

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FLÁVIA DE SOUSA GOMES CROSARA

MINERAIS ORGÂNICOS: SUPLEMENTAÇÃO DE COBRE, FERRO, MANGANÊS E
ZINCO NA DIETA DE POEDEIRAS COMERCIAIS

UBERLÂNDIA

2019

FLÁVIA DE SOUSA GOMES CROSARA

MINERAIS ORGÂNICOS: SUPLEMENTAÇÃO DE COBRE, FERRO, MANGANÊS E
ZINCO NA DIETA DE POEDEIRAS COMERCIAIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias, da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia, da
Universidade Federal de Uberlândia, como
exigência parcial para obtenção do título de
Doutora em Ciências Veterinárias

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes

UERLÂNDIA

2019

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

C949 Crosara, Flávia de Sousa Gomes, 1978-
2019 Minerais orgânicos: suplementação de cobre, ferro, manganês e zinco na dieta de poedeiras comerciais [recurso eletrônico] / Flávia de Sousa Gomes Crosara. - 2019.

Orientador: Evandro de Abreu Fernandes.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ciências Veterinárias.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2542>

Inclui bibliografia.

1. Veterinária. I. Fernandes, Evandro de Abreu, 1949-, (Orient.).
II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
 BR 050, Km 70, Campus Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 2532-6811 - www.ppgovet.ufu.br - mervet@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	CIÊNCIAS VETERINÁRIAS				
Defesa de:	TESE DE DOUTORADO NE PPGCV/011/2019				
Data:	12 de dezembro de 2019	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:00
Matrícula do Discente:	11613VET003				
Nome do Discente:	FLÁVIA DE SOUSA GOMES CROSARA				
Título do Trabalho:	MINERAIS ORGÂNICOS: SUPLEMENTAÇÃO DE COBRE, FERRO, MANGANÊS E ZINCO NA DIETA DE POEDEIRAS COMERCIAIS				
Área de concentração:	PRODUÇÃO ANIMAL				
Linha de pesquisa:	PRODUÇÃO DE FORRAGENS, NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DE ANIMAIS				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	AVALIAÇÃO DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS				

Reuniu-se na Sala 216, Campus Glória, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: Professores Doutores: Ana Luísa Neves Alverenga Dias - UFU; Paulo Lourenço da Silva - UFU; Verônica Lisboa Santos - UFPR; Brenda Carla Luqueti - IMEPAC; Evandro de Abreu Fernandes orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. Evandro de Abreu Fernandes, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por Evandro de Abreu Fernandes, Professor(a) do Magistério Superior, em 12/12/2019, às 16:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 69, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2013](#).



Documento assinado eletronicamente por Verônica Lisboa Santos, Usuário Externo, em 12/12/2019, às 17:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.538, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Ana Luisa Neves Alvarenga Dias, Professor(a) do Magistério Superior, em 12/12/2019, às 17:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.538, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Brenda Carla Luquetti, Usuário Externo, em 12/12/2019, às 18:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.538, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Paulo Lourenço da Silva, Usuário Externo, em 16/01/2020, às 14:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.538, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1760351 e o código CRC BED910C7.

Dedico aos meus pais, esposo e filhos
vocês são minha fonte inspiradora

Agradecimento

Agradeço a Deus pela vida recheada de maravilhas e por toda proteção.

Aos meus pais, Oscar Gomes (junto ao Pai) e Maria Amélia Sousa Gomes por todos os ensinamentos dados com amor e pela dedicação à família. Orgulho da família em que nasci!

Ao meu esposo Gustavo e aos meus filhos Giovanna, Túlio e Laís por todo estímulo, cuidado e amor. Vocês me inspiram a buscar algo melhor. Orgulho da família que formamos!

Ao meu irmão Júlio, um exemplo de paixão pela profissão, e sua família que acolho como minha, Cristina, Olívia e Igor. Obrigada por todo apoio, carinho, alegria e descontração com vocês recarrego minhas energias.

Aos amigos que a vida me presenteou Carina, Andrés, Fabinho, Márcia e Juninho com vocês o riso é fácil e descontrolado.

Ao meu orientador e querido amigo Prof. Evandro, suas explanações me ensinaram muito sobre a área que amamos. Suas atitudes me aconselharam sobre força, fé e empatia, vou levar pra vida toda.

Aos “MESTRES” e aos extraordinários profissionais da avicultura, meu respeito e admiração. Vocês me inspiraram e motivam, obrigada!

A equipe de trabalho AVIEX! Fernanda, Sâmela, Letícia, Brenda, Veridiana e Marina e aos associados Alexandre, Vanderley e Livia obrigada por todo aprendizado e colaboração, esses anos foram produtivos e vocês os tornaram descomplicados e alegres.

Ao Carlos Ronchi e a empresa Yes Sinergy pela contribuição e fomento a essa pesquisa.

Ao Sr Manoel, Leandro e Sâmela por toda a ajuda com as análises laboratoriais, muito obrigada!

Mãe, Juninho e Audi, obrigada por toda ajuda com os preciosos, sem vocês seria impossível. Gratidão!

Enfim, a todos aqueles que estiveram comigo nessa jornada, meu muito obrigado!

**“O começo de todas as ciências é o espanto
de as coisas serem o que são”
(Aristóteles)**

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da substituição de minerais Fe, Cu, Mn e Zn inorgânicos (sulfatos) por orgânicos (metionina quelatados) em diferentes inclusões na dieta de poedeiras, comparando parâmetros zootécnicos, digestibilidade dos nutrientes e minerais, além de variáveis de qualidade e composição mineral do ovo. Utilizou-se 240 poedeiras Dekalb White com 67 semanas, sendo 48 aves por tratamento, 12 por repetição. As rações foram isoenergéticas, isonutrientes, sem fitase e com período de consolidação da dieta de 10 semanas. Os tratamentos foram constituídos pela origem e inclusão de minerais, sendo: inclusões realizadas comercialmente com minerais inorgânicos (MI100) e orgânicos (MO100), e inclusões decrescentes de 65%, 45% e 35% de premix mineral orgânico (MO65, MO45 e MO35). Avaliou-se: índice de produção, ovo por ave alojada (OAA), viabilidade, peso e massa dos ovos, percentual de trincados e perdidos, digestibilidade do alimento e dos nutrientes, retenção e excreção dos minerais, características físico químicas e traços desses minerais na casca, gema e albúmen. As aves dos tratamentos MO35 e MO45 apresentaram menor índice de produção, e independente da inclusão, aquelas alimentadas com minerais orgânicos apresentaram maior peso de ovo, sendo que a massa de ovo não diferiu entre os tratamentos MI100, MO35 e MO45, embora massas maiores tenham sido observadas para MO65 e MO100. A digestibilidade do alimento e nutrientes, e a qualidade dos ovos não foram influenciadas pela fonte ou inclusão dos minerais. O Fe apresentou maior índice de retenção seguido do Cu, Zn e Mn. Mn e Zn apresentaram maior biodisponibilidade em relação às origens inorgânicas e a redução da inclusão de minerais orgânicos não alterou a retenção, o que foi confirmado pela excreção decrescente desses minerais. A deposição de Zn orgânico na casca aumentou com o incremento das inclusões, e na gema diminuiu. Conclui-se ao considerar os índices zootécnicos de importância econômica, OAA, viabilidade, peso e massa do ovo, que a suplementação de 2,8mg/Kg de Cu, 17,7 mg/Kg de Fe, 24,5 mg/Kg de Mn e 17,5 mg/Kg de Zn, de minerais metionina quelatados (MO35) atende a demanda de microminerais para o desempenho e produção de ovos de boa qualidade de poedeiras brancas no último terço do ciclo de postura.

Palavras-chave: Desempenho zootécnico. Excreção minerais. Minerais inorgânicos. Retenção minerais.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effects of replacing inorganic Fe, Cu, Mn and Zn minerals (sulphates) with organic ones (chelated methionine) in different layers in the laying diet, comparing zootechnical parameters, digestibility of nutrients and minerals, in addition to quality variables and mineral composition of the egg. 240 Dekalb White laying hens at 67 weeks were used, with 48 birds per treatment, 12 per repetition. The diets were isoenergetic, isonutrients, without phytase and with a 10-week diet consolidation period. The treatments were constituted by the origin and inclusion of minerals, being: inclusions made commercially with inorganic (MI100) and organic (MO100) minerals, and decreasing inclusions of 65%, 45% and 35% of organic mineral premix (MO65, MO45 and MO35). It was evaluated: production index, egg per housed bird (OAA), viability, egg weight and mass, percentage of bitten and lost, digestibility of food and nutrients, retention and excretion of minerals, physical chemical characteristics and traces of these minerals in the shell, yolk and albumen. The birds in the MO35 and MO45 treatments had a lower production index, and regardless of inclusion, those fed with organic minerals had a higher egg weight, and the egg mass did not differ between the MI100, MO35 and MO45 treatments, although larger masses had observed for MO65 and MO100. The digestibility of food and nutrients, and the quality of eggs were not influenced by the source or inclusion of minerals. Fe showed the highest retention index followed by Cu, Zn and Mn. Mn and Zn showed higher bioavailability in relation to inorganic origins and the reduction in the inclusion of organic minerals did not alter the retention, which was confirmed by the decreasing excretion of these minerals. The deposition of organic Zn in the bark increased with the increase of inclusions, and in the yolk it decreased. It is concluded when considering the zootechnical indexes of economic importance, OAA, viability, weight and egg mass, that the supplementation of 2.8 mg / Kg of Cu, 17.7 mg / Kg of Fe, 24.5 mg / Kg of Mn and 17.5 mg / Kg of Zn, chelated methionine minerals (MO35) meets the demand for micro minerals for the performance and production of good quality white laying eggs in the last third of the laying cycle.

Keywords: Zootechnical performance. Mineral excretion. Inorganic minerals. Mineral retention.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1	Composição mineral dos principais ingredientes das rações para aves, segundo Rostagno et al. (2017) e RNC (1994)	28
Tabela 2	Recomendações de suplementação mineral para poedeiras em produção	30
Tabela 3	Fontes inorgânicas e orgânicas de suplementação de microminerais na dieta de aves, segundo Rostagno et al. (2017)	33 e 34

CAPÍTULO II

Tabela 1	Ingredientes e nutrientes calculados das dietas experimentais	46
Tabela 2	Parâmetros zootécnicos e digestibilidade aparente do alimento e seus nutrientes em função dos níveis de inclusão e fonte dos microminerais Fe, Cu, Mn, Zn	49
Tabela 3	Características físico-químicas e medidas de qualidade dos ovos em função dos níveis de inclusão e fonte dos microminerais Fe, Cu, Mn, Zn	50

CAPÍTULO III

Tabela 1	Ingrediente e nutrientes calculados das dietas experimentais	62
Tabela 2	Níveis de minerais suplementados e analisados, em mg/Kg, nas dietas experimentais	63
Tabela 3	Retenção (%) e excreção, em mg/Kg de matéria seca, de cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) de poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos (MI) e orgânicos (MO) em diferentes inclusões	65
Tabela 4	Deposição, em ppm, de cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) na casca, gema e albúmen de ovos de poedeiras suplementadas com mineral inorgânico (MI) e orgânico (MO)	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVIEX	Grupo de Pesquisa de Avicultura Experimental
Ca	Cálcio
CEUA	Comitê de Ética em Utilização de Animais
Cl	Cloro
Cu	Cobre
EE	Extrato etéreo
Fe	Ferro
g/ave/dia	Gramas por ave ao dia
I	Iodo
K	Potássio
Mg	Magnésio
mg/ Kg	Miligrama por kilograma
MM	Matéria mineral
Mn	Manganês
MS	Matéria seca
Na	Sódio
P	Fósforo
Pdisp	Fósforo disponível
Pdig	Fósforo digestível
PB	Proteína bruta
S	Enxofre
Se	Selênio
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
Zn	Zinco

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Minerais: Metabolismo e Absorvabilidade.....	15
2.1.1	<i>Microminerais.....</i>	15
2.1.1.1.	<i>Ferro</i>	15
2.1.1.2	<i>Zinco</i>	16
2.1.1.3	<i>Manganês.....</i>	18
2.1.1.4	<i>Cobre.....</i>	18
2.1.1.5	<i>Selênio.....</i>	19
2.1.1.6	<i>Iodo.....</i>	20
2.1.2	<i>Macrominerais.....</i>	20
2.1.2.1	<i>Cálcio.....</i>	21
2.1.2.2	<i>Fósforo.....</i>	22
2.1.2.3	<i>Sódio, Cloro e Potássio.....</i>	23
2.1.2.4	<i>Magnésio.....</i>	25
2.1.2.5	<i>Enxofre.....</i>	25
2.2	A dinâmica dos minerais na formação da casca do ovo.....	26
2.3	Composição química dos ingredientes de ração.....	27
2.4	Suplementação mineral.....	29
2.5	Biodisponibilidade dos minerais.....	31
2.5.1	<i>Fatores que interferem na biodisponibilidade dos minerais.....</i>	35

REFERÊNCIAS	36
--------------------------	-----------

CAPÍTULO II - COBRE, FERRO, MANGANÊS E ZINCO ORGÂNICO: PARÂMETROS ZOOTECNICOS, DIGESTIBILIDADE E QUALIDADE DOS OVOS DE POEDEIRAS

RESUMO	43
INTRODUÇÃO	43
MATERIAL E MÉTODOS	45
RESULTADOS.....	48
DISCUSSÃO	51
CONCLUSÃO.....	54

REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO III- ZINCO, COBRE, FERRO E MANGANÊS METIONINA QUELATADOS: BIODISPONIBILIDADE, EXCREÇÃO E FRAÇÃO NO OVO	
RESUMO	59
ABSTRACT	60
INTRODUÇÃO	60
MATERIAL E MÉTODOS	61
RESULTADOS.....	64
DISCUSSÃO	66
CONCLUSÃO	68
REFERÊNCIAS	68
ANEXO A- Aprovação do comitê de ética	71
ANEXO B- Normas do periódico “Revista Brasileira de Ciência Avícola”.....	72
ANEXO C- Normas do periódico “Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia”	74

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

(Redigido de acordo com as normas da Biblioteca-UFU)

1 INTRODUÇÃO

Os organismos vivos, animais e vegetais, apresentam quantidades variáveis de minerais, fundamentais para seu metabolismo fisiológico (MAIORKA; MACARI, 2002). A regulação dos fluidos corporais, o transporte de nutrientes para a célula e de oxigênio pelo corpo, a constituição de hormônios, ossos, proteína e cartilagem, as contrações musculares, a ativação de enzimas, o funcionamento cardíaco, a formação de suco digestivo, a manutenção funcional do sistema nervoso, o metabolismo de carboidrato, gordura e proteína são exemplos de ações sistêmicas atribuídas aos minerais (REGINA; BETERCHINI, 2010).

Os minerais são elementos químicos que não podem ser decompostos ou sintetizados no organismo animal, são sólidos e cristalinos, resultado da interação de processos físico-químicos em ambientes geológicos. Portanto, devem ser suplementados à dieta. Segundo Maiorka e Macari (2002), as aves podem apresentar três respostas aos níveis de suplementação: deficiência quando níveis muito baixos, manutenção da homeostase e reserva tecidual em quantidades intermediárias e toxicidade e redução do crescimento quando consumo muito acima dos níveis requeridos.

Tradicionalmente, os minerais são adicionados à dieta na sua forma inorgânica, sendo a alta inclusão na dieta, a baixa biodisponibilidade e a elevada excreção os pontos de atenção a essa fonte de suplementação. Atualmente, tem-se utilizado minerais complexados a um carreador, como aminoácidos ou polissacarídeos, aumentando sua biodisponibilidade, e consequentemente reduzindo a concentração na dieta e na excreção. Recentemente, a nanotecnologia tem sido utilizada na produção de suplementos minerais, e testes como o realizado por Abedine et al. (2018) buscam a substituição às fontes inorgânicas e orgânicas ao invés de menores níveis de inclusão na dieta.

Os microminerais orgânicos, sua biodisponibilidade e eficácia na substituição aos sais minerais têm sido amplamente pesquisados. No entanto, faz-se necessário buscar novas e inferiores inclusões na dieta, suficientes para o metabolismo animal e boa produtividade. Objetivou-se avaliar, em poedeiras brancas, os efeitos da substituição da suplementação de Cu, Fe, Mn e Zn inorgânicos (sulfatos) por minerais orgânicos (metionina quelatados), em diferentes níveis de inclusão, sobre os índices de produtividade, qualidade e deposição mineral nos ovos, digestibilidade do alimento e dos nutrientes, retenção e excreção de minerais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Minerais: Metabolismos e Absorvabilidade

Nutricionalmente são divididos em dois grupos, com base nas exigências da ave. Os requeridos em menor quantidade são conhecidos por microminerais, sendo os de maior interesse na avicultura Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Zinco (Zn), Selênio (Se) e Iodo (I). Os minerais de maior demanda são denominados macrominerais, são eles: Cálcio (Ca), Fósforo (P), Sódio (Na), Cloro (Cl) e Potássio (K), Magnésio (Mg) e Enxofre (S). As principais funções metabólicas desses minerais nas aves, sua absorção e os fatores que a afetam estão descritas a seguir.

2.1.1 Microminerais

Demandados em quantidades mínimas, incluídos à dieta em mg/Kg de ração, são indispensáveis nas vias metabólicas essenciais ao crescimento e a vida.

2.1.1.1 Ferro (Fe)

O ferro é componente essencial para a formação da molécula heme, constituída por um anel tetrapirrólico com um íon central de ferro, e assim compõe diversas proteínas, como as hemoglobinas, mioglobinas, citocromos, catalases e peroxidases. Na forma de hemoproteína é fundamental no transporte de oxigênio, geração de energia celular e detoxificação (GROTTO, 2010). A maior fração do Fe orgânico está na molécula da hemoglobina (60 a 70%), o restante está distribuído nos músculos, soro, fígado, rins e baço (REGINA; BETERCHINI, 2010).

Há dois tipos de ferro fornecidos pela dieta, o Fe-heme e o Fe-não heme. O Fe-heme, ou orgânico, está presente nos produtos de origem animal, e sua aquisição ocorre pela quebra da hemoglobina e mioglobina. É solúvel nas condições do intestino delgado e facilmente absorvido pela mucosa intestinal sem a interferência de fatores químicos e alimentares. O Fe-não heme, ou inorgânico, está presente nos cereais na forma férrica (Fe^{3+}) apresenta baixa biodisponibilidade e sua absorção é influenciada pela presença de outros nutrientes (HURREL, 1997; GROTTO, 2010).

A absorção do Fe-não heme ocorre no intestino delgado proximal, através da DMT-1 (proteína ligadora de metais divalentes) que, além do Fe, transporta Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} . Para exercer sua função, a DMT-1 necessita que o ferro tenha sido convertido de Fe^{3+} para Fe^{2+} , o que é mediado pela redutase citocromo. A absorção do Fe-heme é menos estabelecida e aparentemente, a internalização é feita pela proteína transportadora do heme-1 (HCP1) nas células do duodeno (GROTTO, 2010).

No citoplasma, o Fe^{+2} pode agrupar-se em complexos de baixo peso molecular, ligar-se a proteína ou ser estocado como ferritina. Na membrana basolateral dos enterócitos, o Fe^{+2} é oxidado em Fe^{+3} e transportado pela transferrina até os órgãos ou até os ossos medulares onde atuará na hematopoese (MAIORKA; MACARI, 2002).

Entre os inibidores da absorção que se ligam ao Fe^{+3} formando complexos não disponíveis estão o ácido fítico, polifenóis (ácidos fenólicos e flavonoides), cálcio e peptídios (HURRELL; EGLI, 2010). Potencializadores de absorção podem reduzi-lo, de Fe^{+3} a Fe^{+2} , ligando-o em complexos solúveis e disponibilizando-o para absorção, destaca-se a cisteína com poder quelante ao Fe^{+3} reduzindo ao mais solúvel Fe^{+2} e o ácido ascórbico, que reduz Fe^{+3} em baixos pH e apresenta ótimo poder quelante (LOMBARD et al., 1997; HURRELL; EGLI, 2010).

O organismo animal regula a homeostase do ferro controlando a absorção e não aumentando a excreção como na maioria dos outros metais. Assim, a absorção é aumentada durante a deficiência e diminuída quando a eritropoiese está minimizada. O corpo tem uma capacidade limitada de excretar Fe e se além das necessidades o armazena como ferritina ou hemossiderina no fígado, baço e medula óssea. Inclusive o Fe liberado pela destruição das hemácias pode novamente ser utilizado para a formação da hemoglobina (HURRELL, 1997). Assim, a homeostase do Fe deve-se a um sofisticado mecanismo de controle que mantém o equilíbrio entre os processos de absorção, reciclagem, mobilização, utilização e estoque (GROTTO, 2010).

A quantidade de Fe na dieta varia com os ingredientes de origem animal e vegetal. Como a biodisponibilidade e a eficiência da absorção do Fe é baixa, cerca de 10%, torna-se necessária a suplementação (MAIORKA; MACARI, 2002).

2.1.1.2 Zinco (Zn)

O zinco é um elemento traço com numerosas funções nas rotas metabólicas. Essencial em vários processos, incluindo proliferação celular, crescimento, sistema

imunológico, reprodução, secreções hormonais e antioxidantes do sistema de defesa (AO et al., 2011), atua como co-fator de muitas enzimas, como a fosfatase alcalina, a anidrase carbônica e a lactato desidrogenase (MAIORKA; MACARI, 2002), apresenta funções neurológicas e participa da síntese de proteína (HARA, 2017).

O processo de absorção do Zn inorgânico pelo enterócito é controverso. Ocorre no proventrículo e intestino delgado, por transporte ativo e demonstra depender de uma proteína transportadora de Zn (MAIORKA; MACARI, 2002), sendo que a DMT1 tem pouca participação na homeostase do Zn (KORDAS; STOLTZFUS, 2004). A absorção e o transporte do mineral orgânico, Zn metionina quelatado (Zn-met), segundo evidenciado por Li et al. (2019), ocorre por outros transportadores, como os transportadores de aminoácidos

Entre os fatores que diminuem a absorção de Zn, tem-se a diminuição da solubilidade do elemento pela presença de Ca, fitato, Cu e sulfitos e a competição por receptores envolvidos no transporte, armazenamento ou demanda metabólica (OMS, 1996), altos níveis de Ca e P que formam compostos insolúveis (REGINA; BETERCHINI, 2010), gorduras saturadas, cádmio e cromo (MAIORKA; MACARI, 2002). Há ainda o antagonismo entre Fe e Zn, estudos demonstram que o excesso de Fe prejudica a absorção de Zn e que o DMT1 não é o transportador intestinal primário de Zn, tornando-o um local improvável para esta competição (KORDAS; STOLTZFUS, 2004).

A homeostase do Zn é rigidamente controlada pela regulação coordenada da ingestão, excreção, distribuição e estoque (BARMAN et al., 2017). A proteína metalotioneína, à qual o Zn se liga no citoplasma, tem o papel de regular a quantidade de zinco que entra no corpo, através do nível de Zn da dieta e da concentração plasmática (MAIORKA; MACARI, 2002). A homeostase celular do Zn envolve a ação de oposição de dois grupos transportadores de metal, a ZnT (SLC30), que reduz as concentrações citoplasmáticas de Zn, transportando seus íons para a matriz extracelular ou para as organelas da célula e a ZIP (SLC39) que aumenta a concentração de Zn do citoplasma (BAFARO et al., 2017).

Abundante nos produtos de origem animal como a farinha de carne que contém 100 a 150 ppm, o Zn ocorre em baixos teores nos vegetais (5 e 50 ppm para milho e soja, respectivamente), porém grande parte na forma de quelatos insolúveis, tornando a suplementação indispensável (MAIORKA; MACARI, 2002).

2.1.1.3 Manganês (Mn)

O manganês concentra-se principalmente no fígado, mas está presente em outros órgãos como pele, músculos e ossos, sendo a tíbia o tecido de maior sensibilidade de deposição em função dos níveis ingeridos (REGINA; BETERCHINI, 2010). Nas células, o Mn é encontrado no interior das mitocôndrias, sendo co-fator de várias enzimas envolvidas na glicolização das glicoproteínas (MAIORKA; MACARI, 2002). Entre as enzimas ativadas pelo Mn estão as hidrolases, quinases, descarboxilases e transferases, a maioria dessas enzimas podem ser ativadas por outros metais, especialmente o magnésio, no entanto a ativação por outros minerais não se aplica à glicosiltransferase (OMS, 1996)

O mecanismo de absorção do Mn foi descrito por Bai et al. (2008), e trata-se de um processo mediado por carreador, sob saturação no duodeno e jejuno e um processo não saturável por difusão no íleo. A proteína DMT1 desempenha um papel importante na absorção de Mn no duodeno e jejuno, mas sua ação é limitada no íleo. A concentração de Mn no lúmen regula a expressão do mRNA da proteína DMT1. Assim a saturação de Mn, aumenta a quantidade de DMT1 no duodeno e jejuno, enquanto a baixa concentração no jejuno torna o transporte ativo pouco utilizável.

Outros minerais como Ca, P e Fe, podem reduzir a solubilidade e inibir a absorção do Mn, que compete pelos sítios de Fe e Co (Cobalto) nos enterócitos (MAIORKA; MACARI, 2002), o fitato e o Cu também restringem a sua utilização (OMS, 1996). Segundo Regina e Beterchini (2010), rações a base de milho e soja possuem em torno de 25 ppm de Mn. Porém, a eficiência da absorção do manganês é muito baixa, já que consideráveis quantidades desse mineral são detectadas nas fezes, tornando a suplementação necessária para atender a necessidades fisiológicas.

2.1.1.4 Cobre (Cu)

O cobre é amplamente distribuído em tecidos biológicos, maioria em forma de complexos orgânicos, como as metaloproteínas e as enzimas, que estão envolvidas em várias reações metabólicas, como a utilização da energia e do oxigênio durante a respiração celular (OMS, 1996).

A absorção do Cu ocorre por dois mecanismos dependentes da concentração de Cu na dieta. Quando a concentração está alta, a absorção ocorre por simples difusão,

sob baixa concentração, ocorre transporte ativo. A sua absorção parece ser regulada pela metalotiloneína, sugerindo um sítio de interação de absorção do Cu e Zn. Algumas substâncias podem interferir na biodisponibilidade do Cu, como cisteína, ascorbato e o ácido 3-nitro-4-dihidroxifenilarsênico devido a formação de complexos não absorvíveis (MAIORKA; MACARI, 2002). De acordo com Aoyagi e Baker (1994), o complexo formado por ascorbato não ocorre se o Cu for de origem orgânica, metionina quelatado (Cu-Met), no entanto se o Cu for de origem inorgânica, no caso sulfato de cobre (CuSO_4), a complexação com o mineral é realizada. Já a cisteína complexa com o Cu, independente da fonte do mineral, demonstrando um maior poder de agregar o Cu que o aminoácido ligado a ele.

2.1.1.5 Selênio (Se)

O selênio participa de várias funções fisiológicas através das selenoproteínas, que podem ser encontradas em diversos órgãos, nos músculos e na corrente sanguínea. Mesmo em quantidades mínimas, desenvolvem um papel essencial no metabolismo, sendo assim primordiais para o desenvolvimento dos animais. As selenoproteínas mais importantes e suas principais ações são a glutathione peroxidase que atua no combate ao estresse oxidativo (WANG; XU, 2008), a tioredoxina redutase que participa da síntese de DNA, crescimento celular e apoptose (MUSTAICICH; POWIS, 2000) e a iodotironina deiodinase que age no metabolismo dos hormônios tireoidianos (JIANHUA et al., 2000).

O selênio é encontrado em todos os tecidos do organismo animal, em concentrações variáveis, fígado e rins contêm os maiores níveis de selênio do organismo, os músculos cardíacos possuem mais selênio que os músculos esqueléticos. No metabolismo, está associado à vitamina E, que tem como principal função evitar a oxidação dos tecidos, mantendo a integridade das membranas celulares. O Se, por sua vez, através da ativação da enzima glutathione peroxidase, destrói os peróxidos formados, recuperando as membranas das células e dos capilares (REGINA; BETERCHINI, 2010).

A absorção nas aves ocorre ao longo do intestino delgado e também nos cecos. A origem do Se da dieta interfere no mecanismo de absorção, sendo o Se de origem orgânica Se-MET, absorvido por transporte ativo, juntamente com a metionina ligada a

ele, enquanto o Se de origem inorgânica, selenito de sódio, é absorvido por transporte passivo na membrana (SPENCER; BLAU, 1962).

Após absorvido, o Se é transformado em selenocisteína para compor a glutathione peroxidase (GSH-Px), e esse é o ponto de diferença entre as fontes do Se. O selenito de sódio forma selenocisteína e compõe GSH-Px para pronto uso, o que o torna mais eficiente na reposição de Se em dietas deficientes ou no combate da manifestação clínica da diatese exsudativa decorrente da deficiência. A selenometionina é vagarosamente transformada em selenocisteína, sendo a maior parte, armazenada na forma em que foi absorvida, nos músculos e outros tecidos como o fígado, pâncreas e rins podendo trazer benefícios à carne e aos ovos (HENRY; AMMERMAN, 1995). Assim, em situações de estresse, as aves alimentadas com Se orgânico podem sintetizar selenoproteínas a partir de suas reservas, diminuindo os danos causados pelos radicais livres que ocorrem nestas situações (SURAI, 2002).

2.1.1.6 Iodo (I)

Estima-se que a concentração desse mineral no organismo é mínima (0,00004%), mas se essa taxa não for mantida pela alimentação, os resultados são desastrosos. Mais de 50% desse iodo está na glândula tireoide, produtora de tiroxina, um hormônio que contém 65% de I, é em função do funcionamento dessa glândula que decorre a necessidade do organismo (REGINA; BETERCHINI, 2010).

O iodo presente no alimento e água está na forma inorgânica, é absorvido ao longo do intestino delgado por sistema semelhante ao do cloro. O excesso absorvido é excretado pela urina. Na tireoide é convertido na forma orgânica, formando a iodotirosina. A suplementação do iodo nas dietas é indicada, principalmente onde solo e água são deficientes (REGINA; BETERCHINI, 2010).

2.1.2 Macrominerais

Requeridos pelo organismo animal em maior quantidade, as fontes de suplementação dos macrominerais são adicionadas à dieta em percentual.

Como ocorre a presença simultânea de todos os minerais no lúmen intestinal, deve-se considerar a competição por sítios de transporte, como a proteína DMT-1, transportadora de qualquer metal divalente (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} e Mg^{2+}), ou ainda as

interações entre eles que indisponibiliza a absorção de ambos (Cozzolino, 1997). Assim, as funções metabólicas, a absorção e os fatores que afetam a absorção dos macrominerais serão descritas a seguir.

2.1.2.1 Cálcio (Ca)

O cálcio é o mineral mais abundante do organismo da ave, sendo um dos principais constituintes dos ossos. Suas principais funções são: formação e manutenção óssea, coagulação do sangue, contração muscular (esquelético e cardíaco), transmissão de estímulos nervosos, ativação de enzimas, produtividade das aves, qualidade dos ovos (REGINA; BETERCHINI, 2010) e ritmo cardíaco juntamente com Na e K (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

Frequentemente associado à proteínas no plasma e no citosol, suas concentrações são controladas com pequena margem de variação, dentro e fora das células, através de rigorosos mecanismos de homeostase (MAIORKA; MACARI, 2002). nos níveis sanguíneos, com limites sensíveis, são controlados pelos hormônios paratireóide e calcitonina, que controlam a absorção, a excreção e o metabolismo ósseo (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

A absorção ocorre ao longo do intestino delgado, principalmente duodeno e jejuno, e pode ocorrer de duas formas: uma ativa saturável, mediada pela proteína transportadora de Ca (PTCa) e vit D responsável pela transcrição da PTCa, e uma passiva, que corresponde a difusão simples ou facilitada. Dentro da célula, liga-se a uma proteína fixadora de Ca (PFCa), evitando a formação de sais insolúveis com os ânions presentes. Posteriormente é lançado para fora da célula, através da membrana basolateral, contra seu gradiente de concentração, por proteínas de transporte ativo e pela Ca ATPase presentes na membrana (MAIORKA; MACARI, 2002; BUZINARO *et al.*, 2006).

A absorção ativa do Ca é primariamente regulada pela 1,25-dihidroxitamina D (1,25(OH)₂D) que transportada até o núcleo da célula intestinal, interage com a cromatina e, em resposta, RNAs específicos são elaborados e transcritos em PTCa. A Vit D está envolvida em todas as fases de absorção do Ca, induzindo a síntese de PTCa e CaATPase (MAIORKA; MACARI, 2002). Alguns hormônios podem incrementar (paratormônio e hormônio do crescimento), ou suprimir (glicocorticóides, excesso de hormônios da tireóide e calcitonina) a absorção de cálcio, principalmente via interação

com a conversão renal de 25-hidroxivitamina D ($25(\text{OH})\text{D}$) a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (CHARLES, 1992).

Os níveis de Ca e P adicionados às dietas são fatores críticos para absorção e aproveitamento pós-absorção de ambos (ADEDOKUN; ADEOLA, 2013), considerando a interação que ocorre entre eles (JARDIM FILHO et al., 2005). Segundo o NRC (1994) uma proporção de aproximadamente 2Ca:1P não fitato é apropriada para a maioria das dietas para aves, com exceção das rações de produção nas quais torna-se necessário uma proporção de 12Ca:1P não-fitato para a formação da casca dos ovos.

Entre os fatores que prejudicam a absorção de Ca, estão o excesso de Ca na dieta devido a saturação da PTCa, tal excesso prejudica também a biodisponibilidade de outros minerais (P, Mg, Mn e Zn), a presença de fósforo fítico pela formação de compostos insolúveis, altos níveis de gordura na dieta formando sabões insolúveis, o estado nutricional da ave, o avançar da idade que diminui a absorção (MAIORKA; MACARI, 2002), e a solubilidade no ponto de contato com a mucosa intestinal (REGINA; BETERCHINI, 2010).

Por outro lado, aditivos redutores de pH da ração e digesta intestinal, como inulina, oligofrutose e ácidos graxos de cadeia curta e média, beneficiam a retenção de minerais como Ca, P e Zn em poedeiras (SWIATKIEWICZ; KORELESKI, 2008). Anwar et al. (2016) demonstraram que partículas de calcário entre 1-2 mm apresentam maior digestibilidade comparado às partículas de 0,5 mm, sendo os coeficientes de digestibilidade 71% e 43%, respectivamente.

2.1.2.2 Fósforo (P)

Entre as principais funções do P no organismo estão a participação na estrutura óssea, composição das células (membrana fosfolipídica), fornecimento de energia (ATP), metabolismo de carboidratos, aminoácidos e gorduras, transporte de gordura, equilíbrio ácido básico do sangue sob a forma de íons fosfato (REGINA; BETERCHINI, 2010), além da coordenação muscular, metabolismo do tecido nervoso e composição de coenzimas (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

Das formas de fósforo vegetal presentes na dieta, somente 30 a 40% são digestíveis, o restante está presente como ácido fítico (NRC, 1994). O uso de uma enzima exógena, a fitase, é capaz de catalizar o fósforo fítico liberando o P. Além de melhorar a disponibilidade do P e diminuir a excreção, a enzima reduz a interferência

do fósforo fítico sobre a absorção de outros nutrientes (MAIORKA; MACARI, 2002), impede a formação de complexos com minerais como Ca, Mn, Mg, Fe, Zn tornando-os indisponíveis para o animal (NEWMAN, 1991) e reduz a quelação com proteínas, em pH's ácidos e neutro, reduzindo a utilização de proteínas e aminoácidos (SOUZA, LOPEZ, 1994).

A absorção do P ocorre principalmente no duodeno por transporte ativo (AUMAN, 2003), provavelmente devido ao pH que aumenta a solubilidade, no entanto a absorção ocorre também nos outros segmentos do intestino delgado. Evidências sugerem que a absorção do P envolve um processo ativo (com gasto de energia), estimulado pela Vit. D e dependente do Na, em transporte ativo secundário (MAIORKA; MACARI, 2002).

Entre os fatores que diminuem a disponibilidade do P, afetando a absorção, estão o desbalanço Ca:P, a presença de P na forma de ácido fítico não hidrolisado nos monogástricos, o excesso de Ca de granulometria fina (REGINA; BETERCHINI, 2010), a presença de íons de Fe, Mg, alumínio (Al) e Ca, que proporcionam a formação de sais pouco solúveis (MAIORKA; MACARI, 2002). Kim et al. (2018) demonstraram que a suplementação de calcário fino ($<75 \mu\text{m}$), mesmo com adição de fitase, prejudicou a digestibilidade aparente do P.

Segundo Fireman e Fireman (1998), os limites entre a necessidade, a depleção e o excesso para esse mineral são muito estreitos, assim, pequenos desvios podem demonstrar efeitos adversos no desempenho das poedeiras. Ingrediente caro nas rações, o excesso de fósforo inorgânico suplementado à dieta e o fósforo fítico, são eliminados nas fezes.

2.1.2.3 Sódio (Na), Cloro (Cl) e Potássio (K)

Principais eletrólitos dos fluídos corporais, esses minerais mantêm a pressão osmótica, o nível celular de água e o equilíbrio ácido-base. O sódio e o potássio são alcalogênicos e tendem a aumentar o pH do sangue e a concentração de bicarbonato, enquanto o cloreto é acidogênico e tende a diminuir o pH do sangue e a concentração de bicarbonato. Entre as funções do sódio, conhecido como “cátion chefe” do fluído extracelular estão as contrações musculares, a absorção e transporte de nutrientes para as células, e a participação da estrutura dos ossos. O potássio “cátion chefe intracelular” é um ativador de enzimas, requerido também na atividade cardíaca (reduz a

contratibilidade e favorece o relaxamento). O cloro tem como principal função a formação de ácido clorídrico (REGINA; BETERCHINI, 2010; BAIÃO; LÚCIO, 2005).

A absorção desses minerais no intestino ocorre de várias maneiras. O íon Na^+ é rapidamente absorvido principalmente no intestino delgado, embora sua absorção ocorra também no intestino grosso. Os mecanismos de absorção dependem da presença ou não de alimento e do segmento do intestino, podendo ser transporte ativo, co-transporte (Cl^- , glicose ou aminoácido), canais de condutância ou difusão (passiva e não iônica). A absorção do Cl^- , na forma de cloretos (Cl^-), pode ocorrer por três mecanismos, sendo a absorção de Cl^- em decorrência da secreção de bicarbonato (HCO_3^-) no lúmen intestinal, a fim de manter o equilíbrio eletroquímico, o co-transporte de Na^+ que gera uma alteração do gradiente da membrana, possibilitando a passagem de Cl^- nos espaços intercelulares e a absorção do Na^+ ligado ao Cl^- , nesse caso entra Na^+ e sai H^+ e entra Cl^- e sai HCO_3^- . A absorção do K^+ ocorre no intestino delgado e intestino grosso, principalmente por difusão via paracelular devido ao aumento da concentração de K^+ no lúmen intestinal, em consequência da absorção de água, que ocorre na porção inicial do intestino (MAIORKA; MACARI, 2002).

Não foram encontrados, na literatura, fatores que afetam a absorção de Na e Cl, possivelmente pelos variáveis mecanismos de absorção desses elementos e pelo fato de serem absorvidos ao longo dos intestinos. No entanto, Maiorka e Macari (2002) relataram que a absorção do K pode ser prejudicada em casos de distúrbios na absorção de água, como a diarreia, já que o K diluído no intestino torna o gradiente de concentração inadequado à difusão.

As proporções alimentares desses minerais são tratadas em conjunto e o equilíbrio adequado desses eletrólitos é avaliado pelos níveis de sódio e potássio *versus* cloreto, expressos em mEq/Kg de dieta (MONGIN, 1968). O equilíbrio eletrolítico das rações é uma ferramenta para manter o balanço ácido – básico do organismo da ave. Poedeiras demonstram melhoria da performance produtiva e da qualidade dos ovos, sem prejuízo ao peso e superfície da casca, quando alimentadas com rações entre 160 - 360 mEq/kg (SAUVEUR; MONGIN, 1978). Primeiramente, os requisitos mínimos de cada mineral devem ser fornecidos e só então, o balanço eletrolítico deve ser ajustado (NOBAKHT et al., 2006), com uso de sais como bicarbonato de sódio (NaHCO_3), bicarbonato de potássio (KHCO_3) e cloreto de amônio (NH_4Cl), entre outros (SAUVEUR; MONGIN, 1978).

Tradicionalmente, o cloreto de sódio é utilizado na suplementação de Na e Cl. De acordo com Baião e Lúcio (2005) normalmente, não há necessidade de suplementação de K às dietas, exceto em casos de elevado níveis de proteína na ração que aumentam a excreção de K.

2.1.2.4 Magnésio (Mg)

O magnésio é essencial à vida, apesar da ínfima quantidade encontrada no organismo animal, entre 0,02 a 0,05% (REGINA; BETERCHINI, 2010). É um constituinte dos ossos, mas encontra-se predominantemente dentro das células, sendo o segundo cátion intracelular, após o K^+ e está, normalmente, envolvido em reações que requerem ATP (MAIORKA; MACARI, 2002). Possui funções importantes, como a ativação de enzimas, manutenção funcional do sistema nervoso, metabolismo de carboidrato, gordura e proteína, e utilização de Ca, P, Zn e nitratos (REGINA; BETERCHINI, 2010), além de outras funções como a contração muscular, síntese de proteína, ácido nucleico e gorduras, utilização de glicose, e fosforilação oxidativa são dependentes do magnésio (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

A absorção do Mg ocorre por transporte ativo no intestino delgado, principalmente no duodeno e jejuno. As taxas de absorção são altas, em torno de 60%. No entanto, essa absorção pode reduzir em dietas com altas concentrações de Ca e P, já que o Mg compete com o Ca pelos mesmos sítios de absorção, e pode formar com o P sais insolúveis, diminuindo sua disponibilidade. Níveis elevados de gordura insaturada também diminuem a absorção do Mg (MAIORKA; MACARI, 2002).

Normalmente, não há necessidade de suplementação desse mineral nas dietas, pois ingredientes como milho e soja apresentam de 0,2 a 0,4% de Mg (REGINA; BETERCHINI, 2010). Porém, dietas com altos níveis de Ca e P, aumentam os requerimentos de Mg pelas aves, e sem suplementação, ocasiona deficiência, representada por rápido declínio na produção de ovos, hipomagnesemia sanguínea, retirada do magnésio dos ossos, redução do peso dos ovos e da casca, e redução de Mg na casca e na gema (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

2.1.2.5 Enxofre (S)

Componente essencial da proteína e outros compostos químicos do organismo animal, corresponde a 0,15% do corpo do animal na forma de compostos orgânicos como aminoácidos (metionina, cisteína), vitaminas (tiamina e biotina) e inorgânico como a condroitina da cartilagem. Existe uma relação entre nitrogênio e enxofre nos animais e nas plantas. Portanto, alimentos ricos em proteína contêm níveis elevados de enxofre. Ingredientes normalmente utilizados nas rações das aves fornecem quantidades de S compatível com as necessidades nutricionais, não sendo necessária a suplementação (REGINA; BETERCHINI, 2010).

2.2 A dinâmica dos minerais na formação da casca do ovo

A casca é constituída por 98% de carbonato de Ca (CaCO_3), sendo 60% bicarbonato e 38% de Ca (ETCHES, 1996), a quantidade de Ca varia entre 2,1 a 2,4g (BAIÃO; LÚCIO, 2005). Portanto, para a formação da casca é necessário suprimentos de íons Ca e H_2CO_3 (ácido carbônico) no fluido intrauterino (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

O carbonato é originado do CO_2 e H_2O , presentes no plasma sanguíneo, que na mucosa uterina, mediado pela enzima anidrase carbônica, forma H_2CO_3 . No fluido intrauterino, o H_2CO_3 dissocia-se em $\text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ e finalmente com a presença de Ca^{2+} ocorre a liberação do H^+ e a formação de CaCO_3 que é depositado na casca (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

Durante o processo de formação da casca no útero, que dura aproximadamente 20 horas, 20% do Ca sanguíneo é removido (KING, 1986). Transportado no sangue como cálcio iônico e cálcio ligado à proteína vitelogenina chegam ao útero, e a forma iônica é depositada no ovo. Como as duas formas estão em equilíbrio dinâmico, o cálcio ligado a vitelogenina ioniza-se em cálcio livre (BAIÃO; LÚCIO, 2005). Como 80% desse processo ocorre durante a noite é necessário que tenha calcário na moela, para que Ca^{2+} seja disponibilizado lentamente para o intestino durante a formação da casca. Caso contrário, a ave mobiliza o Ca^{2+} medular, e nesse caso, carrega consigo o fósforo, sob a forma de fosfato tricálcico. Esse P não é utilizado na casca, sendo eliminado pela urina como fosfato (BETERCHINI, 2004).

O fósforo representa uma pequena fração da casca, cerca de 22 mg, é depositado no período final da formação da casca concentrando-se nas camadas externas

(MATEOS; BEORLEGUI, 1991). O nível de fósforo no plasma sanguíneo não tem mecanismos de regulação e varia com o nível de P oferecido na dieta, tanto o excesso quanto a deficiência podem prejudicar a qualidade da casca (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

Poedeiras submetidas a estresse por calor tem a formação da casca do ovo afetada pelo equilíbrio ácido básico do sangue, devido à restrição da oferta de íons CO_3^- para o fluido intrauterino, em decorrência da diminuição dos níveis de CO_2 devido à ofegação (MONGIN, 1968). Segundo Nobakht et al. (2006), para poedeiras submetidas à estresse por calor, o balanço eletrolítico de 360 mEq/kg pode melhorar a qualidade da casca dos ovos, avaliada pela gravidade específica, espessura e peso da casca.

Durante a formação da casca, as aves apresentam acidose metabólica em decorrência da elevada produção de bicarbonato. Essa acidose é parcialmente compensada por uma alcalose respiratória. Altos níveis de Cl são prejudiciais à qualidade da casca porque induzem uma acidose, reduzindo o bicarbonato plasmático (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

Os minerais traços influenciam a qualidade da casca do ovo. O manganês faz parte da molécula de mucopolissacarídeos, um dos componentes da matrix orgânica da casca. Assim, a deficiência desse mineral compromete a formação da camada mamilar e forma casca com maior incidência de áreas translúcidas. O zinco, sendo componente da anidrase carbônica, é fundamental no processo de formação da casca (BAIÃO; LÚCIO, 2005).

2.3 Composição mineral dos ingredientes da ração

A composição mineral dos ingredientes de ração comumente utilizados estão descritos na tabela 1 (ROSTAGNO et al., 2017; NRC, 1994). Fonte de proteína da ração, o farelo de soja, apresenta maiores quantidades de macro e microminerais quando comparado ao milho. A farinha de carne e ossos quando utilizada, além de suplementar P e Ca, contribui com altos níveis de Zn e Fe –heme de alta biodisponibilidade (BESS et al., 2012). O farelo de trigo apresenta bons níveis de minerais como Mn, Fe e Zn, no entanto, de acordo com Cozzolino (1997), não disponíveis para absorção.

As concentrações de minerais nos grãos da dieta são influenciadas pelos minerais presentes no solo e pela quantidade de minerais transferidos para as plantas. A concentração dos minerais contidos nos alimentos que compõe as rações é variável, e pode atender alguns níveis requeridos, fornecer níveis marginais ou deficientes. Assim,

Tabela 1: Composição mineral dos principais ingredientes das rações para aves, segundo Rostagno et al. (2017) e NRC (1994).

Ingredientes	-% MM	Macrominerais										Microminerais						
		-%										mg/Kg						
		Ca	Pt	Pf	Pdisp	Pdig	Na	Cl	K	Mg	S	Mn	Fe	Cu	Zn	Se	I	F
Calcário Calcítico ¹		37,7								0,23								
Calcário Dolomítico ¹		18,6								10								
Calcário moido ²		38,0					0,05	0,03	0,1	2,1			2000					<0,025
Carbonato de Cálcio ¹		40,0																
Carbonato de Cálcio ²		38,0	0,00				0,04		0,2	0,3	2,4	30		16	100			
Cloreto de Sódio ¹							39,7	59,6										
Cloreto de sódio ²		0,03					39,0	60,0		0,005	0,2		50					
Cloreto de Potássio ²		0,05					1,0	47,3	50,5	0,34	0,45	7	600	7	9			
Far. Carne e ossos (38%PB) ¹	40,6	14,1	7,54		6,79		0,41	0,50	0,70	0,22		11,7	816	36,6	66,9	0,42		
Far. Carne e Ossos (43%PB) ¹	36,1	11,3	6,2		5,58		0,58	0,62	0,55	0,23		1,50	324	48	69,3	0,36		
Far. Carne e Ossos (48%PB) ¹	33,6	11,3	5,79		5,21		0,66	0,60	0,57	0,28		12,9	450	14	80,6	0,30		
Far. Carne e Ossos (52%PB) ¹	29,9	9,54	4,78		4,78		0,66	0,61	0,53	0,42	0,89	20	248	8,5	80,8	0,37		
Far. Carne e Ossos (60%PB) ¹	24,5	8,55	4,59		4,13		0,64	0,58	0,46									
Far, Carne e Ossos ²		10,3	5,1				0,7	0,7	1,3	1,1	0,5	14	490	2	93			
Far. Osso Autoclavada ¹		25	11,4		11,4	6,84												
Far. Osso Autoclavada ²		29,8	12,5				0,04	0,00	0,20	0,30	2,40	30		16	100			
Far. Osso Calcinada ¹		33,8	16,2		14,9	9,72												
Fosfato Bicalcico ¹	24,5	18,5	18,5		18,5	12,9				0,91		284,2	4023	11,7	40,3			0,14
Fosfato Monobicalcico ¹	20,3	18,6	18,6		19,6	13,8				0,81		36,3	1432	7,8	4,6			0,19
Fosfato Monosódico ¹			24		25,9	17,8	20											
Fosfato Cálcio Mono-dibásico		16	21				0,06		0,07	0,6	1,2	300	9000	15	200			0,15
Milho, Grão 6,92% PB ¹	0,94	0,02	0,29	0,21	0,08		0,01	0,09	0,32	0,10	0,08	5,30	23,5	2,1	21,5	0,07		
Milho, Grão 7,86% PB ¹	1,11	0,02	0,24	0,18	0,06		0,01	0,09	0,32	0,11	0,08	5,30	23,5	2,10	21,5	0,07		
Milho, Grão 8,80% PB ¹	1,35	0,02	0,19	0,15	0,19		0,01	0,09	0,32	0,11	0,08	5,30	23,5	2,10	21,5	0,07		
Óxido de Magnésio ¹										52,8								
Óxido de Magnésio ²		3	0,03				0,015	0,02	0,02	55,0	0,04		6000	10	10			0,02
Soja, Farelo 44%PB ¹	5,19	0,24	0,59	0,37	0,22		0,02	0,05	1,83	-	-	31,9	150	16,3	46,2	0,44	31,9	
Soja, Farelo 45% PB ¹	1,83	0,34	0,55	0,36	0,19		0,02	0,05	1,83	0,32	0,31	31,9	150	16,3	46,2	0,44		
Soja Farelo, 46% PB ¹	6,13	0,35	0,59	0,38	0,21		0,02	0,05	1,83	-	-	31,9	150	16,3	46,2	0,44	31,9	
Soja Farelo, 48% PB ¹	6,02	0,35	0,59	0,36	0,23		0,02	0,05	2,11	0,23	-	31,7	168	-	44,8	0,34		
Sorgo, Grão baixo tanino ¹	1,38	0,03	0,23	0,16	0,07		0,02	0,06	0,36	0,14	-	10,9	59,7	5,6	49,8	0,35		
Trigo, Farelo ¹	4,43	0,14	0,94	0,45	0,49		0,02	0,07	1,10	0,43	0,20	102,7	205,3	15	134,5	0,31		
Super Fosfato Simples ¹	17,9	20,4	20,4		20,4	18,9				0,46		36,1	7010	13,9	142,4			0,74

¹Rostagno *et al.* (2017) ²NRC (1994)

MM- matéria mineral; Ca- cálcio; Pt-fósforo toral; Pf- fósforo fitico; Pdisp.- fósforo disponível; Pdig.- fósforo digestível; Na- sódio;Cl-cloro;K-potássio;Mg-magnésio;S-enxofre;Mn-manganês;Fe-ferro;Cu-cobre;Zn-zinco;Se-selênio;I-iodo; F- flúo

é indispensável a suplementação de minerais nas dietas avícolas para garantir a ingestão de níveis adequados às exigências nos diferentes estágios das aves (NRC,1994). De acordo com Mertz (1986) devido interações que ocorrem entre vários minerais como Cu-Mb (molibdênio), Se-Hg (mercúrio), Ca-Zn, Ca-Mn, excesso na concentração de um elemento podem resultar em deficiência na quantidade disponível de outro elemento. Essas interações podem ocorrer tanto no solo quando no lúmen intestinal, interferindo na absorção da planta ou do animal.

Os sais utilizados na suplementação de macrominerais não são puros e apresentam quantidades variáveis de outros minerais com valor nutricional ou não. Rostagno et al. (2017) ao estudar a composição mineral dos fostatos brasileiros, encontraram níveis significativos de Mn, Fe, Cu e Zn. Segundo Allaway (1986), os nutricionistas devem considerar as possíveis interações cátion-ânionicas que as diversas fontes minerais podem apresentar ao serem utilizadas na alimentação das aves.

Nas fontes de macrominerais adicionadas às rações das aves, como evidenciado na tab. 1, encontra-se microminerais, tais como Fe no fosfato de cálcio monodibásico (9000 mg/Kg), no óxido de magnésio (6000 mg/Kg) e no calcário moído (2000 mg/Kg); para o Mn, o carbonato de cálcio e o fosfato de cálcio mono-dibásico, apresentam 300mg/Kg; e para o Zn na farinha de osso (100 mg/Kg) e no fosfato de cálcio mono-dibásico (200 mg/Kg); e ainda, o maior teor de Cu foi observado no carbonato de cálcio 24mg/Kg. Nos fosfatos brasileiros, o fosfato bicálcico amplamente utilizado nas rações de postura, apresentou 284 mg/Kg de Mn, 4023mg/Kg de Fe, 11,7mg/Kg de Cu e 40,3 mg/Kg de Zn.

2.4 Suplementação Mineral

A formulação de dietas balanceadas, fundamental para a produção econômica de aves, depende do conhecimento das necessidades nutricionais das aves e dos atributos nutricionais de cada ingrediente, que são orientados por estudos como as “Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos” de Rostagno et al. (2017) ou o “National Research Council” NRC (1994).

Segundo Rostagno et al. (2017) os níveis de suplementação de microminerais para as aves passaram por poucas alterações nas últimas décadas e, considerando a constante melhoria genética, o consumo destes nutrientes foi reduzido com o tempo, “diluídos”, considerando a evolução da produtividade. Assim, os níveis de suplementação das fontes orgânicas e inorgânicas, estão descritas na Tabela 2.

Os níveis recomendados pelo NRC (1994) sugerem que há um reconhecimento dos microminerais presentes nos alimentos da dieta, os grãos e os sais. A recente atualização das recomendações de minerais de Rostagno et al. (2017), trouxeram ajustes na relação Ca:P de 10,75:1 para 12:1, chegando a 13:1 considerando P digestível. Considerou-se também a produtividade das poedeiras, onde as aves de desempenho médio e superior recebem maiores aportes minerais. Para microminerais, inovou ao indicar níveis de suplementação para minerais orgânicos, que variam entre 40 e 45% da suplementação de minerais inorgânicos.

Tabela 2: Recomendações de suplementação mineral para poedeiras em produção.

	NRC (1994)	Rostagno et al., (2017)	
		<i>Macrominerais (g/ave/dia)</i>	
		Regular-médio	Médio-superior
Ca	3,25	4,2	4,4
Pdisp.		0,35	0,368
Pdig	0,25	0,32	0,332
Na	0,15	0,20	0,19
Cl	0,13	0,18	0,20
K	0,15	0,50	0,52
Mg	0,05	-	-
		<i>Microminerais (mg/Kg de ração)</i>	
		Inorgânico	Orgânico
Mn	20	64,20	28,49
Fe	45	45,85	19,88
Cu	-	9,14	3,98
Zn	35	59,63	26,50
Se	0,06	0,275	0,120
I	0,035	0,928	-

Ca – cálcio; Pdisp. – fósforo disponível; Pdig- fósforo digestível; Na – sódio; Cl- cloro; K- potássio; Mg-magnésio; Mn- manganês; Fe- ferro; Cu- cobre; Zn- zinco; Se- selênio; I-iodo.

A suplementação de minerais na ração, primeiramente utilizada a fim de prevenir deficiências, tornou-se requisito para otimizar o crescimento ou a resposta da produção de ovos por unidade de ingestão de nutrientes (APPLEGATE; ANGEL., 2014). As fontes de suplementação mineral podem ser orgânicas ou inorgânicas. Como fonte inorgânica tem-se os sais sulfatos e óxidos, comumente utilizados, além dos carbonatos, óxidos, dióxidos e cloretos. Como fontes orgânicas tem-se principalmente minerais quelatados ou complexados a um aminoácido, como metionina ou lisina. De acordo com a definição da Association of American Feed Control Officials (2001), os minerais aminoácidos quelatados são formados a partir da reação de um íon metálico, proveniente de um sal solúvel, com aminoácidos em uma proporção molar de 1 mol de metal para 1, 2 ou 3 (de preferência 2) mol de aminoácidos para formar ligações covalentes coordenadas.

As formas quimicamente orgânicas de minerais são conhecidas pela melhor absorção, ou seja, melhor biodisponibilidade, além de utilização e armazenamento nos tecidos (BAO et

al., 2007). Trabalhos comparando os minerais orgânicos e inorgânicos monitoram o desempenho das aves e a excreção destes minerais, buscando assegurar os resultados minimizando os níveis de suplementação (PIERCE et al., 2009) ainda mais, como vimos anteriormente, que os alimentos participantes das rações apresentam traços de muitos microminerais.

O suprimento das exigências nutricionais depende de vários fatores, sendo a absorção intestinal a questão principal, o pH, a viscosidade e as condições físico químicas, podem comprometer a absorção da maioria dos minerais. Assim, em decorrência de uma possível baixa taxa de aproveitamento mineral, ocorre uma sobre oferta de minerais suplementados à dieta, com consequente excesso na excreção (REGINA; BERTECHINI, 2010). A larga margem de segurança tem resultado em alto nível de excreção e prejuízos ao meio ambiente.

A suplementação com minerais orgânicos metionina quelatados, segundo Ao e Pierce (2013), possibilitam maior taxa de retenção e apresentam maior biodisponibilidade relativa, diminui o antagonismo entre minerais, por exemplo, Zn-Cu, e a interferência desses minerais na eficácia da fitase, visto que, altos níveis de Cu ou Zn inorgânico a afetam negativamente. Portanto, a substituição de minerais inorgânicos por níveis mais baixos das formas orgânicas sustentam o desempenho das aves e minimizam o impacto de minerais excretados no meio ambiente. De acordo com Yenice et al. (2015), os minerais orgânicos aumentam a biodisponibilidade dos microminerais e também do Ca em comparação com as fontes inorgânicas. Além disso, as menores inclusões resultam em menor excreção de minerais, especialmente quando utilizado na forma orgânica.

2.5 Biodisponibilidade dos minerais

Partindo do princípio que a presença do nutriente na dieta não garante a sua utilização pelo organismo, o termo biodisponibilidade passou a ser utilizado para indicar a proporção do nutriente que é utilizada pelo organismo (SOUTHGATE et al., 1989). No entanto, em 1997 no Congresso de Biodisponibilidade realizado na Holanda, foi proposta uma redefinição, sendo: “Biodisponibilidade” é a fração de qualquer nutriente ingerido que tem o potencial de suprir demandas fisiológicas em tecidos alvos. No entanto, usualmente a definição de Southgate et al. (1989) ainda prevalece. A biodisponibilidade relativa (Tabela 3) informa a biodisponibilidade do mineral em relação a uma fonte padrão e não a proporção de nutrientes efetivamente utilizada pelo animal.

Tabela 3: Fontes inorgânicas e orgânicas de suplementação de microminerais na dieta de aves, segundo Rostagno et al. (2017).

<i>Micromineral</i>	<i>Fonte Inorgânica</i>	<i>% Elemento</i>	<i>% Biod. Rel</i>	<i>Fonte Orgânica</i>	<i>% Elemento</i>	<i>% Biod. Rel</i>
Cu	Sulfato de cobre pentahidratado	25,2	100*	Cobre lisina FG	7,55	99
	Carbonato de cobre	54,6	77	Complexo cobre lisina	10,4	117
	Cloreto de cobre	64,2	120	Complexo cobre metionina	20,9	92
	Cloreto de Cu tribásico	54,7	100	Propionato de cobre	29	-
	Óxido de cobre	88,8	95	Proteinado de cobre	9,98	101
	Sulfato de Cu monohidratado	34,5	-	Quelato cobre aminoácido	8,89	109
				Quelato cobre MHA	15	-
Fe	Sulfato ferroso monohidratado	30	100*	Citrato de ferro	19	71
	Carbonato de ferro	43	3	Complexo ferro aminoácido	11,1	
	Cloreto férrico hexahidratado	20,7	103	Complexo ferro lisina	11,1	
	Óxido férrico	69,9	10	Complexo ferro metionina	13,1	
	Óxido ferroso	77,8	-	Ferro Edta	13	
	Sulfato ferroso heptahidratado	20	-	Fumarato de ferro	32,5	96
				Glicinato de ferro	16,1	
Mn				Proteinado de ferro	13,4	106
	Sulfato de Mn monohidratado	30,3	100*	Complexo Mn aminoácido	8	120
	Carbonato de manganês	46,7	34	Complexo Mn metionina	8,27	107
	Dioxido de manganês	63,1	70	Manganês aminoácido	7,73	
	Óxido de manganês	56,9	82	Manganês metionina FG	15,7	120
	Óxido de manganês FG	58,5	69	Quelato manganês aminoácido	8,09	84
	Sulfato de Mn pentahidratado	22,7		Quelato Manganês MHA	13	
				Propionato de manganês	12	
				Proteinado de manganês	15	102

*fonte padrão

Continua

Tabela 3: Fontes inorgânicas e orgânicas de suplementação de microminerais na dieta de aves, segundo Rostagno et al. (2017) (*continuação*)

<i>Micromieral</i>	<i>Fonte Inorgânica</i>	<i>% Elemento</i>	<i>% Biod. Rel</i>	<i>Fonte Orgânica</i>	<i>% Elemento</i>	<i>% Biod. Rel</i>
I	Iodato de Ca	62,8		Etilenodiamina hidridoeto	79,5	
	Iodato de potássio	59,2				
	Iodeto de cobre	66,3				
	Iodeto de potássio	76,0				
Se	Selenito de sódio	45	100*	Selênio levedura	0.1/0.3	100
	Selenato de sódio	42	114	L selenometionina	40,3	119
	Selenato de Na decahidratado	21,4				
	Selenio metal	99,9	83			
	Selenio de cálcio	41,4	102			
Zn	Sulfato de Zn heptahidratado	22,2	100*	Complexo zinco aminoácido	12	122
	Carbonato de zinco	54	107	Complexo Zinco lisina	7,2	
	Carbonato básico de zinco	58,5	77	Complexo Zn metionina	21,9	169
	Cloreto de zinco	54,8		Quelato Zn aminoácido	9,42	80
	Cloreto de Zn tetrabásico	62,2	107	Quelato Zn MHA	16	
	Óxido de zinco	72,5	83	Propionato de zinco	27	117
	Óxido de zinco FG	73,4	58	Proteinato de zinco	14,8	112
	Poeira metálica de Zn	98,3	67	Zincopolissacarideo	19	94
	Sulfato de Zn monohidratado	35				
	Sulfato de Zn monohidratado FG	35,6	87			
	Sulfato de Zn heptahidratado FG	22				

*fonte padrão

De acordo com Halpin e Baker (1986), as exigências para minerais como Fe, Mn e Zn foram menores naquelas aves alimentadas com dietas semi purificadas, com pouco ou nenhum fitato e fibras, quando comparado aos animais alimentados com dietas tradicionais, provavelmente devido à baixa biodisponibilidade de alguns minerais contidos nos ingredientes dessas dietas. Por exemplo, a biodisponibilidade do manganês é muito baixa na maioria dos alimentos tradicionais e há evidências de que alguns componentes desses ingredientes reduzem a biodisponibilidade do manganês dietético inorgânico.

A biodisponibilidade do mineral pode ser determinada através de estudos que quantificam a porcentagem do mineral ingerido que tem o potencial de suprir as demandas fisiológicas do animal, como: estudos de balanço, depleção e repleção, e uso de isótopos radioativos como marcadores (COZZOLINO, 1997).

Os estudos de balanço são realizados pelo método de coleta total de excretas e verificam a quantidade de minerais consumido e excretado, considerando a diferença como biodisponibilidade, porém a fração endógena excretada não é considerada (COZZOLINO, 1997). Essa medição seria um análogo de digestibilidade aparente. Entretanto, a digestibilidade verdadeira considera as perdas endógenas do animal através de estudos com animais que não recebem os nutrientes alvos via ração (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016). Para elementos de baixa excreção como o ferro, a absorção é sinônimo de biodisponibilidade (HURRELL, 1997).

Os métodos de depleção / repleção são baseados na retirada do nutriente até aparecimento dos sintomas bioquímicos e clínicos da deficiência, seguidos de repleção do nutriente através do alimento ou compostos isolados. A eficiência da utilização do nutriente fornecido é obtida pela quantidade do nutriente ingerido que foi absorvido. A concentração do elemento nos tecidos e fluídos biológicos e/ou compostos dependentes do elemento (ex. enzimas, fatores de transcrição), são monitorado afim de verificar o reestabelecimento das funções (COZZOLINO, 1997).

Os isótopos radioativos possibilitam a determinação da dinâmica real dos minerais no organismo animal. O elemento químico da dieta, radioativamente marcado, é analisado nos diversos materiais biológicos e permite calcular as frações de absorção intestinal, transporte, transformações metabólicas, armazenamento e excreção (CHARLES, 1992).

2.5.1 Fatores que interferem na biodisponibilidade dos minerais

O termo SLAMANGHI, primeiramente utilizado em estudos com carotenos foi considerado também no estudo de minerais. A sigla é utilizada para lembrar os aspectos a serem considerados no estudo da biodisponibilidade, sendo: S - species, caracterização do nutriente; L - linkage, ligação molecular; A - among in diet, quantidade na dieta; M - matrix, onde o nutriente está adicionado; A - attenuators, atenuadores de absorção e bioconversão; N - nutriente status, estado nutricional do indivíduo; G - genetic factors, fatores genéticos; H - host factors, fatores relacionados ao indivíduo; I - interactions, interações. Cada aspecto será brevemente descrito de acordo com Cozzolino (1997).

A caracterização do elemento refere-se ao estado químico na dieta, livre ou combinado, necessitando ou não de digestão para absorção, e o estado de oxidação. A ligação molecular refere-se à estrutura atômica, ligações entre os átomos que pode ser covalentes, iônicas ou pontes de hidrogênio, a importância deve-se às diferentes solubilidades em água, meio ácido e básico.

Quanto à quantidade oferecida na dieta, admite-se que um organismo normal tenta manter sua homeostase, absorvendo mais quando as reservas estão diminuídas e menos quando estão em condições adequadas ou excesso. A matrix alimentar, ou dieta, pode conter compostos que impedem a absorção, como o fitato que pode se ligar ao Fe, Zn, Ca e Mg. Como atenuadores de absorção estão os fitatos, taninos e oxalatos; enquanto os ácidos orgânicos e aminoácidos são facilitadores da absorção e bioconversão. O estado nutricional do indivíduo, os fatores genéticos e os fatores relacionados ao indivíduo, como sexo e idade, podem interferir na biodisponibilidade e devem ser preestabelecidos em um ensaio.

As interações mineral-mineral podem ser *diretas*, quando competem pelo mesmo sítio de absorção, assim o excesso de um prejudica a absorção do outro Fe-Zn, Fe-Ca; Ca-Zn, Zn-Cu, Ca-Mg, quando a ligação se faz com metais pesados Zn-Cd (cadmio), Se-Hg (mercúrio) é benéfica porque reduz a toxicidade do metal pesado, muito embora indisponibiliza o mineral essencial, e ainda a interação *indireta* quando um mineral depende do outro para ser transformado em sua forma ativa, ou seja, a deficiência de um acarreta prejuízo ao outro, por exemplo Se-I.

3 REFERÊNCIAS

AAFCO (Association of American Feed Control Officials). 2001. Official Publication. Assoc. Am. Feed Control Off., Atlanta, GA

ABEDINE, M.; SHARIATMADARI, F.; KARIMI TORSHIZI, M.A.; AHMADI, H. Effects of zinc oxide nanoparticles on the egg quality, immune response, zinc retention, and blood parameters of laying hens in the late phase of production. **Journal Animal Physiology Animal Nutrition**. v.102, p.736–745, 2018. <https://doi.org/10.1111/jpn.12871>

ADEDOKUN, S. A.; ADEOLA, O. Calcium and phosphorus digestibility: Metabolic limits. **The Journal of Applied Poultry Research**. v. 22, p.600–608, 2013. <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00740>

ALLAWAY, W.H. Soil-plant-animal and human intrrelationships in trace element nutrition. In: MERTZ, W (ed). **Trace Elements in Human and Animal Nutrition** New York: Academic Press, 1986. p. 465–488. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-092469-4.50015-7>

ANWAR, M.N., RAVINDRAN, V., MOREL, P.C.H., RAVINDRAN, G., COWIESON, A.J. Effect of limestone particle size and calcium to non-phytate phosphorus ratio on true ileal calcium digestibility of limestone for broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 57, p. 707–713, 2016. <https://doi.org/10.1080/00071668.2016.1196341>

AO, T.; PIERCE, J.L.; PESCATORE, A.J.; CANTOR, A.H.; DAWSON, K.A.; FORD, M.J.; PAUL, M. Effects of feeding different levels and forms of Zn on the performance and tissue mineral status of broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 52, n. 4, p. 466–471, 2011. <https://doi.org/10.1080/00071668.2011.588198>

AO, T.; PIERCE, J.L. The replacement of inorganic mineral salts with mineral proteinates in poultry diets. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, 2013. <https://doi.org/10.1017/S0043933913000019>

AOYAGI, S.; BAKER, DH. Copper-Amino Acid Complexes Are Partially Protected against Inhibitory Effects of L-Cysteine and L-Ascorbic Acid on Copper Absorption in Chicks. **American Institute of Nutrition**. p.388-395. 1994. <https://doi.org/10.1093/jn/124.3.388>

APPLEGATE, T.J.; ANGEL, R. Nutrient requirements of poultry publication: History and need for an update. **Journal Animal Physiology Animal Nutrition**. v. 23, p.567–575, 2014. <https://doi.org/10.3382/japr.2014-00980>

AUMAN, S.K. **Increasing Dietary Phosphorus Retention and Decreasing Fecal Phosphate Excretion in Modern Commercial Broilers**. Dissertation submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University. 2003. Disponível em: <https://repository.lib.ncsu.edu/bitstream/handle/1840.16/4078/etd.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

BAFARO E.; LIU, Y.; XU, Y.; DEMPSKI, R.E. The emerging role of zinc transporters in cellular homeostasis and cancer. **Signal Transduction Target Therapy**, v. 2, 2017. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.29>

BAIÃO, N.C.; LÚCIO, C.G. Nutrição de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A.A.(ed.). **Manejo de matrizes**. Campinas: FACTA, 2005.cap.10, p197-216.

BAI, S.P.; LU, L.; LUO, X. G; LIU, B. Kinetics of Manganese Absorption in Ligated Small Intestinal Segments of Broilers. **Poultry Science**, v.87. p.2596–2604, 2008. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00117>

BAO, Y.M.; CHOCT,M.; IJI, P.A.; BRUERTON, K. Effect of Organically Complexed Copper, Iron, Manganese, and Zinc on Broiler Performance, Mineral Excretion, and Accumulation in Tissues. *Journal Applied Poultry Reserarch*. n.16, p.448–455, 2007. <https://doi.org/10.1093/japr/16.3.448>

BARMAN, S.; PRADEEP, S.R.; SRINIVASAN, K. Zinc supplementation mitigates its dyshomeostasis in experimental diabetic rats by regulating the expression of zinc transporters and metallothionein. **Metallomics**, v. 9, p.1765–1777-2017. <https://doi.org/10.1039/C7MT00210F>

BESS, F.; VIEIRA, S.L.; FAVERO, A.; CRUZ, R.A.; NASCIMENTO, P.C. Dietary iron effects on broiler breeder performance and egg iron contents. **Animal Feed Science and Technology**, v. 178, p. 67– 73, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.10.002>

BETERCHINI, A.G. Absorção e metabolismo de minerais em aves. In: CURSO DE FISIOLOGIA DA DIGESTÃO E METABOLISMO DOS NUTRIENTES EM AVES, 2004, Jaboticabal, **Anais...** Jaboticabal,2004.

BUZINARO, E.F.; ALMEIDA, R.N.A.; MAZETO, G.M.F.S. Biodisponibilidade do Cálcio Dietético. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia e Metabolismo**, v. 50, n. 5, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302006000500005>

CHARLES, P. Calcium absorption and calcium bioavailability. **Journal of Internal Medicine**, v.231, p. 161-168, 1992. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.1992.tb00519.x>

COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**. Campinas, v.10, n.2, p. 87-98, 1997. <https://doi.org/10.1590/S1415-52731997000200001>

ETCHES, R.J. Reproduction in poultry. Wallingford, UK: CAB International, 1996.

FIREMAN, A.K.A.T.; FIREMAN, F.A.T. Fitase na alimentação de poedeiras. **Cienc. Rural**. v.28 (3), p.529-534.1998. <https://doi.org/10.1590/S0103-84781998000300029>

GROTTO, H.Z.W. Fisiologia e metabolismo do ferro. *Revista Brasileira Hematologia e Hemotapia*., v. **32**, n. 2, p. 8-17, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000050>

HALPIN, K. M.; D. H. BAKER. Manganese utilization in the chick: Effects of corn, soybean meal, fish meal, wheat bran and rice bran on tissue uptake of manganese. **Poultry Science** v.65, p. 995-1003, 1986. <https://doi.org/10.3382/ps.0650995>

HARA, T.; TAKEDA, T.; TAKAGISHI1, T.;FUKUE, K.; KAMBE, T.; FUKADA1, T. Physiological roles of zinc transporters: molecular and genetic importance in zinc

homeostasis. **Journal of Physiology Science**, v. 67, p.283–301, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12576-017-0521-4>

HENRY, P.R.; AMMERMAN C.B.. Selenium bioavailability. In: Ammerman, C. B.; Baker D. H.; Lewis, A. J. (Eds.) **Bioavailability of nutrients for animal.: amino acids, minerals, and vitamins**. San Diego: Academic Press, 1995. p. 303-336. <https://doi.org/10.1016/B978-012056250-3/50041-X>

HURRELL, R.F. Bioavailability of iron. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, n. 1, p.S4-S8, 1997.

HURRELL, R.; EGLI, I. Iron bioavailability and dietary reference values. **American Journal Clin Nutrition**, v.91, p.1461S–1467S, 2010. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.28674F>

JARDIM FILHO, R. M.; STRINGHINI, J.H.; CAFÉ, M.B.; LEANDRO, N.S.M.; CUNHA, W.C.P.; NASCIMENTO, J.O. Influência das fontes e granulometria do calcário calcítico sobre o desempenho e qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 27, p. 35-40, 2005. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v27i1.1239>

JIANHUA, H.; OHTSUKA, A.; HAYASHI, K. Selenium influences growth via thyroid hormone status in broiler chickens. **British Journal of Nutrition, British Journal Nutrition**, v.84, n.5, p.727-32, 2000. <https://doi.org/10.1017/S0007114500002087>

KIM, S.W.; LI, W.; ANGEL, R.; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M. Effects of limestone particle size and dietary Ca concentration on apparent P and Ca digestibility in the presence or absence of phytase. **Poultry Science**, n. 97, p. 4306–4314, 2018. <https://doi.org/10.3382/ps/pey304>

KING, A.S. Aparelho urogenital das aves. In: Getty, R. Sisson/Grossman: **Anatomia dos animais domésticos**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986, v.2, p. 1813-1835

KORDAS, K.; STOLTZFUS, R.J. New evidence of iron and zinc interplay at the enterocyte and neural tissue. **Journal of Nutrition**, v 134, p. 1295-1298, 2004. <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1295>

LI, L.; LI, H.; ZHOU, W.; FENG, J.; ZOU, X. Effects of zinc methionine supplementation on laying performance, zinc status, intestinal morphology, and expressions of zinc transporters' mRNA in laying hens. **Journal Science Food Agriculture**, v. 99, p. 6582–6588, 2019. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9941>

LOMBARD, M.; CHUA, E.; O'TOOLE, P. Regulation of intestinal non-haem iron absorption. **Gut**, v.40. p.435-439, 1997. <https://doi.org/10.1136/gut.40.4.435>

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. FUNEP/UNESP, 2ed, p.167-173, 2002.

MATEOS, G.G.; BEORLEGUI, C.B. Factores que influyen en la calidad del huevo. In: **Nutrición y alimentación de las gallinas ponedoras**, 9ª ed. Madrid: Mundi-Prensa, p.227-248. 1991.

MERTZ, W. **Trace Elements in Human and Animal Nutrition**. Orlando, Fla.: Academic. 1986.

MONGIN, P. Role of acid-base balance in the physiology of egg shell formation. **Worlds poultry Science Journal**, v. 24, p.200-230, 1968. <https://doi.org/10.1079/WPS19680021>

MUSTAICICH, D.; POWIS, G. Thioredoxin reductase. **The biochemical journal**, v. p.1-8, 2000. <https://doi.org/10.1042/bj3460001>

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) – **Nutrients requirements of poultry**. 9th Rev. Edition. The National Academies Press, DC., 1994, 176p. <https://doi.org/10.17226/2114>.

NEWMAN, K. Phytase: The enzyme, its origin e characteristics: impact e potential for increasing phosphorus availability. In: T. P. LYONS, T.P **Biotechnology in the feed industry**. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky, p. 169-177, 1991

NOBAKHT, A.; SHIVAZAD, M; CHAMANY, M; SAFAMEHER, A.R. The Effects of Dietary Electrolyte Balance on Performance of Laying Hens Exposed to Heat - Stress Environment in Late Laying Period. **International Journal of Poultry Science**, v.5, n. 10, p.955-958, 2006. <https://doi.org/10.3923/ijps.2006.955.958>

OMS. Trace elements in human nutrition and health. **World Health Organization**. WHO Library Cataloguing in Publication Data. 1996, p.331.

PIERCE, J.L.; AO, T.; CHARLTON, P.; TUCKER, L.A. Organic minerals for broiler and laying hens: reviewing the status of research so far. **World's Poultry Science Journal**. v.65, p. 493-498, 2009. <https://doi.org/10.1017/S004393390900035X>

REGINA, R.; BETERCHINI, A.G. Minerais. In: REGINA, R. **Nutrição animal, principais ingredientes e manejo** São Paulo: Fundação Cargill, p.173-205. 2010

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; ABREU, M.L.T.; BORGES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4.ed. Viçosa, MG: Departamento Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488p.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos**. 2ªEd. 262p. 2016.

SAUVEUR, B.; MONGIN, P., Interrelationship between dietary concentrations of sodium,

potassium and chloride in laying hens. **British. Poultry. Science.**, v. 19, p. 475-485, 1978.
<https://doi.org/10.1017/S004393390900035X>

SOUZA, G.A.; LÓPEZ, J. Farelo de arroz integral com fonte de fósforo em rações para frangos de corte. 1. desempenho e produtividade animal. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 23, n.1, p.73- 84, 1994.

SOUTHGATE, D.A.T. JOHNSON, I., FENWICK, G. R. *Nutrient availability: chemical and biological aspects*. AFRC **Institute of Food Research** Norwich ed, v. 72, 404p. 1989.

SPENCER, R.D.; BLAU, M. Intestinal transport of selenium 75 selenomethionina. **Science**, 163: 155-156, 1962. <https://doi.org/10.1126/science.136.3511.155>

SURAI, P.F. Selenium in poultry nutrition 2. Reproduction, egg and meat quality and practical applications. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, p. 431–450, 2002.
<https://doi.org/10.1079/WPS20020032>

SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. **Veterinarian Medicine**, v. 53, n.10, p. 555–563. 2008. <https://doi.org/10.17221/1966-VETMED>

WANG, Y.B.; XU, B.H. Effect of diferent selenium source (sodium selenite and seleniu test) on broiler chicken. *Animal feed Science and Technology*, v.144, p. 306–314, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.10.012>

YENICE. E.; MIZRAK, C.; GÜLTEKIN, M.; ATIK, Z.; TUNCA, M. Effects of organic and inorganic forms of manganese, zinc, copper, and chromium on bioavailability of these minerals and calcium in late-phase laying hens. **Biological Trace Element Research**.v.167, p.300-307. 2015. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0313-8>

CAPÍTULO II

(Redigido de acordo com as normas do periódico Revista Brasileira de Ciência Avícola)

COBRE, FERRO, MANGANÊS E ZINCO ORGÂNICO: DIGESTIBILIDADE, PARÂMETROS ZOOTÉCNICOS E QUALIDADE DOS OVOS DE POEDEIRAS

Flávia de Sousa Gomes Crosara* – Doutoranda Faculdade de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia

Sâmela Keila Almeida dos Santos – Doutoranda Faculdade de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia

Leandro Santana Soares Silva – Graduando da Faculdade de Medicina Veterinária pela da
Universidade Federal de Uberlândia

Geovanna Langoni Carvalho – Graduanda da Faculdade de Medicina Veterinária pela da
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dra. Fernanda Heloisa Litz – Universidade Presidente Antônio Carlos de Uberlândia

Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia

*Endereço para correspondência: Av. Segismundo Pereira, 799, Santa Mônica. Uberlândia-MG.

Brasil. Email: flaviasgvet@gmail.com

Resumo: Objetivou-se avaliar os efeitos da substituição dos minerais Fe, Cu, Mn e Zn inorgânicos (sulfatos) por orgânicos (metionina quelatados) na dieta de poedeiras Dekalb White com 67 semanas, comparando digestibilidade, parâmetros zootécnicos e qualidade dos ovos. Utilizou-se 240 aves, sendo 48 aves por tratamento e 12 por repetição. Às dietas isoenergéticas e isonutrientes foi incluído, por Kg de ração, 8mg de Cu, 50mg de Fe, 70mg de Mn e 50mg de Zn de premix inorgânico (MI100), orgânico (MO100) e inclusões de 65% (MO65), 45% (MO45) e 35% (MO35). Avaliou-se: índice de produção, ovo por ave alojada (OAA), viabilidade, peso e massa dos ovos, ovos trincados e perdidos, digestibilidade do alimento e dos nutrientes e características físico químicas da casca, gema e albúmen. Observou-se menor índice de produção para aves submetidas aos tratamentos MO35 e MO45, maior peso de ovo quando os minerais orgânicos foram utilizados, independente da inclusão, massas de ovos similares para os tratamentos MI100, MO35 e MO45 e maiores para MO65 e MO100, não sendo observada influência da fonte ou inclusão dos minerais sobre a digestibilidade e qualidade dos ovos. Conclui-se ao considerar os índices zootécnicos de importância econômica, OAA, viabilidade, peso e massa do ovo, que a suplementação de 2,8mg/Kg de Cu, 17,5 mg/Kg de Fe, 24,5 mg/Kg de Mn e 17,5 mg/Kg de Zn de minerais orgânicos (MO35) atende a demanda desses minerais para o desempenho satisfatório de poedeiras brancas no último terço do ciclo de postura.

45

Palavras-chave: Composição do ovo. Desempenho zootécnico. Minerais orgânicos. Minerais inorgânicos.

48

49 Introdução

50 Os minerais vestigiais como Zn, Cu, Fe e Mn são essenciais para às funções
51 metabólicas que sustentam a vida (Ao & Pierce, 2013). Na deficiência mineral, a atividade
52 funcional do organismo reduz à medida que requer a presença do mineral (Mertz,1986). O Fe

53 está envolvido em inúmeros processos metabólicos, mas tem uma função vital o transporte de
54 oxigênio (Leeson & Summers, 2001). O zinco é cofator de mais de 200 enzimas (Ao & Pierce,
55 2013) entre elas a anidrase carbônica, crucial para suprir os íons carbonato à casca de ovo
56 (Nys *et al.*, 1999), sendo também componente estrutural do DNA, “zinc fingers” (Hossain *et al.*,
57 2015). O manganês é cofator de enzimas envolvidas na síntese de mucopolissacarídeos e
58 carbonatos, essenciais para a formação e qualidade da casca de ovo (Swiątkiewicz &
59 Koreleski, 2008). O cobre participa na atividade de múltiplas enzimas, glóbulos vermelhos,
60 formação óssea e elastina, mielinização das células cerebrais e da medula espinhal e resposta
61 imunológica (Ao & Pierce. 2013).

62 As rações apresentam variáveis níveis de Cu, Fe, Mn e Zn oriundos dos ingredientes
63 (Rostagno *et al.*, 2017; NRC, 1994). Nos grãos as concentrações desses elementos dependem
64 da presença desses minerais no solo e da transferência para a planta (NRC, 1994), nos
65 calcários e fosfatos as proporções dos microminerais são maiores e variáveis com a fonte de
66 origem (Rostagno *et al.*, 2017; Teixeira *et al.*, 2005; NRC, 1994). Como a concentração dos
67 minerais na dieta é variável, pode atender os níveis, fornecer níveis marginais ou deficientes,
68 a suplementação mineral à ração torna-se indispensável. Inicialmente utilizada para prevenir
69 deficiências, a suplementação mineral tornou-se requisito para otimizar o crescimento ou a
70 produção de ovos por unidade de ingestão de nutrientes (Applegate & Angel, 2014).

71 As fontes de suplementação dos microminerais às dietas são divididas em orgânica e
72 inorgânica. A forma química dos minerais orgânicos, quelatados à aminoácidos, concede maior
73 estabilidade ao mineral no trato gastrointestinal resultando em maior solubilidade, quando
74 comparado aos minerais inorgânicos (Vieira, 2008). Assim, as fontes orgânicas apresentam
75 maior biodisponibilidade e menores níveis podem ser suplementados à dieta, com consequente
76 redução dos níveis excretados (Yenice *et al.*, 2015) sustentando o desempenho das aves (Ao &
77 Pierce, 2013). As recomendações de Rostagno *et al.* (2017) equivalem a cerca de 43% dos
78 níveis de suplementação para minerais inorgânicos.

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de poedeiras Dekalb White às 67 semanas de idade suplementadas com níveis decrescentes de um premix mineral orgânico, metionina quelatado, contendo cobre, ferro, manganês e zinco.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida na Granja Experimental da Fazenda do Glória da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) entre Maio e Agosto de 2018, de acordo com as normas éticas e aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais 082/18 CEUA/UFU.

Poedeiras Dekalb White com 67 semanas de idade foram distribuídas de forma aleatória em gaiolas, sendo 12 aves por gaiola, com área de 416 cm² ave⁻¹, bebedouro tipo *nipple* e comedouro linear. As aves receberam 15 horas de luz ao dia, consumiram 108 gramas de ração e água *ad libitum*. O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo 48 aves por tratamento, totalizando 240 poedeiras.

Os minerais estudados foram: Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn). Foram utilizados dois premix, com a mesma concentração dos elementos testados. No premix inorgânico (MI) utilizou-se minerais na forma de sais, sulfato de cobre, sulfato de ferro, sulfato de manganês e sulfato de zinco. No premix orgânico (MO), os íons metálicos foram quelatados à metionina, com percentual de quelação de 94,4% (Cu), 90,1% (Fe) 91,5% (Mn) e 91,9% (Zn).

Os cinco tratamentos foram constituídos pelo premix utilizado, mineral inorgânico e orgânico, e os níveis de inclusão. À dieta basal foi incluído premix mineral inorgânico (MI100) e orgânico (MO100) com as mesmas concentrações de minerais comercialmente utilizadas e inclusões decrescentes de premix mineral orgânico MO65 (65% de MO100), MO45 (45% de MO100) e MO35 (35% de MO100). As dietas testadas foram isoenergética, isonutriente, sem fitase e formuladas e produzidas à base de milho e farelo de soja (Tabela 1).

106 Tab. 1: Ingredientes e nutrientes calculados das dietas experimentais.

	Tratamentos				
	MI100	MO100	MO65	MO45	MO35
<i>Ingredientes (%)</i>					
Milho	58.46	58.46	58.46	58.46	58.46
Farelo de soja	25.24	25.24	25.24	25.24	25.24
Farelo de trigo	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Calcário pedrisco	5.51	5.51	5.51	5.51	5.51
Calcário fino	3.71	3.71	3.71	3.71	3.71
Fosfato Bicálcico	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76
Óleo de soja	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
Cloreto de Sódio	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
DL Metionina	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28
Bicarbonato de sódio	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
Premix vitamínico	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Material inerte	0.15	-	0.11	0.17	0.19
Premix mineral inorgânico	0.15	-	-	-	-
Premix mineral orgânico ¹	-	0.30	0.19	0.13	0.11
Total	100	100	100	100	100
<i>Nutrientes calculados</i>					
Energia metabolizável	2740	2740	2740	2740	2740
Proteína bruta (%)	16.28	16.28	16.28	16.28	16.28
Lisina dig. (%)	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76
Metionina dig. (%)	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52
Me + Cis dig. (%)	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Treonina dig. (%)	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
Triptofano dig. (%)	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Arginina dig. (%)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Cálcio (%)	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90
Fósforo disp.(%)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43
Sódio (%)	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
Cloro (%)	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
Cobre (mg/Kg)	8	8	5.2	3.6	2.8
Ferro (mg/Kg)	50	50	32.5	22.5	17.5
Manganês (mg/Kg)	70	70	45.5	31.5	24.5
Zinco (mg/Kg)	50	50	32.5	22.5	17.5

107 ¹Composição vitamínica e aditivos por Kg de ração: Ác. Fólico (min) 0,125mcg; Ác. Pantotênico (min)1.61mg;
 108 Biotina (min) 0,00375 mg; Colina (min) 0,0522g; Niacina (min) 5mh; Vit A (min) 2000UI; Vit B1 (min) 0,05mg; Vit.
 109 B12 (min) 2,5mcg; Vit. B2 (min) 0,750 mg; Vit. B6 (min) 4,25mg; Vit D3 (min) 575 UI; Vit E (min) 3,75 UI; Vit
 110 K3(min) 0,25mg; Se (min) 0,0625 mg; Iodo 1,2 mg; Halquinol 7,5mg.

111 A duração do experimento foi de 98 dias, sendo 70 dias de consolidação nutricional das
 112 aves à dieta e ao manejo experimental, correspondendo ao período de adaptação. O
 113 percentual de produção, ovo por ave alojada (OAA), peso e massa dos ovos, viabilidade das
 114 aves e percentual de ovos trincados e perdidos foram computados entre 77 e 80 semanas de
 115 idade das aves. A coleta de material para análise físico-química dos ovos e digestibilidade foi
 116 realizada ao final desse período.

117 A digestibilidade dos nutrientes foi tomada pelo método de coleta completa de excretas
 118 por cinco dias seguidos à semelhança da metodologia de Sibbald & Slinger (1961) para cálculo
 119 de energia metabolizável. No momento da coleta das excretas foram retiradas penas e outros

corpos estranhos, as excretas foram colocadas em sacos plásticos identificados, pesadas e congeladas. Após descongeladas em temperatura ambiente, foram homogeneizadas, secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e moídas.

Determinou-se nas excretas a matéria seca a 105°C, extrato etéreo, proteína bruta, matéria mineral seguindo a metodologia do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (Brasil, 2009) e energia bruta por meio de bomba calorimétrica IKA-WERKE C2000 basic. Amostras de 0,5g de matéria seca foram digeridas em 5mL de solução nitroperclórica e aquecidas à 210°C, até redução ao máximo de 1mL, quando foram diluídas em água destilada morna, agitadas, filtradas e em um balão volumétrico completou-se 50 mL. As análises de cálcio foram realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica e fósforo por colorimetria. As mesmas análises foram realizadas nas rações para posterior cálculo das digestibilidades: Considerou-se ração consumida e excreta livres de água, ou seja, matéria seca pós estufa de 105°C.

$$Digestibilidade\ aparente = \frac{\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}}{\text{nutriente ingerido}} \times 100$$

Para análise da qualidade dos ovos, quatorze ovos de cada tratamento, sendo cada unidade considerada uma repetição, foram analisados no equipamento Digital Egg Tester DET-6000 quanto à espessura (µm) e resistência (Kgf) da casca, *Unidade Haugh* (UH), coloração da gema e *ranking* norte americano de qualidade que classifica os ovos em AA, A e B, sendo: ovos AA: casca limpa, íntegra e normal, câmara de ar de até 3,17mm de altura, albúmen transparente e denso, gema com contorno levemente definido e livre de defeitos; ovos A: casca limpa, íntegra e normal, câmara de ar de até 4,76mm de altura, albúmen transparente e razoavelmente denso, gema com contorno bem definido e livre de defeitos; ovos B: casca manchada, íntegra e com anormalidade, câmara de ar maior que 4,76mm, albúmen fluído podendo haver pequenas manchas de sangue e carne, gema com contorno facilmente definido e achatada (Stadelman, 1994)

Outros dezoito ovos foram pesados individualmente em balança de precisão de 0.001 grama e avaliados quanto a gravidade específica pelo método de imersão em soluções salinas (Hamilton, 1982). Na sequência, os ovos foram quebrados e o peso absoluto da gema (P. Ge) e da casca (P. Cas) foram obtidos em balança de precisão, sendo as cascas previamente lavadas em água corrente, para retirada do albúmen aderido e secas à temperatura ambiente. O peso do albúmen (P. Alb) foi calculado por diferença ($P.Alb = P.Ovo - P.Ge - P.Cas$). Determinou-se as respectivas percentagens em relação ao peso do ovo íntegro.

Para as análises bromatológicas foram feitos seis *pools* de três gemas e seis *pools* de três albúmens, constituindo assim seis repetições por tratamento. Cada repetição, de gema e albúmen, foi colocada em uma bandeja de alumínio e após homogeneizadas, determinou-se o pH por meio do potenciômetro digital marca Gehaka®. As bandejas foram colocadas em estufa de ventilação forçada à 55°C, após 72 horas foram retiradas, resfriadas a temperatura ambiente e pesadas para determinação do teor de matéria seca (MS). Determinou-se matéria seca a 105°C (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) pelo método de Kejdhal e extrato etéreo (EE) através do Extrator Shoxlet, esse último apenas nas gemas, seguindo mesma metodologia utilizada para excretas e ração. Estas variáveis foram expressas na matéria natural. As cascas foram moídas com membrana, amostras de 0,1g foram digeridas em ácido nitroperclórico em bloco digestor onde a temperatura foi aumentada gradativamente até 210°C até que a mistura reduzisse ao máximo de 1mL sendo então, diluída com água destilada até completar 50mL. As análises de cálcio e magnésio foram realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica e fósforo por colorimetria.

Os parâmetros zootécnicos das aves submetidas aos tratamentos com mineral orgânico (MO35, MO45, MO65 e MO100) foram analisados quanto à resposta do animal à adição crescente de Cu, Fe, Mn e Zn, pelo método dose resposta, sendo o nível ótimo obtido pelo ponto de interceção entre a reta crescente e o platô (Sakomura & Rostagno, 2007).

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, e foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo

teste de Scott-Knott ($P<0,05$). A análise dos dados foi realizada pelo programa Sisvar 5.6 (Ferreira, 2000).

Resultados

Os parâmetros zootécnicos e a digestibilidade aparente do alimento e seus nutrientes, estão demonstrados na tabela 2. As aves que participaram dos tratamentos MO35 e MO45 de minerais orgânicos apresentaram menor percentual de produção. No entanto, para as variáveis ovo ave alojada (OAA) e viabilidade das aves, os resultados foram semelhantes, independentemente da origem do mineral ou dos níveis de inclusão do premix na dieta. As aves que receberam dieta com minerais orgânicos, independente da quantidade de inclusão do premix mineral, apresentaram maior peso de ovo em relação ao tratamento MI100. Para massa do ovo, índice zootécnico que envolve o peso do ovo e o percentual de produção, não houve diferença entre tratamentos MI100, MO35 e MO45, enquanto aves que receberam as inclusões de MO65 e MO100 apresentaram maior massa de ovo. O percentual de ovos trincados e perdidos, apesar da imprevisibilidade desta ocorrência ($CV=340,98$), não variou com a fonte dos minerais e os níveis de suplementação.

Tabela 2: Parâmetros zootécnicos e digestibilidade aparente dos alimentos e seus nutrientes em função dos níveis de inclusão e fonte de origem dos microminerais Fe, Cu, Mn, Zn.

	Inclusão de minerais							
	MI100	MO100	MO65	MO45	MO35	Média	CV	p
Índices produtivos								
Produção (%)	87,40 ^a	88,92 ^a	87,79 ^a	84,37 ^b	83,37 ^b	86,37	11,24	0,0000
OAA ¹	23,88	24,90	24,58	23,62	22,91	23,98	5,44	0,2643
Viabilidade (%)	93,75	100,00	100,00	100,00	92,36	97,22	6,06	0,2036
Peso Ovo (g)	64,53 ^c	65,90 ^a	65,84 ^a	65,15 ^b	65,47 ^a	65,38	2,71	0,0000
Massa de Ovo (g/dia)	56,40 ^b	58,57 ^a	57,80 ^a	55,01 ^b	54,57 ^b	56,47	11,49	0,0000
Trincado+Perdido (%)	1,06	0,50	0,47	1,16	1,26	0,89	340,98	0,1423
Digestibilidade Aparente dos nutrientes								
Alimento (%)	75,15	76,24	75,16	77,16	73,43	75,43	2,55	0,1305
Energia (%)	80,14	80,40	79,37	81,43	78,96	80,06	1,99	0,2652
Proteína bruta (%)	47,75	52,42	50,6	54,43	44,84	50,01	12,45	0,2567
Gordura (%)	85,75	84,09	86,16	87,00	81,68	84,94	4,96	0,4397
Matéria Mineral (%)	43,06	49,77	46,61	52,48	44,16	47,22	16,4	0,4285
Cálcio (%)	55,95	61,73	57,53	61,28	52,41	57,78	12,94	0,4032
Fósforo(%)	25,79	27,57	25,51	28,57	19,03	25,29	35,22	0,6054

¹OAA: Ovo por ave alojada;

Médias seguidas de diferentes letras na linha diferem entre si pelo teste Scott- Knott a 0,05 de significância

A origem dos minerais, sulfatos ou metionina quelatado, bem como as doses de inclusão de Fe, Mn, Zn e Cu não influenciaram a digestibilidade aparente da ração e dos seus nutrientes proteína bruta, gordura (EE), matéria mineral, cálcio e fósforo. Em média, as digestibilidades aparentes obtidas foram: ração 75,43%, energia 80,06% proteína bruta 50,01%, gordura 84,94%, matéria mineral 47,22%, cálcio 57,78% e fósforo 25,29%.

O uso dos minerais orgânicos demonstrou efeitos significativos sobre o peso dos ovos, independente da inclusão realizada. Ao avaliar os componentes do ovo separadamente (tabela 3) não foram observadas diferenças nos pesos relativos da casca, gema e do albúmen, entre as fontes do mineral e as inclusões na dieta.

Tabela 3: Características físico-químicas e qualidade dos ovos em função dos níveis de inclusão e da origem dos microminerais Fe, Cu, Mn, Zn.

	Inclusão de minerais					Média	CV	p
	MI100	MO100	MO65	MO45	MO35			
Ranking (% AA) [†]	100,00	92,85	85,71	71,42	64,28	82,85	44,19	0,0700
Casca								
Casca (%)	10,25	10,35	10,12	10,02	10,23	10,19	6,16	0,5580
Superfície (cm ²)	76,16	75,51	75,68	74,89	75,76	75,60	4,69	0,8733
Índice casca (g / cm ²)	8,84	8,89	8,70	8,57	8,80	8,76	6,35	0,4552
Gravidade específica	1083	1081	1080	1082	1083	1082	0,15	0,1555
Espessura da casca (µm)	412	419	420	421	410	416	4,79	0,4856
Resistencia da casca (Kgf)	4,19	4,37	4,29	4,40	3,87	4,22	4,22	0,6618
Matéria mineral (%)	95,14	95,08	95,28	95,21	95,31	95,21	0,25	0,4164
Cálcio (%)	40,00	40,44	39,62	40,17	40,20	40,08	3,54	0,8931
Fósforo (%)	0,13	0,13	0,14	0,13	0,13	0,13	6,68	0,1596
Magnésio (%)	0,41	0,45	0,43	0,43	0,43	0,43	9,01	0,4697
Gema								
Gema (%)	26,56	26,86	26,69	26,87	26,24	26,64	9,10	0,9338
pH	5,96	5,98	5,95	5,95	5,95	5,95	1,21	0,9532
Água (%)	50,37	50,43	50,52	50,76	50,84	50,58	1,48	0,7581
Coloração da gema	5,79	5,79	5,86	6,21	5,93	5,91	7,18	0,0542
Extrato Etéreo (%)	25,72	25,48	25,51	25,70	26,13	25,71	3,49	0,7366
Proteína Bruta (%)	17,03	16,65	16,69	16,85	16,42	16,73	2,28	0,1017
Matéria Mineral (%)	1,79	1,86	1,80	1,78	1,76	1,79	7,19	0,7151
Albúmen								
Albúmen (%)	63,18	62,78	63,19	63,10	63,53	63,15	4,09	0,9416
pH	8,65	8,62	8,73	8,72	8,46	8,63	1,94	0,0690
Unidade <i>Haugh</i>	79,12	77,43	78,23	76,27	74,74	77,16	8,32	0,4167
Água (%)	89,74	89,57	89,78	89,71	89,53	89,66	0,49	0,8046
Proteína Bruta (%)	9,34	9,55	9,37	9,41	9,56	9,44	4,46	0,8168
Matéria Mineral (%)	0,79	0,75	0,77	0,73	0,80	0,77	8,07	0,4504

Médias seguidas de diferentes letras na linha diferem entre si pelo teste Scott- Knott a 0,05 de significância.

A qualidade geral do ovo, computada pelo percentual de ovos AA, do conteúdo interno, gema e do albúmen, verificada pelas medições de pH, coloração da gema e UH e da casca representada pelo índice de casca, gravidade específica, espessura e resistência foram iguais entre os tratamentos. Assim, a origem do mineral, sulfatos e metionina quelatados e as inclusões decrescentes MO65, MO45 e MO35 não influenciaram nenhuma dessas medidas de qualidade.

A composição bromatológica da gema e albúmen (água, proteína bruta, extrato etéreo e matéria mineral), a matéria mineral da casca e o percentual dos principais minerais, cálcio, magnésio e fósforo foram semelhantes entre os tratamentos com as diferentes fontes de minerais, inorgânico e orgânico. Ou seja, a composição e a qualidade dos ovos independeram da fonte do mineral e da inclusão do mineral na dieta.

Discussão

A suplementação de minerais orgânicos de alta biodisponibilidade e em menores inclusões do que as frequentes suplementações com minerais inorgânicos podem manter ou incrementar o desempenho de galinhas poedeiras (Ao *et al.*, 2009). Os experimentos atuais buscam reduções nos níveis de inclusões na dieta, capaz de sustentar o metabolismo e a produtividade das aves, concorrendo desta maneira para reduzir o impacto ambiental dos minerais eliminados nas fezes dos planteis de aves.

Os níveis de suplementação sugeridos por Rostagno *et al.* (2017) para minerais inorgânicos são: 9,4 mg/Kg Cu, 45,85 mg/Kg Fe, 64,20 mg/Kg Mn e 59,63 mg/Kg Zn, enquanto para minerais orgânicos, as inclusões recomendadas são de 3,98 mg/Kg Cu, 19,88 mg/Kg Fe, 28,49 mg/Kg Mn e 26,50 mg/Kg Zn. Estas recomendações de minerais orgânicos representam diminuição de cerca de 43% em relação aos minerais inorgânicos. Outra referência, o NRC (1994) recomenda: 45 mg/Kg Fe, 20 mg/Kg Mn e 35 mg/Kg Zn, sem recomendação para Cu. Importante salientar que mais de 20 anos separam as recomendações desses autores. Nesse

experimento, as inclusões para minerais inorgânicos (MI100) e orgânicos (MO100) foram: iguais a 8 mg/Kg Cu, 50 mg/Kg Fe, 70 mg/Kg Mn, 50 mg/Kg Zn e apresentaram níveis de concentrações muito semelhantes aos preconizados por Rostagno *et al.* (2017) para os inorgânicos, já os tratamentos MO45 e MO35 apresentaram valores menores que Rostagno *et al.* (2017).

Minerais são suplementados à dieta a fim de atender exigências metabólicas e produtivas das poedeiras. O tratamento MO35 com uma suplementação de equivalente a 35% do tratamento MO100 (2,8 mg/Kg Cu; 17,7 mg/Kg Fe; 24,5 mg/Kg Mn e 17,5 mg/Kg Zn) demonstrou atender essas exigências, através dos índices OAA e massa de ovo, sem comprometimento dos parâmetros de qualidade dos ovos, assim como a digestibilidade da ração e dos nutrientes da mesma.

Outros estudos envolvendo redução nos níveis de inclusão para minerais orgânicos nas dietas também foram realizados, sem prejuízos à performance das aves e à qualidade dos ovos. Carvalho *et al.* (2016) ao avaliarem premix mineral orgânico com níveis de inclusão decrescentes de 90, 80 e 70% chegaram a um resultado ótimo de inclusão de 6,3 mg/Kg Cu, 21 mg/Kg Fe, 42 mg/Kg Mn e 42 mg/Kg Zn, relativo à inclusão de 70%. Figueiredo Júnior *et al.* (2013) ao testarem inclusões decrescentes de minerais orgânicos 66 e 33% observaram melhoria produtiva com suplementação de 6,6 mg/Kg Cu, 26,4 mg/Kg Fe, 52,8 mg/Kg Mn e 36 mg/Kg Zn de minerais orgânicos, porém aves alimentadas com inclusões de 3,3 mg/Kg Cu, 13,2 mg/Kg Fe, 26,4 mg/Kg Mn e 18 mg/Kg Zn (33%) apresentaram parâmetros produtivos similares às aves alimentadas com premix inorgânico. Gheisari *et al.* (2011) recomendaram inclusões de 3,5 mg/Kg de Cu; 20 mg/Kg Mn e 20 mg/Kg Zn orgânicos, sem prejuízos ao desempenho além de melhoria da qualidade da casca e albúmen, comparado aos inorgânicos (sulfatos e óxidos). Yenice *et al.* (2015) ao suplementarem Mn, Zn, Cu e Cr orgânicos verificaram aumento da biodisponibilidade dos microminerais comparados à suas fontes inorgânicas, ratificando estes resultados.

A resposta das aves à adição crescente de Cu, Fe, Mn e Zn, através dos tratamentos 35MO, 45MO, 65MO e 100MO não se ajustaram a um modelo dose-resposta. O fenômeno resultante do acréscimo de um nutriente à ração, partindo de níveis baixos até níveis elevados, apresenta quatro fases distintas: *inicial*, os níveis garantem a manutenção; *resposta*, os animais apresentam crescimento e eficiência até estabilizar; *estável*, nessa fase os níveis de nutriente não apresentam resposta à produção ou a toxidez; *tóxico*, ocorre redução da produção (Euclydes & Rostagno, 2001). O nível ótimo de suplementação é determinado pelo ponto de interseção entre a reta crescente e o platô (Sakomura & Rostagno, 2007), porém os dados apresentaram-se similares e essa linearidade indica que as inclusões realizadas estavam na fase estável, ou seja no platô.

Variações nas taxas de inclusões de minerais para atender as exigências nutricionais podem ser justificadas pela: biodisponibilidade das fontes de suplementação (Rostagno *et al.*, 2017), uso de ingredientes carreadores de outros minerais na sua composição (Rostagno *et al.*, 2017; NRC, 1994; Avelar *et al.*, 2009), excesso de P que pode formar sais insolúveis com Fe, Mg, Al e Ca (Maiorka & Macari, 2002), a presença de fitato que complexado com cátions bivalentes, como Ca, Mn, Mg, Fe, Zn os tornam indisponíveis para o animal (Newman, 1991).

Neste experimento, os coeficientes de digestibilidade aparente do Ca (57,78%) e P (25,29%), suplementados à ração através de calcário e fosfato bicálcico, são compatíveis com os estudos de Sordi (2019) para poedeiras. A fonte dos minerais, e os níveis de inclusão não influenciaram na digestibilidade desses minerais. Diferentemente de Yenice *et al.* (2015), que verificaram, ao suplementarem minerais orgânicos, aumento da biodisponibilidade do Ca e P da dieta.

O aumento do peso do ovo observado ao utilizar o mineral orgânico, independente da inclusão, poderia ser atribuído à fração de metionina quelatada ao mineral. Lesson & Summers (2005) incluíram a metionina entre os possíveis nutrientes que podem ser ajustados, a fim de manipular o peso do ovo. O incremento do peso dos ovos foi também observado por

Figueiredo Júnior *et al.* (2013) nos níveis mais baixos de inclusão dos minerais orgânicos em relação a inclusão de inorgânico e Nunes *et al.* (2013) que o atribuiu ao aumento de albúmen.

As características físico-químicas dos ovos não foram influenciadas pela fonte do mineral ou taxa de inclusão na dieta. O ranking de qualidade, medido pelo percentual de ovos AA demonstrou tendência ($p=0,0700$), no entanto, as aves de todos os tratamentos produziram ovos classificados como especiais segundo a definição das categorias de qualidade do mercado atacadista americano, de acordo com Stadelman (1994). A coloração da gema ($p=0,0542$), obtida nos tratamentos não demonstrariam variações significativas na coloração da gema que variam de amarelo claro (1) a alaranjado/ avermelhado escuro (16), segundo Domingues & Faria (2019) O pH do albúmen ($p=0,0690$), demonstra a fluidificação do albumén sendo diretamente relacionado a unidade *Haugh* medida de frescor dos ovos que não apresentou variações com a origem ou inclusão dos minerais (Oliveira & Oliveira, 2013).

Conclusão

A suplementação de microminerais orgânicos nas concentrações por quilo de ração de 2,8mg de Cu; 17,7 mg de Fe; 24,5 mg de Mn e 17,5 mg de Zn (MO35) demonstram atender às exigências nutricionais desses minerais sem comprometer a viabilidade das aves, ovo ave alojada e qualidade interna e externa dos ovos, com incremento do peso do ovo de poedeiras brancas no último terço do período produtivo.

Referências Bibliográficas

- Ao T, Pierce JL, Pescatore AJ, Cantor AH, Dawson KA, Ford, MJ. Effects of feeding reduced levels of organic minerals (Bioplex®) on the development of white layer pullets. Poultry Science 2009; 88(1): 197-209.
- Ao T, Pierce JL. The replacement of inorganic mineral salts with mineral proteinates in poultry diets. World's Poultry Science Journal 2013; 69 (1): 5-16.

- 307 Applegate TJ, Angel R. Nutrient requirements of poultry publication: History and need for an
308 update J. Appl. Poult. Res 2014; 23: 567–575.
- 309 Avelar AC, Ferreira WM, Brito W, Menezes MABC. Composição mineral de fosfatos, calcário e
310 farinha de ossos usados na agropecuária brasileira. Arquivo Zootecnia 2009; 58 (224): 737-
311 740.
- 312 Carvalho LSS, Vilela DR, Fagundes NS, Souza YLS, Fernandes FA. Qualidade de ovos e
313 desempenho produtivo de poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com
314 microminerais quelatados a aminoácidos. Ciência Animal Brasileira 2016; 17 (4): 491-500.
- 315 Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação
316 Animal. Guia de Métodos Analíticos. 383p. 2009.
- 317 Domingues CHF, Faria DE. Qualidade interna e externa do ovo. In: Faria DE et al. Produção e
318 Processamento de ovos de poedeiras comerciais. Campinas: FACTA / FAPESP; 2019. P. 245-
319 268.
- 320 Euclides, RF, Rostagno, HS. Estimativas dos níveis nutricionais via experimentos de
321 desempenho. Nutrição de aves e suínos. In: Workshop Latino Americano Ajinomoto Biolatina,,
322 Anais...Foz do Iguaçu 2001, 77-88.
- 323 Ferreira DF. SISVAR - Sistema de análise estatística para dados balanceados. Lavras:
324 UFLA/DEX, 2000. (Software).
- 325 Figueiredo Júnior JP, Costa FGP, Givisiez PEN, Lima MR, Silva JHV, Figueiredo-Lima DF,
326 Saraiva EP, Santana, MHM. Substituição de minerais inorgânicos por orgânicos na alimentação
327 de poedeiras semipesadas. Arquivo. Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenia. 2013; 65
328 (2): 513-518.
- 329 Gheisari AA, Sanei S, Samie A, Gheisari MM, Toghyani M. Effect of Diets Supplemented with
330 Different Levels of Manganese, Zinc, and Copper from their Organic or Inorganic Sources on
331 Egg Production and Quality Characteristics in Laying Hens. Biologic Trace Elements Research
332 2011; 142: 557–571.

- 333 Hamilton RGM. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. Poultry
334 Science; 1982; 61(10): 2022-2039.
- 335 Hossain MA, Barrow JJ, Shen Y, Haq MI, Bungert J. Artificial zinc finger DNA binding domains:
336 versatile tools for genome engineering and modulation of gene expression. J Cell Biochem
337 2015; 116: 2435–2444.
- 338 Lesson S, Summers J. Nutrition of the chicken. Ghelph: University books, Guelph, 2001. p.591.
- 339 Maiorka A, Macari M. Absorção de minerais. In: Macari M, Furlan RL, Gonzales E. Fisiologia
340 Aviária Aplicada a Frangos de Corte; Jaboticabal, SP: Fundação de Estudos e Pesquisas em
341 Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia; 2002.p.375.
- 342 Mertz W. Trace elements in human and animal nutrition.5ª ed. Nova York: Academic press;
343 1986.
- 344 National Research Council 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9 ed. Washington, DC: The
345 National Academies Press; 1994.
- 346 Newman K. Phytase: The enzyme, its origin e characteristics: impact e potential for increasing
347 phosphorus availability. In: Biotechnology in the feed industry; 1991; Nicholasville, Kentucky,
348 United States. p. 169-177.
- 349 Nunes JK, Santos VL, Rossi P, Ancuti MA, Rutz F, Maier JC, Silva JGC. Qualidade de ovos e
350 resistência óssea de poedeiras alimentadas com minerais orgânicos. Arquivo Brasileiro de
351 Medicina Veterinária e Zootenia 2013; 65 (2): 610-618.
- 352 Nys Y, Hincke M, Arias JL, Garcia-Ruiz JM, Solomon SE. Avian eggshell mineralization, Poultry
353 Avian Biology Rev 1999; 10: 143–166.
- 354 Oliveira BL, Oliveira DD. Qualidade e tecnologia de ovos. Ed. UFLA, 2013: p. 224.
- 355 Rostagno HS, Albino LFT, Hannas MI, Donzele JL, Sakomura NK, Perazzo FG, Saraiva A,
356 Abreu MLT, Borges PB, Oliveira RF, Barreto SLT, Brito CO. Tabelas brasileiras para aves e
357 suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4.ed. Viçosa, MG: Universidade
358 Federal de Viçosa, 2017. 488p

- 359 Sakomura NK, Rostagno HS. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal:
360 Fundação de apoio a pesquisa, ensino e extensão; 2007. p. 283.
- 361 Sibbald IR, Slinger SJ. Measuring available energy in poultry feeds. *Feedstuffs* 1961; 33 (33):
362 18-24.
- 363 Sordi C. Digestibilidade de cálcio e de fósforo de fontes inorgânicas para galinhas Poedeiras
364 [Dissertation]. Chapecó (SC): Universidade do Estado de Santa Catarina, 2019.
- 365 Stadelman WJ. Quality Identification of Shell Eggs. In: Stadelman WJ, Cotterill OJ, editors. *Egg*
366 *Science and Technology*. 4th edition. New York: Food Products Press; 1994.p.39-66.
- 367 Swiatkiewicz S, Koreleski J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens
368 on eggshell and bones quality. *Vet. Med* 2008. 53 (10): 555-563.
- 369 Teixeira AO, Lopes DC, Ribeiro MCT, Lopes JB, Ferreira VPA Vitti DMSS, Moreira JA, Pena
370 SM. Composição química de diferentes fontes de fósforo e deposição de metais pesados em
371 tecidos de suínos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2005; 57 (4): 502-
372 509.
- 373 Vieira SL. Chelated minerals for poultry. *Revista Brasileira de Ciencias Avícolas* 2008; 10: 73–
374 79.
- 375 Yenice E, Mizrak C, Gültekin M, Atik Z, Tunca M. Effects of organic and inorganic forms of
376 manganese, zinc, copper, and chromium on bioavailability of these minerals and calcium in late-
377 phase laying hens. *Biological Trace Element Research* 2015;167: 300-307.

CAPÍTULO III

(Redigido de acordo com as normas do periódico “Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia”)

ZINCO, COBRE, FERRO E MANGANÊS METIONINA QUELATADOS:
BIODISPONIBILIDADE, EXCREÇÃO E FRAÇÃO NO OVO

ZINC, COPPER, IRON AND MANGANESE METIONINE CHELLED:
BIODAVAILABILITY, EXCRETION AND FRACTION IN EGG

F. S. G. Crosara*, S. K. Almeida, E.A. Fernandes

Universidade Federal de Uberlândia - Uberlândia, MG

*flaviasgvvet@gmail.com

Resumo: Objetivou-se avaliar a biodisponibilidade dos microminerais orgânicos – metionina quelatados – com inclusões decrescentes na dieta de poedeiras comerciais. O experimento contou com 240 poedeiras Dekalb White com 67 semanas de idade, sendo 48 aves por tratamento e 12 por repetição. O experimento teve duração de 14 semanas, sendo 10 de consolidação nutricional e 4 de avaliações, tendo as aves atingido 80 semanas de idade. Às dietas isoenergéticas e isonutrientes fora incluído premix mineral inorgânico fornecendo 8mg Cu, 50mg Fe, 70mg Mn e 50mg Zn por quilo de ração (MI100), premix mineral orgânico com as mesmas concentrações desses minerais (MO100) e três tratamentos com inclusões decrescentes MO65 (65% de MO100), MO45 (45% de MO100) e MO35 (35% de MO100). Avaliou-se a retenção, a excreção e os traços destes minerais nos componentes do ovo. O ferro apresentou maior índice de retenção, seguido do cobre, zinco e manganês. Para manganês e zinco, a redução da inclusão de minerais orgânicos não altera a retenção, o que é confirmado pela excreção decrescente desses minerais. A biodisponibilidade dos minerais orgânicos de Mn e Zn aumenta 300% em relação à origem inorgânica. A deposição de Zn orgânico na casca aumenta com o aumento das inclusões, e na gema diminui.

Palavras-chave: Biodisponibilidade. Minerais orgânicos. Retenção mineral.

Abstract: The objective was to evaluate the bioavailability of organic micro minerals - chelated methionine - with decreasing inclusions in the diet of commercial laying hens. The experiment had 240 Dekalb White laying hens at 67 weeks of age, with 48 birds per treatment and 12 birds per repetition. The experiment lasted 14 weeks, 10 of which were nutritional consolidation and 4 of evaluations, with the birds reaching 80 weeks of age. The isoenergetic and isonutrient diets were included inorganic mineral premix providing 8mg Cu, 50mg Fe, 70mg Mn and 50mg Zn per kilo of feed (MI100), organic mineral premix with the same concentrations of these minerals (MO100) and three treatments with decreasing inclusions MO65 (65% MO100), MO45 (45% MO100) and MO35 (35% MO100). Retention, excretion and traces of these minerals in the egg components were evaluated. Iron had a higher retention index, followed by copper, zinc and manganese. For manganese and zinc, reducing the inclusion of organic minerals does not alter the retention, which is confirmed by the decreasing excretion of these minerals. The bioavailability of the organic minerals of Mn and Zn increases 300% in relation to the inorganic origin. The deposition of organic Zn in the bark increases with the increase of inclusions, and in the yolk it decreases.

Keywords: Bioavailability Mineral retention. Organic minerals.

Introdução

Os minerais são fundamentais para metabolismo fisiológico dos animais, mesmo demandados em quantidades mínimas como cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn). O transporte dos nutrientes e oxigênio pelo corpo, a oxidação desses nutrientes e a respiração a nível celular, a ativação de enzimas com anidrase, fosfatase, arginase, peptidase, as contrações musculares, o funcionamento cardíaco, a síntese de proteína, a manutenção funcional do sistema nervoso, e a composição do suco digestivo, proteína, cartilagem, hormônio e osso são exemplos das ações sistêmicas atribuídas a esses minerais (Maiorka e Macari, 2002).

As rações produzidas com milho, farelo de soja, fosfatos, calcários, farelo de trigo apresentam na sua composição minerais oriundos de todos esses ingredientes (Rostagno et al., 2017; Teixeira, et al., 2005; NRC, 1994). Porém, a presença do

mineral na dieta não garante a utilização pelo organismo, sendo que o termo biodisponibilidade refere-se à proporção do nutriente utilizado pelo organismo (Southgate et al., 1989). De acordo com as exigências das aves, essas dietas apresentam deficiência mineral marginal, no entanto, no intestino ocorrem antagonismos e interações entre os minerais e com outros nutrientes, formando compostos insolúveis, impedindo a absorção dos mesmos (Aksu et al., 2012).

As características dos minerais como apresentação química, livre ou combinada, as ligações entre os átomos que interferem na solubilidade, a presença de atenuadores ou facilitadores de absorção e as interações entre os minerais são fatores que influenciam na biodisponibilidade. Por outro lado, deve-se admitir que o organismo do animal tenta manter sua homeostase, absorvendo mais quando as reservas estão diminuídas e menos em condições adequadas e em excesso (Cozzolino, 1997) e que, as condições físico-químicas, o pH e a viscosidade intestinal dificultam a absorção da maioria dos minerais (Regina e Beterchini, 2010).

A suplementação de microminerais à dieta, tem sido praticada em níveis superiores às exigências dos animais devido à baixa absorção (Aksu et al., 2012) o que contribui para aumentar a excreção dos minerais, podendo gerar danos ao meio ambiente (Mohanna e Nys, 1998). De acordo com Halpin e Baker (1986) as exigências das aves por Fe, Mn e Zn, utilizando dietas purificadas (pouco ou nenhum fitato e fibras), é muito inferior comparadas às dietas práticas, evidenciando ainda que ingredientes práticos reduzem a biodisponibilidade do mineral inorgânico da dieta. Minerais organicamente complexados apresentam melhor biodisponibilidade (Bao et al., 2007). Objetivou-se avaliar a biodisponibilidade dos microminerais inorgânicos (sulfatos) e orgânicos (metionina quelatado) com inclusões decrescentes em poedeiras comerciais no ultimo terço de sua vida produtiva, comparando a taxa de retenção, excreção e traços nos componentes dos ovos.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida na Granja Experimental da Fazenda do Glória da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) de acordo com as normas éticas e aprovado

pelo Comitê de Ética em Uso de Animais – CEUA/UFU, sob protocolo de pesquisa número 082/18.

Poedeiras Dekalb White com 67 semanas de idade foram distribuídas de forma aleatória em gaiolas, sendo 12 aves por gaiola, com área de 416 cm² ave⁻¹, bebedouro tipo nipple e comedouro linear. As aves receberam 15 horas de luz ao dia, consumiram 108 gramas de ração ao dia e água *ad libitum*. O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições

As dietas isoenergéticas, isonutrientes e sem fitase foram formuladas e produzidas à base de milho e farelo de soja (Tab. 1).

Tabela 1. Ingredientes e nutrientes calculados das dietas experimentais.

Parâmetros	MI100	MO100	MO65	MO45	MO35
<i>Ingredientes (%)</i>					
Milho	58.46	58.46	58.46	58.46	58.46
Farelo de soja	25.24	25.24	25.24	25.24	25.24
Farelo de trigo	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Calcário pedrisco	5.51	5.51	5.51	5.51	5.51
Calcário fino	3.71	3.71	3.71	3.71	3.71
Fosfato Bicálcico	1.76	1.76	1.76	1.76	1.76
Óleo de soja	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
Cloreto de Sódio	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
DL Metionina	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28
Bicarbonato de sódio	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
Premix vitamínico	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Material inerte	0.15	-	0.11	0.17	0.19
Premix mineral inorgânico	0.15	-	-	-	-
Premix mineral orgânico ¹	-	0.30	0.19	0.13	0.11
Total	100	100	100	100	100
<i>Nutrientes calculados</i>					
Energia metabolizável	2740	2740	2740	2740	2740
Proteína bruta (%)	16.28	16.28	16.28	16.28	16.28
Lisina dig. (%)	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76
Metionina dig. (%)	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52
Me + Cis dig. (%)	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Treonina dig. (%)	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
Triptofano dig. (%)	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Arginina dig. (%)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Cálcio (%)	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90
Fósforo disp.(%)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43
Sódio (%)	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
Cloro (%)	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17

¹Composição vitamínica e aditivos por Kg de ração: Ác. Fólico (min) 0,125mcg; Ác. Pantotênico (min) 1.61mg; Biotina (min) 0,00375 mg; Colina (min) 0,0522g; Niacina (min) 5mh; Vit A (min) 2000UI; Vit B1 (min) 0,05mg; Vit. B12 (min) 2,5mcg; Vit. B2 (min) 0,750 mg; Vit. B6 (min) 4,25mg; Vit D3 (min) 575 UI; Vit E (min) 3,75 UI; Vit K3(min) 0,25mg; Se (min) 0,0625 mg; Iodo 1,2 mg; Halquinol 7,5mg.

Os microminerais estudados foram: Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn). Considerou-se a fonte do mineral, sendo: minerais inorgânicos (MI) fornecidos na forma de sais (Sulfato de Cobre, Sulfato de Ferro, Sulfato de Manganês e

Sulfato de Zinco); e minerais orgânicos (MO) metionina quelatados, com percentual de quelação de 94,4% (Cu), 90,1% (Fe) 91,5% (Mn) e 91,9% (Zn). Os tratamentos consistiram de inclusão de minerais à dieta basal, em concentrações comumente utilizadas na avicultura, de: 8mg de Cu, 50mg de Fe, 70mg de Mn e 50mg de Zn por quilo de ração de premix inorgânico (MI100) e premix orgânico (MO100) e outros três tratamentos com inclusões decrescentes do premix MO65 (65% de MO100), MO45 (45% de MO100) e MO35 (35% de MO100).

As inclusões minerais de cada tratamento estão detalhadas na Tab. 2. Rostagno et al. (2017) recomendam as seguintes inclusões de minerais orgânicos, por quilo de ração, 3,98 mg de cobre, 19,88 mg de ferro, 28,49 mg de Mn e 26,50mg de Zn

Tabela 2. Níveis de minerais suplementados e analisados, em mg/Kg, nas dietas experimentais

Parâmetros	MI100	MO100	MO65	MO45	MO35
<i>Inclusão dos minerais</i>					
Cobre	8	8	5,2	3,6	2,8
Ferro	50	50	32,5	22,5	17,5
Manganês	70	70	45,5	31,5	24,5
Zinco	50	50	32,5	22,5	17,5
<i>Análise mineral das dietas¹</i>					
Cobre	87,5	121,2	93,5	60,0	48,6
Ferro	443,7	543,3	446,3	433,7	413,7
Manganês	324,1	378,9	256,7	179,3	177,3
Zinco	226,8	326,8	207,3	165,7	138,8

¹ n=3

A duração do experimento foi de 14 semanas, sendo 10 semanas de consolidação nutricional das aves à dieta e ao manejo experimental. A retenção dos microminerais foi realizada através do método de coleta completa de excretas por cinco dias seguidos à semelhança da metodologia de Sibbald e Slinger (1961) para cálculo de energia metabolizável, cuidando para retirar penas e outros corpos estranhos. As excretas foram pesadas, identificadas e congeladas, ao final do período de coletas as excretas foram descongeladas, homogeneizadas, pré secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas e moídas para determinação da matéria seca (MS) em estufa de 105°C por 4 a 6 horas. Para os cálculos considerou-se ração e excreta livres de água, ou seja, considerou-se matéria seca pós estufa de 105°C .

$$Retenção (\%) = \left(\frac{\text{quantidade de nutriente ingerido} - \text{excretado}}{\text{quantidade nutriente ingerido}} \right) \times 100$$

Ao final do experimento 18 ovos de cada tratamento, aleatoriamente escolhidos, tiveram seus conteúdos retirados e agrupados em seis *pools* de três unidades,

constituindo assim seis repetições por tratamento. Albúmen e gema foram homogeneizados e pré secos em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. A umidade total foi obtida após secagem em estufa à 105°C por 4 a 6 horas. As cascas foram lavadas para retirada de restos de albúmen, secas em temperatura ambiente e moídas juntamente com a membrana. Amostras de 0,1g de casca e 0,5g de excreta, ração, gema e albúmen foram digeridas em ácido nitroperclórico em bloco digestor onde a temperatura foi aumentada gradativamente até 210°C até que a mistura reduzisse ao máximo de 1mL, sendo o extrato filtrado e diluído em água destilada até completar 50mL de solução. As análises de Fe, Cu, Mn e Zn foram realizadas no espectrofotômetro de absorção atômica.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, e foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott ($P<0,05$). A análise dos dados foi realizada pelo programa Sisvar 5.6.

Resultados

O percentual de minerais na MS da excreta e a retenção dos minerais estão apresentados na Tab. 3. A retenção média dos minerais, considerando os 5 tratamentos, foi de 61,61% para Fe, 42,08% para o Cu, 22,6% para o Zn e 21,46% para Mn. As retenções de Cu ($p=0,0195$), Mn ($p=0,0005$) e Zn ($p=0,000$) demonstraram ser dependentes da fonte do mineral e ou da taxa de inclusão dos mesmos na dieta. Para Mn e Zn, a retenção dos minerais orgânicos foi em média 300% superior aos sais inorgânicos suplementados, e mostraram-se praticamente constante entre si independente dos níveis de inclusões. A retenção do Fe ($p=0,1227$) não foi influenciada pela origem ou diferentes níveis de suplementação, todavia se considerarmos o CV de 18,19% sugere-se que a partir do tratamento MO45, as taxas de retenção foram muito próximas sugerindo uma tendência de superioridade de retenção do Fe orgânico. Para o Cu verifica-se que as taxas de retenção entre os minerais orgânicos foram semelhantes à taxa de retenção do inorgânico, exceção para o tratamento MO65.

As excreções de Cu ($p=0,1083$) e Fe ($p=0,2043$) não variaram com a fonte de suplementação ou as inclusões realizadas. Para o elemento Fe observa-se não haver

diferença nas taxas de excreções entre os tratamentos, todavia chama a atenção o CV desta variável (63,07), caracterizando uma variação grande entre os resultados de detecção deste elemento nas fezes, diferentemente do que foi observado nas taxas de retenção (CV=18,19). Já a excreção de Mn ($p=0,000$) demonstra, desde a maior taxa de inclusão de mineral orgânico MO100, diferença significativa para a inclusão igual de mineral inorgânico MI100, destacando ainda que a redução de inclusão dos minerais orgânicos foi acompanhada de uma redução nas excreções dos mesmos. A excreção do Zn ($p=0,000$) para os níveis máximos de inclusões, MI100 e MO100, foram iguais, mas a inclusão decrescente dos minerais orgânicos levou a uma redução da excreção.

Tabela 3. Retenção (%) e excreção, em mg/Kg de matéria seca, de cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) de poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos (MI) e orgânicos (MO) em diferentes inclusões.

Parâmetros	Tratamentos					Média	CV	p
	MI100	MO100	MO65	MO45	MO35			
<i>Retenção mineral (%)</i>								
Cu	39,66 ^b	43,44 ^b	61,04 ^a	26,91 ^b	39,35 ^b	42,08	28,90	0,0195
Fe	49,46	68,75	62,19	69,46	58,12	61,61	18,19	0,1227
Mn	6,03 ^b	31,87 ^a	20,52 ^a	23,82 ^a	25,08 ^a	21,46	28,77	0,0005
Zn	7,38 ^c	30,91 ^a	18,61 ^b	31,58 ^a	30,21 ^a	22,60	25,91	0,0000
<i>Excreção de minerais (mg/Kg)</i>								
Cu	232	240	207	210	147	207	23,38	0,1083
Fe	1805	776	1167	631	1385	1153	63,07	0,2043
Mn	1335 ^a	1179 ^b	892 ^c	723 ^d	594 ^d	945	9,01	0,0000
Zn	920 ^a	1030 ^a	790 ^b	610 ^c	453 ^d	761	10,23	0,0000

Médias seguidas de diferentes letras na linha diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância.

A distribuição de Cu, Fe, Mn e Zn nos componentes do ovo está descrito na Tab. 4. Na casca, a presença do Cu ($p=0,4850$), Mn ($p=0,5672$) e Fe ($p=0,0736$) mostraram-se constantes entre os inorgânicos e orgânicos, inclusive para as inclusões decrescentes. Por outro lado, o Zn ($p=0,0000$) demonstra uma deposição significativamente menor quando utilizado minerais inorgânicos em relação aos demais tratamentos com minerais orgânicos.

Na gema, a deposição de Mn ($p=0,0025$) e Zn (0,0238) mostraram-se dependentes da origem e inclusão do mineral na dieta. Aves suplementadas com MI depositaram maior concentração de Mn na gema. Para Zn a maior concentração na gema foi em ovos das aves que consumiram MO35, e o aumento das inclusões do MO revelou diminuição da deposição de Zn na gema, sendo menor para MO100. A origem

do mineral e as diferentes inclusões de MO na dieta não influenciaram a deposição de Cu ($p=0,0924$), Fe ($p=0,8544$), Mn ($p=0,2324$) e Zn ($p=0,5122$) no albúmen. Vale ressaltar que concentrações de Mn só foram obtida para MO35.

Tabela 4. Deposição, em ppm, de cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) na casca, gema e albúmen de ovos de poedeiras suplementadas com mineral inorgânico (MI) e orgânico (MO).

Parâmetros	Tratamentos					Média	CV	p
	MI100	MO100	MO65	MO45	MO35			
<i>Casca</i>								
Cu	15,28	14,51	14,09	13,59	13,06	14,11	15,72	0,4850
Fe	62,50	125,66	249,67	83,00	67,16	117,60	103,97	0,0736
Mn	3,19	5,48	3,30	3,69	6,55	4,44	95,16	0,5672
Zn	82,89 ^c	132,66 ^a	123,45 ^b	113,31 ^c	99,085 ^d	110,28	5,84	0,0000
<i>Gema</i>								
Cu	4,61	5,11	5,07	4,97	5,46	5,04	15,68	0,4948
Fe	169,00	170,66	186,00	153,50	201,66	176,17	26,38	0,4612
Mn	1,14 ^a	0,00 ^b	0,06 ^b	0,00 ^b	0,21 ^b	0,28	179,93	0,0025
Zn	73,88 ^{ab}	59,59 ^b	75,03 ^{ab}	62,67 ^{ab}	84,74 ^a	71,20	18,93	0,0238
<i>Albúmen</i>								
Cu	3,59	2,69	2,71	2,98	3,48	3,09	22,34	0,0924
Fe	34,50	28,17	29,00	35,83	36,80	32,86	51,81	0,8544
Mn	0,00	0,00	0,00	0,00	0,86	0,17	447,21	0,2324
Zn	10,75	9,86	10,32	6,64	10,99	9,71	48,68	0,5122

Médias seguidas de diferentes letras na linha diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 0,05 de significância..

Discussão

As análises realizadas nas rações experimentais revelaram altas concentrações de Cu, Fe, Mn e Zn, conforme demonstrado na Tab 2, considerando os minerais oriundos da dieta e da suplementação. Os ingredientes de ração comumente utilizados carregam em sua composição vários minerais de valor nutricional como Ca, P, Na, Cl, K, Mg, S, Mn, Fe, Cu, Zn, Se e I, como descrito por Rostagno *et al.* (2017), Teixeira *et al.* (2005) e NRC (1994). Esses elementos estão presentes em todos os ingredientes da ração por exemplo, o milho apresenta 2,1mg/Kg de Cu, 23mg/Kg de Fe, 5,3mg/Kg de Mn e 21,5mg/Kg de Zn; o farelo de soja contém 16,3mg/Kg de Cu, 150mg/Kg de Fe, 32mg/Kg de Mn e 46mg/Kg de Zn (Rostagno *et al.*, 2017), ressaltando que nos grãos a concentração dos minerais depende da presença dos elementos no solo e da taxa de absorção das plantas (NRC, 1994). O calcário moído apresenta 2000 mg/Kg de Fe

(NRC, 1994), o fosfato bicálcico carrega entre 11 - 103 mg/Kg de Cu, 3950- 4091mg/Kg de Fe, 28-77mg/Kg de Mn e 10-40mg/Kg de Zn, sendo que a variação da concentração dos minerais deve-se a origem da rocha (Teixeira *et al.*, 2005; Rostagno *et al.*, 2017).

Os altos níveis de minerais na dieta já foram relatados por outros autores ainda nas dietas basais, sem adição de premix mineral (Li *et al.*, 2015; Bess *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012) ou nas dietas experimentais (Li *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2012). No entanto, a biodisponibilidade desses minerais da dieta é baixa, devido a antagonismos e interações com outros nutrientes, formando compostos insolúveis, indisponibilizando os minerais (Aksu *et al.*, 2012). Como atenuadores de absorção estão os taninos, oxalatos e os fitatos que formam complexos com Ca, Mn, Mg, Fe e Zn (Newman, 1991). As principais interações diretas entre os minerais são Fe-Zn, Fe-Ca, Ca-Zn, Zn-Cu, Ca-Mg, assim, altas concentrações de um elemento pode resultar em deficiência na quantidade disponível do outro (Cozzolino, 1997). No caso do Fe, o status oxidativo na dieta de origem vegetal (Fe^{+3}) precisa ser reduzido em Fe^{+2} para torna-lo disponível à absorção (Bess *et al.*, 2012), os principais potencializadores da absorção, o ácido ascórbico e a cisteína podem reduzi-lo de Fe^{+3} para Fe^{+2} , ligando-o à complexos solúveis (Lombard *et al.*, 1997; Hurrell e Egli, 2010).

A maior retenção e a menor excreção dos minerais Mn e Zn metionina quelatados, demonstram a maior biodisponibilidade desses minerais no lúmen intestinal. Essa maior biodisponibilidade pauta a substituição de minerais inorgânicos por minerais orgânicos (Ao e Pierce, 2013; Yenice *et al.*, 2015). Os minerais orgânicos Mn e Zn tiveram um taxa de retenção superior para todas as inclusões testadas em relação a retenção de Mn e Zn do tratamento MI100 e desta forma destaca-se o tratamento MO35, ou seja, a menor oferta destes elementos na dieta demonstrou uma retenção superior a 300% em relação a Mn e Zn inorgânicos. Esta retenção igual entre os diferentes níveis de inclusão destes elementos minerais orgânicos nas rações apontam para o eficaz mecanismo metabólico de homeostase (Cozzolino, 1997), pois mesmo estando em quantidades diferentes e biodisponíveis, as taxas de retenção foram semelhantes, enquanto as taxas de excreção variaram de forma proporcional à concentração oferecida na ração.

Os minerais Cu e Fe quelatados, na dieta MO35, representaram no total da dieta, em torno de 5%, enquanto o Mn e Zn quelatados representaram cerca de 13%. Essas

menores concentrações do mineral quelatado em relação ao mineral total podem ter influenciado a eficácia da biodisponibilidade em relação aos minerais inorgânicos, haja vista, o comportamento dos mesmos ter sido inferior ao Mn e Zn quelatados.

O Fe é um elemento que apresenta baixa excreção pelo animal, assim a retenção é sinônimo de biodisponibilidade (Hurrell, 1997), sendo a homeostase mantida por um sofisticado mecanismo de controle que mantém o equilíbrio entre os processos de absorção, reciclagem, mobilização, utilização e estoque (Grotto, 2010), ou seja, a poedeira só retém o que lhe é necessário, o que poderia explicar o alto CV desse mineral nas amostras de excreta.

Devido à baixa retenção dos minerais de fonte inorgânica, ocorre uma sobre oferta de minerais na dieta, com consequente excesso de excreção (Regina e Beterchimi, 2010). A fração de minerais excretados referente à suplementação via premix pode ser reduzida pelo uso de minerais metionina quelatados que apresentam a maior biodisponibilidade, como o Mn e Zn nesse experimento (Yenice et al., 2015). Porém como visto, os ingredientes da ração também apresentam minerais de baixa biodisponibilidade, e para essa fração o uso de facilitadores de absorção e bioconversação como ácidos orgânicos e aminoácidos poderiam contribuir para a redução da excreção (Cozzolino, 1997).

Apesar da maior retenção de Mn e Zn de origem metionina quelatado, o ovo, principalmente a porção comestível, não demonstrou ser um destino para o Mn, onde é encontrado em concentrações muito baixas. Por outro lado, o Zn retido, aumentou as concentrações desse mineral na casca diretamente proporcional às inclusões e na gema inversamente proporcional às inclusões.

Conclusão

Os elementos Cu (8mg/kg de ração) e Fe (50mg/kg de ração), MI100 e MO100 ou níveis decrescentes do mineral orgânico, metionina quelatado, não influenciaram a taxa de retenção, quando comparados aos minerais inorgânicos. Os elementos Mn (24,5mg/kg de ração) e Zn (17,5mg/kg de ração), sob a forma de mineral orgânico (MO35) apresentaram maior taxa de retenção, sem contudo, aumentar as concentrações

desses minerais na gema e no albúmen dos ovos de poedeiras no último terço da vida produtiva.

Revisão Bibliográfica

AKSU, D.S.; AKSU, T.; ONEL, S.E. Does inclusion at low levels of organically complexed minerals versus inorganic forms create a weakness in performance or antioxidant defense system in broiler diets? *International Journal of Poultry Science*. 11, p.666-672, 2012.

AO, T.; PIERCE, J.L. The replacement of inorganic mineral salts with mineral proteiates in poultry diets. *World's Poultry Science Journal*, v. 69, 2013.

BAO, Y.M.; CHOCT,M.; IJI, P.A. et al. Effect of Organically Complexed Copper, Iron, Manganese, and Zinc on Broiler Performance, Mineral Excretion, and Accumulation in Tissues. *J. Appl. Poult. Res.* n.16, p.448–455, 2007.

BESS, F.; VIEIRA, S.L.; FAVERO, A.; CRUZ, R.A.; NASCIMENTO, P.C. Dietary iron effects on broiler breeder performance and egg iron contents. *Animal Feed Science and Technology*, v. 178, p. 67– 73, 2012.

COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais *Rev.. Nutr. Campinas*, v. 10, n.2, p.87-98, 1997.

FERREIRA DF. SISVAR - Sistema de análise estatística para dados balanceados. Lavras: UFLA/DEX, 2000. (Software).

GROTTO, H.Z.W. Fisiologia e metabolismo do ferro. *Revista Brasileira Hematologia e Hemoteapia.*, v. 32, n. 2, p. 8-17, 2010.

HALPIN, K. M.; BAKER. D. H. Manganese utilization in the chick: Effects of corn, soybean meal, fish meal, wheat bran and rice bran on tissue uptake of manganese. *Poultry Science* v.65, p. 995-1003, 1986.

HURRELL, R.F. Bioavailability of iron. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 51, n. 1, pS4-S8, 1997,

HURRELL, R.; EGLI, I. Iron bioavailability and dietary reference values. *American Journal Clinic Nutrition*, v.91, p.1461S–1467S, 2010.

- LI, L.; LI, H.; ZHOU, W. et al. Effects of zinc methionine supplementation on laying performance, zinc status, intestinal morphology, and expressions of zinc transporters' mRNA in laying hens. *Journal Science Food Agriculture*, v. 99, p. 6582–6588, 2019.
- LI, L.; LI, P.; CHEN, Y. et al. Zinc-bearing zeolite clinoptilolite improves tissue zinc accumulation in laying hens by enhancing zinc transporter gene mRNA abundance. *Animal Science Journal*, v. 86, p. 782–789, 2015.
- LOMBARD, M.; CHUA, E.; O'TOOLE, P. Regulation of intestinal non-haem iron absorption. *Gut*, v.40. p.435-439, 1997.
- MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte*. FUNEP/UNESP, 2ed, p.167-173, 2002.
- MOHANNA, C.; NYS, Y. Influence of age, sex and cross on body concentrations of trace elements (zinc, iron copper and manganese) in chickens. *British Poultry Science* 1998;39:536-543.
- NATIONAL Research Council. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9 ed. Washington, DC: The National Academies Press; 1994.
- REGINA, R.; BETERCHINI, A.G. Minerais. In: REGINA, R. *Nutrição animal, principais ingredientes e manejo* São Paulo: FUNDAÇÃO CARGILL, p.173-205. 2010
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I. et al. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 4.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488p.
- SIBBALD, I.R.; SLINGER, S.J. Measuring available energy in poultry feeds. *Feedstuffs* 1961: 33 (33): 18-24.
- SOUTHGATE, D.A.T. JOHNSON, I., FENWICK, G. R. Nutrient availability: chemical and biological aspects. *AFRC Institute of Food Research Norwich ed*, v. 72, p.404-410, 1989.
- SWIATKIEWICZ S, KORELESKI J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. *Vet. Med.*, v. 53, n.10, p. 555-563, 2008.
- TEIXEIRA, A.O.; LOPES, D.C.; RIBEIRO, M.C.T. et al. Composição química de diferentes fontes de fósforo e deposição de metais pesados em tecidos de suínos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*, v.57, p.502-509, 2005

- 344 YANG, X.; ZHONG, L.; AN, X. et al. Effects of diets supplemented with zinc and
345 manganese on performance and related parameters in laying hens. *Animal Science*
346 *Journal.*, v. **83**, p.474–481, 2012.
- 347 YENICE, E.; MIZRAK, C.; GÜLTEKIN, M. et al. Effects of organic and inorganic
348 forms of manganese, zinc, copper, and chromium on bioavailability of these minerals
349 and calcium in late-phase laying hens. *Biol. Trace Elem. Res.*, n. 167, p.300-307,2015.

ANEXO A



Universidade Federal de Uberlândia

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)

Rua Ceará, S/N - Bloco 2D, sala 02 - CEP 38405-315

Campus Umuarama - Uberlândia/MG - Ramal (Vollp) 3423;

e-mail: ceua@propp.ufu.br; www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº 082/18 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 004/18

Projeto Pesquisa: "Avaliação de diferentes balanços e relações de eletrólitos nas dietas de poedeiras comerciais submetidas à estresse por calor".

Pesquisador Responsável: Evandro de Abreu Fernandes

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

Situação: PROTOCOLO DE PESQUISA **APROVADO**.

OBS: A CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 22 de maio de 2018.

Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão

Coordenador da CEUA/UFU

Portaria nº 665/17

AVEXO B

Normas do periódico “Revista Brasileira de Ciência Avícola”

Normas editoriais**Artigos científicos**

O manuscrito deve conter os resultados de pesquisas originais que contribuem de modo relevante para o avanço da ciência avícola. Se alguma parte dos resultados já tiver sido publicada anteriormente como um resumo ou pequeno trabalho em algum evento científico, esta informação precisa constar no trabalho. Manuscritos que tragam novos conceitos, metodologias ou abordagens experimentais inovadoras terão prioridade.

O manuscrito deve ter as seguintes sessões:

Título

Autor(es)

Endereço para correspondência

Resumo

Palavras -chave

Introdução

Materiais e métodos

Resultados

Discussão

Referencias

Agradecimentos que devem ser incluídos após a Discussão

As sessões Resultados e Discussão podem ser apresentadas em conjunto. O resumo deve ter no máximo 250 (duzentas e cinquenta) palavras. As palavras-chave devem vir imediatamente após o resumo, em ordem alfabética, devem ser no máximo 5 (cinco) e devem ser palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo do artigo.

Layout do Manuscrito

1. Formato: cada manuscrito original deve ser devidamente identificado pelo título e nome(s) do(s) autor(es). A fonte utilizada deve ser Arial (tamanhos de fonte: 16pt para o título, 14pt para os subtítulos no corpo do texto e 12pt para o corpo do texto), em espaçamento duplo e em papel A4 (21,0 x 29,7cm) com margens de 1,5 cm. As linhas e páginas devem ser numeradas consecutivamente. O manuscrito deve ser salvo em .doc (Microsoft Word ou editor de texto compatível). Somente nomenclaturas oficiais e reconhecidas serão aceitas. Abreviações não devem ser utilizadas no título.

2. folha de rosto: todos os manuscritos devem ter uma folha de rosto com o título, o(s) nome(s) completo(s) do(s) autor(es) e a instituição de origem. Uma nota de rodapé com o endereço para correspondência completo e o email do autor a quem principal deve ser incluída nesta página.

3. Tabelas: as tabelas devem ser numeradas consecutivamente em números indo-arábicos e devem ter um título descritivo. Todas as explicações devem ser dadas em uma legenda imediatamente abaixo da figura. Todas as abreviações que apareçam na tabela devem ser explicadas nesta legenda, mesmo que sejam também explicadas no corpo do texto. As tabelas devem poder ser compreendidas sem qualquer referência ao corpo do texto.

4. Ilustrações (fotografias, gráficos e desenhos): as ilustrações devem ser

numeradas consecutivamente em números indo-arábicos e devem ser enviadas no mesmo documento (arquivo) mas em páginas separadas, que devem também trazer o nome do artigo, o(s) nome(s) do(s) autor(es) e a indicação do local no corpo do texto onde a ilustração deve aparecer. Fotografias, figuras e material escaneado devem ser enviados em alta resolução (no mínimo 600 dpi) e no formato .tif ou .jpg. As figuras serão publicadas em preto e branco. Um acordo em relação aos custos da impressão colorida deve ser firmado caso o autor deseje publicar as ilustrações coloridas.

5. Unidades: o Sistema Internacional de Unidades (SI) deve ser usado para medidas e abreviações.

6. Referências: as referências devem aparecer em ordem alfabética de acordo com o sobrenome do autor. A lista completa de referências deve ser mencionada. Todos os autores de cada artigo devem ser citados.

Exemplos:

Bakst MR, Gupta K, Akuffo V. Comparative development of the turkey and chicken embryo from cleavage through hypoblast formation. *Poultry Science* 1997; 76(1):83-90.

Bouzoubaa K, Nagaraja KV. Epidemiological studies on the incidence of salmonellosis in chicken breeder/hatchery operations in Morocco. In: Snoeyenbos GH, editor. *Proceedings of the International Symposium on Salmonella*; 1984; Kenneth Square, PA: American Association Avian Pathologists; 1985. p.337.

Briceno WNO, Guimarães FCR, Cruz FGG. Efeitos da densidade populacional de frangos de corte em época quente no município de Manaus. In: 10o Congresso Brasileiro de Avicultura; 1987; Natal, Rio Grande do Norte. Brasil. p. 131-2.

Gabriel JE. Efeitos do nível energético da ração e do estresse térmico na expressão da proteína de choque térmico Hsp70 e nos níveis do seu mRNA no fígado de frangos de corte em diferentes estágios de desenvolvimento. [Dissertation]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1996.

Ginsburg M. Primordial germ cell development in avians. *Poultry Science* 1997; 76(1):91-5.

Simon VA, Oliveira C. Vacinação em avicultura através da água de bebida. In: Macari M, editor. *Água na avicultura industrial*. Jaboticabal: Funep-Unesp; 1996. p. 73-85.

Summers JD, Leeson S. *Commercial poultry nutrition*. 2 ed. New York; N.Y / State Manual Book & Periodical Services; 1997.

7. Citações no corpo do texto: o sobrenome do autor deve ser seguido pelo ano em parênteses. No caso de dois autores, os dois sobrenomes devem aparecer. No caso de mais de dois autores, a citação deve ser feita usando-se o sobrenome do primeiro autor seguido pela expressão *et al.* (em itálico).

Exemplos:

Simon (1996) Silva & Silva (1988); Briceno et al. (1987)

ANEXO C

Normas do periódico “Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia”

Artigo científico

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" – Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras e Referências.

O número de Referências não deve exceder a 30.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal.

Formatação do texto

O texto NÃO deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como “Main Document” (Step 6), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.

Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

Título: Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

Autores e Filiação: Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no “Title Page” (Step 6), em arquivo Word.

Resumo e Abstract: Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação completa.

Palavras-chave e Keywords: No máximo cinco e no mínimo duas*.

* na submissão usar somente o Keyword (Step 2) e no corpo do artigo constar tanto keyword (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.

Introdução: Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.

Material e Métodos: Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA. (verificar o Item Comitê de Ética).

Resultados: Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

Tabela. Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Figura. Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Nota: Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

Discussão: Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).

Conclusões: As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, SEM revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

Agradecimentos: Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

Referências: As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, adaptadas para o ABMVZ, conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);

dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);

mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979);

mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original.

Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto,

citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não faz parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. *Periódicos* (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. Am. J. Vet. Res., v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. Not. Med. Vet., n.1, p.13-20, 1984.

3. *Publicação avulsa* (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. Anais... São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. *Documentos eletrônicos* (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.