



**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**Efeito da suplementação alimentar de  
betaína no perfil lipídico de dois músculos de  
suínos Alentejanos**

**Mestrando: Mafalda Redondeiro de Brito**

Orientador: Professor Doutor José Manuel Mota  
Ruivo Martins

Co-orientador: Professor Doutor José Alberto Feijão  
Macedo Neves

**Mestrado em Engenharia Zootécnica**

Dissertação

Évora, 2014



**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**Efeito da suplementação alimentar de  
betaína no perfil lipídico de dois músculos de  
suínos Alentejanos**

**Mestrando: Mafalda Redondeiro de Brito**

Orientador: Professor Doutor José Manuel Mota  
Ruivo Martins

Co-orientador: Professor Doutor José Alberto Feijão  
Macedo Neves

**Mestrado em Engenharia Zootécnica**

Dissertação

Évora, 2014

**Para os meus pais**

*Este trabalho é financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Factores de Competitividade – COMPETE e por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do Projecto Estratégico PEst-OE/AGR/UI0115/2014.*



## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor José Manuel Mota Ruivo Martins por ter aceitado ser meu orientador, pela disponibilidade e pelos ensinamentos que me transmitiu ao longo deste trabalho.

Ao Professor Doutor José Alberto Feijão Macedo Neves por ter aceitado ser co-orientador e por toda a ajuda na realização deste trabalho.

À Engenheira Graça Machado pela disponibilidade e ajuda prestada no laboratório de Nutrição e Metabolismo da Universidade de Évora com todos os materiais e equipamentos.

À Margarida Romão do Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Universidade de Évora por toda a ajuda e boa disposição durante os dias passados no laboratório.

Aos meus colegas de turma Hugo Ventura, Margarida Brandão e Teresa Eusébio pela amizade ao longo destes anos, pela boa disposição e convívio durante este trabalho em especial os dias passados no laboratório.

À Ana Bota e ao João Fragoso pela amizade, convívio e boa disposição de sempre.

A toda a minha família em especial aos meus pais por todo amor, apoio, motivação que me deram ao longo da vida e sem os quais este trabalho não teria sido possível.

Por fim ao Hugo por toda a paciência, dedicação e por ser aquela pessoa com quem posso sempre contar.

## RESUMO

A betaína tem sido utilizada na alimentação animal, sendo-lhe apontados efeitos lipotrópico, apesar de inconsistentes. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da suplementação a longo prazo (20 semanas) de betaína no crescimento de porcos Alentejanos, bem como nas características físico-químicas e, com especial ênfase, no perfil lipídico e teor em colesterol dos músculos *Biceps femoris* e *Longissimus dorsi*. Foram utilizados 14 animais castrados com cerca de 36 kg de peso vivo, divididos em dois grupos: o grupo C, alimentado com uma dieta comercial (C) e o grupo CB, alimentado com a dieta C suplementada com 1 g/kg de betaína. Os animais foram abatidos aos 100 kg de peso vivo. Entre outros, foram determinados nos músculos parâmetros como a cor, pH, capacidade de retenção da água, humidade, lípidos intramusculares totais, proteína, colagénio, composição dos ácidos gordos e colesterol. Os animais do grupo CB obtiveram um aumento dos níveis de lípidos totais nos dois músculos (3,69 mg/100g e 3,55 mg/100g,  $P < 0,05$ ), e dos níveis de colesterol no *Biceps femoris* (47,71 mg/100g,  $P < 0,01$ ). Não houve efeitos no perfil dos ácidos gordos mais abundantes dos músculos em estudo. Este efeito sugere que a betaína afeta o metabolismo do colesterol, sem afetar o perfil dos ácidos gordos mais abundantes dos dois músculos.

Palavras-chave: Porco Alentejano, betaína, perfil lipídico, colesterol.

## **TITLE: Effect of dietary betaine supplementation on lipid profile of two muscles of Alentejano pigs**

### **ABSTRACT**

Betaine is used in animal feed and has been related to lipotropic effects, although inconsistent. This study was made to investigate the effects of long term (20 weeks) betaine intake on the growth and carcass of Alentejano pigs, as well as on the physical-chemical characteristics and, with special emphasis, on the lipid profile and cholesterol content of *Biceps femoris* e *Longissimus dorsi* muscles. At 36 kg body weight, 14 castrated pigs, were divided into two groups: group C, consuming a commercial diet (C), and group CB, consuming the C diet supplemented with 1 g/kg of betaine. Pigs were slaughtered at 100 kg body weight. Among others, parameters such as color, pH, water holding capacity, moisture, total intramuscular lipids, protein, collagen, fatty acid composition and cholesterol were determined on muscles. Pigs from group CB had increased levels of total lipids in both muscles (3.69 mg/100g and 3.55 mg/100g,  $P<0.05$ ) and of the cholesterol level in *Biceps femoris* (47,71 mg/100g,  $P<0,01$ ). No effects were recorded on the profile of the most abundant fatty acids of both muscles. This effect suggests that betaine affects cholesterol metabolism without affecting the most abundant fatty acids profile of the two muscles.

Keywords: Alentejano pigs, betaine, lipid profile, cholesterol.

## Índice

Índice de Figuras .....	VII
Índice de Quadros .....	VIII
Lista de Abreviaturas.....	IX
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica .....	2
2.1 Raça Alentejana.....	2
2.1.1 Referências históricas e importância socioeconómica .....	2
2.1.1.1 Características da raça .....	3
2.1.1.2 Sistemas de produção .....	5
2.1.1.2.1 Sistema tradicional.....	5
2.1.1.2.2 Sistemas actuais de produção.....	6
2.1.2 Caracterização dos músculos <i>Biceps femoris</i> e <i>Longissimus dorsi</i> .....	8
2.1.2.1 Estrutura dos músculos .....	8
2.1.2.2 Composição muscular .....	10
2.1.2.3 Deposição lipídica intramuscular .....	11
2.2 O colesterol .....	13
2.2.1 Metabolismo do colesterol .....	13
2.2.2 O colesterol em suínos .....	15
2.2.3 O colesterol e a Saúde Pública .....	16
2.3 Betaína .....	17
2.3.1 Fontes alimentares de betaína.....	18
2.3.2 Principais funções fisiológicas da betaína .....	18
2.3.2.1 A betaína como dadora de grupos metilo.....	19
2.3.2.2 Ação osmoprotetora da betaína .....	20
2.3.2.3 Intervenção da betaína ao nível do metabolismo lipídico .....	22
2.3.3 Betaína, saúde e doença .....	23
2.3.3.1 Relações com as dislipidémias e a síndrome metabólica .....	23
2.3.3.2 Relações com a homocisteína e as doenças cardiovasculares.....	23
2.3.3.3 Relações com outras doenças .....	24

2.4.4	A utilização da betaína na produção animal .....	25
2.4.4.1	A utilização da betaína na produção suína: a betaína como modificador da composição da carcaça .....	25
2.4.4.2	Efeitos na deposição proteica .....	25
2.4.4.3	Efeitos na utilização da energia.....	26
2.4.4.4	Efeitos na deposição lipídica e de colesterol .....	27
2.4.5	Vantagens e desvantagens da utilização da betaína.....	29
2.4.5.1	Efeitos na carne.....	29
2.4.5.2	Efeitos na saúde do consumidor .....	30
2.4.6	Um caso específico: a utilização da betaína num modelo animal de raça obesa ...	31
3.	Materiais e Métodos .....	33
3.1	Ensaio experimental.....	33
3.2	Procedimentos analíticos .....	35
3.2.1	Parâmetros Físicos .....	35
3.2.1.1	Cor .....	35
3.2.1.2	pH .....	36
3.2.1.3	Perda de água.....	37
3.2.2	Parâmetros Químicos.....	37
3.2.2.1	Humidade .....	37
3.2.2.2	Teor de Proteína.....	38
3.2.2.3	Teor em colagénio.....	38
3.2.2.4	Composição dos ácidos gordos .....	39
3.2.2.5	Determinação do teor em colesterol .....	40
3.3	Análise Estatística.....	41
4.	Apresentação e discussão dos resultados.....	42
4.1	Dados zootécnicos.....	42
4.2	Parâmetros físico-químicos e perfil lipídico da gordura intramuscular do músculo <i>Longissimus dorsi</i> .....	43
4.4	Colesterol total dos músculos <i>Longissimus dorsi</i> e <i>Biceps femoris</i> .....	54
5.	Conclusão .....	56
6.	Bibliografia .....	58

## Índice de Figuras

Figura 1 - Evolução do número de criadores e dos registos de porcas reprodutoras e de machos.....	3
Figura 2 - Porco Alentejano .....	4
Figura 3 - Anatomia de um músculo esquelético .....	9
Figura 4 - Síntese do Colesterol.....	14
Figura 5 - A betaína ( <i>N-N-N</i> -trimetil-glicina) .....	17
Figura 6 - Fontes alimentares ricas em betaína .....	18
Figura 7 - A betaína como dadora de grupos metilo.....	20
Figura 8 - Sistema CIELAB .....	36

## Índice de Quadros

Tabela 1. Composição química e ácidos gordos mais abundantes da ração comercial.	34
Tabela 2. Dados zootécnicos de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas† .....	42
Tabela 3. Parâmetros físico-químicos do m. <i>Longissimus dorsi</i> de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas† .....	44
Tabela 4. Perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares neutros do m. <i>Longissimus dorsi</i> de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas† .....	46
Tabela 5. Perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares polares do m. <i>Longissimus dorsi</i> de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas† .....	48
Tabela 6. Parâmetros físico-químicos do m. <i>Biceps femoris</i> de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas† .....	50
Tabela 7. Perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares neutros do m. <i>Biceps femoris</i> de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas† .....	51
Tabela 8. Perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares polares do m. <i>Biceps femoris</i> de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas† .....	53
Tabela 9. Colesterol total nos músculos de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas† .....	54

## **Lista de Abreviaturas**

AG – Ácidos gordos

C – grupo controlo

CB – grupo suplementado com betaína

CLA - Ácido linoléico conjugado

HDL – Lipoproteínas de alta densidade

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

MUFA – Ácidos gordos mono-insaturados

PUFA – Ácidos gordos poli-insaturados

SFA – Ácidos gordos saturados

TAG – Triacilgliceróis

## 1. Introdução

O consumo de carne suína a nível mundial, extremamente importante, tem sido associado a doenças cardiovasculares devido aos níveis elevados de lípidos totais e colesterol total que ela apresenta (Bragagnolo e Rodriguez-Amaya, 2002). A raça suína Alentejana é uma raça autóctone, explorada na maioria dos casos num sistema extensivo, integrado num complexo agro-silvo-pastoril bem definido, que valoriza os recursos alimentares naturais. Comparativamente com outros, o porco Alentejano tem um ritmo de crescimento lento e uma atividade lipogénica precoce e elevada.

Desde que foi descoberta em 1860, a betaína tem sido utilizada como suplemento quer na alimentação humana, quer na animal. Esta pode ser encontrada amplamente nos tecidos de animais e plantas e, no caso dos mamíferos, as suas principais funções fisiológicas são fornecer grupos metilo e exercer uma ação osmoprotetora. Tem sido utilizada como agente modulador da composição da carcaça suína, sendo-lhe apontados efeitos lipotrópicos, apesar de inconsistentes. Por outro lado, existe pouca informação referente ao efeito do consumo da betaína no perfil de ácidos gordos e no teor em colesterol da carne, sendo também raros os estudos em raças de elevada atividade lipogénica, como é o caso do porco de raça Alentejana.

Tentando colmatar a falta de dados experimentais acima referidos, o presente ensaio testou o efeito da suplementação a longo prazo da betaína no crescimento e carcaça do animal, bem como nas características físico-químicas e, com especial ênfase, no perfil lipídico e teor em colesterol dos músculos *Longissimus dorsi* e *Biceps femoris* de uma raça suína considerada obesa, o porco Alentejano. Estes músculos foram selecionados devido à sua importância na composição das peças de talho Lombo e Perna.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1 Raça Alentejana

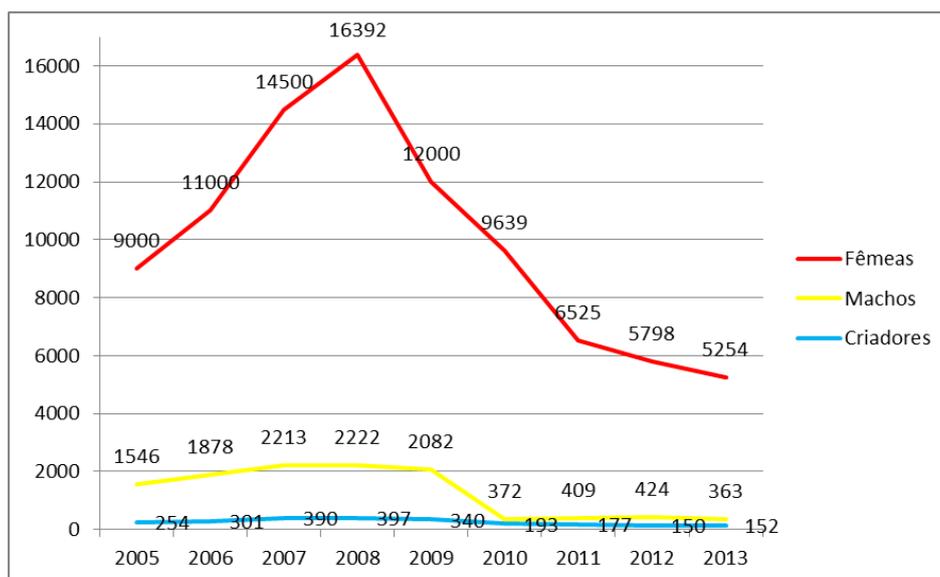
#### 2.1.1 Referências históricas e importância socioeconómica

O porco Alentejano é uma raça autóctone portuguesa que é criada maioritariamente no Alentejo e concelhos limítrofes. Até aos anos 50 do século passado, a produção de suínos era fundamentalmente um complemento da actividade agrícola (Freitas, 2006). Estes destinavam-se ao abastecimento das populações em carne fresca e salgada e às oficinas artesanais de produção de enchidos e presuntos (Freitas, s.d.).

Esta raça, explorada em regime extensivo e integrada num complexo agro-silvo-pastoril bem definido, valorizando os recursos alimentares naturais, ocupou até à década de cinquenta um lugar de destaque na economia agro-pecuária do Alentejo e na produção, comércio e industrialização da carne de porco do país (Freitas, 2006). A partir do final dos anos cinquenta e até ao início da década de noventa do século passado, assistiu-se, por um lado, à diminuição dos efectivos de porco Alentejano e ao abandono do sistema de montanha e, por outro, ao desenvolvimento da suinicultura intensiva baseada na utilização de raças de carne, na utilização massiva de alimentos compostos e no avultado investimento em instalações (Freitas, 1998; Fernandes *et al.*, 2008).

A partir de 1990 a fileira produtiva do porco Alentejano registou profundas alterações. Para salvaguardar os efectivos ainda existentes e evitar a extinção da raça, foram concedidos apoios financeiros a esta raça autóctone, que também abrangeram a recuperação dos montados e a reintrodução do porco de montanha (Fernandes *et al.*, 2008). A mudança das políticas agrícolas da União Europeia e o aparecimento de protecções, através de Denominação de Origem Protegida (DOPs) e Indicação Geográfica Protegida (IGPs) para os produtos de qualidade certificados, com origem nestes animais (como por exemplo o presunto de Barrancos DOP) proporcionaram

também uma relação de confiança entre a fileira de produção e os consumidores que favoreceu o crescimento deste segmento específico de mercado (Charneca, 2010). No entanto, nos últimos cinco anos, devido à crise de mercado e elevados custos de produção verificados, houve uma queda acentuada do efetivo nacional (ANCPA, 2013) (Figura 1).



**Figura 1 - Evolução do número de criadores e dos registos de porcas reprodutoras e de machos no livro genealógico da raça Alentejana**

Fonte: UNIAPRA ([www.uniapra.pt](http://www.uniapra.pt))

### 2.1.1 Características da raça

A sua constituição genética deriva do *Sus mediterraneus* (Frazão, 1984, citado por Mendes, 2013) o javali do Sul, mas que por ter sofrido algumas pressões, como o tempo de adaptação ao ambiente do Mediterrâneo, a domesticação, a cultura e hábitos alimentares dos povos do Sul e da região Ibérica, deu origem ao porco Alentejano que se conhece nos dias de hoje (Tirapicos, 2002, citado por Silva, 2005).

Pode dizer-se que a raça suína Alentejana (Figura 2) possui características muito próprias:

- Tipo: Corpulência médio-pequena, esqueleto aligeirado, grande rusticidade e temperamento vivo.
- Pele: Preto ardósia, com cerdas raras, finas, de cor preta ou ruiva.
- Cabeça: Comprida e fina, de ângulo fronto-nasal pouco acentuado, orelhas pequenas e finas, de forma triangular, dirigidas para a frente e com a ponta ligeiramente lançada para fora.
- Pescoço: de comprimento médio e musculado.
- Tronco: região dorso-lombar pouco arqueada, garupa comprida e oblíqua, ventre descaído, cauda fina de média inserção e terminada com um tufo de cerdas.
- Membros: de comprimento médio, delgados e bem apumados, terminando por pés pequenos e de unha rija.
- Andamentos: ágeis e elásticos.
- Características sexuais: Macho com testículos bem salientes e medianamente volumosos. Fêmea com mamilos em número não inferior a cinco de cada lado (ANCPA, s.d).



**Figura 2 - Porco Alentejano**

**Fonte:** <http://www.barrancarnes.com/segredos/raca-alentejana.php>

**Data de acesso:** 15 de Agosto de 2014

Comparativamente com as raças comerciais, o porco Alentejano tem um ritmo de crescimento lento, com uma grande atividade lipogénica nas fases mais iniciais do desenvolvimento. Os seus depósitos lipídicos estão maioritariamente na zona subcutânea, renal e pélvica (Neves *et al.*, 2010). Estes animais criados tradicionalmente, como atingem o seu peso de abate em idades avançadas, conferem grande maturidade à carne produzida (Charneca, 2010).

### 2.1.2 Sistemas de produção

#### 2.1.2.1 Sistema tradicional

Desde tempos remotos que o porco Alentejano é explorado em regime extensivo, fazendo parte e estando perfeitamente integrado num sistema agro-silvo-pastoril bem definido, onde a montanheira (engorda intensiva dos animais nos montados de azinho e sobro, desde o final de Outubro, princípios de Novembro, a fins de Fevereiro) representa o elemento estratégico do sistema de produção (Freitas, 2006; Fernandes *et al.*, 2008). A pastagem constituía o principal recurso alimentar das porcas durante o período de lactação e apenas nas épocas mais críticas se recorria à suplementação com cereais (cevada, aveia ou milho) leguminosas (gramicha, fava ou grão preto) restos da apanha da azeitona, bagaço de azeitona, restolhos ou farelos (Frazão, 1965, citado por Fernandes *et al.*, 2008).

As porcas faziam duas partições por ano. Na maioria das explorações, uma criação ocorria na Primavera (entre Março e Maio) sendo chamada de *erviça* ou *ervana* porque a alimentação dos bácoros se baseava na erva, e outra no Outono (entre Setembro e Novembro) chamada de *outoniça* ou *montanheira* porque utilizava o montado. Nalgumas explorações as partições ocorriam em Janeiro e Julho, denominando-se por isso *janeirinha* a primeira e *veraniça* ou *espiguenha* a segunda (Miranda do Vale, 1949).

Os leitões até aos 20-25 dias de idade ingeriam apenas o leite materno. Quando eram capazes de sair das quartelhas e aceder ao comedouro comum, era-lhes fornecida cevada em grão, em quantidade crescente até ao máximo de 400 gramas por leitão (Frazão, 1965, citado por Freitas, 2006). Com um mês a um mês e meio de idade, os leitões começavam a sair para a pastagem, formando então o alfeire (Vacas, 1944, citado por Freitas, 2006). O desmame ocorria aos dois meses de idade. Aos três meses ou um pouco mais tarde, procedia-se à castração dos animais, com excepção dos escolhidos para varrascos e das marrãs que ficavam para criação (Vacas, 1944; Frazão, 1965, citados por Freitas, 2006).

A alimentação deficiente em quantidade e qualidade durante o período que antecedia a montanha condicionava o crescimento dos animais, alongando o ciclo de produção. No entanto, a alimentação fortemente energética durante a engorda em montanha possibilitava a obtenção de ganhos médios diários extremamente elevados (Freitas, 2006). No final do século XVIII, os suínos de raça Alentejana eram cevados nos montados entre os 18 e os 24 meses de idade, adquirindo 100 kg de peso em apenas três meses (Bernardo Lima, 1865, citado por Freitas, 2006). Segundo Frazão (1965) citado por Freitas (2006) na montanha entravam os alfeires grossos, porcos de 15 a 20 meses de idade e 60 a 75 kg, que podiam ser engordados até aos 150 kg.

#### **2.1.2.2 Sistemas actuais de produção**

Os presuntos de porco Alentejano, nomeadamente os obtidos de porcos engordados nos montados, são produtos muito valorizados e com elevada procura no mercado. O fornecimento de matéria-prima para a indústria de presunto tem sido o principal objectivo da produção de porco Alentejano, existindo mesmo produtores que produzem exclusivamente para o mercado espanhol, assim como agricultores que alugam os seus montados para acabamento de animais da raça Ibérica. A produção extensiva de porco Alentejano visa também o fornecimento de matéria-prima para a produção de enchidos. Nos últimos anos, mercê da boa receptividade junto do

consumidor, também a procura de carne para consumo em fresco tem vindo a aumentar, sendo uma alternativa de produção, nomeadamente com base em animais que, pela época de nascimento, não se destinam à montanha e que tradicionalmente se destinavam ao mercado de leitão para assar (Freitas, 2006; Fernandes *et al.*, 2008).

As modalidades de exploração actuais conservam os traços dominantes e as características mais interessantes do sistema de produção tradicional, nomeadamente a engorda de porcos na montanha associada e complementando a exploração de porcas reprodutoras. Não existe um sistema de produção uniforme, já que as épocas de cobrição, o manejo alimentar, o peso e idade de abate variam de exploração para exploração, em função do objectivo produtivo pretendido (Freitas, 2006; Fernandes *et al.*, 2008). Em relação às explorações de porcas reprodutoras, os efectivos variam entre 5 e 100 fêmeas que são cobertas duas vezes por ano, ocorrendo uma cobrição entre Janeiro e Junho, e outra entre Julho e Dezembro. Nas explorações cujo efectivo de porcas reprodutoras se encontra dividido em dois lotes, as cobrições ocorrem em Fevereiro/Março, Maio/Junho, Agosto/Setembro e Novembro/Dezembro (Freitas, 2006).

Os leitões nascidos no Outono/Inverno são orientados, predominantemente, para a produção de matéria-prima destinada à indústria de presuntos (Presunto de Barrancos ou exportação para Espanha) sendo criados e, posteriormente, engordados na montanha. Dos nascidos na Primavera/Verão escolhem-se os animais de substituição, destinando-se os restantes à indústria de enchidos, à produção de carne para consumo em fresco e ao mercado de leitão para assar (Freitas, 2006; Fernandes *et al.*, 2008). Os leitões Alentejanos nascem com um peso vivo oscilando entre 1,1 e 1,3 kg, sendo alimentados com leite materno até ao desmame, que se efectua entre os 45 e 60 dias de idade e cerca de 10 a 14 kg de peso vivo (Fernandes *et al.*, 2008). Após a fase de cria, os leitões entram no período de recria, que se prolonga até ao período de engorda ou acabamento. Na fase de recria é usual distinguir a fase após o desmame (entre os 14 e 25 kg de peso vivo e uma duração aproximada de um mês) da fase de crescimento (entre os 25 Kg e a entrada em montanha ou o abate). Nos animais que

se destinam à engorda em montanha, também é usual incluir na fase de recria a fase de pré-montanha, período compreendido entre Julho e Outubro, que antecede a entrada dos animais nos montados (Freitas, 2006; Fernandes *et al.*, 2008).

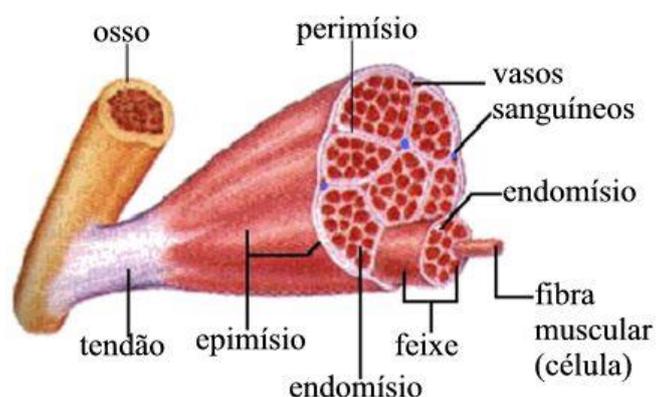
Caso se destinem ao mercado da carne para consumo em fresco, os porcos são abatidos entre os 12 e 18 meses de idade, com um peso vivo variando entre os 90 e 100 kg. Serão abatidos entre os 115 e 130 kg se o seu destino é a salsicharia tradicional, ou aos 150 a 170 kg, se se destinam à indústria dos presuntos ou ao mercado espanhol (Freitas, 2006; Fernandes *et al.*, 2008).

## **2.2 Caracterização dos músculos *Biceps femoris* e *Longissimus dorsi***

Os músculos *Biceps femoris* e *Longissimus dorsi* são músculos esqueléticos. Do ponto de vista microscópico, as fibras musculares esqueléticas exibem um padrão em estrias, característica resultante do arranjo ordenado das proteínas contrácteis no interior das células. Como consequência, o músculo esquelético é também chamado de músculo estriado (Frandsen e Spurgeon, 1995). Estes dois músculos fazem parte de duas importantes peças de talho, a Perna e o Lombo, respectivamente.

### **2.2.1 Estrutura dos músculos**

O tecido muscular esquelético é constituído por feixes de células longas e multinucleadas, com estrias visíveis. Na parte mais exterior está o epimísio, membrana que cobre todo o músculo. Do epimísio partem finos septos de tecido conjuntivo que se dirigem para o interior do músculo, separando os feixes musculares, chamados perimísio. Assim, o perimísio envolve os feixes musculares, que por sua vez são constituídos por um conjunto de fibras musculares. Cada fibra muscular, individualmente, é envolvida pelo endomísio (Frandsen e Spurgeon, 1995) (figura 3).



**Figura 3 - Anatomia de um músculo esquelético**

Fonte: <http://grupomedveterinaria.wordpress.com/2012/06/21/tecido-muscular/>

Data de acesso: 18 de Agosto de 2014

As fibras musculares são células polinucleadas, normalmente com cerca de 10 a 100  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Lee *et al.*, 2010). Em geral, as fibras musculares são classificadas de acordo com as suas propriedades contráteis e metabólicas (Lefaucheur, 2010). Na verdade, todos os tipos de fibras são observados na maior parte dos músculos. A sua composição relativa nos diferentes músculos pode determinar a predominância das propriedades metabólicas do músculo (Ryu e Kim, 2005).

A principal diferença entre os distintos tipos de fibras musculares encontra-se na predominância de metabolismo aeróbio (oxidativo) ou anaeróbio (glicolítico). As fibras vermelhas (tipo I) aquelas onde predomina o metabolismo aeróbio, exibem contrações mais lentas e contêm um maior número de mitocôndrias e mioglobina. Nas fibras brancas (tipo II) de contração rápida e com muito menor número de mitocôndrias e menor teor em mioglobina, predomina o metabolismo anaeróbio. Por outro lado, as denominadas fibras intermédias apresentam características intermédias entre as fibras vermelhas e brancas. As fibras do tipo II subdividem-se em IIA e IIB, tendo as IIA uma boa capacidade para o metabolismo aeróbio associada às suas características de contração rápida, ao invés das IIB que obtêm energia para as suas contrações rápidas a partir do metabolismo anaeróbio (Jurie *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2010).

A taxa de diferenciação das fibras musculares varia entre os diferentes músculos. Nos animais jovens, as fibras musculares começam por ser oxidativas indiferenciadas (Ashmore e Doerr, 1972). Inicialmente, as fibras do tipo II são oxidativas, mas têm a capacidade de alterar o seu metabolismo aeróbio para um anaeróbio. Esta transformação ocorre principalmente devido a alterações nas enzimas produtoras de energia e é acompanhada por um aumento rápido no tamanho das fibras. As fibras do tipo I mantêm o seu metabolismo aeróbio durante toda a vida (Swatland, 1973).

O músculo *Longissimus dorsi* contém uma grande percentagem de fibras do tipo IIB (80 a 90%) sendo por isso um músculo maioritariamente glicolítico. Por outro lado, o músculo *Biceps femoris* tem maior proporção de fibras do tipo I que o *Longissimus dorsi*, tendo por isso uma maior capacidade para um metabolismo oxidativo que este último (Karlsson *et al.*, 1993).

### 2.2.2 Composição muscular

Os músculos são compostos predominantemente por miofibrilhas, tecido adiposo e conjuntivo em quantidade variável e por uma pequena proporção de tecido nervoso e vascular (entre outros). Por sua vez, estes elementos do músculo esquelético contribuem entre si para um valor médio de 75% de água, 19% de proteína, 3,5% de substâncias não-proteicas solúveis e 2,5% de gordura (Lawrie, 2005, citado por Catela, 2013).

Nos suínos de raça Alentejana, a percentagem de músculo é inferior à observada nas raças comerciais, variando este valor entre os 30 e os 40% do peso total da carcaça (Nunes, 1998 citado por Silva, 2005) com as peças gordas a chegarem até aos 50% (Neves *et al.*, 2004 citados por Neves *et al.*, 2010).

No caso particular dos músculos em estudo neste trabalho, Neves (1998) obteve valores de composição química (em % de produto) para porcos de raça Alentejana abatidos aos 95 kg de peso vivo de:  $70,58 \pm 0,22$  de humidade,  $22,52 \pm 0,66$  de

proteína,  $3,82 \pm 0,59$  de lípidos neutros,  $0,99 \pm 0,10$  de lípidos polares para o *Longissimus dorsi*; e de  $73,21 \pm 0,15$  de humidade,  $20,33 \pm 1,11$  de proteína,  $5,10 \pm 0,90$  de lípidos neutros,  $0,98 \pm 0,09$  de lípidos polares para o *Biceps femoris*. Noutro trabalho, Neves *et al.* (2005) obtiveram valores de composição química para o *Biceps femoris* de porcos de raça Alentejana abatidos aos 100 kg de peso vivo (em % de produto) de 72,34% de humidade, 21,02% de proteína, 4,40% de lípidos neutros e 1,21% de lípidos polares.

### 2.2.3 Deposição lipídica intramuscular

Os lípidos constituem reservas importantes sob a forma de energia armazenada, podem ter funções estruturais e formam ainda a base das hormonas esteroides. Os que assumem funções estruturais são constituídos principalmente pelos fosfolípidos e colesterol, sendo as reservas energéticas constituídas principalmente por triacilgliceróis (TAG) incluídos em adipócitos (Correia e Correia, 1985; Lehninger *et al.*, 2008).

Em relação à gordura de porco, 70% dela não se encontra na carne, mas sim em tecidos subcutâneos (gordura subcutânea). Apenas 20 a 22% da gordura está entre os músculos (gordura intermuscular) ou dentro deles (gordura intramuscular) contribuindo esta última para um melhor sabor e maciez (Wood *et al.*, 2008). O termo gordura intramuscular refere-se aos TAG presentes nos adipócitos e nas fibras musculares. O tecido adiposo intramuscular é composto por células de gordura, que podem ser encontradas em conjunto ou isoladas, ao longo das fibras e no espaço interfascicular. São constituídas principalmente por TAG, enquanto os lípidos do interior das fibras são formados por pequenas gotículas citosólicas de TAG, fosfolípidos e colesterol (Raes *et al.*, 2004). No entanto, a quantidade de TAG nas fibras representa apenas uma pequena parte do total de TAG intramusculares (Gandemer, 2002). No músculo, o conteúdo em fosfolípidos é relativamente constante e menos influenciado pela raça, nutrição e idade. No entanto, o conteúdo em fosfolípidos dependerá do tipo

de fibra metabólica do músculo. Assim, músculos do tipo glicolítico têm menos lípidos totais, TAG, fosfolípidos, colesterol e menor conteúdo em ácidos gordos polinsaturados, quando comparados com músculos de tipo oxidativo (Alasnier *et al.*, 1996). Músculos mais oxidativos contêm uma maior proporção de fosfolípidos, devido à maior quantidade de mitocôndrias (Raes *et al.*, 2004).

Os ácidos gordos (AG) são parte integrante e estrutural dos fosfolípidos e TAG. São constituídos por átomos de hidrogénio (H), carbono (C) e oxigénio (O), organizados numa cadeia base de C com um grupo carboxilo (COOH) numa extremidade. Esta cadeia pode apresentar ligações simples entre os átomos de C (AG saturados) ou apresentar ligações duplas e triplas (AG insaturados). Os AG estão subdivididos de acordo com o seu comprimento de cadeia e com o seu número de ligações duplas (Correia e Correia, 1985; Lehninger *et al.*, 2008). A maioria dos animais consegue sintetizar ácidos gordos saturados (SFA) e mono-insaturados (MUFA) a partir de precursores, mas não são capazes de sintetizar os ácidos gordos poli-insaturados (PUFA) como o ácido linoleico (C18:2 n-6) e o ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3 n-3) (Correia e Correia, 1985; Koolman e Roehm, 2005). Deste modo, se a origem dos lípidos for endógena, os ácidos gordos presentes serão maioritariamente saturados. Caso a sua origem seja exógena, isto é, obtidos a partir dos alimentos, a composição em AG vai depender do teor destes na dieta (Lazo *et al.*, 1994). A maior parte dos AG constituintes dos TAG consistem em SFA e MUFA. Os PUFA aparecem representados predominantemente pelo ácido linoleico (LA) e pelo ácido linolénico (LNA) cuja quantidade pode variar entre os 2 e os 30 g por cada 100 g de AG totais (Raes *et al.*, 2004). No caso da carne de porco, o valor em PUFA dos TAG pode variar entre 7 e 15% (Gandemer, 2002). No caso dos fosfolípidos, estes caracterizam-se por conter um alto teor em PUFA (20 a 50% do seu total em AG) nos quais estão representados maioritariamente AGs de cadeia longa ou muito longa (com 18, 20 ou 22 átomos de carbono) e com duas a seis ligações duplas (Raes *et al.*, 2004).

## 2.3 O colesterol

O colesterol é um componente essencial das membranas celulares dos mamíferos. É um lípido com função estrutural, onde participa determinantemente para criar barreiras semipermeáveis entre os diferentes compartimentos celulares, assim como na regulação da fluidez de membrana (Ikonen, 2008). Para além da sua função nas membranas celulares, o colesterol é também um importante precursor de hormonas esteróides como o estrogénio, a testosterona e aldosterona, e é um dos constituintes dos ácidos biliares (Rezen *et al.*, 2011). O colesterol é abundante no citoplasma das membranas, onde representa tipicamente 20-25% da fração lipídica, com vários fosfolípidos, esfingomielinas e glicolípidos que constituem o restante (Ikonen, 2008).

### 2.3.1 Metabolismo do colesterol

O colesterol é obtido de duas fontes, por meio de síntese *de novo* (endógena) e através da dieta (exógeno). Estima-se que a contribuição de cada uma destas fontes seja 70% e 30% respetivamente (Grundy, 1983). Na prática, poderá variar consideravelmente entre os indivíduos, em função tanto da constituição genética (eficácia da produção de colesterol *versus* absorção) como do fornecimento de colesterol na dieta (Ikonen, 2008) cujo aumento está positivamente relacionado com a redução da síntese de novo (Férézou *et al.*, 1997).

O fígado, seguido do intestino, são os principais locais da síntese do colesterol, podendo produzi-lo em grandes quantidades. Pode também ser produzido nos testículos, ovários e córtex das suprarrenais. Todas as células nucleadas podem sintetizar colesterol a partir do acetil-CoA através da via do mevalonato (Figura 4). Duas unidades de acetil-CoA são condensadas numa reação química formando acetoacetil-CoA. O acetoacetil-CoA e uma terceira unidade de acetil-CoA são convertidos em 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) pela ação da enzima HMG-

CoA sintase. De seguida, a HMG-CoA é convertida em mevalonato pela HMG-CoA reductase (HMG-CoAR) ocorre a fosforilação e três moléculas de mevalonato são combinadas para produzir farnesil-pirofosfato. O primeiro esteroide intermediário nesta via é lanosterol, o qual é posteriormente decomposto por várias enzimas para formar colesterol (Dupont, 2006; Ikonen, 2008).

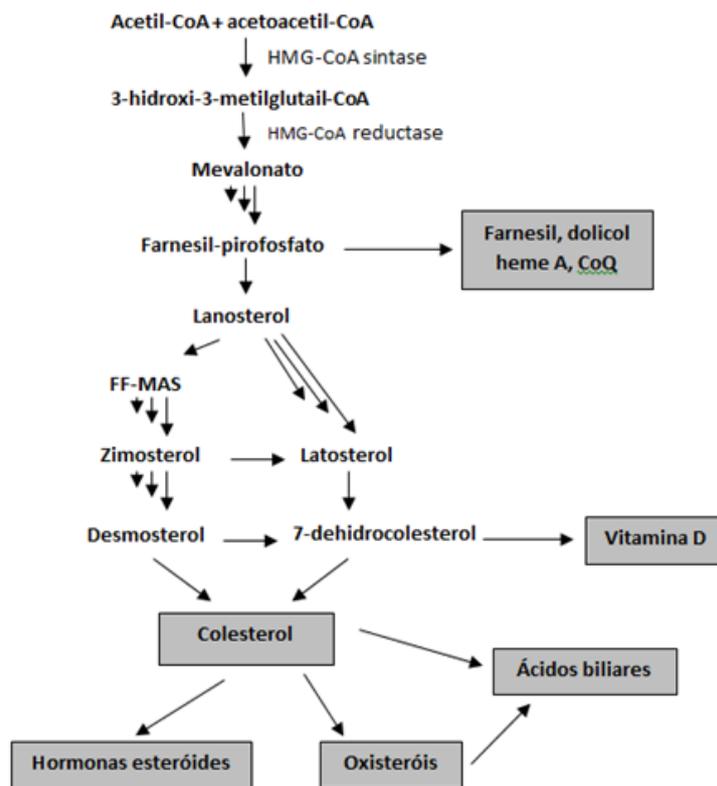


Figura 4 - Síntese do Colesterol

(Nota: CoQ – Ubiquinona; FF-MAS - Esterol do líquido folicular activador da meiose)

Fonte: Rezen *et al.*, 2011

Como é insolúvel em água e, conseqüentemente, no sangue, o colesterol é transportado em combinação com outras substâncias na forma de lipoproteínas, com um núcleo lipídico hidrófobo e uma camada circundante de fosfolípidos e apolipoproteínas (Stamford e Moffatt, 2006). Existem vários tipos de lipoproteínas, as quais variam em tamanho e em densidade. Entre estas, estão as lipoproteínas de baixa

densidade (LDL) que transportam o colesterol sintetizado no fígado até às células de vários outros tecidos, e as lipoproteínas de alta densidade (HDL) que transportam o excesso de colesterol dos tecidos de volta para o fígado, onde é utilizado para a síntese dos sais biliares (Stamford e Moffatt, 2006; Ikonen, 2008).

Existem mecanismos de regulação para equilibrar a taxa de síntese e a taxa excreção de colesterol de um organismo. Um desequilíbrio nesta regulação pode conduzir a um aumento na circulação dos níveis de colesterol no plasma, bem como à sua acumulação em outros tecidos. A HMG-CoA redutase, enzima chave da síntese endógena do colesterol, está submetida a vários tipos de controlo metabólico, destacando-se mecanismos de “feedback” e de regulação hormonal (Champe e Harvey, 1994, citados por Ludke e López, 1999). Assim, quando a alimentação é rica em colesterol, ocorre um bloqueio da sua síntese endógena. Por outro lado, a redução muito acentuada de colesterol na dieta pode aumentar sua síntese endógena (Harper, 1993, citado por Ludke e López, 1999).

### 2.3.2 O colesterol em suínos

As informações sobre os teores de gordura e colesterol na carne nem sempre são precisas. Embora o teor de colesterol tenha vindo a ser avaliado em suínos, a influência de vários fatores como a raça e o peso corporal ainda é contraditória (Harris *et al.*, 1993).

Reitmeier e Prusa (1987) obtiveram para carne moída com 4, 9, 18 e 23% de gordura, valores de colesterol de 55,9, 57,5, 69,6 e 65,9 mg/100g, respectivamente. Valores semelhantes de 55,9 mg/100g foram obtidos por Bohac e Rhee (1988) para o músculo *Longissimus dorsi* de porcos cruzados. Harris *et al.* (1993) também encontraram valores de colesterol para o músculo *Longissimus dorsi* de porcos em crescimento Chester White x Landrace x Large White x Yorkshire variando entre 56,7 e 60,4 mg/100g. Valores mais baixos, de 44 mg/100g, foram encontrados por Bragagnolo e

Rodriguez-Amaya (2002) para peças de lombo de suínos adultos. Por fim, Kim *et al.* (2008) obtiveram valores de 63,6 mg/100g de colesterol para o músculo *Longissimus dorsi* de porcos cruzados. Já para o músculo *Biceps femoris*, estes autores obtiveram valores de 73,5 mg/100g.

Em relação a porcos Alentejanos engordados com milho e bolota e abatidos entre os 112 e os 142 kg, Catela (2013) encontrou valores de colesterol total para os músculos *Longissimus thoracis*, *Longissimus lumborum* e *Semimembranosus* de 43,0, 40,9 e 33,1 mg/100g, respetivamente.

### 2.3.3 O colesterol e a Saúde Pública

O colesterol é uma substância complexa que apresenta inúmeras funções no organismo. No entanto, caso haja distúrbios no seu metabolismo, isto pode significar um aumento na sua concentração sanguínea e, conseqüentemente, vários problemas ao nível da saúde (Ludke e López, 1999).

Duas doenças são frequentemente associadas a desequilíbrios na homeostase do colesterol e dos ácidos biliares. A primeira, os cálculos biliares, resulta da condição em que a bÍlis se torna supersaturada com colesterol. O colesterol cristaliza na vesícula biliar, dando origem à formação de grandes agregados cristalinos. A segunda doença, a aterosclerose, resulta de um nível elevado de colesterol no sangue. A aterosclerose é o endurecimento das paredes arteriais, com a deposição de colesterol na aorta e vasos do coração e do cérebro. A perda de elasticidade e o estreitamento do canal nas artérias conduzem ao aumento da pressão sobre coração e a um aumento do risco de doença cardíaca. Quando alguns dos depósitos de colesterol se soltam, podem bloquear o fluxo de sangue para o coração, causando um ataque cardíaco, ou bloquear o fluxo de sangue para o cérebro, causando um acidente vascular cerebral (Piste e Patil, 2006).

Skoog *et al.* (1996) citados por Sparks *et al.* (2000) publicaram o primeiro estudo prospectivo referindo uma relação significativa entre a hipertensão clinicamente estabelecida e subsequente demência. Com base no estudo de uma população idosa (90 anos) foi sugerido que o nível de hipertensão que estes experimentaram 15 anos antes (idades entre 70 e 79 anos) estava diretamente relacionado com o grau de demência que os pacientes iriam desenvolver. Vários estudos prospectivos recentes confirmam agora uma ligação entre uma anterior hipertensão e posterior declínio cognitivo e/ou demência (Sparks *et al.*, 2000).

## 2.4 Betaína

A betaína foi descoberta em 1860 por Sheibler, um químico alemão, que a isolou a partir da beterraba (*Beta vulgaris*). Este composto, cuja designação bioquímica é N-N-N-trimetil-glicina, é muito solúvel em água e praticamente insolúvel na maioria dos compostos orgânicos (Lever e Slow, 2010). Este derivado trimetilo do aminoácido glicina (Figura 5) é um metabolito que se encontra em tecidos de animais e plantas (Eklund *et al.*, 2005; Ratriyanto *et al.*, 2009; Lipiński *et al.*, 2012).

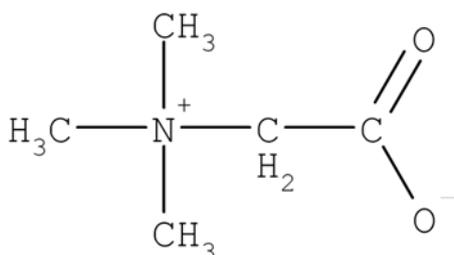


Figura 5 - A betaína (N-N-N-trimetil-glicina)

Fonte: <https://en.wikipedia.org/wiki/File:Betaine.png>

Data de acesso: 22 de Agosto de 2014

### 2.4.1 Fontes alimentares de betaína

Fontes alimentares ricas em betaína incluem invertebrados marinhos, gérmen e farelo de trigo, semente de colza, espinafres e beterraba (Lipiński *et al.*, 2012; Lever e Slow, 2010) (Figura 6). A betaína utilizada em suplementação animal é obtida destes alimentos, principalmente dos de origem vegetal.

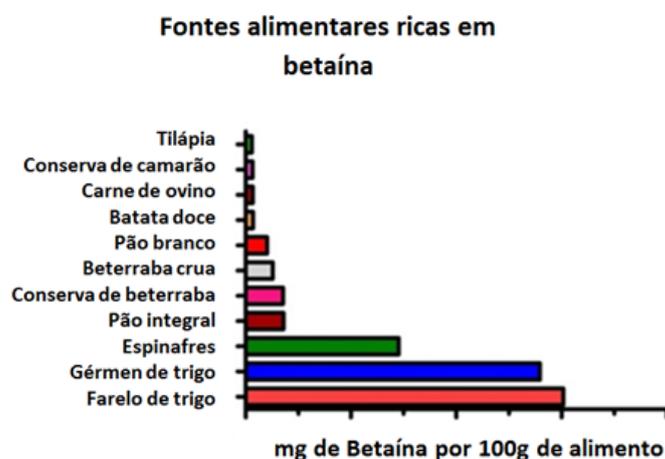


Figura 6 - Fontes alimentares ricas em betaína

Fonte: <http://blog.cholesterol-and-health.com/2010/12/meeting-choline-requirement-eggs-organs.html>

Data de acesso: 22 de Agosto de 2014

### 2.4.2 Principais funções fisiológicas da betaína

A betaína, amplamente sintetizada nos tecidos de animais e de plantas, bem como em microrganismos (Lipiński *et al.*, 2012) é, no caso dos mamíferos, utilizada para duas funções principais: i) como fornecedora de grupos metilo para a remetilação da homocisteína em metionina; e ii) como um dos principais osmólitos que estão acumulados na maioria dos tecidos para auxiliar na regulação do volume celular (Lever e Slow, 2010).

#### 2.4.2.1 A betaína como dadora de grupos metilo

Os grupos metilo são necessários para a síntese de numerosas substâncias, tais como a creatina, a fosfatidilcolina, a carnitina, a adrenalina, bem como os aminoácidos metilados (Eklund *et al.*, 2005). Para desempenhar este papel, a betaína é catabolizada através de uma série de reações enzimáticas que ocorrem principalmente nas mitocôndrias das células hepáticas e renais (Lipiński *et al.*, 2012). A transferência do grupo metilo é conseguida através da ativação da metionina em S-adenosil metionina (SAM) a qual é acompanhada da libertação de um grupo metilo (Eklund *et al.*, 2005; Ratriyanto *et al.*, 2009; Lipiński *et al.*, 2012) (Figura 7). Nesta reação, a SAM é degradada em S-adenosil homocisteína e, subsequentemente em homocisteína, a qual está envolvida em duas vias metabólicas diferentes. Por um lado, a homocisteína pode ser transformada de forma irreversível em cisteína que, por sua vez, pode ser utilizada para a síntese de proteínas. Por outro lado, a homocisteína pode ser remetilada por outras fontes metilo, para dar origem novamente a metionina (Eklund *et al.*, 2005; Ratriyanto *et al.*, 2009).

A remetilação em metionina é conseguida por duas enzimas diferentes: a betaína-homocisteína-metiltransferase (BHMT) ou a tetrahydrofolato-metiltransferase (THFMT). A BHMT catalisa a transferência de um único grupo metilo a partir da betaína para a homocisteína (ver Figura 7) para formar metionina (Eklund *et al.*, 2005; Lipiński *et al.*, 2012). A transferência do grupo metilo resulta na transformação da betaína em dimetilglicina, a qual contém ainda dois grupos metilo. Estes grupos metilo podem ser separados por oxidação, originando fragmentos de carbono simples (Eklund *et al.*, 2005; Ratriyanto *et al.*, 2009). Nesta reação, a dimetilglicina é degradada em sarcosina e finalmente em glicina (Ratriyanto *et al.*, 2009).

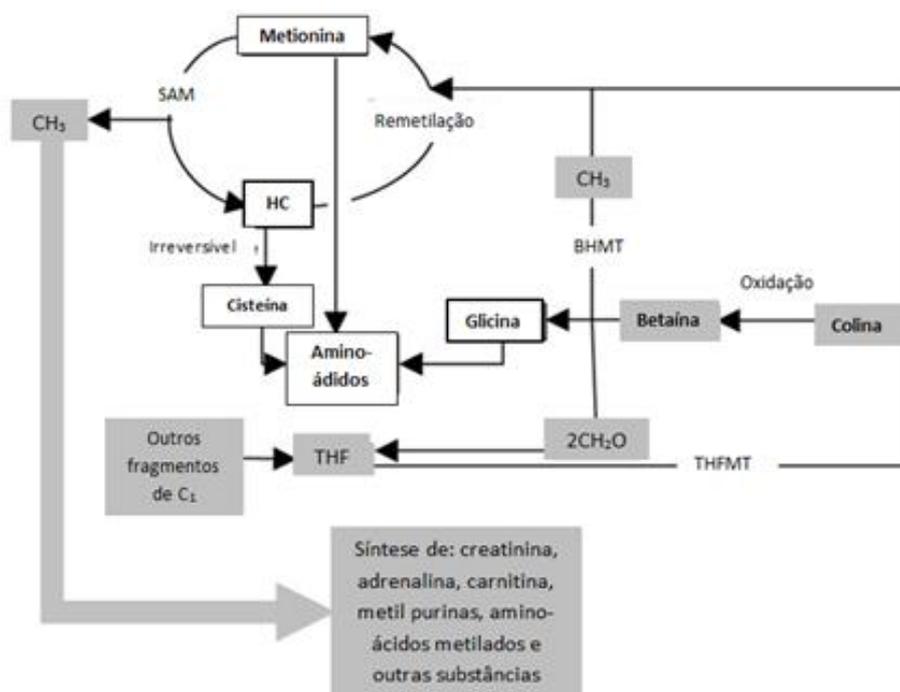


Figura 7 - A betaína como dadora de grupos metilo

Nota: BHMT - betaína-homocisteína-metiltransferase; SAM - S-adenosil metionina; HC - homocisteína; THF - tetraidrofolato; THFMT - tetraidrofolato-metiltransferase

Adaptado: Eklund *et al.*, 2005

Os carbonos simples da dimetilglicina são usados para a síntese *de novo* dos grupos metilo através da via do tetraidrofolato (THF). Os fragmentos de carbono simples ligam-se à molécula de THF e são transferidos através de uma reação enzimática catalisada pela THFMT para a homocisteína, para formar metionina (Eklund *et al.*, 2005; Ratriyanto *et al.*, 2009).

#### 2.4.2.2 Ação osmoprotetora da betaína

A água desempenha um papel fundamental no metabolismo celular e o seu mecanismo de regulação básico (a osmose) é controlado pelo gradiente de concentração de sais e solutos entre os espaços intra e extracelulares. Quando estas

condições são inadequadas, a bomba de sódio-potássio é utilizada para manter o equilíbrio hídrico celular, requerendo gasto de energia (Lipiński *et al.*, 2012).

A capacidade que uma célula tem de manter a sua estrutura e funcionamento pela regulação da água dentro e fora desta, chama-se osmorregulação (Kidd *et al.*, 1997). A osmorregulação, para além dos mecanismos acima descritos, envolve a utilização de osmólitos orgânicos. Os osmólitos orgânicos como a betaína, são moléculas muito solúveis, que podem ser acumuladas em grandes concentrações no citoplasma sem causar distúrbios nas funções celulares vitais. Esta acumulação vai evitar assim a ocorrência de alterações não desejáveis na pressão osmótica entre o exterior e o interior da célula, bem como um aumento excessivo na concentração intracelular de eletrólitos (Ratriyanto *et al.*, 2009; Lipiński *et al.*, 2012). Foi demonstrado que a betaína contribui para a retenção da água intracelular, com gastos de energia menores que os necessários pela intervenção da bomba de sódio-potássio. Assim, a betaína introduzida na alimentação contribui para a redução das necessidades energéticas de manutenção (Partridge, 2003).

Para além da sua atividade osmótica, a betaína exerce também um efeito osmoprotetor. Esta ação ocorre pela sua acumulação nos organelos celulares e células expostas ao estresse osmótico e iónico, substituindo iões inorgânicos e protegendo enzimas (Petronini *et al.*, 1992).

Além disso, o processo de digestão e absorção dos nutrientes exige mecanismos de proteção osmolítica (caracterizados pela acumulação de água no meio intracelular), uma vez que os enterócitos medeiam a troca de água, pequenos solutos, iões e macromoléculas entre plasma e fluido intestinal (Eklund *et al.*, 2005). Estas células lidam com meios osmóticos variáveis, uma vez que o conteúdo luminal do intestino é hiperosmótico em relação ao plasma sanguíneo (Mongin, 1976, citado por Ratriyanto *et al.*, 2009; Lipiński *et al.*, 2012). A betaína foi apontada como um importante osmólito orgânico para o controlo da pressão osmótica no interior dos enterócitos (Hochachka e Somero, 1984, citados por Ratriyanto *et al.*, 2009; Lipiński *et al.*, 2012). A proteção osmótica por ela implementada permite a manutenção do equilíbrio da água

e do volume do enterócito, facilitando a secreção de enzimas digestivas (Eklund *et al.*, 2005).

#### 2.4.2.3 Intervenção da betaína ao nível do metabolismo lipídico

Numerosos estudos sugerem que o metabolismo lipídico dos mamíferos também é afetado pela betaína, que é classificada como um composto ou factor lipotrópico (Lipiński *et al.*, 2012). A maneira como a betaína afeta o metabolismo lipídico não foi ainda totalmente identificada (Lever e Slow, 2010) apesar de vários mecanismos terem sido propostos (Eklund *et al.*, 2005; Ratriyanto *et al.*, 2009).

A betaína estimula indiretamente a síntese de carnitina, através da sua função como principal doadora de grupos metilo (ver Figura 7). Também intervém na síntese de creatina, neurotransmissores, fosfolípidos e hormonas. Assim, a betaína pode estar envolvida no metabolismo lipídico, através do seu papel na síntese de fosfatidilcolina (com um importante papel na absorção intestinal de lípidos e no transporte e utilização de ácidos gordos e colesterol) e na oxidação de ácidos gordos, uma vez que a carnitina é necessária para o transporte de ácidos gordos de cadeia longa para dentro da mitocôndria (Wray-Cahen *et al.*, 2004).

Noutros estudos foi observado que a betaína reduz o teor de gordura das carcaças de suínos, mas não a oxidação dos ácidos gordos (Fernandez-Figares *et al.*, 2002). Isto sugere que o efeito da betaína no metabolismo lipídico esteja relacionado com outros mecanismos que não a sua oxidação (Wray-Cahen *et al.*, 2004). Na realidade, Huang *et al.* (2008) sugerem a intervenção da betaína no controlo do metabolismo lipídico em suínos via redução da atividade das enzimas lipogénicas. No entanto, os efeitos acima citados necessitam ser confirmados, visto existirem trabalhos em que foram verificados e outros em que não o foram (Lever e Slow, 2010).

### **2.4.3 Betaína, saúde e doença**

#### **2.4.3.1 Relações com as dislipidémias e a síndrome metabólica**

Nos enterócitos, a betaína tem a função de osmólito e afeta provavelmente o particionamento e a digestibilidade dos nutrientes, tendo o aumento da disponibilidade de metionina sido invocado para explicar o aumento da produção da proteína detetado em animais suplementados com betaína (Lever e Slow, 2010). Vários estudos (Konstantinova *et al.*, 2008; Lever *et al.*, 2007) mostraram uma relação inversa entre a betaína e as concentrações plasmáticas de lípidos (triacilgliceróis, apolipoproteína B, colesterol das LDL) sugerindo que baixas concentrações de betaína no plasma estariam associadas a um aumento dos riscos vasculares. No entanto, quando indivíduos saudáveis são suplementados com betaína para aumentar a concentração plasmática deste composto, o colesterol plasmático eleva-se (Schwab *et al.*, 2002).

A betaína está inversamente associada a vários componentes da síndrome metabólica em humanos. Estes componentes incluem o IMC (índice de massa corporal) circunferência da cintura, pressão arterial, colesterol das HDL e TAG (Konstantinova *et al.*, 2008). Nos pacientes afetados pela síndrome metabólica, há uma tendência para que a betaína plasmática seja menor do que na população saudável (Konstantinova *et al.*, 2008; Lever e Slow, 2010).

#### **2.4.3.2 Relações com a homocisteína e as doenças cardiovasculares**

A homocisteína é um aminoácido resultante da desmetilação da metionina (Steenge *et al.*, 2003; Malinowska e Chmurzynska, 2009). Visto que os alimentos contêm apenas vestígios de homocisteína, este aminoácido está presente nas células dos mamíferos

principalmente devido à desmetilação de um dos aminoácidos essenciais (Malinowska e Chmurzynska, 2009).

Além dos fatores de risco conhecidos das doenças cardiovasculares, como a hipertensão arterial, o perfil lipídico desfavorável e o tabagismo, a hiper-homocisteinemia também parece influenciar a saúde cardiovascular em humanos (Malinowska e Chmurzynska, 2009). Níveis plasmáticos elevados de homocisteína estão associados a um maior risco de doenças cardiovasculares (Steenge *et al.*, 2003).

Se o fornecimento de grupos metilo é crítico para diminuir a desmetilação da metionina e portanto o aparecimento de homocisteína, então a betaína deveria ser imediata e diretamente eficaz na redução da hiper-homocisteinemia, uma vez que os grupos metilo da betaína aparecem rapidamente na metionina. No entanto, tais vias não têm sido sistematicamente investigadas. Por outro lado, o número de estudos que testam diretamente a ligação entre a suplementação de betaína e doenças vasculares é ainda pequeno (Lever e Slow, 2010).

#### **2.4.3.3 Relações com outras doenças**

A betaína é conhecida por diminuir os efeitos adversos do álcool no fígado (Lever e Slow, 2010). Assim, a betaína é um agente terapêutico promissor no alívio da metilação e outros defeitos associados com o abuso de álcool (Kharbanda, 2009). Por outro lado, estudos feitos por Oliva *et al.* (2009) e Graf *et al.* (2002) citados por Lever e Slow (2010) sugerem que a suplementação com betaína é benéfica respetivamente em doenças do fígado induzidas por xenobióticos e sais biliares.

Uma ingestão elevada de betaína e colina na dieta foi associada a um risco reduzido de cancro da mama (Xu *et al.*, 2009). Estes resultados foram no entanto seguidos de outros, de Cho *et al.* (2010) e Kotsopoulos *et al.* (2010) citados por Lever e Slow (2010) os quais não confirmaram a associação entre a ingestão de betaína e colina e os cancros de mama e dos ovários, respetivamente.

## **2.4.4 A utilização da betaína na produção animal**

A betaína é utilizada como modificadora da composição da carcaça, sendo considerada um composto com efeitos promotores do crescimento e lipotrópico (Lipiński *et al.*, 2012). Devido a estes efeitos, tem sido utilizada na alimentação de peixes, aves e suínos.

### **2.4.4.1 A utilização da betaína na produção suína: a betaína como modificador da composição da carcaça**

A betaína é muitas vezes referida como um modificador de carcaça devido às reduções no teor de gordura na carcaça e maiores percentagens de carcaça magra nos animais a que é suplementada. Alguns autores explicam a ação da betaína como modificador da composição da carcaça pela sua capacidade de doar grupos metilo (Eklund *et al.*, 2005).

### **2.4.4.2 Efeitos na deposição proteica**

No estudo de Matthews *et al.* (1998) os dados indicam que a betaína afeta os metabolitos séricos, particularmente a ureia, a proteína total e a concentração de albumina. Assim, a betaína diminui a ureia sérica durante o período de acabamento, o que sugere que a betaína pode melhorar a utilização do azoto. No entanto, estes autores referem que o efeito da betaína em dietas para suínos parece depender do teor da dieta em proteína e energia. Xu *et al.* (1999a) citados por Eklund *et al.* (2005) referem uma redução do teor de ureia plasmática até 47% com a suplementação de 1 g/kg betaína. Já Fernández-Fígares *et al.* (2002) que forneceram betaína (0, 0,125, 0,25 e 0,5%) a Landrace × Yorkshire jovens em restrição alimentar, quando compararam os

grupos suplementados com o grupo controlo, os porcos suplementados com 0,5% de betaína tiveram uma taxa de deposição de proteína na carcaça 23% maior, bem como uma eficiência de deposição de carne magra 24% maior. Houve uma tendência para um aumento linear da proteína total da carcaça com o aumento da concentração de betaína embora a concentração de ureia sérica não tenha refletido o aumento da taxa de deposição de proteína na carcaça que foi observado durante o aumento de 0 para 0,5% da suplementação em betaína. Num estudo mais recente de Fernández-Fígares *et al.* (2012) realizado com porcos Ibéricos em crescimento, já houve uma diminuição da ureia sérica, o que, de acordo com os autores, sugere que a betaína e a betaína + CLA podem melhorar a utilização de azoto em animais em crescimento, assim como em acabamento.

#### **2.4.4.3 Efeitos na utilização da energia**

De acordo com alguns autores, a suplementação de betaína na dieta de suínos tem melhores resultados quando a dieta tem um menor teor em energia (Cromwell *et al.*, 2003, citados por Lipiński *et al.*, 2012). Estes autores notaram uma melhoria no ganho de peso diário (4%) e na qualidade da carcaça, uma diminuição na espessura do toucinho e uma diminuição no teor de gordura da carcaça. Matthews *et al.* (1998) reportaram que a betaína aumentou o ganho médio diário (GMD) em porcos alimentados com baixos níveis de proteína e energia e com dietas que satisfiziam as necessidades nutritivas dos animais. No entanto, detetaram uma diminuição do GMD em porcos alimentados com dietas com baixo teor em proteína e adequado teor em energia, o mesmo acontecendo em dietas com adequado teor em proteína e baixo teor em energia.

Siljander-Rasi *et al.* (2003) compararam diferentes níveis de betaína e colina sobre o desempenho e características de carcaça em suínos. Aos animais foram fornecidas dietas suplementadas com diferentes doses de betaína (250, 500 ou 1000 mg/kg) e colina (578, 1155 ou 2310 mg/kg). A dieta foi formulada para conter 12,3 MJ/kg de

energia digestível e 155 g/kg de proteína bruta. O GMD e índice de conversão melhoraram linearmente com o aumento do teor de betaína, enquanto a colina não teve nenhum efeito sobre os parâmetros.

Os resultados de Van Milgen *et al.* (2003) citados por Lipiński *et al.* (2012) não suportam os resultados dos estudos acima referidos. Uma análise aos parâmetros do metabolismo energético realizada por estes autores, mostrou que a betaína não teve impacto sobre o particionamento de energia no corpo. Lawrence *et al.* (2002) também não obtiveram qualquer melhoria na taxa de crescimento e no índice de conversão após suplementação com betaína (1 g/kg). Por fim, Gagucki e Skomiał (2000) citados por Lipiński *et al.* (2012) verificaram que a inclusão de betaína em dietas com restrição calórica resultou num aumento da espessura média do toucinho (0,57 cm), numa diminuição no teor de carne em peças nobres e numa maior deposição de gordura na carcaça. Estes resultados não suportam os dados experimentais que apontam para a influência benéfica da suplementação de betaína em parâmetros de qualidade da carcaça.

#### **2.4.4.4 Efeitos na deposição lipídica e de colesterol**

Fernández-Fígares *et al.* (2002) obtiveram uma menor concentração de gordura na carcaça de suínos suplementados com betaína do que na dos não suplementados, tendo esta diminuição sido linear com o aumento dos níveis de suplementação de betaína (entre 0 e 0,5%). Comparados com os do grupo controlo, os porcos que consumiram 0,5% de betaína tiveram uma concentração de menos 10% de gordura na carcaça. Yu *et al.* (2001) também obtiveram um aumento do teor de carne magra na carcaça entre os 4 e 8%. Para Yu *et al.* (2004) essa redução foi de aproximadamente 5% de gordura na carcaça em porcos suplementados com betaína (1,5 g/kg) do que nos do grupo controlo. Yang *et al.* (2009) detetaram um aumento nos níveis de ácidos gordos saturados e uma diminuição nos de ácidos gordos insaturados nos músculos do lombo e da perna. Por fim, Fernández-Fígares *et al.* (2012) obtiveram um aumento dos níveis

séricos de triacilgliceróis quando porcos Ibéricos foram suplementados com betaína + CLA. O mesmo foi verificado por Martins *et al.* (2010) no plasma de porcos Alentejanos suplementados com betaína (1 g/kg). Tal pode indicar que a deposição de gordura pode ser reduzida i) através da diminuição da síntese lipídica a partir de ácidos gordos pré-formados (esterificação) ou a partir da glucose (lipogénese via síntese *de novo*) e/ou ii) através de um aumento na mobilização lipídica (lipólise).

No que se refere aos níveis de colesterol, no estudo de Matthews *et al.* (2001) o colesterol plasmático das HDL e a relação HDL/colesterol total não foram afetados pela suplementação de betaína (0.125, 0.250, ou 0.500%) mas o colesterol total aumentou nos animais suplementados ( $P < 0.10$ ). Fernández-Fígares *et al.* (2012) obtiveram uma diminuição da relação HDL/colesterol total em suínos Ibéricos suplementados com betaína (0,5% da dieta) mas sem efeitos significativos nos níveis de colesterol total e das suas frações (LDL e HDL). No estudo de Yang *et al.* (2009) com porcas cruzadas (Landrace × Yorkshire × Duroc) em acabamento, a suplementação com betaína (2% da dieta) reduziu as concentrações de colesterol total no sangue. No entanto, no estudo de Martins *et al.* (2010) a suplementação (1 g/kg) aumentou significativamente a concentração plasmática de colesterol total, livre e esterificado, bem como a do colesterol das HDL e a relação HDL/colesterol total de porcos Alentejanos. Esta discrepância de resultados e o facto de ainda serem poucos os artigos que estudaram o efeito da suplementação da betaína no metabolismo do colesterol, sugere que o efeito deste suplemento na biossíntese, armazenamento e catabolismo do colesterol, necessitam ser esclarecidos.

## 2.4.5 Vantagens e desvantagens da utilização da betaína

### 2.4.5.1 Efeitos na carne

Apesar de a betaína ser utilizada largamente na produção animal, existem ainda relativamente poucos estudos sobre o efeito da betaína na qualidade da carne (Dunshea *et al.*, 2005).

A cor da carne fresca é de extrema importância no marketing da carne, uma vez que é o primeiro atributo de qualidade visto pelo consumidor e este usa-o como uma indicação de frescura e de salubridade (Troy e Kerry, 2010). Matthews *et al.* (1998) obtiveram uma pontuação inferior na coloração do *Longissimus dorsi* em porcas cruzadas suplementadas com betaína. Lawrence *et al.* (2002) obtiveram também o mesmo resultado no músculo *Longissimus dorsi* de animais cruzados suplementados com betaína. Contrariamente, Matthews *et al.* (2001) observaram em porcos suplementados com betaína melhorias no valor de CIE L\* do *Biceps femoris*. Yu *et al.* (2004) indicaram que a betaína afeta o particionamento de proteínas e lípidos no corpo do animal, acelera a síntese de mioglobina e depósito de gordura no músculo *Longissimus dorsi*, melhorando a cor e maciez da carne. Também Xu *et al.* (1999) citados por Dunshea *et al.* (2005) observaram melhorias na cor subjetiva e taxa de marmorização da carne. No estudo de Yang *et al.* (2009) também se obtiveram diferenças na cor da carne, sendo a carne de porcos cruzados suplementados com betaína significativamente mais vermelha. Estes dados sugerem um efeito da betaína na alteração da cor no músculo. No entanto essa alteração parece não resistir à conservação, conforme verificado por Hwang *et al.* (2010) que obtiveram em porcos cruzados (Landrace × Yorkshire × Duroc) suplementados com betaína uma carne mais avermelhada nos primeiros 7 dias de armazenamento após abate, mas ao fim de 14 dias tal diferença já não era significativa.

Vários relatórios mostram que a gordura intramuscular e / ou marmoreado afetam a aceitabilidade sensorial da carne. Alguns autores apontam para um teor de gordura intramuscular desejável entre 2,5 e 3,5% (Font-i-Furnols *et al.*, 2012; Fernandez *et al.*, 1999) de modo a haver uma melhoria na percepção por parte dos consumidores da textura e sabor (Fernandez *et al.*, 1999). Com a suplementação de betaína, Yu *et al.* (2004) obtiveram uma melhoria no marmoreado da carne, enquanto Yang *et al.* (2009) não obtiveram uma diferença significativa na quantidade de gordura no músculo *Longissimus dorsi* em porcos suplementados com betaína, demonstrando que este efeito da betaína necessita de ser mais estudado.

#### **2.4.5.2 Efeitos na saúde do consumidor**

A carne é uma fonte cada vez mais importante de proteína animal de alto valor. A carne vermelha e os seus derivados são também fontes consideráveis de colesterol na dieta humana. Na maioria dos países industrializados, um alto consumo de carne contribui para uma ingestão de gordura saturada e colesterol maior do que a recomendada (Valista *et al.*, 2005). Afirma-se assim que o consumo de carne vermelha não é bom para a saúde porque grandes ingestões estão associadas ao aumento dos níveis de colesterol no sangue e ao risco de doenças cardiovasculares (Li *et al.*, 2005). Por isso, o conselho para os consumidores é preferir carnes magras e produtos de carne com pouca gordura e consumir com moderação (Valista *et al.*, 2005). Como já foi descrito anteriormente, existem estudos onde se verificou que a betaína provoca uma diminuição na gordura da carcaça e aumenta o teor de carne magra, além de poder também diminuir os níveis de colesterol na carne. Caso a betaína tenha estes efeitos na carne, isto leva a um menor consumo de gordura e colesterol por parte dos consumidores, beneficiando estes de uma melhor alimentação e saúde.

## 2.4.6 Um caso específico: a utilização da betaína num modelo animal de raça obesa

Sendo a betaína considerada um composto lipotrópico, seria de esperar que os seus efeitos na carcaça e na carne fossem mais evidenciados num animal obeso. Recentemente, começou-se a estudar o efeito da betaína em duas raças obesas geneticamente similares, o porco Alentejano e o porco Ibérico. Devido à grande deposição de gordura que estes animais fazem, alguns consumidores evitam consumir carne deste tipo de animais. Assim, seria uma maneira de aumentar a procura deste tipo de carne que a maioria dos consumidores aprecia, mas evita consumir, se se conseguisse através da betaína reduzir o teor de gordura destes animais sem afetar a sua qualidade e sabor.

O primeiro estudo foi feito por Fernández-Fígares *et al.* (2008) em porcos em crescimento de raça Ibérica suplementados com betaína (0,5%), CLA (1%) ou betaína (0,5%) + CLA (1%). A betaína ou CLA sozinhos não afetaram o desempenho de crescimento. Os animais alimentados com betaína ou CLA apresentaram valores de deposição de proteína intermédios entre os valores dos animais controlo e dos alimentados suplementados com betaína + CLA. A composição química da carcaça não se alterou em animais suplementados com a betaína ou CLA, embora tenha sido observada uma tendência para o aumento de proteína e uma diminuição de gordura na carcaça. Assim, a betaína por si só não provocou alterações significativas, contrariamente à adição de ambos os suplementos, que induziu alterações significativas no crescimento e na composição da carcaça, indicando uma ação conjunta. Outro estudo foi realizado por Martins *et al.* (2010) em porcos Alentejanos, no intuito de investigar os efeitos da ingestão de betaína a longo prazo sobre o colesterol e perfil dos lípidos na gordura subcutânea dorsal e no músculo *Semimembranosus*. O resultado deste estudo foi que a suplementação de betaína a longo prazo induz dislipidémia e aumenta a concentração de colesterol na gordura subcutânea dorsal dos porcos. No entanto, esta não afeta a deposição de gordura

corporal e o conteúdo total de lípidos da gordura subcutânea e músculo *Semimembranosus*, bem como de colesterol no músculo. O perfil de ácidos gordos mais abundantes da gordura subcutânea e do músculo também não foi afetado. O estudo mais recente foi feito por Fernández-Fígares *et al.* (2012) e tal como no estudo anterior destes mesmos autores, foram utilizados porcos ibéricos suplementados com betaína (0,5%), CLA (1%) ou betaína (0,5%) + CLA (1%). Os animais suplementados com betaína tiveram uma diminuição significativa nos níveis plasmáticos de ureia, creatinina e relação entre colesterol das HDL/colesterol total. Os níveis de glucose, colesterol das LDL e TAG não foram afetados, apesar de neste último caso, os porcos suplementados com betaína terem apresentado uma concentração em TAG plasmáticos 14% superior à dos porcos do grupo controlo. Os autores concluíram que a betaína teve um impacto sobre o metabolismo das proteínas e da gordura, e que a diminuição da ureia poderia indicar uma maior eficiência na utilização da proteína. Por outro lado, a suplementação contribuiu para piorar as relações entre as frações de colesterol (redução do colesterol das HDL, aumento do das LDL, redução da relação HDL/colesterol total e aumento da relação LDL/HDL, estatisticamente significativas no grupo betaína+CLA e tendenciais no grupo da betaína). Este facto, associado ao aumento da concentração plasmática dos TAG (estatisticamente significativas no grupo betaína + CLA e tendenciais no grupo da betaína) faz com que os autores sugiram um efeito acrescido no risco de aterogénese.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1 Ensaio experimental

Este estudo foi realizado no núcleo experimental da Mitra, na Universidade de Évora. Foram utilizados 14 animais (machos e fêmeas) puros da raça Alentejana, castrados e com um peso inicial médio de cerca  $36.7 \pm 0.9$  kg. Os animais foram alojados em parques individuais ( $3\text{m}^2$ ) ao ar livre e foram alimentados com ração comercial (Proibérico 2, Provimi, Alverca, Portugal) sem colesterol adicionado. Os animais foram divididos em 2 grupos sujeitos a alimentação diferente. No grupo controlo (C) (n=6 animais) foi oferecido 85% do consumo estimado *ad libitum* de uma ração comercial (150 g/kg proteína bruta e 13.0 MJ de energia digestível) (Tabela 1) e no grupo betaína (CB) foi oferecida a mesma ração que no grupo C, mas com suplementação de betaína (1 g/kg) (Betafin® S1, Danisco Animal Nutrition). Os animais foram pesados semanalmente antes da primeira refeição do dia.

Aos 100 kg e após 20 semanas de ensaio, os animais foram submetidos a um período de jejum de 12 horas, insensibilizados por electronarcole e sangrados num matadouro industrial. As carcaças foram divididas longitudinalmente e refrigeradas a  $2 - 4^\circ\text{C}$  durante 24 h. Depois, as metades esquerdas das carcaças foram submetidas a cortes segundo a norma portuguesa NP - 2931 (2006). Foram recolhidas amostras dos músculos *Longissimus dorsi* e *Biceps femoris* das metades esquerdas e congeladas ( $-20^\circ\text{C}$ ) para posterior análise.

**Tabela 1.** Composição química e ácidos gordos mais abundantes da ração comercial

	<b>g/kg de matéria seca</b>
<b>Matéria seca (MS) (g/kg)</b>	895,4
<b>Cinzas</b>	70,4
<b>Proteína bruta (N x 6,25)</b>	160,1
<b>Fibra em detergente neutro (NDF)</b>	260,5
<b>Lípidos totais</b>	33,2
<b>Ácidos gordos (g/100g total de ácidos gordos identificados):</b>	
<b>Ácido láurico (C12:0)</b>	10,4
<b>Ácido mirístico (C14:0)</b>	4,1
<b>Ácido palmítico (C16:0)</b>	18,4
<b>Ácido esteárico (C18:0)</b>	5,2
<b>Ácido oleico (C18:1)</b>	26,7
<b>Ácido linoleico (C18:2)</b>	30,7
<b>Ácido linolénico (C18:3)</b>	2,6
<b>Σ Ácidos gordos saturados (SFA)</b>	38,5
<b>Σ Ácidos gordos monoinsaturados (MUFA)</b>	28,2
<b>Σ Ácidos gordos polinsaturados (PUFA)</b>	33,3
<b>Σ Ácidos gordos insaturados (UFA) / Σ SFA</b>	1,6

## 3.2 Procedimentos analíticos

### 3.2.1 Parâmetros Físicos

#### 3.2.1.1 Cor

A cor foi determinada através do sistema CIELAB. Este sistema colorimétrico representa as cores de acordo com a sua cromaticidade (eixos x e y) e a sua luminosidade (eixo Y) (figura 8). Tem como princípio posicionar a cor no espaço. Um espaço é definido por uma combinação de coordenadas cilíndricas e cartesianas onde um ponto está associado a uma cor única. Determina três coordenadas que expressam a cor: i) a coordenada  $L^*$ , que nos permite quantificar a luminosidade. Este valor varia entre o 0 (para o preto) e 100 (para o branco); ii) a coordenada  $a^*$ , que nos indica o tom compreendido entre o vermelho-púrpura (+60) e o verde-azulado (-60); e III) a coordenada  $b^*$ , que nos dá o tom entre o azul (- 60) e amarelo (+60). Para o  $a^*=0$  e  $b^*=0$  estamos na presença do cinzento (acromático). Através destes parâmetros pode-se calcular atributos psicométricos como o ângulo de tono ( $\arctg b^*/a^*$ ) cromaticidade (croma)  $((a^{*2} + b^{*2})^{1/2})$  e a saturação (cromaticidade /  $L^*$ ) (CIE, 1976).

A tonalidade permite-nos tirar conclusões sobre o tom da cor que é perceptível (por exemplo, vermelho, verde, etc...) dando-nos a cor de percepção humana. Por fim, a saturação indica-nos a intensidade da tonalidade, isto é, da coloração (por exemplo, vermelho intenso) (CIE, 1976).

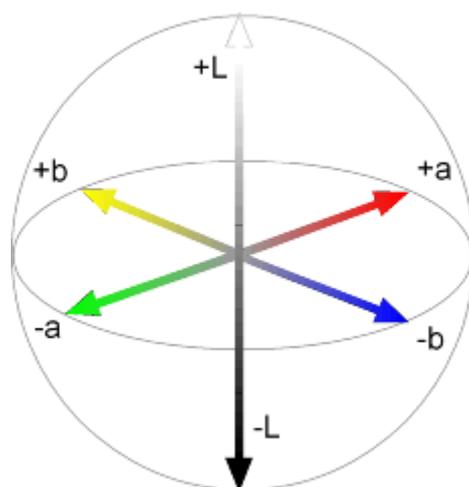


Figura 8 - Sistema CIELAB

Fonte: <http://bhetta.blogspot.pt/2012/05/carta-colores-ral-para-resinas-y.html>

Para a determinação da cor foi utilizado um colorímetro Minolta CR-200, com o iluminante D65, sendo realizadas 8 medições na zona interna do músculo, depois do descongelamento. Os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram obtidos pela média aritmética dessas medições.

### 3.2.1.2 pH

As medições do pH foram feitas diretamente no músculo, após a descongelação e trituração da amostra. Foi feita através de um eletrodo penetrante Ingold (modelo Lot406-M6-DXK-S7) ligado a um potenciómetro, sendo as medições corrigidas para a temperatura da amostra (Norma Portuguesa NP-3441, 1979). O valor do pH foi dado pela média aritmética das medições (8 medições por amostra).

### 3.2.1.3 Perda de água

A capacidade de retenção de água foi determinada segundo a técnica de pistometria. De acordo com o procedimento descrito por Goutefongea (1966) 5 g de amostra triturada foram colocadas entre dois pedaços de papel de filtro, e sujeitas a uma pressão constante durante 2 minutos, com um pistão (2250 g). O resultado é expresso em percentagem de água perdida pela amostra, sendo obtida pela diferença de peso antes e após a realização do método ( $(\text{peso inicial} - \text{peso final}) / \text{peso inicial} \times 100$ ).

Foram efectuados dois testes, correspondendo o valor de perda de água à respectiva média aritmética.

## 3.2.2 Parâmetros Químicos

### 3.2.2.1 Humidade

A humidade foi calculada a partir de uma porção de 10g de amostra triturada que se colocou num cadinho previamente identificado. A amostra foi depois misturada com areia tratada e etanol, sendo de seguida colocada na estufa a  $102 \pm 2$  °C até haver uma estabilização do peso. A primeira pesagem efectuou-se após decorrerem 2 horas e as posteriores em intervalos de 30 minutos. As operações de secagem, arrefecimento e pesagem foram efectuadas para duas repetições. Considera-se que o peso é estável, quando a diferença entre pesagens é inferior a 10 mg. O resultado é expresso em função da perda de massa quando submetida à secagem, e pela média aritmética das duas repetições, sendo expresso em percentagem do produto (Norma Portuguesa NP-1614, 1979).

### 3.2.2.2 Teor de Proteína

O teor em proteína foi determinado tendo em consideração o método de Dumas, de acordo com a norma ISO 14891 (2002). Pesaram-se 0,5 g de amostra, em duas repetições, para serem analisadas no LECO FP-528 Nitrogen/Protein Determinator, sendo o valor a média das repetições da análise expresso em % de proteína.

### 3.2.2.3 Teor em colagénio

A determinação do teor em colagénio apresentou vários passos.

Inicialmente, procedeu-se à hidrólise ácida pesando 150 mg da amostra liofilizada e triturada, para um tubo com rolha (em triplicado) juntou-se 10 mL de HCL 6N. Fecharam-se e agitaram-se os tubos, incubando 18 horas numa estufa ventilada a 115°C.

Tiraram-se os tubos e deixaram-se arrefecer à temperatura ambiente, ajustando de seguida com HCL 6N, para os casos em que tenha ocorrido evaporação. Juntou-se 100 mg de carbono ativo aos tubos e agitaram-se. Procedeu-se à filtração, após terem repousado 2 minutos. Em seguida fez-se a diluição de 200 µl do filtrado + 800 µl de água destilada, para tubos de 10 mL e guardaram-se a 4°C.

#### Determinação do teor em hidroxiprolina

Preparou-se uma gama de hidroxiprolina entre 1 e 8 microgramas a partir de uma solução mãe de hidroxiprolina de 100 microgramas/mL: branco (1mL de HCL 1,2N), tubo 1 (990 µl de HCL 1,2N + 10 µl de hidroxiprolina), tubo 2 (980 µl de HCL 1,2N + 20 µl de hidroxiprolina), tubo 3 (960 µl de HCL 1,2N + 40 µl de hidroxiprolina), tubo 4 (940 µl de HCL 1,2N + 60 µl de hidroxiprolina), tubo 5 (920 µl de HCL 1,2N + 80 µl de hidroxiprolina). Em cada tubo da gama e em cada tubo da amostra juntou-se: 1 mL

NaOH 1,2N (agitou-se), 1 mL de Cloramina T (agitou-se e contato durante 20 minutos sob a hotte) e 1 mL de ácido perclórico (agitou-se e contato durante 5 minutos sob a hotte) e 1 mL de paradimetilaminobenzaldeído (fechou-se e agitou-se).

Levaram-se os tubos a incubar durante 20 minutos num banho-maria a 60°C, e após terem arrefecido sob água corrente, leu-se a densidade ótica a 557 nm (Beckman DU-530; Fullerton, CA, USA).

### **3.2.2.4 Composição dos ácidos gordos**

#### Obtenção dos lípidos intramusculares

Os lípidos intramusculares foram obtidos através do método de Marmer e Maxwell (1981). Foram separadas as duas frações lipídicas, sendo a neutra constituída por TAG e a polar essencialmente por fosfolípidos.

O enchimento da coluna de vidro (35mm Ø, com ponta gotejante) foi feito com lã de vidro no nível inferior, 10g da mistura de celite 545:fosfato bicálcico (na proporção de 9:1, p/p) no nível intermédio, e uma mistura de 10g de celite 545 + 5g de sulfato de sódio anidro + 2,5g de amostra liofilizada no nível superior.

Para fazer a separação das frações utilizaram-se dois solventes com polaridades distintas. Para a fração neutra procedeu-se à eluição com 100 mL de diclorometano e para a fração polar 100 mL da mistura de diclorometano:metanol (9:1, v/v).

Os eluídos das duas frações foram recolhidos para balões de fundo plano de 200 mL e retirou-se o solvente no evaporador rotativo, colocando de seguida no exsiccador durante 24 horas.

#### Preparação de extratos lipídicos para análise de ácidos gordos

Para a obtenção dos extratos lipídicos neutros, em primeiro lugar colocou-se o balão na estufa a ~42°C durante 10 - 15 minutos. Pesaram-se 100 mg do extrato para um

frasco com rolha e dissolveram-se em 2 mL de hexano. Prepararam-se duas amostras do mesmo extrato.

Em relação aos extratos lipídicos polares, colocaram-se 3 mL de metanol para cromatografia gasosa diretamente no balão de recolha do extrato. Dissolveu-se e recuperou-se para um frasco com rolha.

Até à preparação dos ésteres metílicos, congelaram-se as amostras (-30°C).

#### Obtenção dos ésteres metílicos

A obtenção dos ésteres metílicos realizou-se de acordo com o procedimento descrito por Bannon *et al.* (1985).

Ao extrato lipídico neutro recolhido, adicionou-se 100 µL de hidróxido de potássio 2N, que tem a função de catalisador da hidrólise dos triglicéridos, e agitou-se durante 1 minuto. Após 7 minutos, neutralizou-se o hidróxido de potássio com um volume igual de ácido clorídrico 2N, prevenindo também a hidrólise dos ácidos gordos. Por fim, colocou-se mais 1 mL de hexano.

#### Identificação e quantificação por cromatografia gasosa

A análise foi feita por cromatografia gasosa, num cromatógrafo HP 5890 série II (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Os ácidos gordos foram identificados por comparação dos tempos de retenção da amostra realizada, com os de misturas padrão de composição conhecida (Supelco 47801 e 47885-U). O teor de ácidos gordos foi expresso em percentagem do total de ésteres metílicos identificados.

#### **3.2.2.5 Determinação do teor em colesterol**

A extração dos lípidos totais foi feita através do método de Folch *et al.* (1957) adaptado.

Foi utilizado para cada amostra cerca de 4 g de músculo. Estas foram colocadas dentro de tubos às quais foram adicionados 25 mL de reagente de Folch (metanol:clorofórmio, 1:2 v/v). Seguidamente foi feita a homegenização da mistura durante 3 minutos no Ultra-Turax. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 1200g durante 10 minutos e seguidamente foi feita a filtragem da fração líquida, para uma ampola de decantação. De seguida, repetiu-se o processo mais 3 vezes utilizando 20, 20 e 25 mL de reagente de Folch em cada uma das vezes respetivamente. Em seguida acrescentaram-se 30 mL de solução de NaCl e agitou-se fortemente a mistura dentro das ampolas. Deixou-se a mistura a separar as fases durante a noite. A recolha da fase inferior (lípidos) foi feita para um balão previamente tarado e o extrato foi evaporado num evaporador a cerca de 35º C. Após a completa evaporação, foi calculado o teor em lípidos totais de cada amostra  $(((\text{peso do balão com o extrato} - \text{tara do balão}) / \text{peso da amostra}) \times 100]$ .

Depois da extração dos lípidos intramusculares totais, resuspendeu-se os extratos obtidos em 15 mL de isopropanol e armazenaram-se em tubos de vidro com tampa de rosca a +4ºC, até determinação do colesterol total. O colesterol total foi determinado com recurso ao kit Cholesterol E, da Wako e seguindo as instruções do fabricante.

### 3.3 Análise Estatística

Os resultados nesta tese são apresentados sob a forma de média  $\pm$  erro padrão.

A análise estatística foi realizada através de uma análise de variâncias univariada (ANOVA) com o software estatístico Statview 5.0 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

As diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

## 4. Apresentação e discussão dos resultados

### 4.1 Dados zootécnicos

De acordo com os dados expressos na tabela 2, a ingestão voluntária foi semelhante nos grupos C e CB, não tendo influenciado significativamente o ganho médio diário. Estudos prévios relataram que a suplementação com betaína diminuiu a ingestão de porcos cruzados em acabamento, sem apresentar nenhum efeito no ganho de peso (Matthews *et al.*, 1998; Matthews *et al.*, 2001) facto que não foi verificado neste ensaio. No entanto, estes resultados estão de acordo com os obtidos por Fernández-Fígares *et al.* (2008) em porcos Ibéricos. Estes autores não obtiveram diferenças significativas entre grupos de porcos Ibéricos suplementados com betaína, CLA, ou betaína + CLA, sugerindo que o efeito de redução de ingestão alimentar verificado nos ensaios realizados com suínos de raças comerciais não se verifica em porcos Alentejanos/Ibéricos.

**Tabela 2.** Dados zootécnicos de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas<sup>†</sup>

	C		CB		Análise de variância
	Média	EP	Média	EP	
<b>Peso inicial (kg)</b>	37,1	1,0	36,4	1,7	NS
<b>Peso ao abate (kg)</b>	100,1	0,6	100,2	0,5	NS
<b>Ganho médio diário (g/d)</b>	481,2	2,5	479,7	6,7	NS
<b>Ingestão voluntária (g/d)</b>	2205,5	6,7	2196,3	16,3	NS

<sup>†</sup> C – Grupo alimentado com dieta comercial sem betaína (n=6), CB - Grupo alimentado com dieta comercial suplementada com betaína (n=8); EP - Erro padrão; Significância: NS -  $P \geq 0,05$ .

De acordo com Freitas *et al.* (2014) (comunicação pessoal) e apesar de não terem atingido significado estatístico, os animais do grupo CB apresentaram pesos mais elevados que os do grupo C em entremeada (4,7 e 4,6 kg, respectivamente), gordura subcutânea dorsal (5,1 e 4,6 kg, respectivamente) e gordura perirenal (1,9 e 1,8 kg, respectivamente). Em relação aos restantes pesos de carcaça, órgãos e peças de talho, não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais (dados não apresentados - comunicação pessoal, Freitas *et al.*, 2014).

#### **4.2 Parâmetros físico-químicos e perfil lipídico da gordura intramuscular do músculo *Longissimus dorsi***

Para o músculo *Longissimus dorsi* e de acordo com os dados da tabela 3, verifica-se que houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) em relação à humidade nos diferentes grupos, sendo que o grupo CB apresentou uma percentagem mais reduzida de humidade. Houve também diferenças significativas no total de lípidos intramusculares, tendo os animais do grupo CB apresentado um maior valor em comparação com os do grupo C. Esta diferença foi devida essencialmente à maior deposição intramuscular de lípidos neutros no *Longissimus dorsi* dos animais do grupo CB ( $P = 0,05$ ). Devido ao fato de se ter obtido um aumento dos níveis de lípidos intramusculares, conseqüentemente houve uma diminuição da percentagem de água no músculo dos animais do grupo CB. De facto, a percentagem de água presente nos músculos está intimamente e é inversamente relacionada com o seu conteúdo em lípidos (Heinz e Hautzinger, 2007). Nos restantes parâmetros (pH, perda de água, mioglobina, colagénio total e cor) não houve diferenças significativas entre os dois grupos, embora se tenha notado uma tendência para que a coordenada cromática  $b^*$ , medindo a cor amarela, fosse tendencialmente superior ( $P = 0,06$ ) no músculo dos animais do grupo CB, quando comparada com a dos animais do grupo C.

**Tabela 3.** Parâmetros físico-químicos do m. *Longissimus dorsi* de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas<sup>†</sup>

	C		CB		Análise de variância
	Média	EP	Média	EP	
Humidade (g/100g)	73,34	0,38	72,29	0,27	*
Proteína total (g/100g)	23,57	0,14	23,30	0,23	NS
Lípidos intramusculares totais (g/100g)	2,43	0,22	3,69	0,44	*
Lípidos intramusculares neutros (g/100g)	1,69	0,19	2,81	0,42	0,05
Lípidos intramusculares polares (g/100g)	0,74	0,08	0,88	0,03	NS
pH	5,53	0,04	5,49	0,02	NS
Perda de água (%)	16,25	1,44	17,53	0,63	NS
Mioglobina (µg/g)	1,54	0,06	1,66	0,11	NS
Colagénio total (mg/g)	13,85	0,98	12,38	0,81	NS
Brilho (L*)	43,68	0,97	43,14	0,79	NS
Coordenada cromática a* (a*) (vermelho)	13,16	0,63	14,18	0,30	NS
Coordenada cromática b* (b*) (amarelo)	5,99	0,42	6,84	0,16	0,06
Cromaticidade (C) <sup>‡</sup>	14,47	0,71	15,75	0,33	NS
Ângulo de tono (H°) <sup>§</sup>	24,41	1,02	25,74	0,30	NS
Saturação <sup>‡‡</sup>	0,33	0,02	0,37	0,01	NS

<sup>†</sup> C - Grupo alimentado com dieta comercial sem betaína (n=6), CB - Grupo alimentado com dieta comercial suplementada com betaína (n=8); EP - Erro padrão; Significância: \*  $P < 0,05$ , NS -  $P \geq 0,05$ .

<sup>‡</sup>Cromaticidade =  $(\sqrt{a^{*2} + b^{*2}})$ ; <sup>§</sup>Ângulo de tono =  $\arctg b^*/a^*$ ; <sup>‡‡</sup>Saturação =  $C/L^*$ .

A capacidade da betaína reduzir a deposição intramuscular de gordura em suínos cruzados em acabamento foi referida em estudos anteriores (Matthews *et al.*, 1998; Matthews *et al.*, 2001). No entanto, os resultados obtidos neste trabalho indicam precisamente o oposto, não estando de acordo com os trabalhos previamente mencionados. O metabolismo lipídico envolve a intervenção de várias enzimas controladas por factores de regulação ainda não totalmente compreendidos e que se manifestam de forma diferente nos tecidos hepático, adiposo e muscular (Duran-Montgé *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2009). No seu estudo, Huang *et al.* (2009) referem que a suplementação com betaína reduz a actividade e a abundância do RNA

mensageiro que regula a produção da enzima carnitina palmitoiltransferase I muscular (M-CPT I) e que, à medida que a actividade da M-CPT I decrescia, a oxidação dos ácidos gordos diminuía. Isto contribuiria para um aumento na incorporação de ácidos gordos nos depósitos adiposos neutros, com o resultante aumento dos lípidos intramusculares no *Longissimus dorsi*. Este aumento dos lípidos intramusculares afetou o valor da coordenada cromática  $b^*$ , superior nos animais do grupo CB que nos do grupo B (ver tabela 3).

Alguns autores apontam para um teor de lípidos intramusculares desejável entre 2,5 e 3,5% (Font-i-Furnols *et al.*, 2012; Fernandez *et al.*, 1999) de modo a haver uma melhoria na perceção da textura e sabor por parte dos consumidores (Fernandez *et al.*, 1999). No caso do *Longissimus dorsi*, os valores de lípidos intramusculares dos animais do grupo C apresentavam valores no limite inferior deste intervalo (2,43 g/100g) tendo os valores dos animais do grupo CB ficado ligeiramente acima do limite superior deste intervalo (3,69 g/100g). Assim, sendo os lípidos intramusculares um parâmetro associado à qualidade da carne, a suplementação com betaína poderá contribuir para uma melhoria da qualidade do produto final.

Em relação ao perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares neutros do músculo *Longissimus dorsi* (tabela 4) houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) na razão  $\Sigma$  PUFA /  $\Sigma$  SFA. Esta razão foi inferior no *Longissimus dorsi* dos animais do grupo CB, quando comparada com a calculada para os animais do grupo C, devido ao aumento não significativo dos valores de SFA e à diminuição ( $P = 0,07$ ) dos valores de PUFA dos animais do grupo CB. Neste grupo, verificaram-se também tendências para a diminuição dos níveis de ácido linoleico (C18:2 n-6) ( $P = 0,08$ ), a qual resultou na tendência para a diminuição do  $\Sigma$  PUFA ( $P = 0,07$ ) já referida, bem como para a diminuição do  $\Sigma$  n6 ( $P = 0,07$ ). No restante perfil lipídico não houve quaisquer diferenças.

**Tabela 4.** Perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares neutros do m. *Longissimus dorsi* de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas†

	C		CB		Análise de variância
	Média	EP	Média	EP	
Ácido mirístico (C14:0)	1,54	0,03	1,51	0,03	NS
Ácido palmítico (C16:0)	26,68	0,34	27,95	0,64	NS
Ácido esteárico (C18:0)	11,07	0,22	11,98	0,49	NS
Σ Ác, gordos saturados (SFA)	39,63	0,49	41,78	1,07	NS
Ácido palmitoleico (C16:1 n-7)	5,05	0,18	4,50	0,29	NS
Ácido oleico (C18:1 n-9)	50,46	0,63	49,84	0,69	NS
Ácido gadoleico (C20:1 n-9)	0,71	0,03	0,70	0,03	NS
Σ Ác, gordos monoinsaturados (MUFA)	56,38	0,67	55,15	0,95	NS
Ácido linoleico (C18:2 n-6)	3,47	0,26	2,73	0,27	0,08
Σ Ác, gordos polinsaturados (PUFA)	3,99	0,27	3,07	0,32	0,07
Σ Ác, gordos insaturados (UFA)	60,37	0,49	58,22	1,07	NS
Razão Σ PUFA / Σ SFA	0,10	0,01	0,08	0,01	*
Razão Σ UFA / Σ SFA	1,53	0,03	1,40	0,06	NS
Σ n3	0,22	0,02	0,16	0,02	0,09
Σ n6	3,77	0,26	2,92	0,30	0,07
Razão Σ n6 / Σ n3	17,68	1,33	19,24	0,99	NS
Σ n9	51,17	0,63	50,50	0,69	NS
Índice Δ9-desaturase <sup>#</sup>	0,59	0,01	0,57	0,01	NS
Índice de saturação <sup>¥</sup>	0,65	0,01	0,72	0,03	NS
Índice aterogénico <sup>§</sup>	0,55	0,01	0,59	0,02	NS
Índice trombogénico <sup>‡</sup>	1,28	0,03	1,41	0,06	NS

† C - Grupo alimentado com dieta comercial sem betaína (n=6), CB - Grupo alimentado com dieta comercial suplementada com betaína (n=8); EP - Erro padrão; Significância: \*  $P < 0,05$ , NS -  $P \geq 0,05$ .

<sup>#</sup> Índice Δ9-desaturase = MUFA / (SFA + MUFA).

<sup>¥</sup> Índice de saturação = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / (Σ MUFA + Σ PUFA).

<sup>§</sup> Índice aterogénico = [(C12:0 + 4) x C14:0 + C16:0] / (Σ MUFA + Σ n6 + Σ n3).

<sup>‡</sup> Índice trombogénico = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 x Σ MUFA) + (0,5 x Σ n6) + (3 x Σ n3) + (Σ n3/Σ n6)].

Nota: Perfil expresso em % do total de ésteres metílicos de ácidos gordos identificados (C12:0, C14:0, C16:0, C16:1n-7, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3, C20:0, C20:1n-9, C20:2n-6, e C20:4n-6);

Os ácidos gordos detectados a uma percentagem inferior a 0,5 não são apresentados.

A razão  $\Sigma n6 / \Sigma n3$ , apesar de ter aumentado de 17,7 para 19,2 com a suplementação da betaína, não foi significativamente afetada pelo tratamento experimental. Esta razão está longe do valor recomendado de 4 e o efeito da betaína neste parâmetro é de referir, uma vez que a razão  $\Sigma n6 / \Sigma n3$  está correlacionada positivamente com o risco de doenças cardiovasculares (Wood *et al.*, 2008).

Como pode ser observado na tabela 5, em relação ao perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares polares do músculo *Longissimus dorsi* não houve qualquer alteração no perfil lipídico ( $P \geq 0,05$ ). Esta fração lipídica é formada essencialmente por fosfolípidos, os principais constituintes da membrana celular dos adipócitos, sendo considerada uma fração muito estável (Fogerty *et al.*, 1991).

**Tabela 5.** Perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares polares do m. *Longissimus dorsi* de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas†

	C		CB		Análise de variância
	Média	EP	Média	EP	
Ácido mirístico (C14:0)	0,76	0,08	0,78	0,09	NS
Ácido palmítico (C16:0)	27,48	0,72	28,03	0,67	NS
Ácido esteárico (C18:0)	7,69	0,32	8,03	0,30	NS
Σ Ác, gordos saturados (SFA)	37,64	1,09	39,57	0,64	NS
Ácido palmitoleico (C16:1 n-7)	3,85	0,81	3,14	0,09	NS
Ácido margaroleico (C17:1)	0,92	0,10	0,72	0,10	NS
Ácido oleico (C18:1 n-9)	31,56	0,96	30,04	0,62	NS
Σ Ác, gordos monoinsaturados (MUFA)	36,33	1,54	33,90	0,58	NS
Ácido linoleico (C18:2 n-6)	21,39	0,79	21,90	0,28	NS
Ácido α-linolénico (C18:3 n-3)	0,52	0,04	0,46	0,04	NS
Ácido araquidónico (C20:4 n-6)	4,12	0,60	4,18	0,33	NS
Σ Ác, gordos polinsaturados (PUFA)	26,02	1,04	26,54	0,35	NS
Σ Ác, gordos insaturados (UFA)	62,36	1,09	60,43	0,64	NS
Razão Σ PUFA / Σ SFA	0,69	0,03	0,67	0,02	NS
Razão Σ UFA / Σ SFA	1,67	0,07	1,53	0,04	NS
Σ n3	0,52	0,04	0,46	0,04	NS
Σ n6	25,50	1,03	26,08	0,39	NS
Razão Σ n6 / Σ n3	50,65	4,35	60,29	5,48	NS
Σ n9	31,56	0,96	30,04	0,62	NS

† C - Grupo alimentado com dieta comercial sem betaína (n=6), CB - Grupo alimentado com dieta comercial suplementada com betaína (n=8); EP - Erro padrão; Significância: NS -  $P \geq 0,05$ .

Nota: Perfil expresso em % do total de ésteres metílicos de ácidos gordos identificados (C12:0, C14:0, C16:0, C16:1n-7, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3, C20:0, C20:1n-9, C20:2n-6, e C20:4n-6);

Os ácidos gordos detectados a uma percentagem inferior a 0,5 não são apresentados.

### 4.3 Parâmetros físico-químicos e perfil lipídico da gordura intramuscular do músculo *Biceps femoris*

De acordo com os dados da tabela 6, pode-se observar que em relação aos parâmetros físico-químicos do músculo *Biceps femoris*, verificaram-se diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos níveis de lípidos intramusculares totais, resultado de um aumento nos lípidos intramusculares neutros. Esta situação, apesar de contrariar a sugerida capacidade da betaína reduzir a deposição intramuscular de gordura em suínos (Matthews *et al.*, 1998; Matthews *et al.*, 2001) está de acordo com o verificado no músculo *Longissimus dorsi* neste trabalho. A anteriormente referida (ver 4.2.) diminuição da actividade da M-CPT I, que acarreta uma diminuição da oxidação dos ácidos gordos (Huang *et al.*, 2009) poderia estar na base desta acumulação de gordura intramuscular no *Biceps femoris* dos animais suplementados com betaína. De referir que este efeito foi mais acentuado no *Longissimus dorsi* que no *Biceps femoris* (aumento de 52 e 24% na gordura intramuscular, respectivamente) parecendo assim confirmar que o metabolismo lipídico é controlado de forma diferente consoante o tecido em estudo (Duran-Montgé *et al.*, 2009). O facto destes dois músculos terem perfis metabólicos diferentes (predominantemente glicolítico o *Longissimus dorsi* e predominantemente oxidativo o *Biceps femoris*) pode também ajudar a explicar esta diferença. Assim, o *Biceps femoris* apresenta reservas de glicogénio inferiores às do *Longissimus dorsi* e portanto estas esgotam-se mais rapidamente, induzindo o músculo a utilizar outros substratos para a obtenção de energia, nomeadamente os ácidos gordos (Karlsson *et al.*, 1993).

Tal como verificado no caso do *Longissimus dorsi*, os lípidos intramusculares, um parâmetro associado à qualidade da carne, foram aumentados com a suplementação com betaína, o que poderá indicar que a betaína poderá contribuir para uma melhoria da qualidade do produto final.

Notaram-se ainda diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) na percentagem de perda de água. Matthews *et al.* (2001) obtiveram também um aumento na perda por gotejamento

enquanto as perdas por cozedura diminuíram, não afetando no entanto as perdas totais de água (gotejamento + cozedura). Nos restantes parâmetros físico-químicos não foram observadas quaisquer diferenças significativas.

**Tabela 6.** Parâmetros físico-químicos do m. *Biceps femoris* de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas<sup>†</sup>

	C		CB		Análise de variância
	Média	EP	Média	EP	
Humidade (g/100g)	74,07	0,36	73,81	0,21	NS
Proteína total (g/100g)	21,78	0,18	21,93	0,27	NS
Lípidos intramusculares totais (g/100g)	2,86	0,19	3,55	0,20	*
Lípidos intramusculares neutros (g/100g)	1,92	0,17	2,45	0,15	*
Lípidos intramusculares polares (g/100g)	0,95	0,09	1,10	0,15	NS
pH	5,55	0,06	5,55	0,02	NS
Perda de água (%)	14,79	1,58	21,47	1,34	**
Mioglobina (µg/g)	2,19	0,08	2,15	0,03	NS
Colagénio total (mg/g)	17,95	1,96	22,66	1,76	NS
Brilho (L*)	40,71	0,17	41,27	0,72	NS
Coordenada cromática a* (a*) (vermelho)	16,67	0,36	15,92	0,43	NS
Coordenada cromática b* (b*) (amarelo)	7,18	0,33	6,26	0,48	NS
Cromaticidade (C) <sup>‡</sup>	18,17	0,37	17,13	0,56	NS
Ângulo de tono (H <sup>º</sup> ) <sup>§</sup>	23,29	1,00	21,24	1,09	NS
Saturação <sup>‡‡</sup>	0,45	0,01	0,42	0,02	NS

<sup>†</sup> C - Grupo alimentado com dieta comercial sem betaína (n=6), CB - Grupo alimentado com dieta comercial suplementada com betaína (n=8); EP - Erro padrão; Significância: \*\* P<0,01, \* P<0,05, NS - P≥0,05.

<sup>‡</sup>Cromaticidade =  $(\sqrt{a^2 + b^2})$ ; <sup>§</sup>Ângulo de tono =  $\arctg b^*/a^*$ ; <sup>‡‡</sup>Saturação = C/L\*.

Como pode ser observado na tabela 7, em relação ao perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares neutros do músculo *Biceps femoris* não houve qualquer alteração no perfil lipídico (P≥0,05). Esta situação sugere que, apesar da betaína parecer afetar a taxa de deposição de lípidos intramusculares, não afeta extensivamente o seu perfil.

**Tabela 7.** Perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares neutros do m. *Biceps femoris* de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas†

	C		CB		Análise de variância
	Média	EP	Média	EP	
Ácido mirístico (C14:0)	1,33	0,03	1,35	0,03	NS
Ácido palmítico (C16:0)	26,50	0,51	25,33	0,66	NS
Ácido esteárico (C18:0)	10,95	0,33	10,33	0,40	NS
Σ Ác, gordos saturados (SFA)	39,18	0,65	37,37	1,03	NS
Ácido palmitoleico (C16:1 n-7)	4,16	0,21	4,30	0,18	NS
Ácido oleico (C18:1 n-9)	51,58	0,41	53,09	0,67	NS
Ácido gadoleico (C20:1 n-9)	0,71	0,03	0,78	0,05	NS
Σ Ác, gordos monoinsaturados (MUFA)	56,60	0,59	58,38	0,80	NS
Ácido linoleico (C18:2 n-6)	3,71	0,31	3,70	0,29	NS
Σ Ác, gordos polinsaturados (PUFA)	4,22	0,34	4,25	0,33	NS
Σ Ác, gordos insaturados (UFA)	60,82	0,65	62,63	1,03	NS
Razão Σ PUFA / Σ SFA	0,73	0,04	0,70	0,04	NS
Razão Σ UFA / Σ SFA	1,56	0,04	1,69	0,07	NS
Σ n3	0,24	0,01	0,22	0,02	NS
Σ n6	3,98	0,33	4,03	0,31	NS
Razão Σ n6 / Σ n3	16,48	0,62	17,97	0,53	NS
Σ n9	52,29	0,42	53,88	0,67	NS
Índice Δ9-desaturase <sup>#</sup>	0,46	0,01	0,44	0,01	NS
Índice de saturação <sup>¥</sup>	0,60	0,01	0,63	0,02	NS
Índice aterogénico <sup>§</sup>	0,49	0,01	0,51	0,03	NS
Índice trombogénico <sup>‡</sup>	1,15	0,02	1,21	0,05	NS

† C - Grupo alimentado com dieta comercial sem betaína (n=6), CB - Grupo alimentado com dieta comercial suplementada com betaína (n=8); EP - Erro padrão; Significância: NS - P≥0,05.

<sup>#</sup> Índice Δ9-desaturase = MUFA / (SFA + MUFA).

<sup>¥</sup> Índice de saturação = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / (Σ MUFA + Σ PUFA).

<sup>§</sup> Índice aterogénico = [(C12:0 + 4) x C14:0 + C16:0] / (Σ MUFA + Σ n6 + Σ n3).

<sup>‡</sup> Índice trombogénico = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 x Σ MUFA) + (0,5 x Σ n6) + (3 x Σ n3) + (Σ n3/Σ n6)].

Nota: Perfil expresso em % do total de ésteres metílicos de ácidos gordos identificados (C12:0, C14:0, C16:0, C16:1n-7, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3, C20:0, C20:1n-9, C20:2n-6, e C20:4n-6);

Os ácidos gordos detectados a uma percentagem inferior a 0,5 não são apresentados.

Como era esperado, o perfil de ácidos gordos mais abundantes nos lípidos intramusculares neutros do *Longissimus dorsi* e do *Biceps femoris* foram o ácido oleico (18:1 n-9), seguindo-se o ácido palmítico (16:0) e o ácido esteárico (18:0). Assim, a composição em ácidos gordos mais abundantes nos músculos *Longissimus dorsi* e *Biceps femoris* não foi afetada pelo tratamento. Mesmo no caso do *Longissimus dorsi*, esse efeito foi unicamente sentido no ácido linoleico (18:2n-6).

Como verificado no *Longissimus dorsi*, também no *Biceps femoris* a razão  $\Sigma n6 / \Sigma n3$  não foi diminuída, o que sugere que a suplementação de betaína não apresenta um efeito benéfico na redução deste parâmetro, associado ao risco de doenças cardiovasculares (Wood *et al.*, 2008).

Por fim, e como pode ser observado na tabela 8, em relação ao perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares polares do músculo *Biceps femoris* não houve qualquer alteração no perfil lipídico ( $P \geq 0,05$ ). Esta situação foi também verificada no *Longissimus dorsi*.

**Tabela 8.** Perfil de ácidos gordos (%) dos lípidos intramusculares polares do m. *Biceps femoris* de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas†

	C		CB		Análise de variância
	Média	EP	Média	EP	
Ácido mirístico (C14:0)	0,72	0,05	0,70	0,12	NS
Ácido palmítico (C16:0)	27,76	0,44	28,38	0,86	NS
Ácido esteárico (C18:0)	9,05	0,23	9,57	0,20	NS
Σ Ác, gordos saturados (SFA)	37,53	0,42	38,66	0,86	NS
Ácido palmitoleico (C16:1 n-7)	2,83	0,19	2,94	0,18	NS
Ácido margaroleico (C17:1)	1,05	0,26	1,19	0,17	NS
Ácido oleico (C18:1 n-9)	29,84	0,83	28,39	0,82	NS
Σ Ác, gordos monoinsaturados (MUFA)	33,71	1,01	32,52	0,93	NS
Ácido linoleico (C18:2 n-6)	22,94	0,81	23,33	0,87	NS
Ácido α-linolénico (C18:3 n-3)	0,54	0,02	0,54	0,02	NS
Ácido araquidónico (C20:4 n-6)	5,28	0,37	4,95	0,47	NS
Σ Ác, gordos polinsaturados (PUFA)	28,76	1,13	28,83	1,29	NS
Σ Ác, gordos insaturados (UFA)	62,47	0,42	61,34	0,86	NS
Razão Σ PUFA / Σ SFA	0,77	0,04	0,75	0,05	NS
Razão Σ UFA / Σ SFA	1,67	0,03	1,60	0,06	NS
Σ n3	0,54	0,02	0,54	0,02	NS
Σ n6	28,23	1,14	28,28	1,28	NS
Razão Σ n6 / Σ n3	53,29	3,38	52,46	2,22	NS
Σ n9	29,84	0,83	28,39	0,82	NS

† C - Grupo alimentado com dieta comercial sem betaína (n=6), CB - Grupo alimentado com dieta comercial suplementada com betaína (n=8); EP - Erro padrão; Significância: NS -  $P \geq 0,05$ .

Nota: Perfil expresso em % do total de ésteres metílicos de ácidos gordos identificados (C12:0, C14:0, C16:0, C16:1n-7, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3, C20:0, C20:1n-9, C20:2n-6, e C20:4n-6); Os ácidos gordos detectados a uma percentagem inferior a 0,5 não são apresentados.

#### 4.4 Colesterol total dos músculos *Longissimus dorsi* e *Biceps femoris*

No que diz respeito ao colesterol total nos músculos (tabela 9) observaram-se diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) no *Biceps femoris*, onde os animais do grupo CB registaram níveis de colesterol mais elevados que os do grupo C (47,71 e 46,08 mg/100g, respectivamente). No músculo *Longissimus dorsi* tal aumento do nível de colesterol foi também observado nos animais do grupo CB quando comparados com os do grupo C (49,89 e 45,99 mg/100g, respectivamente), apresentando uma forte tendência para ser significativo ( $P = 0,07$ ). Estes dados não estão de acordo com os de outros estudos onde a inclusão de betaína na alimentação de porcos cruzados (Matthews *et al.*, 1998) ou Landrace noruegueses (Øverland *et al.*, 1999) não teve efeito nos níveis de colesterol total da carne. No entanto, estão de acordo com estudos feitos em porcos Alentejanos e Ibéricos, onde a suplementação com betaína induziu um aumento nos níveis de colesterol total (Martins *et al.*, 2010; Fernández-Fígares *et al.*, 2012). O efeito da betaina nos níveis de coleterol em porcos do tronco Ibérico sugere que este composto afecta o metabolismo do colesterol nesses animais. Este resultado específico contradiz a impressão geral de que é improvável que a suplementação a longo prazo de betaína seja prejudicial, podendo mesmo ser benéfica (Lever e Slow, 2010).

**Tabela 9.** Colesterol total nos músculos de porcos Alentejanos alimentados com ração comercial sem e com suplementação de betaína durante 20 semanas<sup>†</sup>

	C		CB		Análise de variância
	Média	EP	Média	EP	
	[mg/100g]				
<b>Colesterol total</b>					
<i>Longissimus dorsi</i>	45,99	1,87	49,89	0,97	0,07
<i>Biceps femoris</i>	46,08	0,81	47,71	0,20	*

<sup>†</sup> C - Grupo alimentado com dieta comercial sem betaína (n=6), CB - Grupo alimentado com dieta comercial suplementada com betaína (n=8); EP - Erro padrão; Significância: \*  $P < 0,05$ .

De acordo com vários autores (Siljander-Rasi *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2008; Martins *et al.*, 2010) a eficácia da betaína na redução de gordura na carcaça em suínos parece depender tanto dos animais como de fatores dietéticos, mas os resultados de vários estudos são inconsistentes. Embora inúmeros dados experimentais apontem para a influência benéfica da suplementação de betaína em parâmetros de qualidade da carcaça (Fernandez-Figares *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2004), neste estudo não foi observada a referida eficácia da betaína na redução de gordura na carcaça (dados não apresentados).

Os dados obtidos apontam para a possibilidade de a betaína afetar diferentes músculos de maneira diferente, nomeadamente ao nível da deposição de gordura intramuscular e do metabolismo do colesterol. Quintanilla *et al.* (2011) sugerem que os mecanismos genéticos envolvidos no controlo da deposição de gordura intramuscular, do colesterol e dos ácidos gordos nos suínos (nomeadamente polimorfismos nos genes codificantes das enzimas e transportadores membranares relacionados com o metabolismo dos lípidos e do colesterol) são modulados em certa medida por factores espaciais complexos, relacionados com a localização do músculo, o seu metabolismo e a sua função.

## 5. Conclusão

Os músculos *Longissimus dorsi* e *Biceps femoris* são músculos esqueléticos, sendo o *Longissimus dorsi* um músculo maioritariamente glicolítico, enquanto o *Biceps femoris* tem uma maior capacidade para um metabolismo oxidativo. Estes fazem parte de duas importantes peças de talho, o Lombo e Perna.

Desde a sua descoberta que a betaína começou a ser utilizada na alimentação, quer humana quer animal. Vários estudos foram realizados com intuito de perceber o seu papel no organismo e possíveis relações com algumas patologias. A betaína tem sido utilizada na alimentação de peixes, aves e suínos, por ser considerada um composto lipotrópico e com efeitos promotores do crescimento. Na produção suína, a betaína tem sido utilizada como modificador da composição da carcaça e apesar de vários estudos já terem sido realizados, continua a haver uma grande discrepância de resultados.

O presente estudo mostrou que em porcos da raça Alentejana, a suplementação de betaína a longo prazo, ao contrário do que se verifica nas raças comerciais, não reduz a ingestão alimentar. Por outro lado, seria de esperar um maior efeito lipotrópico no porco Alentejano, visto esta ser uma raça obesa, mas tal não se verificou, sendo que houve um efeito contrário, levando a um aumento dos níveis de lípidos totais nos músculos *Longissimus dorsi* e *Biceps femoris*. Tendo em conta estes resultados, existe a possibilidade de que os porcos Alentejanos / Ibéricos sejam resistentes aos efeitos da betaína sobre a gordura na carcaça. A suplementação de betaína levou a um aumento dos níveis de colesterol nos músculos em estudo, o *Longissimus dorsi* e o *Biceps femoris*. Este efeito sugere que a betaína afeta o metabolismo do colesterol. No entanto, não houve efeitos no perfil dos ácidos gordos mais abundantes dos dois músculos. Os dados revelam que a betaína poderá afetar diferentes partes do organismo de maneira diferente. Do ponto de vista da produção animal e da saúde do consumidor, a suplementação de betaína poderá ter efeitos benéficos (aumento dos lípidos intramusculares nos dois músculos estudados, um factor intimamente

associado a características que definem a qualidade da carne, como a tenrura, a suculência e o flavour - Wood *et al.*, 2008) e deletérios (não redução da razão  $\Sigma n6 / \Sigma n3$  e aumento dos níveis de colesterol total presente na carne).

## 6. Bibliografia

- Alasnier, C., Rémignon, H., Gandemer, G. (1996) Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibres in rabbit muscles. *Meat Science*, 43, 213-224.
- ANCPA, Associação Nacional dos Criadores de Porco Alentejano (2013) Porco Alentejano. *Voz do Campo*, Agosto, p. 21.
- ANCPA, Associação Nacional dos Criadores de Porco Alentejano (s.d.) *Características da raça*. [Online] Disponível em: <http://www.ancpa.pt/index.php> [Consultado em 20 de Julho de 2014].
- Ashmore, C.R., Doerr, L. (1972). Comparative aspects of muscle fiber types in different species. *Experimental Neurology*, 31, 408– 418.
- Bannon, C.D., Craske, J.D., Hillikes, A.E. (1985) Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reability. IV. Fats with fatty acids containing four or more carbon atoms. *Journal of the American Chemistry Society*, 62, 1501-1507.
- Bohac, C.E., Rhee, K.S. (1988) Influence of animal diet and muscle location on cholesterol content of beef and pork muscles. *Meat Science*, 23, 71-75.
- Bragagnolo, N., Rodriguez-Amaya, D.B. (2002) Simultaneous determination of total lipid, cholesterol and fatty acids in meat and backfat of suckling and adult pigs. *Food Chemistry*, 79, 255–260.
- Catela, J.D.S. (2013) *Comparação do perfil de ácidos gordos em carne de suíno produzida com diferentes objetivos comerciais*. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 68 pp.
- Charneca, R.M.C. (2010) *Estudo de factores que influenciam a mortalidade de leitões alentejanos: comparação com um genótipo convencional*. Tese de Doutouramento em Ciências Veterinárias. Universidade de Évora, Évora, 168 pp.

- CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) (1976) *International Commission on Illumination, Colorimetry: Official Recommendation of the International Commission on Illumination*. Publication CIE nº15 (E-1.3.1) Paris; France: Bureau Central de la CIE.
- Correia, A.A.D., Correia, J.H.R.D. (1985). *Bioquímica Animal*. (2a Edição) Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, p. 1249.
- Craig, S.A.S. (2004) Betaine in human nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 539–549.
- Dunsha, F.R., D'Souza, D.N., Pethick, D.W., Harper, G.S., Warner, R.D.(2005) Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Science*, 71 (1), 8–38.
- Dupont, J.L. (2006) Basic Lipidology. In: Moffatt, R.J., Stamford, B. (eds.) *Lipid Metabolism and Health*. Boca Raton, Taylor & Francis Group, LLC, 31-46.
- Duran-Montgé, P., Theil, P.K., Lauridsen, C., Esteve-Garcia, E. (2009) Fat metabolism is regulated by altered gene expression of lipogenic enzymes and regulatory factors in liver and adipose tissue but not in semimembranosus muscle of pigs during the fattening period. *Animal*, 3, 1580–1590.
- Eklund, M., Bauer, E., Wamatu, J., Mosenthin, R. (2005) Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutrition Research Reviews*, 18 (1), 31–48.
- Férézou, J., Riottot, M., Sérougne, C., Cohen-Solal, C. Catala, I., Alquier, C., Parquet, M., Juste, C., Lafont, H., Mathé, D., Corring, T., Lutton, C. (1997) Hypocholesterolemic action of beta-cyclodextrin and its effects on cholesterol metabolism in pigs fed a cholesterol-enriched diet. *Journal of Lipid Research*, 38, 86 – 100.
- Fernandes, L.S., Feitas, A.B., D'Abreu, M.C. (2008) Evolução dos sistemas de produção de porco Alentejano e efeitos do aumento de preço dos alimentos compostos na viabilidade económica da actividade. *Revista de Suinocultura*, 78, 54-63.

- Fernandez, X., Monin, G., Talmant, A., Mourot, J., Lebret, B. (1999) Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat - 2. Consumer acceptability of m. longissimus lumborum. *Meat science*, 53, 67–72.
- Fernández-Fígares I., Conde-Aguilera J.A., Nieto R., Lachica M., Aguilera J.F. (2008) Synergistic effects of betaine and conjugated linoleic acid on growth and carcass composition of growing Iberian pigs. *Journal of Animal Science*, 86, 102–111.
- Fernández-Fígares, I., Lachica, M., Martín, A., Nieto, R., González-Valero, L., Rodríguez-López, J.M., Aguilera, J.F. (2012) Impact of dietary betaine and conjugated linoleic acid on insulin sensitivity, protein and fat metabolism of obese pigs. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience*, 6 (7), 1058–1067.
- Fernández-Fígares, I., Wray-Cahen, D., Steele, N.C., Campbell, R.G., Hall, D.D., Virtanen, E., Caperna, T.J. (2002) Effect of dietary betaine on nutrient utilization and partitioning in the young growing feed-restricted pig. *Journal of Animal Science*, 80 (2), 421-428.
- Fogerty, A.C., Whitfield, F.B., Svoronos, D., Ford, G.L. (1991) The composition of the fatty acids and aldehydes of the ethanolamine and choline phospholipids of various meats. *International Journal of Food Science and Technology*, 26, 363–371.
- Folch, J., Lees, M., Sloane stanley, G.H. (1953) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Font-i-Furnols, M., Tous, N., Esteve-Garcia, E., Gispert, M. (2012) Do all the consumers accept marbling in the same way? The relationship between eating and visual acceptability of pork with different intramuscular fat content. *Meat Science*, 91, 448–453.
- Frandsen, R.D.; T.L. Spurgeon (1995). Capítulo 8. Anatomia microscópica y fisiología del músculo. Em: *Anatomia y fisiología de los animales domésticos*. (5ª edición) Nueva Editorial Interamericana-McGraw Hill, 110-131.

- Freitas, A.A.G.B. (1998) *Influência do nível e regime alimentar em pré-acabamento sobre o crescimento e desenvolvimento do porco Alentejano e suas repercussões sobre o acabamento em montanha e com alimento comercial*. Tese de Doutoramento. Universidade de Évora. 305 pp.
- Freitas, A.B.. (s.d.) Passado, presente e futuro da raça suína alentejana.
- Freitas, A.B.. (2006) Alimentação em regime extensivo: Raça Suína Alentejana. *IV Jornadas Internacionais de Suinicultura*. 12-13 Maio 2006. UTAD. Vila Real. 12pp.
- Freitas, A.B., Neves, J.A., Martins, J.M., Nunes, L.T. (2014) Dados de carcaça dos suínos Alentejanos, 2º ano, Projeto Agro 226. Comunicação pessoal.
- Gandemer, G. (2002) Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.
- Goutefongea, R. (1966) Etude comparative de différentes méthodes de mesure du pouvoir de rétention d'eau de la viande de porc. *Annales de Zootechnie*, 15, 291-295.
- Grundy, S.M. (1983) Absorption and metabolism of dietary cholesterol. *Annual Reviews of Nutrition*, 3, 71-96.
- Harris, K.B., Cross, R., Pond, W.G., Mersmann, J. (1993) Effect of Dietary Fat and Cholesterol Level on Tissue Cholesterol Concentrations of Growing Pigs Selected for High or Low Serum Cholesterol. *Journal of Animal Science*, 71, 807-810.
- Heinz, G., Hautzinger P. (2007). *Meat processing technology for small- to medium-scale producers*. Bangkok, Food and Agriculture Organization of the United Nations regional office for Asia and the Pacific, 456 pp..
- Huang, Q.-C., Han, X.-Y., Xu, Z.-R., Yang, X.-Y., Chen, T., Zheng, X.-T. (2009) Betaine suppresses carnitine palmitoyltransferase I in skeletal muscle but not in liver of finishing pigs. *Livestock Science*, 126, 130-135.
- Huang, Q.C., Xu, Z.R., Han, X.Y., Han, X.Y., Li, W.F. (2008) Effect of dietary betaine supplementation on lipogenic enzyme activities and fatty acid synthase mRNA

- expression in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 140 (3-4), 365–375.
- Hwang, Y.H., Hur, S.J., Park, G.B., Joo, S.T. (2010) Effects of dietary glycine betaine on blood characteristics and pork quality. *Journal of Muscle Foods*, 21, 87–101.
- Ikonen, E. (2008) Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, 9, 125-138.
- ISO - International Organization for Standardization 14891 (2002) Milk and milk products. Determination of nitrogen content. Routine method using combustion according to the Dumas principle.
- Jurie, C., Picard, B., Geay, Y. (1999). Changes in the metabolic and contractile characteristics of muscle in male cattle between 10 and 16 months of age. *The Histochemical Journal*, 31, 117–122.
- Karlsson, A., Enfält, A.C., Essén-Gustavsson, B., Lundström, K., Rydhmer, L., Stern, S. (1993) Muscle histochemical and biochemical properties in relation to meat quality during selection for increased lean tissue growth rate in pigs. *Journal of Animal Science*, 71, 930-938.
- Kharbanda K.K. (2009) Alcoholic liver disease and methionine metabolism. *Seminars on Liver Diseases*, 29, 155–165.
- Kidd, M.T., Ferket, P.R., Garlich, J.D. (1997) Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. *World's Poultry Science Journal*, 53 (June), 126–139.
- Kim, J.H., Seong, P.N., Cho, S.H., Park, B.Y., Hah, K.H., Yu, L.H., Lim, D.G., Hwang, I.H., Kim, D.H., Lee, J.M., Ahn, C.N. (2008) Characterization of nutritional value for twenty-one pork muscles. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21 (1), 138-143.
- Konstantinova, S.V., Tell, G.S., Vollset, S.E., Nygård, O., Øyvind, B., Ueland, P.M. (2008) Divergent associations of plasma choline and betaine with components of metabolic syndrome in middle age and elderly men and women. *The Journal of Nutrition*, 138 (5), 914–920.

- Koolman, J., Roehm, K. H. (2005). *Color Atlas of Biochemistry* (2a Edição). New York: Thieme, pp. 46–51.
- Lawrence, B.V., Schinckel, A.P., Adeola, O., Cera, K. (2002) Impact of betaine on pig finishing performance and carcass composition. *Journal of Animal Science*, 80, 475-482.
- Lazo, A., Gandemer, G., Viau, M., Rampon, V., Gruand, J., Le jossec, P., Chevillon, P. (1994) Evolution de la composition lipidique du muscle long dorsal au cours du développement post-severage chez trois génotypes porcins. *Journées de la Recherche Porcine en France*, 26, 175-182.
- Lee, S.H., Joo, S.T., Ryu, Y.C. (2010) Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. *Meat Science*, 86, 166-170.
- Lefaucheur, L. (2010). A second look into fibre typing — Relation to meat quality. *Meat Science*, 84, 257–270.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M. (2008) *Lehninger principles of biochemistry*. (5ª edição) New York: W.H. Freeman.
- Lever, M., Atkinson, W., Sizeland, P.C.B., Chambers, S.T., *et al.* (2007) Inter- and intra-individual variations in normal urinary glycine betaine excretion. *Clinical Biochemistry*, 40 (7), 447–453.
- Lever, M., Slow, S. (2010) The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism. *Clinical Biochemistry*, 43 (9), 732–744.
- Li, D., Siriamornpun, S., Wahlqvist, M.L., Mann, N.J., Sinclair, A.J. (2005) Lean meat and heart health. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14 (2), 113–119.
- Lipiński, K., Szramko, E., Jeroch, H., Matusevičius, P. (2012) Effects of Betaine on Energy Utilization in Growing Pigs - A Review. *Annals of Animal Science*, 12 (3), 291–300.
- Ludke, M.C.M.M., López, J. (1999) Colesterol e composição dos ácidos graxos nas dietas para humanos e na carcaça suína. *Ciência Rural, Santa Maria*, 29, 181-187.

- Malinowska, A., Chmurzynska, A. (2009) Polymorphism of genes encoding homocysteine metabolism-related enzymes and risk for cardiovascular disease. *Nutrition Research*, 29 (10), 685–695.
- Marmer, W. N., Maxwell, R. J. (1981) Dry column method for the quantitative extraction and simultaneous class separation of lipid from muscle tissue. *Lipids*, 16, 365-370.
- Martins J.M., Neves J.A., Freitas A., Tirapicos J.L. (2010) Betaine supplementation affects the cholesterol but not the lipid profile of pigs. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 295–303.
- Matthews, J. O., Southern, L.L., Higbie, A.D., Persica, M.A., Bidner, T.D. (2001) Effects of betaine on growth, carcass characteristics, pork quality, and plasma metabolites of finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 79, 722–728.
- Matthews, J.O., Southern, L.L., Pontif, J.E., Higbie, A.D., Bidner, T.D. (1998) Interactive effects of betaine, crude protein, and net energy in finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 76, 2444–2455.
- Mendes, M.B., (2013) *Caracterização demográfica da raça suína alentejana*. Tese de Mestrado em Engenharia Zootécnica. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 64 pp.
- Miranda do Vale, J. (1949) *Gado Bissulco*. Coleção A Terra e o Homem. Vol.17. Ed. Livraria Sá da Costa, pp. 35-69.
- Neves, J.A.F.M. (1998) *Influencia de Engorda em Montanha sobre as Características Bioquímicas e Tecnológicas da Matéria Prima e do Presunto Curado de Porco Alentejano*. Tese de doutoramento. Universidade de Évora, Évora, 244 pp.
- Neves, J., Freitas, A, Bento, P., Martins, J.M., Nunes, J.T. (2005) Características físico-químicas do músculo *Biceps femoralis* de porcos de raça alentejana. *XV Congresso de Zootecnia*, 2-5 Novembro de 2005, UTAD. Vila Real, 4 pp.
- Neves J.A., Freitas A., Martins J.M., Nunes J.L.T. (2010) Physical measures of the carcass and the chemical composition of Longissimus dorsi muscle of Alentejano

pigs between 70 and 110 kg LW. *7th International Symposium on Mediterrean Pig*, Universidad de Córdoba, Córdoba, Espanha, 14-16.

Norma Portuguesa NP-1614 (1979) Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação da humidade. Método de referência. Lisboa: Instituto Português da Qualidade.

Norma Portuguesa NP-2931 (2006) Carnes, derivados e produtos cárneos. Suíno abatido para consumo directo. Método de referência. Lisboa: Instituto Português da Qualidade.

Norma Portuguesa NP-3441 (1979) Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do pH. Método de referência. Lisboa: Instituto Português da Qualidade.

Olthof, M.R., Van Vliet, T., Verhoef, P., Zock, P.L., *et al.* (2005) Effect of homocysteine-lowering nutrients on blood lipids: results from four randomised, placebo-controlled studies in healthy humans. *PLoS Medicine*, 2 (5), e135.

Øverland M., Rørvik K.A., Skrede A. (1999). Effect of trimethylamine oxide and betaine in swine diets on growth performance, carcass characteristics, nutrient digestibility, and sensory quality of pork. *Journal of Animal Science* 77, 2143–2153.

Partridge, G.. (2003) Betaine's dual role. *Pig Progress*, 19 (10), 30–31.

Petronini, P.G., De Angelis, E.M., Borghetti, P., Borghetti, A. F., *et al.* (1992) Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. *The Biochemical Journal*, 282 (1), 69–73.

Piste, P., Patil, V. (2006) Cholesterol and Health. *Resonance*, February, 74-77.

Quintanilla, R., Pena, R. N., Gallardo, D., Cánovas, A., Ramírez, O., Díaz, I., Noguera, J. L., Amiils, M. (2011) Porcine intramuscular fat content and composition are regulated by quantitative trait loci with muscle-specific effects. *Journal of Animal Science*, 89, 2963–2971.

- Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D. (2004) Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 199-221.
- Ratriyanto, A., Mosenthin, R., Bauer, E., Eklund, M. (2009) Metabolic, Osmoregulatory and Nutritional Functions of Betaine in Monogastric Animals. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 22 (10), 1461–1476.
- Reitmeier, C.A., Prusa, K.J. (1987) Cholesterol Content and Sensory Analysis of Ground Pork as Influenced by Fat Level and Heating. *Journal of Food Science*, 52, 916-918.
- Rezen, T., Rozman, D., Pascussi, J., Monostory, K. (2011) Interplay between cholesterol and drug metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1814, 146-160.
- Ryu, Y.C., Kim, B.C. (2005). The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig Longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, 71, 351–357.
- Schwab, U., Törrönen, A., Toppinen, L., Alfthan, G., et al. (2002) Betaine supplementation decreases plasma homocysteine concentrations but does not affect body weight, body composition, or resting energy expenditure in human subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76 (5), 961–967.
- Siljander-Rasi, H., Peuranen, S., Tiihonen, K., Virtanen, E., Kettunen, H., Alaviuhkola, T., Simmins, P.H. (2003) Effect of equi-molar dietary betaine and choline addition on performance , carcass quality and physiological parameters of pigs. *Animal Science*, 76, 55-62.
- Silva, R. J. N. (2005). *Efeito do nível alimentar e do sistema de produção em parâmetros bioquímicos, plasmáticos e dos tecidos muscular e adiposo de suínos de raça Alentejana*. Trabalho fim de curso em Engenharia Zootécnica, Universidade de Évora, Évora. 67pp.
- Sparks, D.L., Martin, T.A., Gross, D.R., Hunsaker III, J.C. (2000) Link Between Heart Disease, Cholesterol, and Alzheimer’s Disease: A Review. *Microscopy Research and Technique*, 50, 287-290.

- Stamford, B. Moffatt, R.J., (2006) Lipids and Health: Past, Present, and Future. In: Moffatt, R.J., Stamford, B. (eds.) *Lipid Metabolism and Health*. Boca Raton, Taylor & Francis Group, LLC, 1-12.
- Steenge, G.R., Verhoef, P., Katan, M.B. (2003) Human Nutrition and Metabolism Betaine Supplementation Lowers Plasma Homocysteine in Healthy Men and Women. *Journal of Nutrition*, 133, 1291–1295.
- Swatland, H.J. (1973). Muscle growth in the fetal and neonatal pig. *Journal of Animal Science*, 37, 536–545.
- Troy, D.J., Kerry, J.P. (2010) Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science*, 86, 214–226.
- Valista, L.M., Tapanainen, H., Männistö, S. (2005) Meat fats in nutrition. *Meat Science*, 70, 525-530.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M. (2008) Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78, 343-358.
- Wray-Cahen, D., Fernández-Fígares, I., Virtanen, E., Steele, N.C., *et al.* (2004) Betaine improves growth, but does not induce whole body or hepatic palmitate oxidation in swine (*Sus scrofa domestica*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 137 (1), 131–140.
- Xu, X., Gammon, M.D., Zeisel, S.H., Bradshaw, P.T., Wetmur, J.G., Teitelbaum, S.L., Neugut, A.I., Santella, R.M., Chen, J. (2009) High intakes of choline and betaine reduce breast cancer mortality in a population-based study. *FASEB Journal*, 23 (11), 4022–4028.
- Yang, H.S., Lee, J.I., Joo, S.T., Park, G.B. (2009) Effects of Dietary Glycine Betaine on Growth and Pork Quality of Finishing Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22 (5), 706–711.

Yu D.Y., Feng J., Xu Z.R. (2001) Effects of betaine on fat and protein metabolism in different stages of swine. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 21, 200–203.

Abstract

Yu, D.Y., Xu, Z.R., Li, W.F. (2004) Effects of Betaine on Growth Performance and Carcass Characteristics in Growing Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17 (12), 1700–1704.