 40 animais.

**Tabela 6.** Concentração de citocinas sanguíneas em suínos desafiados ou não com LPS de E.Coli após o consumo de dietas com diferentes relações de Trip DIE: Lis DIE obtidas a partir da suplementação de L-Triptofano durante o crescimento.

	Relações Trip DIE: Lis DIE													
	LPS <sup>1</sup>				CONTROLE				MÉDIA			P - Valor		
	16%	18%	21%	24%	16%	18%	21%	24%	LPS	CON	EPM	NIVEL	DESAFIO	N*D <sup>2</sup>
<b>GM-CSF</b>	0.045	0.042	0.045	0.051	0.027	0.021	0.023	0.025	0.046	0.024	0.003	0.879	< 0.001*	0.962
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	0.209	0.383	0.264	0.215	0.153	0.100	0.185	0.047	0.268	0.121	0.024	0.207	< 0.001*	0.157
<b>IL-1<math>\alpha</math></b>	0.043	0.047	0.043	0.059	0.008	0.005	0.015	0.006	0.048	0.008	0.005	0.597	< 0.001*	0.137
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	1.041	0.788	1.144	1.347	0.049	0.034	0.049	0.039	1.080	0.043	0.098	0.425	< 0.001*	0.443
<b>IL-1ra</b>	77.931	70.033	68.587	70.020	0.325	0.241	0.313	0.255	71.643	0.274	5.410	0.349	< 0.001*	0.358
<b>IL-2</b>	0.160	0.197	0.153	0.182	0.096	0.119	0.225	0.065	0.173	0.126	0.014	0.225	0.065*	0.050*
<b>IL-4</b>	0.101	0.139	0.137	0.199	0.079	0.064	0.156	0.069	0.144	0.092	0.013	0.323	0.037*	0.158
<b>IL-6</b>	9.323	8.369	10.105	11.410	0.129	0.088	0.186	0.109	9.802	0.128	0.841	0.654	< 0.001*	0.668
<b>IL-8</b>	2.793	3.973	3.442	4.029	0.154	0.087	0.131	0.232	3.559	0.151	0.320	0.644	< 0.001*	0.674
<b>IL-10</b>	1.643	2.113	2.058	2.287	0.121	0.099	0.421	0.079	2.153	0.180	0.145	0.310	< 0.001*	0.107
<b>IL-12</b>	3.710	3.340	4.630	3.700	2.150	2.250	2.230	2.420	3.845	2.263	0.169	0.204	< 0.001*	0.169
<b>IL-18</b>	0.859	1.027	0.913	1.417	0.312	0.346	0.638	0.311	1.054	0.402	0.075	0.337	< 0.001*	0.064*
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	0.546	0.587	1.049	0.935	0.023	0.025	0.032	0.032	0.779	0.028	0.077	0.171	< 0.001*	0.176

Teste ANOVA (P < 0.10).

<sup>1</sup>O lipopolissacarídeo (LPS) de E. coli foi utilizado para induzir resposta inflamatória no grupo desafiado com LPS. O desafio consistiu em uma dose de LPS de 30  $\mu$ g/kg; O grupo controle recebeu solução salina (0.9%); A aplicação da solução de LPS e solução salina foi realizada aos 26 dias de experimento, após a coleção de dados de desempenho.

<sup>2</sup>N\*D efeito de interação do nível e do desafio.

Erro padrão da média (EPM); Controle (CON); Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF); Interferon-Gama (IFN  $\gamma$ ); Interleucina-1 Alfa (IL-1 $\alpha$ ); Interleucina-1 Beta (IL-1 $\beta$ ); Interleucina-1 Receptor Antagonista (IL-1ra); Interleucina-2 (IL-2); Interleucina-4 (IL-4); Interleucina-6 (IL-6); interleucina-8 (IL-8); Interleucina-10 (IL-10); Interleucina-12 (IL-12); Interleucina-18 (IL-18) e fator de necrose tumoral (TNF $\alpha$ ).

**Tabela 7.** Desdobramento da interação entre as relações de Trip DIE: Lis DIE e sobre animais desafiados ou não com LPS de E. Coli sobre a concentração de IL-2 3h após o desafio.

Desafio	Relações Trip DIE: Lis DIE				P-valor
	16%	18%	21%	24%	
<b>CON</b>	0.099b	0.119ab	0.225a	0.065b	0.009*
<b>LPS</b>	0.160	0.197	0.153	0.182	0.789
<b>P-valor</b>	0.201	0.109	0.138	0.033*	

Médias na linha, seguidas por letras distintas, diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0.10$ ); médias nas colunas, observar o valor de P para os contrastes apresentados.  
O lipopolissacarídeo de E. coli (LPS) e Controle (CON).

**Tabela 8.** Desdobramento da interação entre as relações de Trip DIE: Lis DIE e sobre animais desafiados ou não com LPS de E. Coli sobre a concentração de IL-18 3h após o desafio.

Desafio	Relações Trip DIE: Lis DIE				P-valor
	16%	18%	21%	24%	
<b>CON</b>	0.312	0.346	0.638	0.312	0.427
<b>LPS</b>	0.859b	1.027ab	0.913ab	1.417a	0.076*
<b>P-valor</b>	0.024*	0.003*	0.203	< 0.001*	

Médias na linha, seguidas por letras distintas, diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0.10$ ); médias nas colunas, observar o valor de P para os contrastes apresentados.

O lipopolissacarídeo de E. coli (LPS) e Controle (CON).

## CAPÍTULO II

### **Digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos em diferentes fontes de aminoácidos para suínos**

Stephane A. B. Da Motta<sup>1\*</sup>, Melissa Izabel Hannas<sup>2</sup>

*<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.  
[stephane.motta@ufv.br](mailto:stephane.motta@ufv.br) Orcid number (<https://orcid.org/0009-0006-8759-5693>)*

*<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.  
[melissa.hannas@ufv.br](mailto:melissa.hannas@ufv.br) Orcid number (<https://orcid.org/0000-0003-3198-0155>)*

\* Autor correspondente

## RESUMO

MOTTA, Stephane Alverina Briguenta da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos em diferentes fontes de aminoácidos para suínos.** Orientadora: Melissa Izabel Hannas.

O objetivo deste estudo foi determinar a digestibilidade ileal estandardizada (DIE) de aminoácidos em diferentes fontes de triptofano. Doze suínos com cânula T no íleo, inicialmente pesando  $44,78 \pm 3,63$  kg, foram distribuídos em um delineamento de quadrado latino incompleto composto por três tratamentos, cada um com três repetições e dois blocos repetidos ao longo do tempo, totalizando seis repetições por tratamento experimental. Os tratamentos consistiram em uma mistura de aminoácidos cristalinos com L-triptofano (LAAs), resíduo de biomassa de triptofano (Prosin) e uma dieta isenta de proteína (DIP). Os resultados indicaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos coeficientes de DIE da proteína bruta, com maior digestibilidade para LAAs (101,26%) em comparação com o Prosin (73,40%). Para os aminoácidos essenciais, observaram-se diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) na DIE para Trip, Fen, His, Ile, Leu, Lis, Met, Met + Cis, Tre e Val. LAAs mostraram uma digestibilidade superior de Trip (107,73%) em relação ao Prosin (89,25%). Para os demais aminoácidos, as comparações entre LAAs e Prosin revelaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ), com digestibilidade superior para os LAAs. Os aminoácidos não essenciais também apresentaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) em todas as comparações entre LAAs e Prosin, com LAAs mostrando coeficientes de DIE superiores. Os valores de aminoácidos digestíveis ileais confirmam que os aminoácidos essenciais de LAAs são altamente digestíveis para suínos em crescimento, enquanto a biomassa de triptofano demonstra valores consideráveis de digestibilidade ileal estandardizada de aminoácidos, especialmente para o triptofano, o que sugere sua viabilidade na formulação de dietas para suínos.

Palavras-chave: L-Triptofano. Resíduo de Biomassa de triptofano. Suínos. Digestibilidade.

## ABSTRACT

MOTTA, Stephane Alverina Briguenta da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Standardized ileal digestibility of amino acids in different amino acid sources for pigs.** Advisor: Melissa Izabel Hannas.

The objective of this study was to determine the standardized ileal digestibility (SID) of amino acids from different sources of tryptophan. Twelve pigs fitted with T-cannulas in the ileum, initially weighing  $44.78 \pm 3.63$  kg, were allocated in an incomplete Latin square design with three treatments, each with three repetitions and two blocks repeated over time, totaling six repetitions per experimental treatment. The treatments consisted of a blend of crystalline amino acids with L-tryptophan (LAAs), tryptophan biomass residue (Prosin), and a protein-free diet (DIP). The results indicated significant differences ( $P < 0.05$ ) in crude protein SID coefficients, with higher digestibility for LAAs (101.26%) compared to Prosin (73.40%). Significant differences ( $P < 0.05$ ) were observed in SID for essential amino acids including Tryp, Phe, His, Ile, Leu, Lys, Met, Met + Cys, Thr, and Val. LAAs showed superior Tryp digestibility (107.73%) compared to Prosin (89.25%). For other amino acids, comparisons between LAAs and Prosin revealed significant differences ( $P < 0.05$ ), with higher digestibility for LAAs. Non-essential amino acids also showed significant differences ( $P < 0.05$ ) in all comparisons between LAAs and Prosin, with LAAs demonstrating superior SID coefficients. The values of ileal digestible amino acids confirm that essential amino acids from LAAs are highly digestible for growing pigs, while tryptophan biomass exhibits considerable standardized ileal digestibility of amino acids, especially for tryptophan, suggesting its suitability in pig diet formulations.

Keywords: L-Tryptophan. Biomass Residue of Tryptophan. Pigs. Digestibility.

## 1. Introdução

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento significativo na utilização de aminoácidos (AA) cristalinos como substitutos de fontes tradicionais de proteína, como o farelo de soja, em dietas para suínos. Essa tendência visa reduzir a concentração de proteína bruta (PB) nas formulações, o que oferece vantagens consideráveis do ponto de vista ambiental e econômico (Miranda et al., 2015).

Dentro deste cenário, destaca-se a produção de L-triptofano, obtido por meio de fermentação bacteriana utilizando cepas mutantes de *Corynebacterium glutamicum*, em um meio de cultura enriquecido com carboidratos e outros nutrientes (Leuchtenberger et al., 2005). Após a fermentação, ocorre o processo de purificação para extrair o L-triptofano da biomassa fermentada (Herman, 2003; Wensley et al., 2020). A biomassa retida após a extração contém altas concentrações de proteína bruta e uma diversidade de aminoácidos essenciais e não essenciais, tornando-se um resíduo valioso para a nutrição animal (Almeida et al., 2014).

Produtos fermentados a partir dessa biomassa de triptofano e outros aminoácidos têm sido estudados como possíveis fontes de aminoácidos para suínos. No entanto, para utilizar esses resíduos de maneira eficaz na produção suinícola, é fundamental determinar os valores de digestibilidade dessa biomassa.

A determinação da digestibilidade baseia-se na diferença entre a quantidade de AA consumidos e não absorvidos (Sakomura & Rostagno, 2016) e pode ser realizada através dos métodos de coleta fecal ou ileal. O método de coleta total de fezes abrange toda a extensão do trato gastrointestinal, entretanto, os AA não absorvidos no intestino delgado, ao alcançarem o intestino grosso, são influenciados pela microflora bacteriana. Essa interação leva à utilização dos AA pelas bactérias, não sendo aproveitado pelos os animais, resultando em uma superestimação dos valores de digestibilidade (Tavernari et al., 2012). Por outro lado, o método de coleta ileal de digesta permite a análise da quantidade de nitrogênio da digesta antes de atingir o intestino grosso, possibilitando a obtenção de valores mais próximos da realidade.

A digestibilidade ileal de AA pode ser expressa como aparente ou estandardizada (Stein et al., 2007). A digestibilidade ileal aparente estima a quantidade de nutrientes absorvidos comparando o consumido na dieta com o que é excretado, sem considerar as perdas endógenas de AA. As perdas endógenas são

originadas de proteínas não digeridas, secreções digestivas e células intestinais. Por outro lado, a digestibilidade ileal estandardizada inclui uma correção para as perdas endógenas, resultando em valores mais elevados do que os obtidos pela digestibilidade aparente.

Nesse contexto, este estudo teve como objetivo determinar a digestibilidade ileal aparente e estandardizada de L-aminoácidos na forma cristalina, e resíduo de biomassa para suínos em crescimento.

## **2. Material e Métodos**

O experimento foi realizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Produção e Nutrição de Suínos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, durante o período de setembro a outubro de 2022. Todos os procedimentos adotados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP) da Universidade Federal de Viçosa, conforme protocolo de número 59/2023, e seguiram as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA (Brasil, 2008).

### **2.1 Implantação da cânula T simples**

A digestibilidade de diferentes fontes de triptofano foram avaliadas por meio da técnica de digestibilidade ileal com a determinação de perdas endógenas. Um total de doze animais receberam uma cânula T simples seguindo a técnica adaptada de Donkoh et al. (1994), implantada no íleo distal a 15 cm da válvula ileocecal. Para o procedimento, os animais foram submetidos a um período de jejum por 12h para minimizar a contaminação pela digesta durante a intervenção cirúrgica. Posteriormente, os animais foram anestesiados e posicionados em decúbito lateral esquerdo, seguido de tricotomia ampla para receber assepsia no foco cirúrgico. Uma incisão vertical de 5-6 cm foi feita na região do flanco, posicionando-se 3-4 cm caudal à última costela. O intestino delgado foi localizado e exposto para manipulação. Uma incisão de 2-2.5 cm foi feita ao longo do lado antimesentérico do intestino delgado, 15-20 cm cranial à junção ileocecal. Uma sutura foi colocada ao redor da incisão e a cânula foi inserida e fixada no intestino. Uma incisão na pele de 1 cm de diâmetro foi

feita 3-4 cm dorsal à incisão inicial. Posteriormente, todos os tecidos foram devidamente suturados.

Os animais foram alojados em baias de alvenaria (2.3 m x 2.16 m x 0.95 m), equipadas com comedouros de alvenaria e bebedouros tipo bico. O galpão foi previamente higienizado com água e sabão e posteriormente desinfetado com cal virgem, água e solução desinfetante.

Durante cinco dias após o procedimento, os animais receberam níveis terapêuticos de antibióticos como medida profilática. No pós-operatório, os animais receberam ração gradativamente no primeiro dia e, posteriormente, ad libitum. A dieta foi formulada à base de milho e farelo de soja para atender todas as exigências nutricionais conforme descrito por Rostagno et al. (2017). O teste de digestibilidade ileal com cânula T simples foi realizado 15 dias após a cirurgia dos animais.

## **2.2 Delineamento experimental, animais e dietas**

Doze animais com peso corporal inicial de  $44.78 \pm 3.63$  kg, foram distribuídos em um desenho em quadrado latino (DQL) incompleto 3 x 3 duplicados no tempo. Foi avaliado uma mistura aminoácidos cristalinos com L-triptofano (LAAs), resíduo de biomassa de triptofano (Prosin), e uma dieta isenta de proteína (DIP). A mistura LAAs e Prosin foram utilizados como ingrediente de teste para substituir o amido na DIP (Tabela 2). Os L-aminoácidos (L-Lisina, L-Metionina, L-Triptofano, L-Arginina, L-Histidina, L-Isoleucina e L-Valina), e resíduo da biomassa (Prosin) foram fornecidos pela empresa CJ do Brasil (Piracicaba, São Paulo, Brasil). Os L-aminoácidos L-Glicina e L-Leucina foram fornecidos pela (ZHANGJIAGANG SPECOM IOCHEMICAL CO. LTD), L-Fenilalanina (SHIJIAZHUANG SHIXING AMINO ACID CO. LTD), L-Treonina (EVONIK INDUSTRIES) e L-Ácido Glutâmico pela (AJINOMOTO) (Tabela 3).

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (8:00h e 17:00h) durante todo período, com cinco dias de adaptação as dietas experimentais e uma sequência de dois dias de coleta da digesta ileal por 10 horas interrompidas. A ração foi fornecida de acordo com o peso metabólico dos animais ( $PC^{0.75}$ ), misturada com água na proporção de 1:1 para evitar desperdícios e facilitar o consumo. Dióxido de titânio a 0.5% ( $TiO_2$ ) foi adicionado às dietas como fator de indigestibilidade (Sakomura & Rostagno, 2016), e a dieta isenta de proteína (DIP) foi utilizada para estimar a perda ileal endógena de peso proteínas e aminoácidos em suínos.

Após o período de coleta os animais ficaram cinco dias de repouso entre as coletas, onde receberam uma dieta de transição (Tabela 1) atendendo as necessidades basais dos animais de acordo com Rostagno et al. (2017). Posteriormente, os animais foram redistribuídos para o segundo período de coleta, de modo que não recebessem o mesmo tratamento anteriormente aplicado.

### **2.3 Coleta de digesta**

A coleta da digesta ileal foi realizada por meio de sacos plásticos fixados diretamente na cânula (5 cm x 20 cm), sendo retirados após o enchimento, substituídos por novos sacos plásticos, e imediatamente armazenados no freezer para evitar a degradação bacteriana dos aminoácidos na digesta.

### **2.4 Processamento do material coletado e análise**

Ao final do período experimental, as amostras de digesta ileal foram descongeladas, misturadas, homogeneizadas, liofilizadas e moídas por unidade experimental e período. Uma subamostra foi coletada para análise, totalizando seis repetições por tratamento.

As amostras das dietas e digesta ileal foram analisadas para determinar o teor de matéria seca (MS), nitrogênio (N), dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) e aminoácidos (AA). Para a determinação dessas variáveis, foram utilizadas as seguintes metodologias: o teor de matéria seca Método INCT-CA G-003/1; teor de N pelo método de Kjeldahl; concentração de dióxido de titânio foi realizada utilizando o método INCT-CA M-007/1, conforme descrito por Detmann *et al.* (2012) e realizada no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, MG; a composição de aminoácidos foi determinada por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), no Laboratório CBO (Valinhos, São Paulo, Brasil) de acordo com os métodos descritos por White et al. (1986), Hagen et al. (1989) e Lucas & Sotelo (1980).

Para o cálculo da proteína bruta, foi utilizado o fator 6,25 baseado no teor de N determinado.

## 2.5 Cálculo da determinação da digestibilidade

Para determinar os coeficientes de digestibilidade ileal, foram utilizadas as seguintes fórmulas (Sakomura & Rostagno, 2016):

FI1 = Fator de indigestibilidade da dieta de teste

$$FI1 = (\%TiO_2 \text{ dieta teste} / \% \text{ digesta de teste de } TiO_2)$$

Coeficiente de digestibilidade ileal aparente da proteína bruta (AID PB)

$$AID \text{ PB } (\%) = \% \text{ PB na dieta} - ((\% \text{ PB na digesta} \times FI1) / \% \text{ PB na dieta}) \times 100$$

FI2 = Fator de indigestibilidade da dieta isenta de proteínas (DIP)

Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizado da proteína bruta (PB DIE)

$$PB \text{ DIE } (\%) = [(\% \text{ PB na dieta} - (\% \text{ PB na digesta} \times FI1) - (\% \text{ PB digesta} \times FI2)) / \% \text{ PB na dieta}] \times 100$$

Coeficiente de digestibilidade ileal aparente de aminoácidos (AA DIA)

$$AA \text{ DIA } (\%) = [(mg \text{ AA/g dieta}) - ((mg \text{ AA/g } E1 \times FI1) / mg \text{ AA} / g \text{ dieta})] \times 100$$

E1 = Digesta da dieta teste

E2 = Digesta da dieta isenta de proteínas

Coeficiente de digestibilidade ileal estandardizado de aminoácidos (AA DIE)

$$AA \text{ DIE } (\%) = [(mg \text{ AA/g dieta} - (mg \text{ AA/g } E1 \times FI1) - (mg \text{ AA/g } E2 \times FI2)) / mg \text{ AA/g dieta}] \times 100$$

Para a determinação das perdas endógenas ileais basais de aminoácidos foi utilizada a seguinte fórmula (Adeola et al., 2016):

Perdas endógenas basais ileais de aminoácidos

$$AA \text{ ileal basal final} = mg \text{ AA/g digesta DIP} \times (\% \text{ } TiO_2 \text{ dieta DIP} / \% \text{ } TiO_2 \text{ digesta DIP})$$

## 2.6 Análise estatística

Os coeficientes de digestibilidade foram estabelecidos a partir dos valores médios obtidos das repetições e posteriormente foram calculados os desvios padrão das médias, as repetições com valores  $\pm 1.5 \times$  que o desvio padrão foram consideradas outliers. Foi realizada Análise de Variância (ANOVA) para avaliar

diferenças entre as médias dos tratamentos. As análises foram realizadas utilizando o software R version 4.3.1 (RStudio, 2023).

### **3. Resultados**

#### **3.1 Coeficientes de digestibilidade ileal aparente**

Para os coeficientes de Digestibilidade Ileal Aparente (DIA) da proteína bruta, as fontes de aminoácidos para suínos (LAAs e Prosin) apresentaram diferenças significativas. Os resultados indicam que LAAs demonstraram maior digestibilidade de proteína bruta (90.08%) em comparação com o Prosin (63.88%).

Observou-se diferença significativa ( $P < 0.05$ ) na DIA para os aminoácidos essenciais Trip, Fen, His, Ile, Leu, Lis, Met, Met + Cis, Tre e Val. Para o Triptofano, a fonte Prosin apresentou melhor digestibilidade DIA (81.81%) em comparação com LAAs (76.73%). Para os outros aminoácidos essenciais avaliados, LAAs mostraram maior digestibilidade em comparação com Prosin.

Os aminoácidos não essenciais Ácido Glutâmico, Cisteína, Fe + Tir, Gli + Ser e Glicina também apresentaram diferenças significativas ( $P < 0.05$ ) na DIA entre LAAs e Prosin, sendo LAAs superiores. Especificamente para a Cisteína, LAAs apresentaram uma digestibilidade mais elevada (90.62%) em comparação com Prosin (38.00%).

#### **3.2 Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizado**

Para os valores de Digestibilidade Ileal Estandarizado (DIE) dos coeficientes da proteína bruta, as fontes de aminoácidos para suínos (LAAs e Prosin) apresentaram diferenças significativas ( $P < 0.05$ ) mostrando que a mistura de LAAs obteve maior digestibilidade de PB (101.26%) em comparação ao Prosin (73.40%).

Em relação aos aminoácidos essenciais, foi observada uma diferença significativa ( $P < 0.05$ ) na DIE para Triptofano, Fenilalanina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Met + Cis, Treonina e Valina. LAAs também apresentou melhor digestibilidade de Triptofano (107.73%), em comparação ao Prosin (89.25%). Para os demais aminoácidos, todas as comparações entre LAAs e Prosin mostraram

diferenças significativas ( $P < 0.05$ ), com a fonte LAAs apresentando digestibilidade superior.

Os aminoácidos não essenciais mostraram diferença significativa para todas as comparações entre LAAs e Prosin, com LAAs apresentando coeficientes de DIE superiores. Destacando a Cisteína, houve uma diferença significativa, com concentrações de 99.63% na fonte LAAs e 50.16% na Prosin. Além disso, Ácido Glutâmico, Fe + Tir, Gli + Ser e Glicina também apresentaram diferenças significativas ( $P < 0.05$ ) entre as fontes analisada, mostrando melhores valores de digestibilidade para fonte LAAs.

#### **4. Discussão**

O estudo apresentou uma análise detalhada das digestibilidades dos aminoácidos cristalinos (LAAs) e resíduo de biomassa (Prosin) para suínos em crescimento.

É interessante notar que, como esperado, a dieta LAAs demonstraram valores mais altos para digestibilidade de PB, isso confirma a premissa de que os AA cristalinos são mais facilmente digeríveis devido à sua forma purificada e altamente disponível (Miranda et al., 2015). O resíduo de biomassa Prosin apresentou valores de digestibilidade elevados para a PB, embora inferiores aos dos LAAs. Isso indica que, mesmo após a extração do L-triptofano, o resíduo de biomassa Prosin ainda contém quantidades consideráveis de aminoácidos digeríveis, resultando em uma digestibilidade significativa da PB. Esse achado destaca a possibilidade de utilizar o resíduo de biomassa como uma fonte alternativa e sustentável de AA na alimentação animal.

O Prosin também demonstrou alta digestibilidade para triptofano (Trip), corroborando com os achados de Espinosa et al. (2021), que observaram que o resíduo de biomassa de Trip após a extração de L-triptofano também continham alta concentração de Trip, e conseqüentemente alta digestibilidade. Almeida et al. (2014) observaram um efeito semelhante para o resíduo de biomassa de treonina, com altas digestibilidade para treonina, e Sulabo et al. (2013) para alta digestibilidade de lisina no resíduo de biomassa de lisina. Esses resultados sugerem que a extração dos AA específicos da biomassa fermentada não é 100% eficiente, e que usar o resíduo da biomassa como fonte do AA extraído pode ser uma alternativa ao AA cristalino.

Os valores de DIE para LAAs demonstrou superioridade para todos os aminoácidos, incluindo a digestibilidade do triptofano (107.73%), já o Prosin apresentou DIE de (89.25%). Embora o LAAs seja a fonte mais eficiente, o resíduo de biomassa exibiu alto coeficiente de digestibilidade, o que indica que pode ser uma opção viável como fonte de triptofano para suínos em alternativa ao L-trip convencional. No entanto, esses resultados foram inferiores aos encontrados por Espinosa et al. (2021), que registraram um coeficiente de DIE de 95.3%. A principal razão para essa diferença entre os valores de digestibilidade pode ser atribuída as diferentes técnicas e processos de fermentação das biomassas, resultando em produtos com composições variadas.

As médias da DIA para a fonte LAAs demonstraram uma alta eficiência na digestibilidade tanto para os aminoácidos essenciais (90.05%) quanto não essenciais (87.38%) em comparação com o tratamento Prosin, que registrou 64.40% para os essenciais e 58.03% para os não essenciais. Os valores de DIE seguiram o mesmo padrão, com o tratamento LAAs mostrando-se superior, alcançando 101.36% para os aminoácidos essenciais e 100.20% para os não essenciais, enquanto o Prosin obteve 71.06% e 67.06%, respectivamente.

Apesar da diferença significativa da digestibilidade entre Prosin e LAAs, resíduos de biomassa de triptofano, lisina e treonina, estão sendo estudados como possíveis alternativas para fontes de proteína. Silabo et al. (2013) e Almeida et al. (2014) destacaram a viabilidade do uso de biomassa como alternativa à farinha de peixe, ambos estudos mostraram que a biomassa apresentou digestibilidade superior a farinha de peixe. Pesquisas recentes conduzidas por Lee et al. (2023) e Yoon & Kong (2023) mostram que a digestibilidade de fontes de biomassa, sem extração de aminoácidos na fase de purificação, é ainda mais elevada. Portanto, o uso de biomassas como fonte de aminoácidos para suínos tem se mostrado cada vez mais promissor, sendo uma alternativa econômica e sustentável sem comprometer o desempenho dos animais.

De forma complementar, os valores de DIE dos aminoácidos cristalinos obtidos neste estudo foram superiores aos relatados por Rostagno et al. (2017) em todos os aminoácidos, exceto para a histidina. Enquanto Rostagno et al. (2017) registraram valores como Arg 95.5%, Cis 92.4%, Fen 95.2%, Gli 97.0%, Ácido Glu 99.2%, His 100.0%, Ile 97.1%, Leu 95.4%, Lis 98.1%, Met 99.5%, Treo 96.8%, Trip 99.0%, Val

95.5%, nossos resultados foram superiores : Arg 102.81%, Cis 99.63%, Fen 100.94%, Gli 101.30%, Ácido Glu 99.44%, His 99.52%, Ile 101.27%, Leu 100.83%, Lis 100.45%, Met 100.26%, Treo 100.52%, Trip 107.73%, Val 101.89%. Essas descobertas fornecem uma atualização significativa dos valores de digestibilidade dos aminoácidos cristalinos sugerindo uma atualização dos valores propostos por Rostagno et al. (2017) e que os aminoácidos cristalinos avaliados apresentam digestibilidade ileal estandardizada de 100%.

## **5. Conclusões**

Nossos resultados destacaram que os aminoácidos de origem cristalina foram a fonte mais eficaz no fornecimento de aminoácidos, enquanto o resíduo de biomassa Prosin demonstrou ser uma opção viável como fonte de aminoácidos essenciais e não essenciais, oferecendo uma alternativa para uso na produção de suínos.

## 6. Referências

- Adeola, O., Xue, P.C., Cowieson, A.J., Ajuwon, K.M. (2016). Basal endogenous losses of amino acids in protein nutrition research for swine and poultry. *Animal Feed Science and Technology* 221, 274-283. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.004>
- Almeida, F. N., R. C.Sulabo, and H. H.Stein. 2014. Amino acid digestibility and concentration of digestible and metabolizable energy in a threonine biomass product fed to weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 92:4540–4546. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6635>
- Detmann, E.; Souza, M. A.; Valadares Filho, S. C.; Queiroz, A. C.; Berchielli, T. T.; Saliba, E. O. S.; Cabral, L. S.; Pina, D. S.; Ladeira, M. M.; Azevedo, J. A. G. (2012). *Métodos para análise de alimentos-INCT*. Viçosa, MG, Brasil: Suprema Gráfica. 214p.
- Donkoh, A., Moughan, P. J., & Smith, W. C. (1994). Comparison of the slaughter method and simple T-piece cannulation of the terminal ileum for determining ileal amino acid digestibility in meat and bone meal for the growing pig. *Animal Feed Science and Technology*, 49(1-2), 43-56. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90080-9](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90080-9)
- Espinosa, C. D., Oliveira, M. S. F., Htoo, J. K., & Stein, H. H. (2021). Concentrations of digestible amino acids in co-products from threonine and tryptophan fermentation are greater than in soybean meal. *Animal Feed Science and Technology*, 277, 114948. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114948>
- Hagen, S.R., Frost, B., Augustin, J. (1989). Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. *Journal Association of Official Analytical Chemists*. 72(6):912-6. PMID: 2592313. <https://doi.org/10.1093/jaoac/72.6.912>
- Hermann, T. 2003. Industrial production of amino acids by coryneform bacteria. *J. Biotechnol.* 104:155–172. [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(03\)00149-4](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(03)00149-4)
- Lee, J. H., Kwon, C. H., Won, S. Y., Kim, H. W., & Kil, D. Y. (2023). Evaluation of tryptophan biomass as an alternative to conventional crystalline tryptophan in broiler

diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 32(1), 100302.  
<https://doi.org/10.1016/j.japr.2022.100302>

Leuchtenberger, W., Huthmacher, K., & Drauz, K. (2005). Biotechnological production of amino acids and derivatives: current status and prospects. *Applied microbiology and biotechnology*, 69, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0155-y>

Lucas, B., Sotelo, A. (1980). Effect of different alkalies, temperature, and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of foods. *Analytical biochemistry*. 109, 192-197. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(80\)90028-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(80)90028-7)

Miranda, D. J. A., Vieira, S. L., Favero, A., Angel, C. R., Stefanello, C., & Nogueira, E. T. (2015). Performance and meat production of broiler chickens fed diets formulated at different crude protein levels supplemented or not with L-valine and L-iso-leucine. *Animal Feed Science and Technology*, 206, 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.04.018>

Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. I., Donzele, J. L., Sakomura, N. K., Perazzo, F. G., et al. (2017). *Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais*, 3ª Edição. Universidade Federal de Viçosa– Departamento de Zootecnia, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 488p.

Sakomura, N. K., & Rostagno, H. S. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos* (2016). Jaboticabal, BR: Funep.

Stein, H. H., Fuller, M. F., Moughan, P. J., Sève, B., Mosenthin, R., Jansman, A. J. M., ... & De Lange, C. F. M. (2007). Definition of apparent, true, and standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. *Livestock science*, 109(1-3), 282-285. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.019>

Sulabo, R. C., Mathai, J. K., Usry, J. L., Ratliff, B. W., McKilligan, D. M., Moline, J. D., et al. (2013). Nutritional value of dried fermentation biomass, hydrolyzed porcine intestinal mucosa products, and fish meal fed to weanling pigs. *Journal of animal science*, 91(6), 2802-2811. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5327>

TAVERNARI, F.C.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.C. Métodos para determinar a digestibilidade de aminoácidos dos ingredientes: estandardizada e verdadeira. Ergomix, 2012. [https://pt.engormix.com/avicultura/aminoacidos-aves/metodos-determinar-digestibilidade-aminoacidos\\_a37511/](https://pt.engormix.com/avicultura/aminoacidos-aves/metodos-determinar-digestibilidade-aminoacidos_a37511/)

Wensley, M. R., Woodworth, J. C., DeRouchey, J. M., Dritz, S. S., Tokach, M. D., Goodband, R. D., et al. (2020). Effects of amino acid biomass or feed-grade amino acids on growth performance of growing swine and poultry. *Translational Animal Science*, 4(1), 49-58. <https://doi.org/10.1093/tas/txz163>

White, J. A., Hart, R. J., & Fry, J. C. (1986). An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 8, 170-177.

Yoon, J. H., & Kong, C. (2023). Determination of ileal digestibility of tryptophan in tryptophan biomass for broilers using the direct and regression methods. *Animal Feed Science and Technology*, 304, 115732. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115732>

## 7. Tabelas

**Tabela 1.** Nutrientes e composição calculada da dieta de transição.

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>
Milho 7.88%	61.85
Farelo de Soja 45 %	31.73
Óleo de Soja	1.47
Suplemento Vitaminico <sup>1</sup>	0.30
Suplemento Mineral <sup>2</sup>	0.25
Antioxidante <sup>3</sup>	0.01
Fosfato Bicalcico	1.91
Calcário	0.86
Sal	0.48
L-Lisina HCL	0.45
DL-Metionina	0.18
L-Treonina	0.21
L-Triptofano	0.03
Valina	0.07
Inerte	0.20
<b>Total</b>	<b>100.00</b>
<b>Nutrientes</b>	
Energia Met. kcal/kg	3,256.50
PB %	20.03
Lisina Dig. %	1.26
Met + Cis Dig. %	0.76
Treonina Dig. %	0.86
Triptofano Dig. %	0.25
P Disp. %	0.45
Ca %	0.91
Na %	0.20

<sup>1</sup>Forneceu as seguintes quantidades por quilograma de dieta completa: Se, selenito de sódio e levedura de selênio, 75.00 mg/kg; vitamina A, acetato de retinila, 2,000.00 UI/kg; vitamina D3, colecalciferol, 375,000.00 UI/kg; vitamina E, DL-alfa tocoferol, 6,250.00 UI/kg; vitamina K3, bissulfato de menadiona nicotinamida 750.00 mg/kg; tiamina, mononitrato de tiamina,

500.00 mg/kg; riboflavina, 1,500.00 mg/kg; piridoxina, cloridrato de piridoxina, 500.00 mg/kg; vitamina B12, 7,500.00 mcg/kg; ácido fólico, 250.00 mg/kg; ácido pantotênico, pantotenato de D-cálcio, 5,000.00 mg/kg; niacina, 8,750.00 mg/kg; biotina, 37.50 mg/kg.

<sup>2</sup>Fornecer as seguintes quantidades por quilograma de dieta completa: Fe, 15.00 g/kg sulfato de ferro, Cu, 40.00 g/kg sulfato de cobre, Mn, 13.00 g/kg monóxido de manganês; Zn, 25.00 g/kg sulfato de zinco; I, 350.00 mg/kg iodato de cálcio.

**Tabela 2.** Composição calculada das dietas experimentais (Matéria Natural).

<b>Ingredientes</b>	<b>DIP</b>	<b>LAAs</b>	<b>Prosin</b>
Óleo de Soja	4.00	5.00	5.00
Produto teste	0.00	15.02	10.00
Açúcar	20.00	20.00	20.00
Amido	67.33	51.31	56.33
Fosfato Bicálcico	1.96	1.96	1.96
Calcário Calcítico	0.76	0.76	0.76
Sal	0.40	0.40	0.40
Suplemento Vitaminico <sup>1</sup>	0.30	0.30	0.30
Suplemento Mineral <sup>2</sup>	0.25	0.25	0.25
Carbonato de Potássio	0.40	0.40	0.40
Antioxidante	0.01	0.01	0.01
Óxido de Magnésio	0.10	0.10	0.10
Celulose	4.00	4.00	4.00
Dioxido de Titânio <sup>3</sup>	0.50	0.50	0.50
<b>Total</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

<sup>1</sup>Fornecer as seguintes quantidades por quilograma de dieta completa: Se, selenito de sódio e levedura de selênio, 75.00 mg/kg; vitamina A, acetato de retinila, 2,000.00 UI/kg; vitamina D3, colecalciferol, 375,000.00 UI/kg; vitamina E, DL-alfa tocoferil, 6,250.00 UI/kg; vitamina K3, bissulfato de menadiona nicotinamida 750.00 mg/kg; tiamina, mononitrato de tiamina, 500.00 mg/kg; riboflavina, 1,500.00 mg/kg; piridoxina, cloridrato de piridoxina, 500.00 mg/kg; vitamina B12, 7,500.00 mcg/kg; ácido fólico, 250.00 mg/kg; ácido pantotênico, pantotenato de D-cálcio, 5,000.00 mg/kg; niacina, 8,750.00 mg/kg; biotina, 37.50 mg/kg.

<sup>2</sup>Fornecer as seguintes quantidades por quilograma de dieta completa: Fe, 15.00 g/kg sulfato de ferro, Cu, 40.00 g/kg sulfato de cobre, Mn, 13.00 g/kg monóxido de manganês; Zn, 25.00 g/kg sulfato de zinco; I, 350.00 mg/kg iodato de cálcio.

<sup>3</sup>Dioxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) indicador de indigestibilidade.

Dieta isenta de proteína (DIP); mistura de L aminoácidos (LAAs) e residuo da biomassa de triptofano (Prosin).

**Tabela 3.** Composição da mistura de aminoácidos LAAs (Matéria Natural).

<b>Aminoácido</b>	<b>Empresa</b>	<b>100%</b>
L-Lisina HCL	CJ	1.33
L-Metionina	CJ	0.64
L-Treonina	EVONIK	0.59
L-Triptofano	CJ	0.14
L-Arginina	CJ	0.44
L-Glicina	China*	0.90
L-Valina	CJ	0.62
L-Isoleucina	CJ	0.59
L- Leucina	China*	0.90
L-Histidina	CJ	0.38
L-Fenilalanina	China*	0.45
L- Ácido Glutâmico	Ajinomoto	8.04
<b>Total</b>		<b>15.02</b>

L-Lisina. L-Metionina. L-Triptofano. L-Arginina. L-Histidina. L-Isoleucina e L-Valina (CJ Cheiljedang. Brasil e Korea). \*L-Glicina e L-Leucina (ZHANGJIAGANG SPECOM IOCHEMICAL CO. LTD). \*L-Fenilalanina (SHIJIAZHUANG SHIXING AMINO ACID CO. LTD). L-Treonina (EVONIK INDUSTRIES) e L- Ácido Glutâmico (AJINOMOTO).

**Tabela 4.** Composição química das dietas analisadas (Matéria Natural).

<b>Ingredientes</b>	<b>DIP</b>	<b>LAAs</b>	<b>Prosin</b>
Matéria Seca, %	91.54	92.61	91.51
<b>AA essenciais</b>			
Arginina, %	ND	0.20	0.56
Fenilalanina, %	ND	0.45	0.39
Histidina, %	ND	0.19	0.21
Isoleucina, %	ND	0.49	0.40
Leucina, %	0.01	0.77	0.75
Lisina, %	ND	0.49	0.54
Metionina, %	ND	0.54	0.16
Treonina, %	ND	0.44	0.46
Triptofano, %	0.04	0.10	0.41
Valina, %	0.01	0.47	0.52
<b>AA não essenciais</b>			
Ácido Aspártico, %	0.04	0.03	1.01
Ácido Glutâmico, %	0.03	7.42	1.31
Alanina, %	0.01	0.02	0.94
Cisteína, %	ND	0.05	0.04
Glicina, %	ND	0.58	0.49
Prolina, %	0.01	ND	0.33
Serina, %	ND	ND	0.39
Tirosina, %	ND	ND	0.22
Soma de Aminoácidos, %	0.22	12.26	9.13
PB, %	ND	11.5	13.34
N, %	ND	1.84	2.13

<sup>1</sup>ND = Não detectado.

**Tabela 5.** Coeficientes de digestibilidade ileal aparente (DIA) da PB e dos AA das dietas LAAs e Prosin (Matéria Seca).

<b>Item</b>	<b>LAAs</b>	<b>Prosin</b>	<b>EPM</b>	<b>P - Valor</b>
Proteína Bruta, %	90.08	63.88	4.6491	< 0.001*
<b>AA essenciais</b>				
Arginina, %	83.87	73.69	2.9385	0.080
Fenilalanina, %	95.17	59.74	2.8717	< 0.001*
Histidina, %	91.01	67.34	3.1163	< 0.001*
Isoleucina, %	95.86	61.41	5.9657	< 0.001*
Leucina, %	94.70	61.53	5.7676	< 0.001*
Lisina, %	96.45	65.48	5.2788	< 0.001*
Metionina, %	98.64	59.49	6.6978	< 0.001*
Met + Cis, %	97.96	55.39	7.3224	< 0.001*
Treonina, %	89.19	60.01	5.1806	< 0.001*
Triptofano, %	76.73	81.81	1.7333	0.153*
Valina, %	93.67	62.72	5.3993	< 0.001*
<b>AA não essenciais</b>				
Ácido Aspártico, %	ND	70.98	-	-
Ácido Glutâmico, %	98.57	59.70	3.4009	< 0.001*
Alanina, %	ND	55.98	-	-
Cisteína, %	90.62	38.00	6.9710	< 0.001*
Fe + Tir, %	96.99	57.99	3.2765	< 0.001*
Gli + Ser, %	72.74	57.38	6.8509	0.084
Glicina, %	80.97	56.71	10.8539	0.064
Serina, %	ND	58.22	-	-
Tirosina, %	ND	54.86	-	-

O modelo testado é significativo  $P < 0.05$ .

**Tabela 6.** Coeficientes de digestibilidade ileal estandardizada (DIE) da PB e dos AA das dietas LAAs e Prosin (Matéria Seca).

<b>Item</b>	<b>LAAs</b>	<b>Prosin</b>	<b>EPM</b>	<b>P - Valor</b>
Proteína Bruta, %	101.26	73.40	4.9095	< 0.001*
<b>AA essenciais</b>				
Arginina, %	102.81	80.39	3.5846	0.002*
Fenilalanina, %	100.94	66.26	2.8717	< 0.001*
Histidina, %	99.52	74.92	3.1163	< 0.001*
Isoleucina, %	101.27	67.91	3.4159	< 0.001*
Leucina, %	100.83	67.74	3.4557	< 0.001*
Lisina, %	100.45	69.07	2.3005	< 0.001*
Metionina, %	100.26	65.04	3.2038	< 0.001*
Met + Cis, %	100.20	62.20	3.8454	< 0.001*
Treonina, %	100.52	70.77	3.6256	< 0.001*
Triptofano, %	107.73	89.25	3.4316	< 0.001*
Valina, %	101.89	70.05	3.3455	< 0.001*
<b>AA não essenciais</b>				
Ácido Aspártico, %	ND	74.31	-	-
Ácido Glutâmico, %	99.44	64.56	3.4010	< 0.001*
Alanina, %	ND	61.51	-	-
Cisteína, %	99.63	50.16	6.9708	< 0.001*
Fe + Tir, %	100.70	65.34	3.2765	< 0.001*
Gli + Ser, %	101.94	76.23	6.8509	0.010*
Glicina, %	101.30	80.28	10.8537	0.100
Serina, %	ND	71.13	-	-
Tirosina, %	ND	63.68	-	-

O modelo testado é significativo  $P < 0.05$ . (ANOVA)

As perdas endógenas basais foram determinadas pela dieta isenta de proteína DIP (g/kg de ingestão diária de MS): Lisina, 0.212; Metionina, 0.094; Treonina, 0.538; Triptofano, 0.335; Arginina, 0.409; Valina, 0.418; Isoleucina, 0.286; Leucina, 0.509; Histidina, 0.175; Fenilalanina, 0.280; Alanina, 0.569; Cisteína, 0.049; Tirosina, 0.212; Glicina, 1.273; Serina, 0.555; Prolina, 3.187; Ácido Glutâmico, 0.695; Ácido Aspártico, 0.366.

## **8. Declarações**

### **Aprovação ética**

Todos os procedimentos seguiram às normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA (Brasil, 2008) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Produção Animal da (CEUAP – UFV), da Universidade Federal de Viçosa (Minas Gerais, Brasil) protocolo nº059/2023.

### **Financiamento**

A pesquisa recebeu apoio da empresa CJ do Brasil.

### **Conflito de interesses**

Os autores não têm interesses financeiros ou não financeiros relevantes a divulgar.

### **Declaração de contribuição de autoria**

Stephane Alverina Brigunte da Motta: Metodologia, Investigação, Curadoria de Dados, Redação - rascunho original, Redação - revisão e edição.

Melissa Izabel Hannas: Conceituação, Administração de Projetos, Metodologia, Curadoria de Dados, Redação - rascunho original, Redação - revisão e edição, Visualização, Supervisão.

### **Disponibilidade de dados**

Os conjuntos de dados gerados e/ou analisados durante o estudo serão disponíveis a pedido.

### **Consentimento para participar**

Não aplicável.

### **Consentimento para publicação**

Não aplicável.