

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**UTILIZAÇÃO DE MINERAIS COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS EM DIETAS
DE GALINHAS POEDEIRAS SEMIPESADAS NA FASE DE PRODUÇÃO**

HERALDO BEZERRA DE OLIVEIRA

**RECIFE-PE
JULHO-2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**UTILIZAÇÃO DE MINERAIS COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS
EM DIETAS DE GALINHAS POEDEIRAS SEMIPESADAS NA
FASE DE PRODUÇÃO**

HERALDO BEZERRA DE OLIVEIRA

Zootecnista

**RECIFE-PE
JULHO-2019**

HERALDO BEZERRA DE OLIVEIRA

**UTILIZAÇÃO DE MINERAIS COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS
EM DIETAS DE GALINHAS POEDEIRAS SEMIPESADAS NA
FASE DE PRODUÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição e produção de não-ruminantes

Comitê de Orientação:

Prof. Dr Carlos Bôa-Viagem Rabello – Orientador Principal

Prof.^a Dr.^a Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke - Coorientadora

Prof.^a Dr.^a Mércia Rodrigues Barros - Coorientadora

RECIFE - PE

JULHO-2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

O48u Oliveira, Heraldo Bezerra de
 Utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de
 galinhas poedeiras semipesadas na fase de produção / Heraldo
 Bezerra de Oliveira. – 2019.
 101 f.: il.

 Orientador: Carlos Bôa-Viagem Rabello.
 Coorientadoras: Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke,
 Mércia Rodrigues Barros.
 Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
 Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife, 2019.
 Inclui referências.

 1. Galinha 2. Dietas 3. Intestinos - Histologia 4. Ovos –
 Qualidade 5. Minerais na nutrição animal 6. Aminoácidos na
 nutrição animal 7. Ossos I. Rabello, Carlos Bôa-Viagem, orientador
 II. Ludke, Maria do Carmo Mohaupt Marques, coorient. III. Barros,
 Mércia Rodrigues, coorient. IV. Título

CDD 636

HERALDO BEZERRA DE OLIVEIRA

**UTILIZAÇÃO DE MINERAIS COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS
EM DIETAS DE GALINHAS POEDEIRAS SEMIPESADAS NA
FASE DE PRODUÇÃO**

Tese defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 29 de julho de 2019.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Zootecnia
Presidente

Prof. Dr. Danilo Teixeira Cavalcante
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Unidade Acadêmica de Garanhuns

Profa. Dra. Elisanie Neiva Magalhães Teixeira
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Escola Agrícola de Jundiá

Prof. Dr. Júlio César dos Santos Nascimento
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Marcos José Batista dos Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco

RECIFE – PE

JULHO-2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HERALDO BEZERRA DE OLIVEIRA – Filho de Eraldo Bezerra Barros e Lúcia Maria de Oliveira Andrade, nasceu em 12 de outubro de 1988, na cidade de Calçado, estado de Pernambuco. Iniciou o curso de Zootecnia no ano de 2006 e em agosto de 2011 tornou-se Bacharel em Zootecnia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Garanhuns. Em 2012, iniciou o mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal da Paraíba, desenvolvendo sua pesquisa na área de Fisiologia aviária e fisiologia do estresse, sob orientação da Professora Dr^a Patrícia Emília Naves Givisiez. Em fevereiro de 2014 submeteu-se a defesa de dissertação, obtendo o título de Mestre em Zootecnia. No período de 2014/2015 atuou como agente de ATER pelo Instituto de Inovação para o Desenvolvimento Sustentável Rural de Alagoas (Emater-AL). Em agosto de 2015 ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, na área de concentração de Nutrição e Produção de Não-Ruminantes, sob orientação do Professor Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello. Em julho de 2019, submeteu-se a defesa de tese como requisito para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Sei que ainda falta muito para eu chegar aonde Deus quer que eu chegue.

Dia após dia, Ele vem me quebrando, me reconstruindo, me moldando...

Eu ainda não sou nem um vaso. Devo ser praticamente uma “cuinha”.

Mas, sabe o que Deus tem me mostrado?

Que “cuinhas” já suportam azeite.

(Autor desconhecido)

Eu penei, mas aqui cheguei...

(Luiz Gonzaga “O rei do baião”)

Minha linda mãe, Lúcia Oliveira

Por ser para mim concretamente sinal do Amor de Deus

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao bondoso Deus, por me abençoar nesta caminhada.

Aos meus familiares, pais (Eraldo e Lúcia), irmãos (Andréa, Alessandra, Aline, Anacelly e Hesdras) pelo apoio incondicional, torcida, incentivo e por entenderem minhas ausências.

À minha namorada, Verônica, por estar sempre ao meu lado mesmo que distantes fisicamente e por ser uma das minhas maiores incentivadoras.

Aos meus sobrinhos, Giovanna e Saulo Victor, pela atenção dedicada a mim.

Ao amigo, Adjoel Araújo, por sua amizade e pelas inúmeras vezes que se disponibilizou e “quebrou meus galhos” nos trajetos Calçado-Lajedo-Caruaru-Recife.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao professor Carlos Bôa-Viagem, pela oportunidade de fazer parte da equipe, pelos seus ensinamentos, ética e profissionalismo.

Às professoras e membros do comitê de orientação, Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke e Mércia Rodrigues Barros, pelas contribuições necessárias para melhoria do trabalho.

Aos pós-doutorandos do Departamento de Zootecnia, Marcos José e Janaina Arandas, pela ajuda na realização das análises estatísticas.

Aos colegas do grupo de pesquisa de avicultura da UFRPE, pelo apoio nas análises de qualidade de ovos e coleta de final do experimento de campo.

Aos estrangeiros, Juancho e Ysnagmi, pela oportunidade convivência. Em especial, Juancho pelo apoio na pesquisa de campo.

Aos amigos que junto a mim assumiram a equipe do projeto Zinpro: Waleska Ventura, Rogério Ventura, Andresa Faria e Camilla Gomes. Por serem peças fundamentais na realização da pesquisa de campo e análises laboratoriais, pelo convívio saudável no decorrer do experimento e, sobretudo, pela garra que todos abraçaram comigo a causa para que tudo ocorresse como programado. “O sucesso não vem do quanto você trabalha e sim da eficiência de sua equipe” (autor desconhecido).

À Zinpro Corporation, na pessoa de Alba Fireman, pelo financiamento da pesquisa e contribuição científica;

À granja Ovo Novo, pelas instalações cedidas para realização da pesquisa. Em especial, ao Sr. José, granjeiro que dividia comigo o galpão, pela ajuda, cuidado e atenção dispensada.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da UFRPE. Em especial aos técnicos do laboratório de Nutrição Animal (LNA), Vanessa e Carlos e a técnica do laboratório de carnes, Lili, pelo apoio dispensado e paciência nas análises que pareciam intermináveis.

À Universidade Federal da Paraíba, Laboratório de Avaliação de produtos de Origem Animal, por ceder o texturômetro para análise de resistência à ruptura.

Às técnicas do laboratório de Química Ambiental do Solo, Simone e Josângela, pelo apoio nas análises de composição mineral.

À técnica do laboratório do Departamento de Fisiologia e Morfologia Animal da UFRPE, Edna Barros, pela ajuda no processamento das amostras de histologia.

Ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFRPE, em especial, Ayna, pelas leituras da hematologia.

Aos professores do departamento de Medicina Veterinária, professor Fabiano Séllos, por viabilizar as análises de diagnóstico de imagens e densitometria óssea e pela contribuição científica. E professor Valdemiro, pela ajuda nas fotomicrografias.

Aos bolsistas do projeto, Lucas Delano, Gabriela, Michel e Thaynna, pelo serviço nas análises laboratoriais.

Aos amigos da pós-graduação, Júlia Barros, Almir Ferreira, Jussiede Santos, Juliane Garlet, Carol Ferreira, Lidy Custodio, Gaby Melo, Elis Torres, Marilea Gomes, Marilene Maciel, Dayane Albuquerque, Apolônio Gomes, Elayne Soares, Michelle Siqueira, Glaúcia Moraes, Sharlane Holanda, Bruno Araújo, Luiz Wilker e Sandra Gasparini, pelos bons momentos compartilhados. Em especial, Júlia e Almir, pela convivência saudável e prontidão em ajudar sempre que precisei.

Ao amigo, Felipe José, companheiro de apartamento no primeiro ano de doutorado, pelo apoio e amizade construída.

À minha irmã, Ana Barros, por ser fundamental na minha acomodação no Recife e pelos oito anos de amizade me dando apoio emocional e dividindo alegrias e tristezas.

À Rayanne Moraes e Clariana Santos, pela convivência no apartamento. Em especial a Ray, pela ciência e café compartilhados nas madrugadas.

Aos professores que participaram do exame de qualificação (Patrícia Givisiez, Tayara Soares, Helena Emília e Marcos José) e da defesa de tese (Danilo Teixeira, Elisanie Teixeira, Júlio César Nascimento e Marcos José) pelas contribuições e disponibilidade.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização do doutorado.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	XIV
LISTA DE FIGURAS	XVI
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	XVI
RESUMO GERAL.....	XIX
GENERAL ABSTRACT	XXI
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	23
CAPÍTULO I.....	25
Referencial Teórico	25
Importância dos minerais no organismo animal	26
Microminerais e sua biodisponibilidade biológica	28
Metabolismo dos microminerais de fontes convencionais.....	30
a) Zinco	31
b) Manganês	32
c) Cobre.....	33
d) Ferro.....	34
Metabolismo de minerais complexados a moléculas orgânicas.....	35
Microminerais complexados aminoácidos na nutrição de poedeiras.....	38
Considerações Finais.....	39
Referências Bibliográficas	40
CAPÍTULO II	44
Minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras sobre o desempenho, qualidade de ovos, hematologia e histomorfometria intestinal.....	44
Resumo.....	45
Abstract	46
Introdução	47
Material e Métodos	48
Resultados	56
Discussão	61

Referências Bibliográficas	65
CAPÍTULO III.....	70
Perfil bioquímico, hormonal, composição mineral e características ósseas de galinhas poedeiras suplementadas com minerais complexados a aminoácidos	70
Resumo.....	71
Abstract	72
Introdução	73
Material e Métodos	74
Resultados	83
Discussão	92
Referências Bibliográficas	95
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	101

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – Referencial Teórico

Página

Tabela 1 Exigência de microminerais inorgânicos ou complexados a moléculas orgânicas para poedeiras na fase de produção e percentual de redução.....	29
---	----

Capítulo 2 - Minerais complexados com aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras sobre o desempenho, qualidade de ovos, hematologia e histomorfometria intestinal

Tabela 1 Descrição dos tratamentos experimentais	50
Tabela 2 Composição dos premixes inorgânicos e produtos comerciais utilizados nas dietas	51
Tabela 3 Composição das dietas experimentais	52
Tabela 4 Composição mineral das rações e da água utilizada durante o período experimental	53
Tabela 5 Valores médios do desempenho produtivo de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos	56
Tabela 6 Valores médios de interação entre dietas de criação e produção sobre a conversão por dúzia de ovos de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos	57
Tabela 7 Valores médios da qualidade de ovos de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos	58
Tabela 8 Valores Médios de hematologia de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos	59
Tabela 9 Valores médios da morfometria intestinal de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos.....	60
Tabela 10 Média de interação entre dietas de criação e produção sobre a profundidade de criptas jejunal de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos	61

**Capítulo 3 - Perfil bioquímico, hormonal, composição mineral e características
ósseas de galinhas poedeiras suplementadas com minerais
complexados a aminoácidos**

Página

Tabela 1 Descrição dos tratamentos experimentais	76
Tabela 2 Composição dos premixes inorgânicos e produtos comerciais utilizados nas dietas	77
Tabela 3 Composição das dietas experimentais	78
Tabela 4 Composição mineral das rações e da água utilizada durante o período experimental	79
Tabela 5 Valores médios das características da tíbia de poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos	83
Tabela 6 Valores médios de interação entre dietas de crescimento e produção sobre o índice de Seedor de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos.....	84
Tabela 7 Valores médios da composição mineral óssea de poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos	85
Tabela 8 Média de interação entre dietas de crescimento e produção sobre a relação cálcio e fósforo e concentração de cobre nas tíbias de poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos.....	86
Tabela 9 Valores médios da Radiodensidade das diferentes regiões da tíbia de galinhas poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos	87
Tabela 10 Valores médios da bioquímica sérica e perfil hormonal de galinhas poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos	88
Tabela 11 Valores médios da composição mineral no fígado de galinhas poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos.....	89
Tabela 12 Média de interação entre dietas de crescimento e produção sobre a concentração de manganês e cobre no fígado de galinhas poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos.....	90
Tabela 13 Peso dos fatores para perfil hormonal e bioquímica sérica, características ósseas e retenção mineral de galinhas poedeiras.....	91

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1 – Referencial Teórico	Página
Figura 1 Representação esquemática das inter-relações entre minerais	30
Figura 2 Absorção transcelular de Zinco no enterócito	31
Figura 3 Mecanismo de regulação do Zinco no enterócito	32
Figura 4 Absorção transcelular e paracelular de Manganês no enterócito	33
Figura 5 Absorção transcelular de Cobre no enterócito.....	34
Figura 6 Absorção transcelular de Ferro no enterócito	35
Figura 7 Transporte de um quelato de aminoácido pela membrana	37
Capítulo 2 - Minerais complexados com aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras sobre o desempenho, qualidade de ovos, hematologia e histomorfometria intestinal	
Figura 1 Variação média da temperatura (T, °C) e Umidade relativa do ar (UH, %), durante o período experimental	49
Capítulo 3 - Perfil bioquímico, hormonal, composição mineral e características ósseas de galinhas poedeiras suplementadas com minerais complexados a aminoácidos	
Figura 1 Variação média da temperatura (T, °C) e Umidade relativa do ar (UH, %), durante o período experimental.....	75
Figura 2 Imagem tomográfica em corte transversal da tíbia de galinha poedeira	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AA - Altura de albúmen
AAFCO - Association of American Feed Control Officials
ALB - Albumina
Ar - Arsênico
AST - Aspartato aminotransferase
AV - Altura de vilosidades
C - Carbono
Ca - Cálcio
CA - Conversão alimentar
CDZ - Conversão por dúzia
CH - Chaperones
CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
Cl - Cloro
Co - Cobalto
Col - Colesterol
Comp - Comprimento
Cort - Corticosterona
CR - Consumo de ração
Cr - Cromo
Crea - Creatinina
CTR1 - Proteína transportadora de cobre
Cu - Cobre
DMT1 - Proteína transportadora de metal divalente
EC - Espessura de casca
F - Flúor
FA - Fosfatase alcalina
Fe - Ferro
FP - Ferroportina
FRT - Ferritina
GGT - Gama glutamil transferase
H - Hidrogênio
HCO₃⁻ - Bicarbonato

HPC - Hepcidina
HU - Hounsfield
I - Iodo
IS - Índice de Seedor
ALT - Alanina aminotransferase
K - Potássio
MCA - Mineral complexado a aminoácidos
Mg - Magnésio
MI - Mineral Inorgânico
Mn - Manganês
MO - Massa de ovo
Mo - Molibdênio
MT - Metalotioneína
N - Nitrogênio
Na - Sódio
Ni - Níquel
O - Oxigênio
P - Fósforo
PC- Profundidade de criptas
PO - Peso do ovo
PR - Produção
Prot - Proteína
PV - Peso Vivo
S - Enxofre
Se - Selênio
Si - Silício
TGR - Triglicerídeos
TotT3 - Triiodotironina
TotT4 - Tiroxina
UH - Unidade Haugh
URE - Ureia
V - Vanádio
V:C - Vilo:Cripta
VCM - Volume corpuscular médio

Zn - Zinco

ZnT - Proteínas transportadoras de zinc

UTILIZAÇÃO DE MINERAIS COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS EM DIETAS DE GALINHAS POEDEIRAS SEMIPESADAS NA FASE DE PRODUÇÃO

RESUMO GERAL

Objetivou-se com este estudo avaliar o desempenho, qualidade de ovos, morfometria intestinal, perfis hematológicos, bioquímicos e hormonais, além das características ósseas e composição mineral nos tecidos de galinhas poedeiras em resposta a suplementação de Zn, Mn, Cu e Fe complexados a aminoácidos. No período de um dia de vida até 30 semanas de idade, dois grupos de aves da linhagem Lohmann Brown-Lite foram alimentadas com duas fontes minerais: inorgânicas (70, 70 e 8 mg/kg de Zn, Mn e Cu) ou inorgânicas reduzidas (40, 40 e 2,75 mg/kg de Zn, Mn e Cu) associadas com minerais complexados a aminoácidos (30, 30 e 5,25 de Zn, Mn e Cu). Durante o período experimental, 30 a 50 semanas, 800 galinhas poedeiras, 400 de cada grupo inicial, foram redistribuídas em quatro grupos, definindo um arranjo fatorial 2 x 4 com dez repetições e dez aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram em: 1) MI - contendo 70, 70, 8 mg/kg de Zn, Mn, Cu, provenientes de fontes inorgânicas; 2) MCA-ZMC - substituição parcial das fontes inorgânicas por 30, 30 e 5,25 de Zn, Mn e Cu complexados a aminoácidos; 3) MCA-ZMCFe - substituição parcial das fontes inorgânicas por 30, 30 e 5,25 de Zn, Mn e Cu e 40 mg/kg de Fe complexados a aminoácidos; 4) MCA-Fe - Substituição parcial das fontes inorgânicas por 40 mg/kg de Fe complexados a aminoácidos. Os dados de desempenho, qualidade de ovos, morfometria intestinal e hematológicos foram submetidos à análise de variância e quando diferentes comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$). Os dados de perfil bioquímico e hormonal, características ósseas e composição mineral foram submetidos à análise de variância multivariada e análise de fatores e comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). A utilização de minerais MCA substituindo parcialmente as fontes inorgânicas em dietas de galinhas poedeiras desde a fase de criação promoveu aumento da massa de ovos e melhoria da conversão alimentar por massa de ovos (kg de ração/kg de ovos). Observou-se interação entre as fases de alimentação e tratamentos para conversão por dúzia de ovos (kg de ração/dúzia de ovos); Aves alimentadas com dietas contendo apenas MI na fase de crescimento e MCA-ZMCFe durante a fase de produção apresentaram melhor conversão por dúzia de ovos. Não houve interação entre os tratamentos e as fases de alimentação relacionadas aos parâmetros de qualidade dos ovos. Aves alimentadas com MCA apresentaram aumento na espessura da casca do ovo, peso de ovo e do albúmen. A cor da casca do ovo foi afetada pela fonte mineral, onde cascas de ovos mais escuras foram observadas para os grupos MCA-ZMC ou MCA-ZMCFe. A morfometria intestinal foi melhorada quando as aves foram alimentadas com MCA tanto no período de crescimento quanto de produção. Aves alimentadas apenas com minerais inorgânicos durante a fase de crescimento apresentaram maior profundidade de criptas e redução da relação V:C nos dois segmentos avaliados. Já na fase de produção aves alimentadas com alguma fonte MCA apresentaram aumento da altura de vilosidades no duodeno. Houve interação para profundidade de cripta para o grupo que recebeu MCA durante o período de crescimento e produção. Criptas mais profundas foram observadas para o grupo de aves suplementadas apenas com MI e menor profundidade de cripta quando receberam MCA em qualquer período da vida. Para os perfis hematológicos, bioquímicos e hormonais, não houve nenhuma interação entre as fases de crescimento e produção. No entanto, houve efeito dos tratamentos para a enzima aspartato aminotransferase e o hormônio tiroxina para as aves suplementadas com MCA-ZMC durante a fase de crescimento. As características ósseas e composição mineral nas tíbias foram influenciadas pelos tratamentos. Houve interação para o índice de seedor verificando aumento desta variável para as aves suplementadas com o MCA-ZMC durante a fase de crescimento e que receberam o MCA-ZMCFe durante a fase de

produção. Aves alimentadas com MCA-Fe durante a fase de produção reduziram a resistência a ruptura e diminuíram a concentração de fósforo e a radiodensidade. Para as aves suplementadas com MCA-ZMCFe houve redução na concentração de cobre. No entanto, houve aumento da concentração de cálcio, proporcionando uma maior relação cálcio/fósforo para as aves suplementadas com MCA-Fe. Em relação a composição de minerais no fígado, observou-se interação para manganês e cobre, demonstrando que as aves que receberam o MCA-ZMC desde a fase de crescimento até a produção apresentaram maior concentração de manganês e a concentração de cobre foi maior para as aves suplementadas com MCA-ZMC durante a crescimento e produção quando comparada com o grupo de aves que receberam apenas o MCA-Fe durante a fase de produção. Verificou-se ainda, menor retenção de cálcio e fósforo para as aves alimentadas com MCA-Fe associado ou não ao MCA-ZMC durante a fase de produção e para o grupo de aves MI na fase de crescimento houve maior deposição de fósforo. Assim, a suplementação de Zn, Mn, Cu e Fe MCA substituindo parcialmente as fontes inorgânicas desde a fase de crescimento e produção na dieta de galinhas poedeiras melhora o desempenho, qualidade de ovos, morfologia intestinal, acelera o metabolismo e aumenta a retenção de manganês no fígado e altera as características ósseas e retenção de minerais nas tíbias.

Palavras-chave: Características ósseas, desempenho, fonte mineral, histologia intestinal, qualidade de ovos, retenção mineral

UTILIZATION OF AMINO ACID COMPLEX MINERALS IN DIETS FOR SEMI-HEAVY LAYING HENS DURING PRODUCTION PHASE

GENERAL ABSTRACT

The aim of this study was to examine performance; egg quality; intestinal morphometry; hematological, biochemical and hormonal parameters; bone characteristics; and tissue mineral composition of laying hens in response to supplementation with Zn, Mn, Cu and Fe complexed to amino acids. From one day to 30 weeks of age, two groups of Lohmann Brown-Lite birds were fed two mineral sources (inorganic [70, 70 and 8 mg/kg of Zn, Mn and Cu] or reduced inorganic [40, 40.2 and 2.75 mg/kg of Zn, Mn and Cu]) associated with amino acid complex minerals (AACM) (30, 30 and 5.25 of Zn, Mn and Cu). During the experimental period—30 to 50 weeks—800 layers (400 from each initial group) were redistributed into four groups, constituting a 2×4 factorial arrangement with ten replicates and ten birds per experimental unit. The following treatments (diets) were tested: 1) IM - containing 70, 70 and 8 mg/kg of Zn, Mn and Cu, from inorganic sources; 2) AACM-ZMC - partial substitution of the inorganic sources for 30, 30 and 5.25 ppm of Zn, Mn and Cu complexed to amino acids; 3) AACM-ZMCFe - partial substitution of the inorganic sources for 30, 30 and 5.25 ppm of Zn, Mn and Cu plus 40 mg/kg of Fe complexed to amino acids; and 4) partial substitution of the inorganic sources for 40 mg/kg of Fe complexed to amino acids. Performance, egg quality, intestinal morphometry and hematological data were subjected to analysis of variance and, when different, compared by Tukey's test ($P < 0.05$). Biochemical and hormonal profile, bone characteristics, and mineral composition data were subjected to multivariate analysis of variance and factor analysis and compared by Tukey's test ($P < 0.05$). The use of AACM partially replacing inorganic sources in layer diets from the pre-starter phase increased egg mass and improved feed conversion per egg mass (kg of diet/kg of eggs). An interaction effect was observed between the feeding phases and treatments for conversion per dozen eggs (kg of diet/dozen eggs). The birds which were fed diets containing only IM in the grower phase and AACM-ZMCFe during the laying phase showed better conversion per dozen eggs. There was no interaction effect between treatments and feeding phases on the egg quality parameters. Birds fed AACM exhibited an increase in eggshell thickness, egg weight and albumen weight. Additionally, eggshell color was affected by the mineral source, with the darkest shells observed in the groups which consumed AACM-ZMC or AACM-ZMCFe. Intestinal morphometry was improved when the birds were fed AACM in both the growing and laying phases. The hens fed only inorganic minerals during the growing phase showed a deeper crypt and a decrease in V:C ratio in the two evaluated segments. In the laying phase, in turn, the birds fed some AACM source showed increased villus height in the duodenum. There was an interaction effect for crypt depth in the group which received AACM during the growing and laying phases. Deeper crypts were observed in the group supplemented only with IM, whereas a lower crypt depth was obtained when the birds received AACM in any of the evaluated rearing phases. The hematological, biochemical and hormonal profiles were not affected by the interaction between the growing and laying phases. However, there was a treatment effect for aspartate aminotransferase and thyroxine hormone in the birds supplemented with AACM-ZMC during the growing phase. Bone characteristics and tibia mineral composition were not influenced by the treatments. An interaction effect was detected for the Seedor index, which increased in the birds supplemented with AACM-ZMC during the growing phase and which received AACM-ZMCFe during the laying phase. Furthermore, the hens fed AACM-Fe during the laying phase had a reduction in breaking resistance, phosphorus concentration and

radiodensity. Those supplemented with AACM-ZMCFe exhibited a reduction in copper concentration. However, there was an increase in calcium concentration which led to a higher calcium/phosphorus ratio in the birds supplemented with AACM-Fe. Regarding the mineral composition of the liver, an interaction effect was detected for manganese and copper; the birds which received AACM-ZMC from the growing to the laying phase showed higher concentrations of manganese, and those supplemented with AACM-ZMC during the growing and laying phase exhibited a higher copper concentration when compared to the group that received only AACM-Fe during the laying phase. Additionally, lower calcium and phosphorus retention was observed in the birds fed AACM-Fe associated or non-associated with AACM-ZMC during the laying phase, and increased phosphorus deposition was found in the group of birds receiving IM in the growing phase. Therefore, supplementation with Zn, Mn, Cu and Fe as AACM partially replacing the inorganic sources in the diet of laying hens from the growing and laying phases improves their performance, egg quality and intestinal morphology; increases metabolism and manganese retention in the liver; and changes bone characteristics and mineral retention in the tibia.

Key words: bone characteristics, egg quality, intestinal histology, mineral source, mineral retention, performance

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A avicultura de postura se destaca no cenário mundial pelos excelentes índices zootécnicos que contribuem para maximização do desempenho. Este progresso é atribuído ao melhoramento genético, manejo, sanidade e avanços na nutrição. Dentre estes avanços, destaca-se a utilização de minerais complexados a aminoácidos que atuam na melhoria dos índices produtivos, qualidade interna e externa dos ovos, deposição de minerais nos tecidos, metabolismo intermediário, hormonal e sistemas de defesa imunológica e redução de excreção para o ambiente.

Os minerais inorgânicos sofrem dissociação da sua forma química promovida pela acidez do ambiente estomacal. Esta separação liberam os íons metálicos que são ionizados para tornarem passíveis a absorção. No entanto, os metais apresentam baixa solubilidade e o grau de absorção dependerá da capacidade de ligação e da característica da molécula orgânica que estes elementos irão se ligar para facilitar o trânsito intestinal. Além disso, devido a condição de pH e a característica química do trato gastrointestinal, a molécula pode não ser estável o suficiente sofrendo quebra no lúmen intestinal impedindo a absorção e metabolização.

Neste sentido, as vantagens da utilização dos minerais complexados a aminoácidos quando comparada com as fontes inorgânicas são atribuídas as características de solubilidade, estabilidade, absorvibilidade e metabolizabilidade da molécula que permitem a passagem pelo trato gastrointestinal de forma intacta sem sofrer interação com componentes da dieta e competições por sítios de ligação. Estas características aumentam a biodisponibilidade destas fontes com redução do nível de inclusão nas dietas, ou seja, níveis mais baixos são capazes de suprir as exigências das aves com efeito direto sobre o desempenho e qualidade dos ovos.

É importante averiguar o uso destas fontes desde o início da vida das aves, pois, práticas adotadas durante a fase de cria e recria afetam diretamente a produção de ovos. Desta forma, surge então a necessidade de avaliar os efeitos da utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras desde a fase inicial de criação.

Esta tese é composta por três capítulos. No capítulo I é apresentado um referencial teórico, trazendo informações referentes a fisiologia da digestão de acordo com a fonte mineral utilizada, biodisponibilidade destas fontes e a importância de sua utilização na dieta de poedeiras. O capítulo II, aborda os efeitos da utilização dos minerais complexados a aminoácidos sobre o desempenho, qualidade de ovos, hematologia e morfometria intestinal. E o capítulo III apresenta os resultados referentes a suplementação de minerais complexados a aminoácidos na dieta de galinhas poedeiras sobre as características ósseas, composição mineral

nos tecidos e excreção mineral. Os capítulos II e III foram redigidos conforme as normas vigentes para preparação de artigos a serem submetidos ao periódico Poultry Science.

CAPÍTULO I

Referencial Teórico

IMPORTÂNCIA DOS MINERAIS NO ORGANISMO ANIMAL

Os minerais são elementos essenciais na nutrição animal por desempenharem funções variadas no organismo, atuando de forma estrutural como componentes de órgãos e tecidos, fisiológica na manutenção da homeostase de fluidos orgânicos, regulatória na replicação e na diferenciação celular, além de participarem como agentes catalíticos na maioria das reações do metabolismo (SUTTLE, 2010). Por estarem envolvidos em grande número de processos metabólicos, muitas das suas funções ainda não estão totalmente conhecidas (VIEIRA, 2008).

Segundo McDowell (1992) 25 elementos são considerados essenciais para os animais, dos quais, 11 são referenciados como macrominerais e são requeridos em concentrações superiores a 100 ppm estando nesse grupo, carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N), oxigênio (O), enxofre (S), cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), e magnésio (Mg), e 14 são definidos como elementos traços ou microminerais e são exigidos em concentrações menores que 100 ppm e às vezes como ppb, encontrando-se nesta classificação os minerais, ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn), níquel (Ni), cobalto (Co), molibdênio (Mo), selênio (Se), cromo (Cr), iodo (I), flúor (F), silício (Si), vanádio (V), arsênico (As). Apesar da menor exigência, os elementos traços são igualmente essenciais na nutrição animal apresentando funções fisiológicas bem definidas. Portanto, é necessário compreender os processos relacionados à absorção e metabolização destes minerais para garantir a maximização do desempenho.

O elemento ferro (Fe) está presente nos tecidos moles do organismo e sua maior parte encontra-se ligada sob o complexo hemoglobina que tem a função de transportar o oxigênio para as células e de regulação da respiração celular (MCDOWELL, 1992). Sua deficiência normalmente ocorre devido a qualidade das fontes de ferro utilizadas e, também, relacionada com a baixa disponibilidade (SARTORI et al, 2009). O óxido férrico e carbonato ferroso são pobres fontes deste mineral, enquanto que o sulfato ferroso e cloreto de ferro são considerados boas fontes (SUTTLE, 2010). Com relação a biodisponibilidade, são muitos os fatores que podem influenciar como o estado de valência do mineral e pela formação de complexos insolúveis (BESS, 2012).

Bertechini et al. (2000) avaliando os efeitos da suplementação de ferro sobre o desempenho, qualidade do ovo, deposição de ferro na gema e parâmetros sanguíneos de poedeiras comerciais no segundo ciclo de produção não observaram diferenças no desempenho, na qualidade externa e internas dos ovos e nem nos parâmetros sanguíneos. No entanto,

verificaram elevação linear nos conteúdos de ferro em mg/100g quando suplementado na dieta até o nível de 80 ppm.

O micromineral zinco (Zn) está presente em todos os tecidos estando sua maior concentração no fígado, pele e ossos e tem atuação em vários sistemas enzimáticos, bem como está envolvido nos processos de multiplicação celular. O principal local de armazenamento são os ossos participando da cristalização da hidroxiapatita óssea, no crescimento da placa dos condrócitos e atuando na transcrição de genes relacionados a ossificação, como também é importante no fornecimento do íon HCO_3^- para formação da casca do ovo. A disponibilidade desse mineral pode ser comprometida em razão da tendência de formação de complexos principalmente com o fitato da dieta, além de interações com outros minerais como P, Cr, Na, Fe dentre outros, necessitando ser suplementado acima das recomendações para evitar deficiência (MCDOWELL, 1992).

O Manganês (Mn), está presente principalmente no fígado, mas também está em outros órgãos, tais como, na pele, músculos e ossos. Tem função essencial na formação do sulfato de condroitina, importante componente da cartilagem óssea. A deficiência de Mn é caracterizada por osteopatias, tais como perose, encurtamento e má formação dos ossos das pernas, além de ter efeito negativo sobre a produção de ovos. A absorção desse mineral é baixa, em razão de competições pelos sítios de ligação com o Fe e Co no enterócito, além disso minerais como o Ca, P e Fe reduzem a sua solubilidade diminuindo sua eficiência de absorção sendo detectado grandes quantidades nas excretas (MCDOWELL, 1992; SUTTLE, 2010).

O Cobre (Cu) tem participação ativa na respiração celular, na formação óssea, na função cardíaca, no desenvolvimento do tecido conectivo, na mielinização da medula espinhal, queratinização e pigmentação dos tecidos. Sua deficiência em poedeiras e matrizes ocasiona em queda na produção de ovos, decréscimo na eclodibilidade, aumento de incidência de ovos de casca fina ou sem casca. Aves mais jovens possuem maiores teores hepáticos desse mineral quando comparado com aves adultas, sendo justificado pela maior necessidade quando jovens para formação dos constituintes do sangue nas fases inicial e de crescimento (MCDOWELL, 1992).

A suplementação destes microminerais é essencial, visto que as matérias-primas de origem vegetal comumente utilizadas na formulação de rações apresentam baixa disponibilidade, devendo suprir sem excesso ou falta suas exigências nutricionais, pois níveis muito acima dos requeridos podem acarretar em sinais de toxicidade com comprometimento no desempenho e níveis abaixo resultam em sinais de deficiência. Sendo necessário, o

conhecimento do limite entre esses extremos de modo a garantir a manutenção da homeostase e o equilíbrio fisiológico do animal.

MICROMINERAIS E SUA BIODISPONIBILIDADE BIOLÓGICA

Diferentes fontes de microminerais podem ser utilizadas na pré-mistura mineral com o objetivo de garantir o correto funcionamento do metabolismo animal. Óxidos, sulfatos, cloretos, carbonatos e fosfatos são as fontes mais comumente utilizadas, no entanto, foi comprovado em estudos sua menor eficiência de utilização pois, ao atingirem o trato gastrointestinal, podem se complexar a outros componentes da dieta, tornando-se quimicamente indisponíveis para absorção. Na prática, são suplementados acima das exigências dos animais para evitar deficiências. Esta estratégia parece não ser tão eficiente, pois o excesso de minerais pode causar problemas interativos no intestino, afetando a absorção e metabolismo de outros devido às interações que podem ocorrer e competições pelos sítios de ligação, o que torna a absorção altamente variável, bem como aumento da excreção (MCDOWELL, 1992; ARAÚJO et al., 2008).

Os minerais complexados a moléculas orgânicas é uma alternativa de ser suplementados nas dietas e, devido à estabilidade da molécula no trato gastrointestinal, apresentam maior disponibilidade quando comparado com as fontes de sais inorgânicos (FAVERO et al., 2013). Seu processo de absorção é favorecido pela absorção ativa do aminoácido e pela redução das interações entre minerais. Devido à maior biodisponibilidade desses complexos, a exigência pode ser satisfeita em níveis mais baixos na dieta, possibilitando redução do seu nível de inclusão, minimizando o impacto ambiental dos dejetos pela redução da excreção para o ambiente (RICHARDS et al., 2010). De fato, Rostagno et al. (2017), nas tabelas de exigências nutricionais já vêm apresentando menores requerimentos na suplementação dos microminerais com redução estimada de 55 a 56% quando estes estão ligados a moléculas orgânicas (Tabela 1).

Tabela 1 Exigência de microminerais inorgânicos ou complexados a moléculas orgânicas para poedeiras na fase de produção e percentual de redução

Microminerais	Inorgânico	Mineral complexado a moléculas Orgânicas	Redução
		mg/kg	%
Zinco	59,63	26,50	55,56
Manganês	64,20	28,49	55,62
Cobre	9,14	3,98	56,45
Ferro	45,85	19,88	56,64
Selênio	0,275	0,120	56,36

Fonte: Adaptado de Rostagno et al. (2017)

Trabalhos realizados relataram que a utilização de minerais complexados com moléculas orgânicas em níveis muito mais baixos daqueles recomendados promoveu resultados positivos no desempenho produtivo e na qualidade de ovos (NOLLET et al., 2007; FIGUEIREDO JR., 2013), sem comprometimento nos parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue (AKSU et al., 2010). Ademais, há a vantagem de reduzir a excreção para o ambiente.

Miles & Henry (2000) pontuam algumas pressuposições que confirmam a maior biodisponibilidade relativa dos minerais complexados a moléculas orgânicas: 1) A estrutura em forma de anel protege o mineral de reações químicas indesejadas no trato gastrointestinal; 2) A molécula passa intacta facilmente através da célula intestinal para a corrente sanguínea; 3) Há aumento da absorção passiva, reduzindo interações entre o mineral e outros nutrientes; 4) O mineral é entregue de forma similar que é utilizado no tecido; 5) São absorvidos por rotas diferentes das utilizadas pelos minerais inorgânicos, podendo ser absorvidos pelo sistema de transporte dos aminoácidos; 6) São mais estáveis a um pH baixo e mais solúveis, facilitando o movimento através de membranas celulares. Dado o aumento da biodisponibilidade das fontes orgânicas, pode ser possível reduzir seus níveis de inclusão sem comprometer o desempenho dos animais reduzindo a excreção para o ambiente (BURRELL et al., 2004; RICHARDS et al., 2010).

As vantagens na utilização de minerais complexados a moléculas orgânicas em comparação com as fontes inorgânicas podem não ser tão evidentes em todas as situações, isso porque existem interações e reações no lúmen intestinal que também podem influenciar na disponibilidade dessas moléculas. As taxas de absorção podem variar de acordo com fatores relacionados ao ligante, como estabilidade e peso molecular (ASHMEAD, 1993).

Quando em altas concentrações, muitos minerais podem utilizar a absorção paracelular, onde o mineral difunde-se através da junção entre as células ou movem-se com o volume fluxo de água entre as células epiteliais intestinais para entrar na corrente sanguínea. Em situações em que há baixas concentrações dietéticas de minerais, estes são dependentes de mecanismos de transporte pela via transcelular, através de proteínas transportadoras específicas, que permitem o transporte dos minerais através da membrana apical dos enterócitos e membrana basolateral (GOFF, 2017). Existe especificidade nos mecanismos de transporte para cada mineral e, portanto, a seguir será dada atenção especial ao processo de absorção dos microminerais Zinco, Manganês, Cobre e Ferro e seus destinos metabólicos após o processo absorptivo.

a) Zinco

Na membrana apical do enterócito, o zinco pode ser transportado através das proteínas transportadoras de zinco (ZnT), dentre as proteínas, a ZIP4 é a mais abundante. O transporte apical de zinco, também, pode ser realizado pela proteína transportadora de metal divalente (DMT1), sendo este mecanismo de transporte comum a outros minerais, como o ferro, manganês e cobre, sugerindo mecanismo de competição dos metais pelo sítios de absorção. No enterócito, o Zn^{2+} pode ser utilizado pela própria célula ou capturado pela ZNT7 e transportado até a ZNT1, que é a proteína transportadora presente na membrana basolateral que move o zinco para a corrente sanguínea (Figura 2) (GOFF, 2017). Na circulação portal, a albumina (Alb) e a transferrina são as proteínas responsáveis por carrear o Zn^{2+} para o fígado, onde é liberado na circulação sistêmica e redistribuído para outros tecidos.

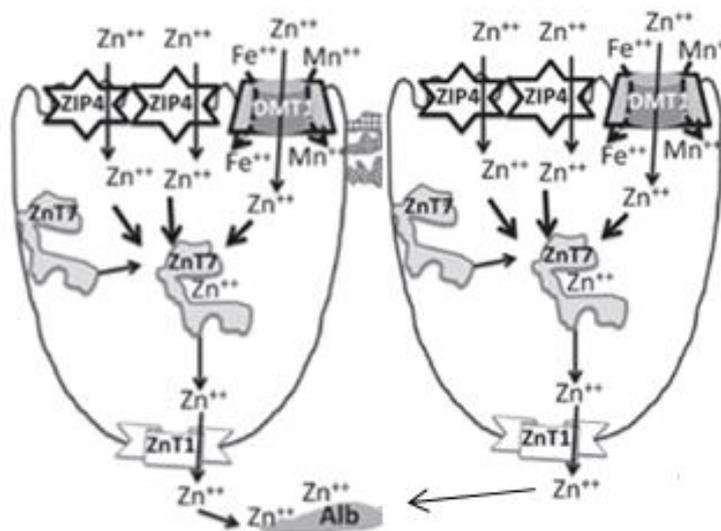


Figura 2 Absorção transcelular de Zinco no enterócito (Fonte: Adaptado de Goff, 2017)

No interior da célula intestinal, o zinco pode ligar-se a metalotioneína (MT) proteína sintetizada no fígado e composta basicamente de resíduos de cisteína, que é responsável por ligar o zinco e outros metais que entram no corpo, combatendo o estresse oxidativo e atua como reserva de zinco, o qual é mobilizado durante necessidades metabólicas (Figura 3) (GOFF, 2017).

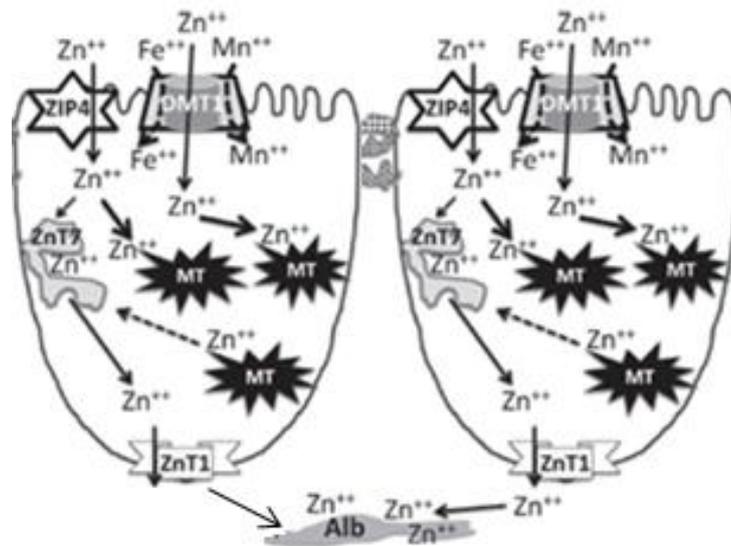


Figura 3 Mecanismo de regulação do Zinco no enterócito (Fonte: Adaptado de Goff, 2017)

Em estudo sobre a cinética da absorção de zinco, Yu et al. (2008) observaram maior expressão relativa de mRNA de MT e ZNT no duodeno e jejuno de frangos de corte, porém, através das curvas cinéticas observaram que sua absorção é mediada por um processo saturável, já no íleo, o transporte é regulado por difusão simples, portanto, de forma insaturável.

b) Manganês

O processo de absorção do manganês pode ocorrer por difusão paracelular quando seus níveis no lúmen intestinal estão altos e também por via transcelular, através da proteína transportadora DMT1 localizada na membrana apical. O ZIP14, membro da família dos transportadores de zinco, também pode transportar Mn²⁺ através da membrana apical. Os mecanismos de transporte da membrana apical até a membrana basolateral no interior da célula ainda são desconhecidos, porém, sabe-se que existem chaperonas (CH) responsáveis por esse transporte (Figura 4) (GOFF, 2017).

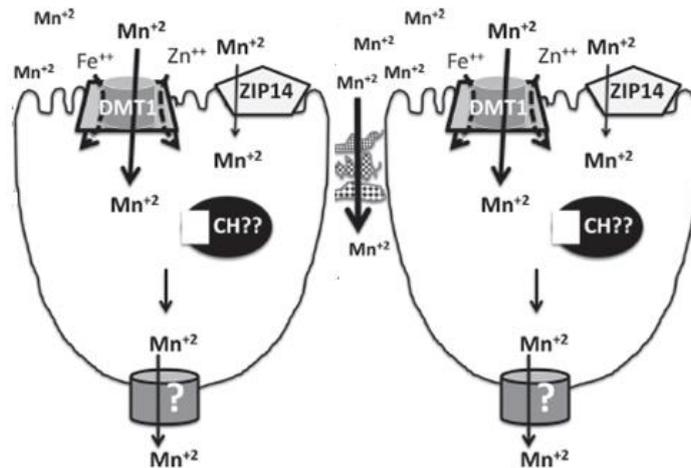


Figura 4 Absorção transcelular e paracelular de Manganês no enterócito (Fonte: Adaptado de Goff, 2017)

De modo semelhante à cinética de absorção do zinco, BAI et al. (2008) também verificaram um processo insaturável de difusão de Mn no íleo de frangos de corte. Apesar dos maiores níveis de mRNA de DMT1 no duodeno e jejuno sua absorção mostrou-se um processo saturável.

c) Cobre

O elemento cobre (Cu) geralmente está presente na dieta na sua forma cúprica (Cu^{2+}), no entanto, apenas a forma cuprosa (Cu^+) é considerada passível de ser absorvida. Nesse contexto, na membrana da borda em escova uma enzima metaloredutase (R) reduz o Cu, tornando-o disponível para absorção. A absorção ocorre com o auxílio da proteína transportadora de cobre (CTR1), que promove seu transporte através da membrana apical. No interior do enterócito, o Cu^+ liga-se à proteína transportadora (Atox1) que o conduz até o aparelho de Golgi. Nesta organela, o Cu^+ é transferido para a vesícula ATP7A que, além de armazenar até 6 íons de Cu^+ , promove seu transporte até a membrana basolateral, onde ocorre a fusão e liberação dos íons no líquido extracelular por exocitose. É importante salientar que a ATP7 contém uma redutase que oxida o cobre antes de ser liberado para corrente sanguínea para só então ligar-se á albumina e ser transportado para os tecidos de utilização ou armazenamento (Figura 5A) e assim como ocorre com o Zinco, sua absorção parece ser regulada pela MT (Figura 5B) (GOFF, 2017).

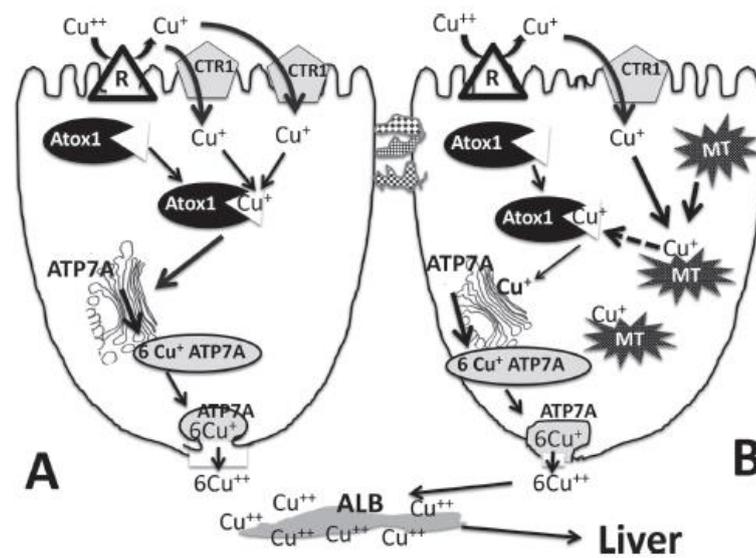


Figura 5 Absorção transcelular de Cobre no enterócito (Fonte: Goff, 2017)

d) Ferro

De modo semelhante ao cobre, o ferro necessita de ação de uma enzima redutase localizada na membrana do enterócito, sendo esta capaz de reduzir a forma férrica (Fe^{3+}) em sua forma ferrosa (Fe^{2+}) para só assim poder ser passível de absorção por meio da proteína transportadora (DMT1). Uma vez que o Fe^{2+} atravessa a membrana apical, ele é captado por uma proteína de ligação (rC) responsável por seu transporte até a membrana basolateral e por meio da Cu-hephaestina (CuHP) é convertido em Fe^{3+} e então transportado para o fluido intersticial através da ferroportina (FP) (Figura 6A). A regulação do ferro no interior da célula ocorre por meio da ferritina (FRT) que sequestra a maior parte do Fe^{2+} e o hormônio hepcidina (HPC) bloqueia a FP impedindo seu transporte para fora da célula (Figura 6B) (GOFF, 2017).

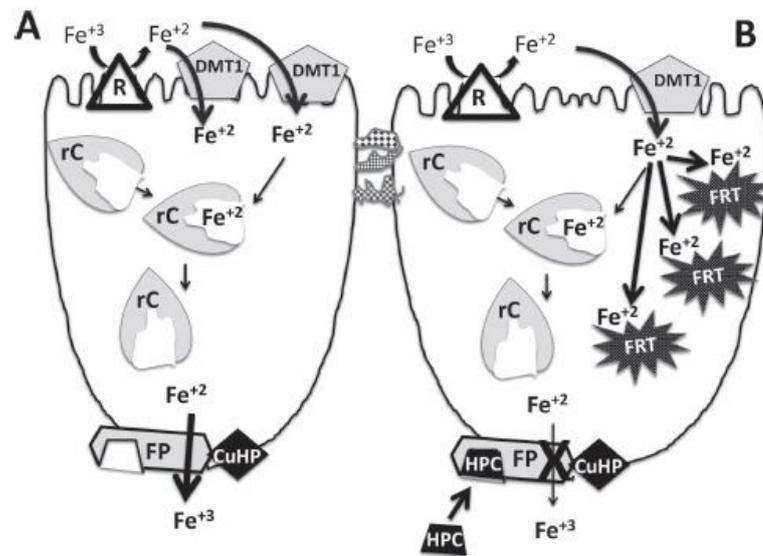


Figura 6 Absorção transcelular de Ferro no enterócito (Fonte: Goff, 2017)

METABOLISMO DE MINERAIS COMPLEXADOS A MOLÉCULAS ORGÂNICAS

As fontes de minerais ligados a moléculas orgânicas apresentam maior biodisponibilidade, por serem, solúveis, estáveis e pela absorção ativa através de transportadores destas moléculas orgânicas. Estas fontes são definidas como íons metálicos ligados quimicamente através de ligação iônica ou covalente numa posição central a uma molécula orgânica, formando estruturas com características únicas de estabilidade, alta biodisponibilidade e solubilidade (AAFCO, 2000).

São classificados em cinco categorias, descritas a seguir: a) Complexo metal-aminoácido – produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com um aminoácido; b) Complexo metal-aminoácido específico – produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com um aminoácido específico; c) Quelato Metal-aminoácido – Quelação de um íon metálico ligado a um aminoácido dentro de uma relação molar de um mol de metal para um a três moles de aminoácidos; d) Metal-proteinato – corresponde a quelação entre um sal solúvel com aminoácidos e/ou proteínas parcialmente hidrolisadas; e) Complexo metal-polissacarídeo – complexação entre um sal solúvel com polissacarídeos (AAFCO, 2000).

Por estarem fortemente ligados a moléculas orgânicas, os íons metálicos são quimicamente inertes, não sendo afetados pelo pH ácido do estômago e não necessitando de ionização antes da absorção. Sua formação estrutural permite a redução das interações entre minerais nas suas formas iônicas e os protege da interação com os vários antagonistas presentes na dieta (MCDOWELL, 1992). A força de ligação entre o metal e o agente ligante é definida

como o quociente quelante (Qf) e, quanto maior esta força, maior estabilidade da molécula durante a passagem pelo trato gastrointestinal. Yu et al. (2017) observaram que a absorção de zinco ligado à aminoácidos é mais efetiva que o zinco inorgânico e que esta efetividade é aumentada com o aumento do Qf do quelato.

Proteínas e carboidratos são as moléculas mais utilizadas como agentes quelantes. No entanto, os polissacarídeos ou outros ligantes com pesos moleculares maiores podem sofrer influência dos vários fatores da dieta diminuindo sua taxa de absorção. Assim, na maioria dos estudos, os minerais estão ligados com aminoácidos, visto que possuem a capacidade de utilizar caminhos menos saturáveis para absorção devido à alta demanda deste nutriente no corpo (SAUER et al., 2017; VIEIRA, 2008).

Já foi comprovado, através de estudos *in vitro* em células Caco-2, que os metais, quando complexados a aminoácidos, fazem uso dos seus respectivos transportadores aumentando a absorção no lado apical ou o efluxo no lado basolateral (SAUER et al., 2017; GAO et al., 2014).

Basicamente existem duas hipóteses sobre os mecanismos de absorção e utilização dos minerais complexados. A primeira supõe que o mineral poderia resistir à interferência da dieta e dos fatores intrínsecos ligados ao trato gastrointestinal e atingir diretamente a borda em escova, onde seriam hidrolisados e absorvidos como íons para o sangue; é o caso dos minerais complexados a moléculas com cadeias longas, como os proteinatos. Já a segunda teoria prevê que o mineral poderia manter sua estrutura durante a passagem pelo trato gastrointestinal e ser absorvido como moléculas intactas, como é o caso dos quelatos ou complexo metal-aminoácidos. De fato, os minerais amino-quelatados possuem uma formação molecular especial que permitem ser absorvidos intactos preservando sua estrutura inicial. No entanto, existe dependência direta do seu peso molecular que não deve exceder a 800 daltons e o peso médio de um hidrolisado de aminoácidos deve ser de aproximadamente 150 daltons, pois moléculas maiores requerem digestão antes da absorção, resultando em perda dos benefícios do quelato (ASHMEAD, 1993).

O transporte de um quelato de aminoácido através da membrana está demonstrado na Figura 7 e ocorre principalmente no jejuno, por apresentarem boa estabilidade e assumir muitas das características de um dipeptídeo ou tripeptídeo, são absorvidos intactos e pelos seus respectivos transportadores (ASHMEAD, 1993).

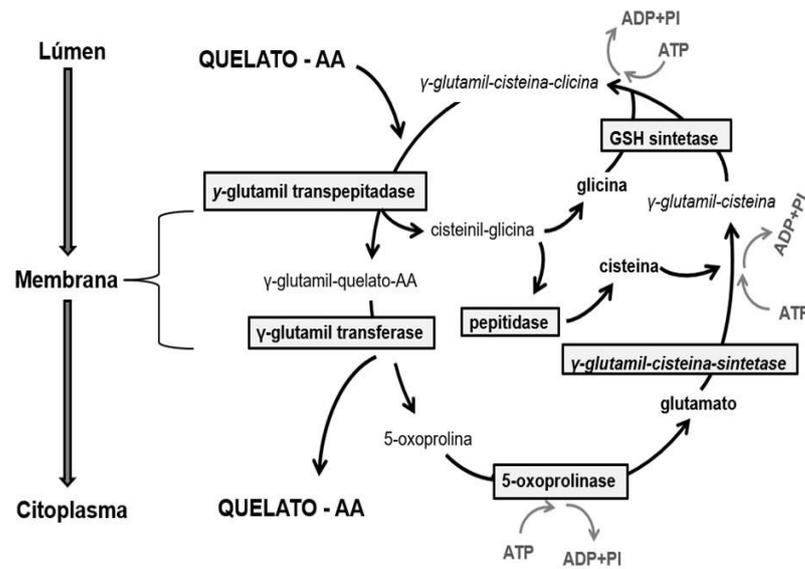


Figura 7 Transporte de um quelato de aminoácido pela membrana (Adaptado de Ashmead, 1993)

Ao entrar na membrana, o quelato-AA se liga a parte gama da glutathione (GSH) formando o quelato-AA- γ -GSH e, pela ação da γ -glutamil transpeptidase ocorre a degradação da molécula gerando a cisteinil-glicina e γ -glutamil-quelato-AA. A primeira molécula formada sofre ação de peptidases, liberando a glicina e a cisteína, já a γ -glutamil-quelato-AA, através de uma reação catalisada pela γ -glutamil transferase é convertida em 5-oxoprolina e no quelato-AA, resultando no seu transporte para o citoplasma. Este último pode atravessar rapidamente a célula desde a mucosa em direção à membrana basolateral e para a corrente sanguínea. A 5-oxoprolina, através da 5-oxoprolinase, γ -glutamil-cisteína-sintetase e glutathione sintetase são responsáveis pela formação de uma nova molécula de glutathione, com gasto de três moléculas de ATP (ASHMEAD, 1993).

Os minerais são absorvidos e transportados como parte integrante de uma molécula orgânica até serem efetivamente utilizados. Após absorção, o destino do quelato-AA é variado, podendo ser transferido intacto para os tecidos e entrar em muitos processos metabólicos. A separação final do metal e do aminoácido pode ocorrer somente quando requerido pelo tecido, sendo liberados lentamente dentro da célula e dando tempo suficiente às células para regular os íons livres produzidos (ASHMEAD, 1993; MALIK et al., 2017).

MICROMINERAIS COMPLEXADOS AMINOÁCIDOS NA NUTRIÇÃO DE POEDEIRAS

Estudos vêm sendo realizados para verificar os efeitos da utilização de minerais complexados a moléculas orgânicas em substituição ou em associação com fontes inorgânicas na dieta de poedeiras sobre as variáveis de produção (FAVERO et al, 2013), qualidade interna e externa do ovo (NUNES et al., 2013; YILMAZ DIKMEN et al., 2015), resistência óssea (MABE et al., 2003; FAVERO et al., 2013), aumento da biodisponibilidade (SUN et al., 2012) e redução da excreção no ambiente (CARVALHO et al., 2015).

A substituição de Zn e Mn por fontes de minerais complexados com aminoácidos melhoram a resistência a ruptura da casca de ovos de galinhas em final de produção, demonstrando que sua utilização poderiam minimizar os efeitos negativos da idade da galinha sobre a qualidade da casca dos ovos (SWIATKIEWICZ & KORELESKI, 2008). De modo semelhante, Stefanello et al. (2014) também observaram melhoria nas características estruturais e a qualidade de cascas de ovos quando as aves foram suplementadas com Zn, Cu e Mn na forma orgânica.

Favero et al. (2013) em um estudo com zinco, manganês e cobre orgânicos em substituição aos sulfatos sobre o desempenho reprodutivo de matrizes da linhagem Cobb 500 verificaram que não houve alteração nas características de fertilidade, produção e eclodibilidade com melhoria no peso e espessura da casca do ovo. O efeito sobre a qualidade do ovo é justificado pelo aumento da biodisponibilidade dos minerais no lúmen intestinal e pode estar relacionado com o processo de calcificação do ovo.

Carvalho et al. (2015) ao associarem sulfatos inorgânicos de Cu, Zn, Mn e Fe com aminoácidos e proteínas parcialmente hidrolisadas (Bioplex®) em dietas de poedeiras comerciais, verificaram redução na excreção, aumento da resistência óssea e manutenção do desempenho quando a fonte inorgânica de minerais foi substituída pelo bioplex em concentrações mais baixas (8%, 17% e 33%). Mabe et al. (2003) também observaram efeitos positivos com melhoria na resistência à ruptura e fratura no grupo de aves mais velhas que receberam o Mn, Cu, Zn de forma orgânica. É interessante notar que, nem sempre ocorre diferenças no crescimento ou desempenho das aves, no entanto, é possível verificar que a utilização de minerais quelatados reduz a excreção mineral e a exigência destas aves é cumprida, embora sejam suplementadas em níveis mais baixos na dieta (RICHARDS et al., 2010).

Os microminerais quando suplementados de forma associada a aminoácidos ainda atuam na atividade de enzimas conforme demonstrado no estudo de Sun et al (2012) que avaliando os efeitos de Cu, Zn e Mn suplementados quelatados com metionina hidroxí-análoga (MHA) em dietas de poedeiras verificaram aumento da atividade de ceruplasmina e superóxido dismutase quando o Cu-MHA e Mn-MHA foram suplementados, respectivamente. O aumento da atividade dessas enzimas observado indica aumento da capacidade antioxidante. Com relação a suplementação do Zn-MHA, os autores constataram aumento da atividade da anidrase carbônica hepática sugerindo uma manutenção do equilíbrio ácido-básico entre células e tecidos. O Zn-MHA e o Mn-MHA aumentaram a espessura da casca de ovo e todos os microminerais associados com MHA proporcionaram aumento da unidade Haugh após 10 dias de tratamento. Os autores concluíram que os microelementos sob a forma de quelatos com MHA proporcionaram aumento na biodisponibilidade, além de outros efeitos benéficos quando comparados com os sulfatos incluídos na ração de postura das galinhas.

Nesse contexto, a suplementação de microminerais complexados com aminoácidos tem potencial para ser aplicada como estratégia de manejo em substituição as fontes convencionais utilizadas, visando a melhoria de índices zootécnicos e redução da excreção de minerais para o ambiente, em função da sua biodisponibilidade e estabilidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os minerais são nutrientes essenciais que devem ser suplementados para garantir o correto funcionamento do metabolismo animal. Várias fontes minerais podem ser utilizadas na pré-mistura mineral, sendo as fontes inorgânicas as mais comumente utilizadas, porém, apresentam muitas desvantagens, pois diversos fatores podem afetar a absorção diminuindo sua eficiência de utilização. As fontes de minerais ligados a moléculas orgânicas, por sua vez, apresentam maior biodisponibilidade, fato atribuído à maior estabilidade durante a passagem pelo trato gastrointestinal e pela absorção ativa através de transportadores das moléculas pelas quais estão ligados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSU, D.S.; AKSU, T.; ÖZSOY, B. The effects of lower supplementation levels of organically complexed minerals (Zinc, Copper and Manganese) versus inorganic forms on hematological and biochemical parameters in broilers. **Kafkas Univ Vet Fak Derg** v.16, p. 553-559, 2010.

ARAÚJO, J.A. et al. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, p. 53-60, 2008.

ASHMEAD, H.D.; ZUNINO, H. Factors which affect the intestinal absorption of minerals. In: Ashmead HD, editor. The roles of aminoacid quelates in animal nutrition. Westwood: Noyes Publications, 1993.

ASHMEAD, H. D. Comparative intestinal absorption and subsequent metabolism of metal amino acid chelates and inorganic metal salts. New Jersey: Noyes Publications, 1993.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. Official Publication. Atlanta; 266p., 2000.

BAI, S.P. et al. Kinetics of Manganese Absorption in Ligated Small Intestinal Segments of Broilers. **Poultry Science**, v.87, p. 2596–2604, 2008.

BERTECHINI, A.G. et al. Iron supplementation for commercial laying hens in second cycle of production. **Journal of Brazilian Poultry Science**, v.2, p. 267-272, 2000.

BESS, F. **Efeito de fontes dietéticas de ferro sobre o desempenho de reprodutoras pesadas e conteúdo de ferro no ovo**. 105f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

BURRELL, A.L. et al. Responses of broilers to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. **British Poultry Science**, v. 45, p.255-263, 2004.

CARVALHO, L.S.S. et al. Effect of the inclusion of organic copper, manganese, and zinc in the diet of layers on mineral excretion, egg production, and eggshell quality. **Braz. J. Poult. Sci.**, v.17, p.87–92, 2015.

FAVERO, A. et al. Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. **J. Appl. Poult. Res.**, v.22, p.80–91, 2013.

FIGUEIREDO JÚNIOR, J.P. et al. Substituição de minerais inorgânicos por orgânicos na alimentação de poedeiras semipesadas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, p.513-518, 2013.

GAO, S. et al. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life Sciences**, v.109, p.50–56, 2014.

GOFF, J.P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **J. Dairy Sci.**, v.101, p.1–51, 2017.

LI, X. et al. Kinetics of manganese transport and gene expressions of manganese transport carriers in Caco-2 cell monolayers. **Biomaterials**, v.26, p.941–953, 2013.

MABE, I. et al. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v.82, p.1903-1913, 2003.

MALIK, T.A., MIR, S.H., PAL, R.P. Chelated versus inorganic zinc supplementation in Ruminants. **Nutri Food Sci Int**, v.4, p.1-3, 2017.

MCDOWELL, L.R. Minerals in animal and human nutrition. 2.ed. Netherlands: Elsevier Science, 644 p, 1992.

MILES, R. D.; HENRY, P.R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, p.73-93, 2000.

NOLLET, L. et al. The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. *The Journal of Applied Poultry Research*, v.16, p.592–597, 2007.

NUNES, J.K. et al. Qualidade de ovos e resistência óssea de poedeiras alimentadas com minerais orgânicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, p.610-618, 2013.

RICHARDS, J.D., et al. Trace mineral nutrition in poultry and swine. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, p.1527-1534, 2010.

ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., HANNAS, M.I. **Tabelas brasileiras para aves e suínos** – Composição de alimentos e exigências nutricionais, 4^a ed., Universidade Federal de Viçosa, 488p., 2017.

SARTORI, E.V. et al. Concentração de proteínas em gemas de ovos de poedeiras (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.29, p.481-487, 2009.

SAUER, A.K. et al. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **Biometals**, v.30, p.643–661, 2017.

STEFANELLO, C. et al. Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v.93, p.104–113, 2014.

SUN, Q. et al. Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens. **J. Poult. Sci.**, v.49, p.20-25, 2012.

SUTTLE, N.F. *The mineral nutrition of livestock*. 4.ed. CABI International: Wallingford, 579p, 2010.

SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. **Veterinarni Medicina**, v.53, p.555–563, 2008.

VIEIRA, S. L. Chelated minerals for poultry. **Braz. J. Poult. Sci.**, v.10, p.73–79, 2008.

YILMAZ DIKMEN, B. et al. Effects of Supplementary Mineral Amino Acid Chelate (ZnAA - MnAA) on the Laying Performance, Egg Quality and Some Blood Parameters of Late Laying Period Layer Hens. **Kafkas Univ Vet Fak Derg**, v.21, p.155-162, 2015.

YU, Y. et al. Organic zinc absorption by the intestine of broilers in vivo. **British Journal of Nutrition**, v.117, p.1086–1094, 2017.

YU, Y. et al. Kinetics of Zinc Absorption by In Situ Ligated Intestinal Loops of Broilers Involved in Zinc Transporters. **Poultry Science**, v. 87, p.1146–1155, 2008.

CAPÍTULO II

Minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras sobre o desempenho, qualidade de ovos, hematologia e histomorfometria intestinal

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito da suplementação de zinco, manganês, cobre e ferro na forma de minerais complexados a aminoácidos (MCA) associados com fontes inorgânicas (MI) em dietas de galinhas poedeiras desde o início da vida até a fase de produção sobre as variáveis de desempenho, qualidade de ovos, hematologia e histomorfometria intestinal. No período de um a 30 semanas de idade, dois grupos de aves da linhagem Lohmann Brown-Lite foram suplementadas com 70, 70 e 8 ppm de Zn, Mn e Cu (de fontes MI) e 40, 40 e 2,75 ppm inorgânicos associados com 30, 30 e 5,25 ppm de Zn, Mn e Cu (de fontes MCA). Durante o período experimental, 30 a 50 semanas de idade, 400 aves de cada grupo inicial, foram redistribuídas em quatro grupos: 1) MI - 70, 70, 8 e 50 ppm de Zn, Mn, Cu e Fe inorgânicos; 2) MCA-ZMC - 40, 40, 2,75 e 50 ppm de Zn, Mn, Cu e Fe inorgânicos associado com 30, 30 e 5,25 ppm de MCA-ZMC; 3) MCA-ZMCFe - 40, 40, 2,75 e 10 ppm de Zn, Mn, Cu e Fe inorgânicos mais 30, 30 e 5,25 de MCA-ZMC e 40 ppm de MCA-Fe; 4) MCA-Fe - 70, 70, 8 e 10 mg/kg de Zn, Mn, Cu e Fe inorgânicos mais 40 ppm de MCA-Fe, definindo um arranjo fatorial 2 x 4 com dez repetições e dez aves por unidade experimental. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos comparados pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A utilização de Zn, Mn, Cu e Fe MCA substituindo parcialmente as fontes inorgânicas em dietas de galinhas poedeiras desde a fase de criação melhoram o desempenho (massa de ovos, conversão por massa e dúzia de ovos), a qualidade dos ovos (peso dos constituintes, espessura e cor da casca) e a morfologia intestinal (altura de vilosidades e relação vilosidade:criptas) sem comprometimento das variáveis hematológicas.

Palavras-chave: fonte mineral, função intestinal, massa de ovos, qualidade de casca

ABSTRACT

This study examined the effects of supplementation with zinc, manganese, copper and iron in the form of amino acid complex minerals (AACM) associated with inorganic sources (IM) in diets for laying hens from the first day of life to the production phase on performance, egg quality, hematology, and intestinal morphometry variables. From one to 30 weeks of age, two groups of Lohmann Brown-Lite chickens were supplemented with 70, 70 and 8 ppm of Zn, Mn and Cu (from IM sources) and 40, 40 and 2.75 ppm of the minerals in inorganic form associated with 30, 30 and 5.25 ppm of Zn, Mn and Cu (from AACM sources). During the experimental period—from 30 to 50 weeks of age—400 birds from each initial group were redistributed into four treatment groups, namely: 1) IM - 70, 70, 8 and 50 ppm of inorganic Zn, Mn, Cu and Fe; 2) AACM-ZMC - 40, 40, 2.75 and 50 ppm of inorganic Zn, Mn, Cu and Fe associated with 30, 30 and 5.25 ppm of AACM-ZMC; 3) AACM-ZMCFe - 40, 40, 2.75 and 10 ppm of inorganic Zn, Mn, Cu and Fe plus 30, 30 and 5.25 ppm of AACM-ZMC and 40 ppm of AACM-Fe; and 4) AACM-Fe - 70, 70, 8 and 10 mg/kg of inorganic Zn, Mn, Cu and Fe plus 40 ppm of AACM-Fe. A 2 × 4 factorial arrangement was adopted, with ten replicates and ten birds per experimental unit. Data were subjected to analysis of variance and, when significant, compared by Tukey's test ($p < 0.05$). The use of Zn, Mn, Cu and Fe as AACM partially replacing inorganic sources in layer diets from the early starter phase improves performance (egg weight and conversion per mass and per dozen eggs), egg quality (components weight, eggshell thickness and eggshell color) and intestinal morphology (villus height and villus:crypt ratio) without compromising the hematological variables.

Key words: egg weight, eggshell quality, intestinal function, mineral source

INTRODUÇÃO

Um dos grandes entraves da avicultura de postura está relacionado com o desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos. A redução da qualidade da casca ocorre de forma gradativa ao decorrer do ciclo produtivo da ave, sendo estimado de oito a 10% de perdas decorrentes do aumento da incidência de ovos de casca fina, deformados e trincados (CARVALHO et al., 2015; KETTA & TUMOVÁ, 2016).

A suplementação com microminerais complexados com aminoácidos na dieta das aves de postura é uma estratégia que vem sendo aplicada para tentar reduzir tais perdas, visto que podem melhorar a produção de ovos (FERNANDES et al., 2008; FAVERO et al., 2013), bem como a qualidade dos ovos (NUNES et al., 2013; YILMAZ DIKMEN et al., 2015). De fato, os minerais quando complexados a moléculas orgânicas apresentam aumento da disponibilidade no trato gastrointestinal quando comparado com as fontes de sais inorgânicos, devido a formação de complexos com outros componentes da dieta, dificultando a absorção ou tornando-os indisponíveis aos animais (FAVERO et al., 2013).

O efeito sobre a qualidade do ovo é justificado pelo aumento da biodisponibilidade dos minerais no lúmen intestinal e pode estar relacionado com o processo de calcificação dos ovos (FAVERO et al., 2013). Esses complexos são melhores aproveitados em razão da sua característica de estabilidade no trato gastrointestinal, pois evitam perdas e competições com antagonistas (RICHARDS & DIBNER, 2005). Nesse contexto, proporcionam maior rapidez na absorção resultando em melhorias na vida útil das aves e na qualidade dos ovos. Por serem mais biodisponíveis, possibilitam redução do seu nível de inclusão, minimizando o impacto ambiental dos dejetos pela redução da excreção para o ambiente sem comprometer o desempenho (RICHARDS et al., 2010).

Os benefícios da utilização dos microminerais complexados com moléculas orgânicas em dietas de poedeiras já estão bem elucidados por participarem de uma série de processos

bioquímicos e metabólicos vitais para o desempenho produtivo (SECHINATO et al, 2006). No entanto, a literatura ainda é escassa com estudos que avaliem o uso de microminerais em dietas de poedeiras desde o início da vida até a fase de produção.

É importante considerar que a maioria dos microminerais estão associados direta ou indiretamente nas fases iniciais das aves de postura, participando de uma série de processos bioquímicos essenciais ao crescimento e desenvolvimento do tecido ósseo (BRITO et al., 2006), devendo, portanto, serem levados em consideração para garantia de uma melhor produtividade futura.

Nesse sentido, objetivou-se avaliar o efeito da substituição parcial de zinco, manganês, cobre e ferro complexados a aminoácidos associados com fontes inorgânicas desde a fase de crescimento em dietas de galinhas poedeiras sobre o desempenho, qualidade dos ovos, hematologia e histomorfometria intestinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Todas as práticas de manejo, bem como a eutanásia e procedimentos de amostragem da presente pesquisa, foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA N° 064/2016).

Local. O experimento foi realizado na Granja Ovo Novo, localizada no município de Caruaru (Latitude: 08°17'00" S e Longitude: 35°58'34" W), mesorregião do agreste de Pernambuco, Brasil.

Aves e instalações. O experimento teve duração de 150 dias (10 dias de adaptação e 140 dias de coleta de dados, divididos em cinco períodos de 28 dias). Foram utilizadas 800 galinhas poedeiras da linhagem Lohmann Brown Lite, de 30 a 50 semanas de idade, alojadas em gaiolas medindo 100 x 40 x 45 cm (10 aves/gaiola), ocupando um espaço de 450 cm²/ave, equipadas

com comedouro tipo calha e bebedouro tipo nipple, com o fornecimento de água *ad libitum* e a quantidade de ração foi fornecida de acordo com a exigência calculada da ave. O programa de luz adotado foi o fornecimento de 18 horas de luz diárias (natural + artificial). O calendário de vacinação foi realizado de acordo com o manejo da granja e desafios da região. Durante todo o período experimental, a temperatura e umidade relativa do ar no interior do galpão foram registradas diariamente por meio de Datalogger (model hobo U12-013, onset) (Figura 1).

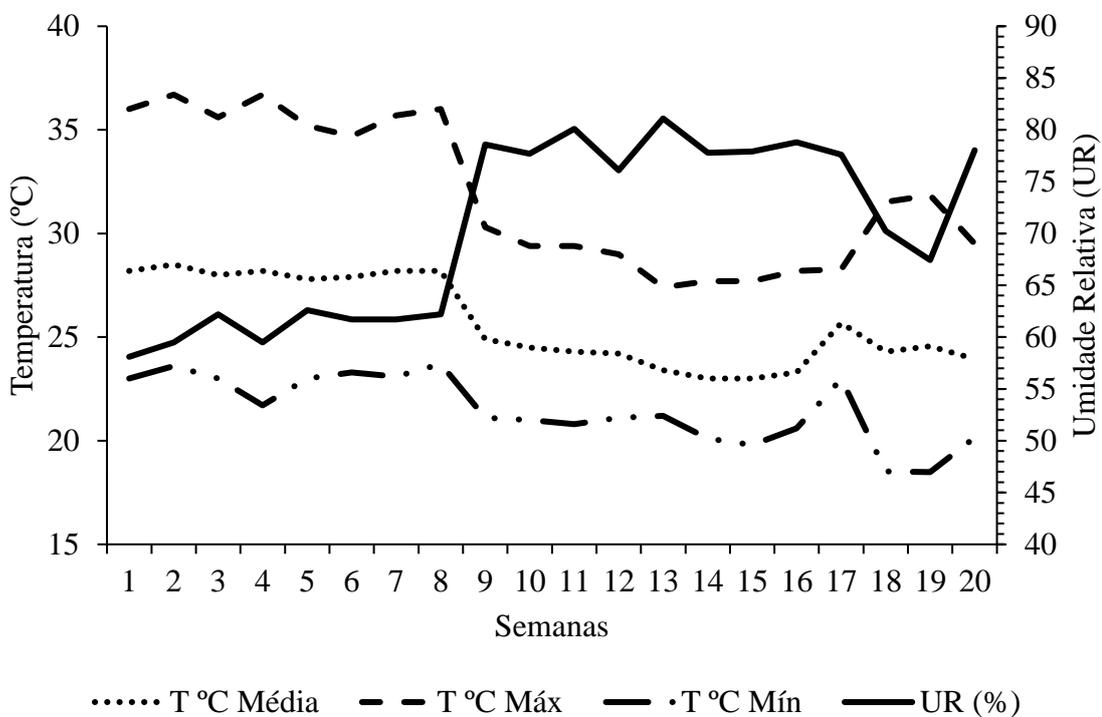


Figura 1: Variação média da temperatura (T, °C) e Umidade relativa do ar (UR, %), durante o período experimental

Delineamento e Dietas Experimentais. As aves foram distribuídas por peso e produção em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2×4 , constituído de duas dietas fornecidas de um dia a 30 semanas de idade (fase de crescimento) e quatro dietas utilizadas de 30 a 50 semanas (fase de produção), com dez repetições de dez aves por unidade experimental.

No período de um a 30 semanas de idade, dois grupos de aves foram alimentadas com duas fontes minerais que consistiram na suplementação de 70, 70 e 8 ppm de Zn, Mn e Cu inorgânicos (MI) e 40, 40 e 2,75 ppm proveniente de fontes inorgânicas associado com 30, 30 e 5,25 mg/kg de Zn, Mn e Cu complexados a aminoácidos (MCA-ZMC). Durante o período experimental, 30 a 50 semanas de idade, 800 galinhas poedeiras, 400 de cada grupo inicial, foram redistribuídas em quatro grupos: 1) MI: contendo 70, 70, 8 e 50 ppm de Zn, Mn, Cu e Fe inorgânicos; 2) MCA-ZMC: contendo 40, 40, 2,75 e 50 ppm de Zn, Mn, Cu e Fe inorgânicos associado com 30, 30 e 5.25 ppm de MCA-ZMC; 3) MCA-ZMCFe - contendo 40, 40, 2,75 e 10 ppm de Zn, Mn, Cu e Fe inorgânicos mais 30, 30 e 5,25 de MCA-ZMC e 40 ppm de Fe complexado a aminoácidos (MCA-Fe); 4) MCA-Fe - contendo 70, 70, 8 e 10 ppm g de Zn, Mn, Cu e Fe inorgânicos mais 40 ppm de MCA-Fe (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos experimentais

Fase de Crescimento (Até 30 semanas de idade)	Fase de Produção (30 a 50 semanas de idade)	
MI	MI	Minerais inorgânicos
	MCA-ZMC	Availa®ZMC ¹
	MCA-ZMCFe	Availa®ZMC + Availa®Ferro ²
	MCA-Fe	Availa®Ferro
MCA-ZMC	MI	Minerais inorgânicos
	MCA-ZMC	Availa®ZMC ¹
	MCA-ZMCFe	Availa®ZMC + Availa®Ferro ²
	MCA-Fe	Availa®Ferro

¹ Zinco, manganês e cobre complexados a aminoácidos (Zinpro Performance Minerals®). ² Ferro complexado a aminoácidos (Zinpro Performance Minerals®).

Os premixes minerais foram formulados de acordo com os níveis utilizados na indústria. Os seguintes ingredientes foram usados como fontes inorgânicas: óxido de zinco (73% ZnO), óxido de manganês (57% MnO), sulfato de cobre (34,5% CuSO₄H₂O), sulfato ferroso (30% SO₄Fe), iodato de cálcio (62% I) e selenito de sódio (45% Se); Os microminerais Zn, Mn, Cu e Fe foram complexados com um ligante de aminoácidos essenciais, excetuando o triptofano que se perde na hidrólise ácida. A suplementação por quilograma de premix mineral por

quilograma é descrita na Tabela 2, as dietas experimentais detalhadas na Tabela 3 e a composição mineral das rações e da água utilizada durante o período experimental na Tabela 4.

Tabela 2. Composição dos premixes inorgânicos e produtos comerciais (ppm) utilizados nas dietas

Microminerais	MI PREMIX 1	MCA-ZMC PREMIX 2	MCA-ZMCFe PREMIX 3	MCA-Fe PREMIX 4
Zinco ¹	70	40	40	70
Manganês ²	70	40	40	70
Cobre ³	8	2,75	2,75	8
Ferro ⁴	50	50	10	10
Iodo	1,0	1,0	1,0	1,0
Selênio	0,25	0,25	0,25	0,25
MCA -ZMC⁵				
Zinco	-	30	30	-
Manganês	-	30	30	-
Cobre	-	5,25	5,25	-
MCA-Fe⁶				
Ferro	-	-	40	40

Suplementação por quilo de produto: ¹Óxido de Zinco 799g/kg (Mín.); ²Óxido de manganês, 60-62% de MnO, 600g/Kg (Mín); ³Sulfato de cobre, CuSO₄.5H₂O, 250g de Cu; ⁴Sulfato de Ferro, FeSO₄H₂O, 300g/kg (Mín.); ⁵AvailaZMC (descrição física 750g/ton); ⁶AvailaFe (descrição física 400g / ton): ferro: 40000 mg

Tabela 3. Composição das dietas experimentais

Ingredientes, %	MI	MCA ZMC	MCA ZMCFe	MCA Fe
Milho Moído	62,53	62,53	62,53	62,53
Farelo de Soja	25,00	25,00	25,00	25,00
Óleo de Soja	0,97	0,97	0,97	0,97
Calcário calcítico	9,55	9,55	9,55	9,55
Fosfato bicálcico	0,63	0,63	0,63	0,63
Bicarbonato de sódio	0,15	0,15	0,15	0,15
Sal Comum	0,29	0,29	0,29	0,29
DL-Metionina 99	0,25	0,25	0,25	0,25
L-Treonina (98.5%)	0,038	0,038	0,038	0,038
Probiótico ¹	0,040	0,040	0,040	0,040
Adsorvente ²	0,15	0,15	0,15	0,15
Fitase ³	0,006	0,006	0,006	0,006
Premix Vitamínico ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix mineral 1	0,10	-	-	-
Premix mineral 2	-	0,10	-	-
Premix mineral 3	-	-	0,10	-
Premix mineral 4	-	-	-	0,10
Availa-ZMC	-	0,075	0,075	-
Availa-Fe	-	-	0,040	0,040
Caulim	0,200	0,125	0,085	0,160
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Nutricional				
EM (kcal/kg)	2770	2770	2770	2770
Proteína Bruta, %	16,50	16,50	16,50	16,50
Proteína Bruta ⁵ , %	16,33	16,44	16,31	16,44
Matéria seca ⁵ , %	90,89	90,62	90,67	91,51
Matéria mineral ⁵ , %	16,74	16,93	16,90	16,38
Aminoácidos digestíveis, %				
Lisina	0,78	0,78	0,78	0,78
Metionina	0,49	0,49	0,49	0,49
Metionina + cistina	0,71	0,71	0,71	0,71
Treonina	0,59	0,59	0,59	0,59
Arginina	1,01	1,01	1,01	1,01
Isoleucina	0,69	0,69	0,69	0,69
Valina	0,70	0,70	0,70	0,70
Cálcio, %	4,00	4,00	4,00	4,00
Fósforo disponível, %	0,41	0,41	0,41	0,41
Sódio	0,18	0,18	0,18	0,18
Balanço eletrolítico, mEq/kg	184,57	184,57	184,57	184,57

Fornecido por quilo de produto: ¹*Bacillus licheniformis* (mín) > 16x10¹⁰UFC/g, ² Aluminossilicatos de sódio e cálcio hidratados: 1000 g/kg, ³Fitase (mín) 10000 FTU/g, 4 923. ⁴ Vitamina A (mín): 8000000 UI / kg, Vitamina D3 (mín): 2500000 UI/kg, Vitamina E (mín): 6000 UI / kg, Vitamina K3 (mín): 1000 mg / kg, Vitamina B1 (mín): 1000 mg/kg, Vitamina B2 (mín): 4500 mg/kg, Vitamina B6 (mín): 2000 mg/kg, Vitamina B12 (mín) 12000 mcg/kg, Niacina (mín): 15 g/kg, pantotenato de cálcio (mín): 6000 mg/kg, ácido fólico (mín): 400 mg/kg, Biotina (mín): 25 mg/kg. ⁵valores analisados.

Tabela 4. Composição mineral das rações e da água (ppm) utilizada durante o período experimental

Minerais	Água	MI	MCA-ZMC	MCA-ZMCFe	MCA-Fe
Zinco	<0,01	96,86	96,79	97,16	97,29
Manganês	0,018	96,96	97,05	98,21	98,35
Cobre	<0,01	13,05	12,97	12,96	13,19
Ferro	0,201	118,11	115,92	119,09	117,66

Desempenho. O consumo de ração (g/ave/dia), peso do ovo (g), massa de ovos (g/ave/dia), produção de ovos (%) e conversão alimentar (kg de ração/dúzia de ovos e kg de ração/kg de ovos) foram avaliados no ensaio.

Qualidade de Ovos. Nos últimos três dias de cada período, três ovos foram selecionados por unidade experimental com base no peso médio, totalizando 30 ovos por tratamento, para avaliar as seguintes variáveis: peso do ovo (g), peso de albúmen (g), peso da gema (g), altura do albúmen (mm), peso da casca (g), espessura da casca (mm) e percentagens de gema, albúmen, casca e Unidade Haugh.

Os ovos foram identificados e pesados individualmente em balança semi-analítica com precisão de 0,01 g (Bel, modelo L 3102iH). Os ovos foram classificados de acordo com o guia de cores da casca com uma escala de 1 a 8 (Zinpro Performance Minerals), sendo os pantones 1, 2 e 3 considerados pálidos, 4 e 5 intermediários e a partir de 6 considerados vermelhos. Cada um dos pantones da guia de cores da casca foi submetido ao colorímetro Minolta (CR-410C), onde foi determinado o índice E [$E=(L^2 + a^2 + b^2) 0,5$], onde: L= luminosidade; a=coordenada vermelho/verde e b=coordenada amarelo/azul]. Para determinar a altura do albúmen, os ovos foram quebrados e seu conteúdo (albúmen + gema) colocado em uma superfície plana e nivelada. Em seguida, a altura do albúmen (mm) foi medida pela leitura do valor indicado pelo paquímetro digital. A unidade Haugh (UH) foi calculada utilizando as variáveis peso do ovo (w,g) e altura do albúmen (h,mm) por meio da seguinte equação: $HU=100 \log (h+7,57-1,7w^{0,37})$ (CARD; NESHEIM, 1966). Posteriormente, as gemas foram separadas do albúmen e pesadas em balança de precisão

de 0,01 g (Bel, modelo L 3102iH). As Cascas foram lavadas, para remover todo o resíduo de albúmen e secas ao ar por 48 h antes de serem pesadas e ter espessura medida em três pontos distintos na área transversal central usando um micrômetro de precisão (iGaging, San Clemente, CA, EUA).

As porcentagens de gema e casca foram calculadas em relação ao peso do ovo, enquanto o peso e a porcentagem de albúmen foram determinados como a diferença entre o peso do ovo e o peso da casca e da gema. Para a análise colorimétrica da gema, foi utilizado um leque de cores com escala de 1 a 15 (DSM).

Hematologia. No final do experimento, foi selecionada aleatoriamente uma ave de cada unidade experimental e foram coletados 1 mL de sangue por meio de punção da jugular e colocados em tubo contendo EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético), na proporção de 0,1mL para 1,0mL de sangue. A contagem de eritrócitos e leucócitos totais foram determinados manualmente usando um hemocitômetro que foi preenchido com a amostra de sangue e com o diluente de Natt-Herricks. O hematócrito foi determinado pela técnica de microhematócrito, utilizando-se tubo capilar centrifugado a 1200g por 5 minutos, sendo o resultado expresso em porcentagem. A partir das variáveis do eritrograma estabeleceram-se matematicamente os índices hematimétricos do volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

Histomorfometria intestinal. No último dia experimental, três aves por tratamento foram selecionadas por meio do peso médio e submetida à eutanásia por deslocamento cervical. Amostras de 3 cm do duodeno e jejuno foram coletadas, lavadas em solução salina e imersas em formol tamponado a 10%. Posteriormente, foram desidratados em uma série crescente de álcoois (70, 80, 90 e 100%), imersos em xilol e embebidos em parafina. As lâminas foram montadas com secção de 5 µm e coradas com hematoxilina-eosina. Fotomicrografias foram realizadas e as imagens foram analisadas com o software Image

J (ABRAMOFF et al., 2004). A altura das vilosidades foi medida a partir do seu ápice para a região basal; e a profundidade da cripta medida desde a base da cripta até a base das vilosidades. A relação vilo:cripta foi calculada pela razão entre vilosidades e criptas. Em cada segmento e variável, 18 medidas foram realizadas, totalizando 54 medidas por tratamento.

Análise Estatística. As hipóteses de normalidade e homocedasticidade foram testadas para a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os dados de consumo de ração foram transformados na raiz quadrada (sqrt). O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \beta_j\gamma_k + e_{ijk}$$

Onde, Y_{ijk} é a resposta na unidade de observação, μ é a média geral esperada da variável de resposta, α_i é o efeito diferencial atribuível ao tratamento de controle i , β_j é o efeito diferencial atribuível ao tratamento de ZMC i , γ_k é o efeito diferencial atribuível ao tratamento de Fe i , $\beta_j\gamma_k$ é a interação entre o efeito atribuível aos tratamentos ZMC i e Fe j e e_{ijk} é o erro aleatório associado à unidade experimental j no grupo de tratamento i .

Os dados foram analisados pelo procedimento PROC GLM do software Statistical Analysis System versão 3.1 (SAS, 2009).

RESULTADOS

Os pressupostos de normalidade e homocedasticidade para análise de variância foram atendidos. Dados referentes ao desempenho das galinhas poedeiras no período total alimentadas com dietas com ou sem MCA durante a fase de crescimento e produção estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Valores médios do desempenho produtivo de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos

Tratamentos	PV (g)	CR (g/ave)	PR (%)	PO (g)	MO (g/ave)	CA (kg/kg)	CDZ (dz)
Fase crescimento							
MI	1865	109,07	95,38	64,21	61,12	1,786	1,376
MCA-ZMC	1886	108,44	95,14	64,16	60,94	1,781	1,369
Fase produção							
MI	1886	108,54	94,62	63,70	60,14 ^b	1,802 ^a	1,382
MCA-ZMC	1874	109,44	95,51	64,37	61,35 ^a	1,785 ^{ab}	1,378
MCA-ZMCFe	1880	108,30	95,44	64,50	61,51 ^a	1,762 ^b	1,361
MCA-Fe	1861	108,75	95,48	64,17	61,11 ^{ab}	1,786 ^{ab}	1,369
P-valor							
Crescimento	0,8850	0,1937	0,4761	0,8340	0,5444	0,5608	0,2693
Produção	0,9031	0,3689	0,1897	0,0670	0,0094	0,0034	0,0631
Crescimento x produção	0,2766	0,4726	0,1967	0,0615	0,6468	0,0860	0,0450
SEM	10,00	0,25	0,21	0,12	0,18	0,004	0,004
CV	4,27	0,97	1,58	1,55	2,21	1,82	1,87

^{a,b} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). PV= peso vivo; CR= consumo de ração; PR = produção de ovos; PO = peso do ovo; MO = massa de ovos, CA = conversão alimentar; CDZ = Conversão por dúzia. CV: coeficiente de variação. SEM: erro padrão da média

Exceto para CDZ (g/dz), não houve efeito de interação entre as fases de crescimento e produção e a suplementação dietética do complexo metal-aminoácido. O uso do MCA-ZMC associado ou não ao MCA-Fe aumentou a massa de ovos e melhorou a conversão alimentar quando comparado com aves que não foram suplementadas com MCA ou que receberam apenas MCA-Fe em sua dieta. A interação entre as dietas revelou que quando as aves foram alimentadas com dietas contendo apenas MI na fase de crescimento e MCA-ZMC associado com MCA-Fe durante a fase de produção apresentaram melhor CDZ (g/dz) (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios de interação entre dietas de criação e produção sobre a conversão por dúzia de ovos de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos

Variável	Fase Crescimento	Fase Produção			
		MI	MCA-ZMC	MCA-ZMCFe	MCA -Fe
CDZ (kg/dz)	MI	1,383 ^{Aa}	1,395 ^{Aa}	1,358 ^{Ab}	1,367 ^{Aa}
	MCA-ZMC	1,381 ^{Aa}	1,360 ^{Aa}	1,364 ^{Aa}	1,372 ^{Aa}

^{Aa, Ab} Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e letras minúsculas na linha são semelhantes, análise pelo teste de Tukey (P <0,05).

Em geral, o uso de MCA melhorou as variáveis de qualidade de ovos no período de 30 a 50 semanas de idade; no entanto, não houve efeito de interação entre as dietas durante as fases de crescimento e produção (Tabela 7). Analisando os fatores de forma isolada, observou-se que independente da fonte de metal-aminoácido suplementada o peso dos ovos e do albúmen apresentaram melhores valores médios nas fases de crescimento e produção quando comparado com as aves que não receberam nenhum tipo de suplementação com metal-aminoácido. Aumento no peso e espessura das cascas de ovos foram observados em aves suplementadas com MCA-ZMC ou MCA-ZMC associadas ao MCA-Fe, em comparação aos animais do grupo MI ou que receberam apenas o MCA-Fe. As porcentagens de gema, albúmen e casca não foram influenciadas pelo uso de MCA na dieta. Para a cor da casca dos ovos, foi detectada diferença significativa sendo observado ovos com cascas mais escuras no grupo de aves alimentadas com MCA-ZMC ou MCA-ZMC associadas ou não ao MCA-Fe. E para as variáveis hematológicas não houve efeito dos tratamentos e nenhuma interação entre as fases de crescimento e produção (Tabela 8).

Tabela 7. Valores médios da qualidade de ovos de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos

Tratamentos	PO (g)	Gema (g)	Albúmen (g)	Casca (g)	Gema (%)	Albúmen (%)	Casca (%)	EC (mm)	AA (mm)	UH	Cor gema	Cor Casca
Fase crescimento											Escore	
MI	64,34	15,64	42,55 ^b	6,38	23,33	65,82	9,91	0,459 ^b	6,84	80,35	5,52	74,79
MCA-ZMC	64,37	15,64	42,92 ^a	6,39	24,18	66,05	9,88	0,462 ^a	6,94	80,73	5,52	74,54
Fase produção												
MI	63,78 ^b	15,52	42,11 ^b	6,30 ^b	24,38	65,94	9,89	0,454 ^b	6,87	80,65	5,61	75,24 ^a
MCA-ZMC	64,62 ^a	15,77	42,93 ^a	6,40 ^{ab}	24,35	65,77	9,89	0,463 ^a	6,98	80,97	5,49	74,54 ^b
MCA-ZMCFe	65,02 ^a	15,71	43,03 ^a	6,42 ^a	24,19	65,92	9,88	0,464 ^a	6,89	80,47	5,49	74,51 ^b
MCA-Fe	64,61 ^a	15,56	42,86 ^a	6,40 ^{ab}	24,09	66,11	9,91	0,460 ^{ab}	6,83	80,10	5,50	74,38 ^b
P-valor												
Crescimento	0,0969	0,9680	0,0476	0,4454	0,1829	0,0982	0,5258	0,0417	0,1207	0,3589	0,9648	0,0675
Produção	0,0002	0,5731	0,0024	0,0334	0,1859	0,3608	0,9709	0,0032	0,4389	0,5243	0,0690	<,0001
Crescimento x produção	0,3195	0,1423	0,5864	0,3950	0,3993	0,2472	0,5449	0,0685	0,9805	0,9205	0,5550	0,5681
SEM	0,109	0,038	0,100	0,002	0,054	0,073	0,023	0,001	0,031	0,201	0,017	0,029
CV	1,34	2,09	1,92	2,19	1,93	0,98	2,14	1,68	4,02	2,27	3,15	0,81

^{a,b} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P <0,05). PO = peso do ovo; EC = espessura da casca; AA = altura da albúmen; UH = unidade Haugh; CV: coeficiente de variação. SEM: erro padrão da média

Tabela 8. Valores Médios de hematologia de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos

Tratamentos	Hemácias (x 10 ¹² /L)	Hemoglobina (g/L)	Hematócrito (%)	Trombócitos (10 ³ /μL)	Leucócitos (G L ⁻¹)	Proteínas Totais	VCM	CHCM
Fase crescimento								
MI	2,94	10,66	32,06	40,20	8222,5	6,66	109,99	33,23
MCA-ZMC	2,87	10,38	31,78	38,25	8285,0	6,80	113,46	32,80
Fase produção								
MI	3,16	10,48	32,17	39,40	9175,0	6,74	99,12	32,98
MCA-ZMC	2,66	10,37	31,13	30,00	7560,0	7,02	119,09	33,35
MCA-ZMCFe	3,08	10,74	32,44	45,70	8880,0	6,68	107,35	33,11
MCA-Fe	2,74	10,47	31,94	41,80	7400,0	6,47	121,34	32,53
P-valor								
Crescimento	0,6441	0,1441	0,6849	0,7291	0,9149	0,6975	0,5901	0,1246
Produção	0,0783	0,5510	0,5623	0,2522	0,0790	0,7457	0,0651	0,2371
Crescimento x produção	0,7229	0,8981	0,7612	0,6748	0,1490	0,6172	0,8871	0,6151
SEM	0,08	0,09	0,328	2,754	308,8	0,166	3,268	0,142
CV	16,91	5,62	6,75	45,01	21,99	16,11	18,06	2,54

^{a,b} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P <0,05). VCM= Volume corpuscular médio; CHCM= Concentração de Hemoglobina corpuscular média CV: coeficiente de variação. SEM: erro padrão da média

A morfometria intestinal foi melhorada quando as aves foram alimentadas com MCA durante a fase de crescimento ou de produção. Na fase de crescimento, houve aumento da PC e redução da relação V:C nos dois segmentos avaliados para as aves alimentadas apenas com minerais inorgânicos. Na fase de produção, verificou-se aumento da AV no duodeno para as aves que receberam alguma fonte de metal-aminoácido (Tabela 9).

Tabela 9. Valores médios da morfometria intestinal de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos

Tratamentos	Duodeno			Jejuno		
	AV	PC	V:C	AV	PC	V:C
	μm					
Fase crescimento						
MI	1420,28	89,33 ^a	16,61 ^b	869,66	79,56 ^a	11,51 ^b
MCA-ZMC	1438,87	82,28 ^b	18,23 ^a	857,34	73,14 ^b	12,49 ^a
Fase produção						
MI	1375,93 ^c	84,92	16,98	851,10	78,67	11,65
MCA-ZMC	1421,44 ^{bc}	87,22	16,85	866,62	76,62	12,06
MCA-ZMCFe	1487,49 ^a	88,02	17,79	879,74	74,90	12,42
MCA-Fe	1432,89 ^{ab}	83,06	18,04	856,25	75,31	11,88
P-valor						
Crescimento	0,2395	0,006	0,0002	0,1755	0,0015	0,0016
Produção	<0,001	0,3023	0,1392	0,1319	0,5714	0,3541
Crescimento x produção	0,9130	0,0960	0,0904	0,0865	0,0325	0,0772
SEM	7,945	1,043	0,222	4,650	1,028	0,156
CV	11,28	24,73	25,73	11,03	27,42	26,47

^{a,b} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P <0,05). AV = Altura de vilosidades; PF = Profundidade de criptas; V:C = relação vilo:cripta; CV: coeficiente de variação. SEM: erro padrão da média

Por fim, houve interação para PC entre a suplementação dietética de MCA durante a fase de crescimento e produção. Independente da fase de suplementação, houve aumento da PC para o grupo de aves suplementadas apenas com minerais inorgânicos e menores valores quando receberam em alguma fase de criação o complexo metal-aminoácido (Tabela 10).

Tabela 10. Média de interação entre dietas de criação e produção sobre a profundidade de criptas jejunal de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos

Variável	Fase Crescimento	Fase Produção			
		MI	MCA-ZMC	MCA -ZMCFe	MCA -Fe
PC Jejunal	MI	85,73 ^{Aa}	75,40 ^{Aa}	78,93 ^{Aa}	78,20 ^{Aa}
	MCA-ZMC	71,35 ^{Ba}	77,81 ^{Aa}	70,72 ^{Aa}	72,44 ^{Aa}

^{Aa, Ab} Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e letras minúsculas na linha são semelhantes, análise pelo teste de Tukey (P <0,05). PC= Profundidade de criptas.

DISCUSSÃO

A suplementação parcial de microminerais na forma de MCA em dietas de galinhas poedeiras é uma estratégia de manejo eficiente para melhorar as variáveis de desempenho, pois aumentou o peso médio dos ovos e conseqüentemente melhorou a massa de ovos e a conversão alimentar. Achados semelhantes foram relatados por Stefanello et al. (2014), que obtiveram aumento de peso e massa de ovos após suplementação de Zn, Mn e Cu complexado a uma fonte orgânica na dieta de galinhas poedeiras da linhagem Hy-Line W-36 no período de 47 a 62 semanas de idade.

A suplementação com MCA-ZMCFe para aves alimentadas com dietas contendo apenas MI na fase inicial melhoraram a CDZ. Isso é atribuído ao potencial de melhoria da capacidade digestiva e absorptiva intestinal, permitindo melhor aproveitamento de nutrientes e melhor desempenho, fato encontrado no presente estudo, onde observou-se que o MCA-ZMCFe apresentaram as maiores médias de altura de vilosidades sendo um indicativo de aumento da área de superfície de absorção. O micromineral zinco tem um papel importante na morfologia intestinal, atuando no crescimento das vilosidades, relação vilosidade: cripta e superfície de área de absorção (LEVKUT et al., 2017).

A melhoria na morfometria intestinal observada nos tratamentos que receberam o complexo ferro-aminoácido pode estar relacionada à formação estrutural da molécula que permite que sejam captados pelo enterócito e transportados até o tecido alvo ligado aos aminoácidos sem causar dano a nível celular. Quando na forma iônica, a regulação deste micromineral ocorre por meio da ferritina que sequestra a maior parte do Fe^{2+} e o hormônio hepcidina bloqueia a ferroportina impedindo seu transporte para fora da célula, podendo ocorrer saturação e consequente apoptose (GOFF, 2017).

Da mesma forma, a melhoria da conversão alimentar por massa de ovos observada no grupo de aves que receberam MCA-ZMC com ou sem MCA-Fe também está relacionada ao melhor desenvolvimento da mucosa intestinal, visto que, a menor profundidade de criptas e maior relação vilos:cripta observada nos dois segmentos estudados para as aves alimentadas com MCA-ZMC durante a fase de crescimento é um indicativo de melhor absorção de nutrientes e menores perdas energéticas para renovação do epitélio celular (AROUCA et al., 2012). O Zinco tem atuação direta na morfologia intestinal, atuando no aumento da proliferação celular e redução da apoptose, resultando em melhora da função absorptiva no trato gastrointestinal (SHAO et al., 2014). Quando complexado a moléculas orgânicas, é menos influenciado por outros minerais e componentes da dieta, devido à estabilidade da molécula complexada no trato gastrointestinal, o que evita perdas e competições com antagonistas (RICHARDS; DIBNER, 2005; FAVERO et al. 2013).

O aumento da profundidade de criptas observado no grupo de aves MI e que não foram suplementadas com MCA em nenhuma das fases confirmam a hipótese que a utilização de MCA melhora o desenvolvimento intestinal e atuam na manutenção da integridade do epitélio intestinal. Criptas mais profundas é resultado do aumento da atividade mitótica para renovação celular e demandam mais energia para manutenção do epitélio intestinal (MA et al., 2011), refletindo diretamente no desempenho. Resultados semelhantes foram encontrados por

Echeverry et al. (2016) em estudo histomorfológicos do íleo de frangos de corte verificaram que a suplementação de minerais quando complexados a aminoácidos contribuem para um menor *turnover* celular, melhor harmonia entre o *turnover* de células e a altura das vilosidades, melhor movimento de vilosidades e menor produção de muco pelas células caliciformes, favorecendo a absorção de nutrientes.

Entre as variáveis de qualidade, houve um aumento no peso dos ovos durante a fase de produção e um aumento no peso albúmen para as aves suplementadas com uma forma MCA durante as fases crescimento e produção. Isto pode ser explicado pela possível melhoria na morfologia do oviduto; especificamente no magno, com aumento do número de células secretoras de albúmen. Medeiros et al. (2013) suplementaram dietas com zinco, selênio e manganês orgânicos e observaram uma melhora nas variáveis morfométricas do trato reprodutor e atribuíram à redução da oxidação e ao aumento da integridade celular do oviduto. Da mesma forma, Nunes et al. (2013) observaram ovos e albúmen mais pesados após suplementação de minerais complexados a aminoácidos substituindo parcialmente os minerais inorgânicos em dietas para as galinhas poedeiras.

Cascas de ovos mais espessas foram observadas no grupo de aves que recebeu o MCA-ZMC durante as fases de crescimento e produção, refletindo em aumento no peso da casca, o que pode está relacionado as características estruturais da casca porque, como mostrado por Stefanello et al. (2014), a suplementação com Zn, Mn e Cu aumenta a espessura da casca afetando sua ultraestrutura. O manganês, especificamente, promove aumento na espessura da camada da paliçada e reduz o tamanho dos botões mamilares (ZHANG et al., 2017). Estes microminerais estão diretamente relacionados à ativação de enzimas envolvidas a formação da casca do ovo (MABE et al., 2003). Sun et al. (2012) após suplementação de Zn quelatado com metionina hidroxí análoga observaram aumento da atividade da anidrase carbônica, enzima que auxilia na deposição de cálcio na casca do ovo. O manganês, por sua vez, está envolvido na

ativação da glicosiltransferase, que atua na formação de mucopolissacarídeos que controlam a estrutura e a textura da casca do ovo (VENGOVSKA et al., 2014).

O aumento da espessura da casca do ovo está diretamente relacionado à resistência à ruptura. Nesse sentido, sugere-se que aves suplementadas com MCA produzam ovos mais resistentes, com conseqüente diminuição das perdas causadas pela baixa qualidade da casca do ovo observada na indústria avícola. Swiatkiewicz e Koreleski (2008) estudaram os efeitos da substituição de fontes inorgânicas por Zn e Mn complexados a aminoácidos e observaram uma melhor resistência à fratura em ovos de galinhas poedeiras, demonstrando que o uso de MCA poderiam mitigar os efeitos negativos da idade de galinha na qualidade da casca do ovo.

A maior biodisponibilidade conferida aos metais-aminoácidos sugere participação no aumento da intensidade da cor da casca do ovo. O Fe, Cu, Mn e Zn atuam como portadores de moléculas de porfirina, compostos responsáveis pelo aumento da intensidade da pigmentação da casca (SOLOMON, 1987). Quando na forma iônica, os minerais competem pela proteína transportadora de metal divalente (DMT1) presente na membrana apical e o antagonismo entre minerais impedem que sejam captados e de exercer sua função no organismo (GOFF, 2017).

As variáveis hematológicas não foram influenciadas pelos tratamentos e seus valores médios foram considerados nas faixas normais para aves (TESSARI et al., 2006; BORSA et al., 2009). No entanto, os resultados encontrados diferem de outros estudos que ao suplementarem minerais complexados a uma fonte orgânica observaram aumento nos níveis de hemoglobina, hemácias e leucócitos totais (KWIECIEN et al., 2015), bem como no percentual de células vermelhas (AKSU et al., 2010) e relacionaram ao aumento dos níveis plasmáticos de ferro.

Em conclusão, a utilização desde a fase de criação de Zn, Mn, Cu e Fe MCA substituindo parcialmente as fontes inorgânicas em dietas de galinhas poedeiras melhoram o

desempenho, a qualidade interna e externa dos ovos e a morfologia intestinal, sem comprometer as variáveis hematológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMOFF, M.D., MAGALHAES, P., RAM, S.J. Image processing with Image **J. Bioph Int.**, 11:36–42, 2004.

AKSU, D.S. et al. The effects of lower supplementation levels of organically complexed minerals (zinc, copper and manganese) versus inorganic forms on hematological and biochemical parameters in broilers. **Kafkas Univ Vet Fak Derg**, v.16, p.553-559, 2010.

AROUCA, C.L.C. et al. Desempenho, morfometria de órgãos e histologia intestinal de suínos na fase de terminação tardia alimentados com cana-de-açúcar. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.13, p.1074-1083, 2012.

BORSA, A. Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial. **Colloquium Agrariae**, v.5, p.25-31, 2009.

BRITO, J.A.G. et al. Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1342-1348, 2006.

CARD, L. E.; NESHEIM, M. C. Poultry production. Philadelphia: Lea & Febiger. 399p., 1966.

CARVALHO, L.S.S. et al. Effect of the Inclusion of Organic Copper, Manganese, And Zinc in The Diet of Layers on Mineral Excretion, Egg Production, and Eggshell Quality. **Braz. J. Poult. Sci.**, v.17, p.87–92, 2015.

ECHEVERRY, H. et al. Organic trace mineral supplementation enhances local and systemic innate immune responses and modulates oxidative stress in broiler chickens. **Poultry Science**, v.95, p.518–527, 2016.

FAVERO, A. et al. Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. **J. Appl. Poult. Res.**, v.22, p.80–91, 2013.

FERNANDES, J.I.M. et al. Effects of organic mineral dietary supplementation on production performance and egg quality of white layers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.10, p.59–65, 2008.

GOFF, J.P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **J. Dairy Sci.**, v.101, p.1–51, 2017.

KETTA M.; TUMOVA E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. **Czech Journal of Animal Science**, v.61, p.299–309, 2016.

KWIECIEN, M. et al. Effects of copper glycine chelate on liver and faecal mineral concentrations, and blood parameters in broilers. **Agricultural Food Science**, v.24, p.92-103, 2015.

LEVKUT, M. et al. The effect of inorganic or organic zinc on the morphology of the intestine in broiler chickens. **Folia Veterinaria**, v.3, p.52-56, 2017.

MA, W. et al. Effects of zinc glycine chelate on oxidative stress, contents of trace elements, and intestinal morphology in broilers. **Biological Trace Element Research**, v.142, p.546-556, 2011.

MABE, I. et al. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v.82, p.1903-1913, 2003.

MEDEIROS, J. et al. Morphology of the oviduct of commercial egg-laying hens supplemented with organic minerals. **Anal Quant. Cytopathol Histopathol.**, v.35, p.278-82, 2013.

NUNES, J.K. et al. Qualidade de ovos e resistência óssea de poedeiras alimentadas com minerais orgânicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, p.610-618, 2013.

RICHARDS, J.; DIBNER, J. 2005. Organic trace minerals are not all equally effective. **World Poultry**, v.21, p.17-19, 2005.

RICHARDS, J.D. et al. Trace mineral nutrition in poultry and swine. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.23, p.1527-1534, 2010.

SAS. SAS/STAT 3.1 User's Guide. Version 3.1 Cary, NC: SAS, Institute Inc, 2009.

SECHINATO, A.S., ALBUQUERQUE, R., NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com microminerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, v.43, p.159-166, 2006.

SHAO, Y. et al. Effect of Zinc on Growth Performance, Gut Morphometry, and Cecal Microbial Community in Broilers Challenged with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Journal of Microbiology**, v.52, p.1002–1011, 2014.

SOLOMON, S.E. Egg shell pigmentation. In: Wells, R.G. and Belyavin, C.G. (eds), Egg quality: current problems and recent advances, p. 147-157., 1987.

STEFANELLO, C. et al. Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v.93, p.104–113, 2014.

SUM, Q. et al. Effects of Methionine Hydroxy Analog Chelated Cu/Mn/Zn on Laying Performance, Egg Quality, Enzyme Activity and Mineral Retention of Laying Hens. **J. Poult. Sci.**, v.49, p.20-25, 2012.

SWIATKIEWICZ, S. KORELESKI, J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. **Veterinarni Medicina**, v.53, p.555–563, 2008.

TESSARI, E.N.C. et al. Parâmetros hematológicos de frangos de corte alimentados com ração contendo aflatoxina B1 e fumonisina B1. **Ciência Rural.**, v.36, p.924-929, 2006.

VENGLOVSKA, K. et al. Effects of feed supplementation with manganese from its different sources on performance and egg parameters of laying hens. **Czech J. Anim. Sci.**,v.59, p.147–155, 2014.

YILMAZ DIKMEN, B. et al. Effects of supplementary mineral amino acid chelate (ZnAA - MnAA) on the laying performance, egg quality and some blood parameters of late laying period layer hens. **Kafkas Univ Vet Fak Derg.**, v.21, p.155-162, 2015.

ZHANG, Y. N. et al. Dietary manganese supplementation modulated mechanical and ultrastructural changes during eggshell formation in laying hens. **Poultry Science**, v.0, p.1–9, 2017.

CAPÍTULO III

Perfil bioquímico, hormonal, composição mineral e características ósseas de galinhas poedeiras suplementadas com minerais complexados a aminoácidos

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o perfil bioquímico, hormonal, composição mineral no fígado e nas tíbias e características ósseas de poedeiras em resposta a suplementação de minerais complexados a aminoácidos. No período de um a 30 semanas de idade, dois grupos de aves da linhagem Lohmann Brow-Lite foram alimentadas com minerais inorgânicos (MI) ou com minerais complexados a aminoácidos (MCA) substituindo parcialmente o MI. Os minerais utilizados foram: Zn, Mn, Cu e Fe, como segue: IM, 70 ppm Zn + 70 ppm Mn + 8 ppm Cu como ZnO, MnO e CuSO₄H₂O, respectivamente; ou ZMC-AACM 40 ppm Zn + 40 ppm Mn + 2,75 ppm Cu (de fontes MI) e 30 ppm Zn + 30 ppm Mn + 5,25 ppm Cu (de fontes MCA). De 30 a 50 semanas de idade, 800 poedeiras, originárias dos dois grupos iniciais de tratamentos, foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 4. Cada tratamento teve 10 repetições, com 10 aves por gaiola. Os 2 grupos iniciais de dieta foram divididos em 8 tratamentos (4 grupos por dieta inicial): IM; AACM-ZMC; AACM-ZMCFe (AACM-ZMC + 10 ppm Fe de FeSO₄ e 40 ppm Fe como Fe-AACM); AACM-Fe (IM + 10 ppm Fe de FeSO₄ e 40 ppm Fe-AACM). Na 50^a semana experimental, foi realizada a coleta de sangue através da punção da jugular para análise de perfil hormonal e bioquímica sérica e em seguida uma ave de cada repetição foi eutanasiada por deslocamento cervical e as tíbias e o fígado retirados para avaliação composição mineral e no caso das tíbias para análise das características ósseas. Os dados foram submetidos à análise de variância multivariada e teste de Tukey (P <0,05). A suplementação parcial de zinco, manganês e cobre complexados a aminoácidos desde o início da vida até a fase de produção acelera o metabolismo e aumenta a retenção de manganês no fígado e o ferro-aminoácido altera as características ósseas e retenção de minerais nas tíbias.

Palavras-chave: deposição mineral, fonte mineral, metabolismo, qualidade do osso tibial, resistência óssea

ABSTRACT

The objective of this study was to examine the biochemical and hormonal profiles, mineral composition in the liver and tibia and bone characteristics of laying hens in response to supplementation with amino acid complex minerals (AACM). From one to 30 weeks of age, two groups of Lohmann Brow-Lite chickens were fed inorganic minerals (IM) or AACM partially replacing the IM. The minerals Zn, Mn, Cu and Fe were used as follows: IM - 70 ppm Zn + 70 ppm Mn + 8 ppm Cu as ZnO, MnO and CuSO₄H₂O, respectively; or ZMC-AACM - 40 ppm Zn + 40 ppm Mn + 2.75 ppm Cu (from IM sources) and 30 ppm Zn + 30 ppm Mn + 5.25 ppm Cu (from AACM sources). From 30 to 50 weeks of age, 800 laying hens originating from the two initial treatment groups were evaluated in a completely randomized design in a 2 × 4 factorial arrangement. Ten replicates were performed for each treatment, with 10 birds per cage. The two initial diet groups were divided into eight treatments (four per initial diet), namely, IM; AACM-ZMC; AACM-ZMCFe (AACM-ZMC + 10 ppm Fe as FeSO₄ and 40 ppm Fe as Fe-AACM); and AACM-Fe (IM + 10 ppm Fe as FeSO₄ and 40 ppm AACM-Fe). On the 50th experimental week, blood was collected by jugular venipuncture for analyses of hormonal profile and serum biochemistry. Next, one bird from each replicate was euthanized by cervical displacement and the tibiae and liver were removed for analyses of mineral composition and (tibia only) bone characteristics. Data were subjected to multivariate variance analysis and Tukey's test ($P < 0.05$). Partial supplementation with zinc, manganese and copper complexed to amino acids starting on the first day of life until the production phase accelerates metabolism and increases manganese retention in the liver, whereas the iron-amino acid complex changes bone characteristics and mineral retention in the tibia.

Key words: bone resistance, metabolism, mineral deposition, mineral source, tibial bone quality

INTRODUÇÃO

Os microminerais participam de uma série de processos bioquímicos e metabólicos que são vitais para a homeostase do metabolismo celular. Para garantir o correto funcionamento do metabolismo animal, são suplementados na forma de pré-mistura mineral, visto que as matérias-primas bases na formulação das rações são deficientes nestes nutrientes (SECHINATO, 2006).

As fontes de minerais comumente utilizadas nas dietas são as fontes inorgânicas, como os óxidos, sulfatos, cloretos, carbonatos e fosfatos (ARAÚJO et al., 2008). No entanto, a disponibilidade destas fontes é questionada, pois no ambiente estomacal, precisam se dissociar para liberação dos íons metálicos e podem se complexar com componentes insolúveis através de interações entre os nutrientes da dieta e devido às interferências que podem ocorrer durante a passagem pelo trato gastrointestinal podem se tornar indisponíveis para os animais (ASHMEAD; ZUNINO, 1993).

Na prática, são suplementados acima das exigências dos animais para evitar deficiências. Esta estratégia parece não ser tão eficiente, pois o excesso de minerais pode afetar a absorção e metabolismo de outros, devido às interações e competições pelos sítios de ligação. Ademais, os transportadores de metais presentes na membrana apical sofrem saturação (YU et al., 2008; BAI, 2008), o que torna a absorção altamente variável aumentando a excreção para o ambiente (ARAÚJO et al., 2008).

Estudos vêm demonstrando que os minerais quando complexados com aminoácidos possuem a capacidade de utilizar caminhos menos saturáveis para absorção devido à alta demanda deste nutriente no corpo (VIEIRA, 2008; SAUER et al., 2017). Nesse sentido, não há competições pelos sítios de absorção com antagonistas e pela característica de estabilidade da molécula não sofrem interação com componentes da dieta o que os tornam mais biodisponíveis (NOLLET et al., 2007; RICHARDS et al., 2010).

A maior biodisponibilidade apresentada, confere a estas moléculas maiores retenções nos tecidos como nas tíbias (YILDIZ et al., 2011; BAI et al.; 2017), no fígado (SUN et al., 2012), nos ovos (YENICE et al., 2015) e redução dos níveis destes elementos nas excretas (CARVALHO et al., 2015; YENICE et al., 2015). Além disso, outros benefícios como melhoria nas respostas imunológicas, aumento da resistência óssea e melhor desenvolvimento do tecido ósseo e redução do estresse oxidativo, o que tornam sua utilização mais eficaz quando comparado com fontes inorgânicas (RICHARDS et al., 2010).

Nesse sentido, objetivou-se avaliar o perfil bioquímico, hormonal, características ósseas e retenção nos tecidos de poedeiras suplementadas com minerais complexados a aminoácidos desde o início da vida até a produção.

MATERIAL E MÉTODOS

Local. A pesquisa foi realizada na Granja Ovo novo, localizada em Caruaru (Latitude: 08°17'00" S e Longitude: 35°58'34" W), no Estado de Pernambuco, Brasil e todos os procedimentos utilizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Protocolo nº 064/2016).

Instalações, equipamentos e manejo das aves. O experimento teve duração de 150 dias, 10 dias de adaptação e 140 dias de coleta de dados, divididos em cinco períodos de 28 dias. As aves foram alojadas em gaiolas (100 x 40 x 45 cm), sendo 10 aves/gaiola, equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro tipo nipple, com o fornecimento de água *ad libitum* e a quantidade de ração foi fornecida de acordo com a exigência calculada da ave. O programa de luz adotado foi o fornecimento de 18 horas de luz diárias (natural + artificial). O calendário de vacinação foi realizado de acordo com o manejo da granja e desafios da região. Durante todo o

período experimental, a temperatura e umidade relativa do ar no interior do galpão foram registradas diariamente por meio de Datalogger (model hobo U12-013, onset) (Figura 1).

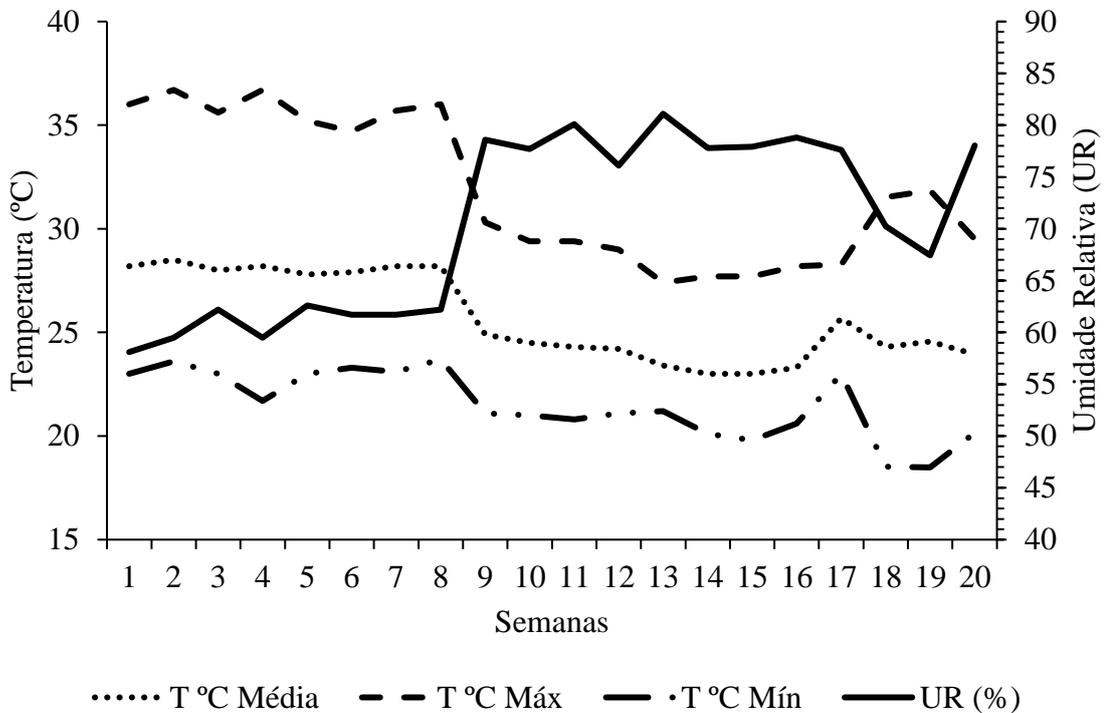


Figura 1: Variação média da temperatura (T, °C) e Umidade relativa do ar (UR, %), durante o período experimental

Animais e Delineamento Experimental. Um total de 800 galinhas poedeiras, Lohmann Brown Lite, 30 a 50 semanas, foram distribuídas por peso e produção em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2×4 , com duas dietas fornecidas até 30 semanas de idade (fase de crescimento) e quatro dietas suplementadas de 30 a 50 semanas de idade (fase de produção), com dez repetições de dez aves por unidade experimental (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos experimentais

Fase de Crescimento (Até 30 semanas de idade)	Fase de Produção (30 a 50 semanas de idade)	
MI	MI MCA-ZMC MCA-ZMCFe MCA-Fe	Minerais inorgânicos Availa®ZMC ¹ Availa®ZMC + Availa®Ferro ² Availa®Ferro
MCA-ZMC	MI MCA-ZMC MCA-ZMCFe MCA-Fe	Minerais inorgânicos Availa®ZMC ¹ Availa®ZMC + Availa®Ferro ² Availa®Ferro

¹ Zinco, manganês e cobre complexados a aminoácidos (Zinpro Performance Minerals®). ² Ferro complexado a aminoácidos (Zinpro Performance Minerals®).

Dietas Experimentais. Dois grupos de aves foram alimentadas no período de um dia de vida a 30 semanas de idade com duas fontes minerais, constituindo um grupo controle que receberam minerais inorgânicos (MI) nas concentrações de 70, 70 e 8 mg/kg de Zn, Mn, Cu e outro grupo que receberam minerais inorgânicos em concentrações reduzidas (40, 40 e 2,75 mg/kg) associados com 30, 30 e 5,25 mg/kg de Zn, Mn e Cu de minerais complexados a aminoácidos (MCA-ZMC). Durante o período experimental, 30 a 50 semanas, 800 galinhas poedeiras, 400 de cada grupo inicial, foram redistribuídas em quatro grupos: 1) MI - contendo 70, 70, 8, 50, 1.0 e 0.5 mg/kg, respectivamente, de Zn, Mn, Cu, Fe, I e Se provenientes de fontes inorgânicas; 2) MCA-ZMC - substituição parcial das fontes inorgânicas por 30, 30 e 5,25 de Zn, Mn e Cu complexados a aminoácidos; 3) MCA-ZMCFe - substituição parcial das fontes inorgânicas por 30, 30 e 5,25 de Zn, Mn e Cu e 40 mg/kg de Fe complexados a aminoácidos; 4) MCA-Fe - Substituição parcial das fontes inorgânicas por 40 mg/kg de Fe complexados a aminoácidos.

Os premixes minerais foram formulados de acordo com os níveis comumente utilizados na indústria. As aves do grupo MI foram alimentadas com uma dieta contendo apenas fontes de microminerais inorgânicos e os demais tratamentos receberam fontes inorgânicas associadas com fontes complexadas a aminoácidos, de modo a atender suas necessidades nutricionais. A suplementação por quilograma de premix mineral por quilograma é descrita na Tabela 2, as

dietas experimentais detalhadas na Tabela 3 e a composição analisadas da água e das rações experimentais na Tabela 4.

Tabela 2. Composição calculada dos premixes inorgânicos e produtos comerciais (ppm) utilizados nas dietas

Microminerais	MI PREMIX 1	MCA-ZMC PREMIX 2	MCA-ZMCFe PREMIX 3	MCA-Fe PREMIX 4
Zinco ¹	70	40	40	70
Manganês ²	70	40	40	70
Cobre ³	8	2,75	2,75	8
Ferro ⁴	50	50	10	10
Iodo	1,0	1,0	1,0	1,0
Selênio	0,25	0,25	0,25	0,25
MCA-ZMC⁵				
Zinco	-	30	30	-
Manganês	-	30	30	-
Cobre	-	5,25	5,25	-
MCA-Fe⁶				
Ferro	-	-	40	40

Suplementação por quilo de produto: ¹Óxido de Zinco 799g/kg (Mín.); ²Óxido de manganês, 60-62% de MnO, 600g/Kg (Mín); ³Sulfato de cobre, CuSO₄.5H₂O, 250g de Cu; ⁴Sulfato de Ferro, FeSO₄H₂O, 300g / kg (Mín.); ⁵AvailaZMC (descrição física 750g/ton); ⁶AvailaFe (descrição física 400g/ton): ferro: 40000 mg

Tabela 3. Composição das dietas experimentais

Ingredientes, %	MI	MCA ZMC	MCA ZMCFe	MCA Fe
Milho Moído	62,53	62,53	62,53	62,53
Farelo de Soja	25,00	25,00	25,00	25,00
Óleo de Soja	0,97	0,97	0,97	0,97
Calcário calcítico	9,55	9,55	9,55	9,55
Fosfato bicálcico	0,63	0,63	0,63	0,63
Bicarbonato de sódio	0,15	0,15	0,15	0,15
Sal Comum	0,29	0,29	0,29	0,29
DL-Metionina 99	0,25	0,25	0,25	0,25
L-Treonina (98.5%)	0,038	0,038	0,038	0,038
Probiótico ¹	0,040	0,040	0,040	0,040
Adsorvente ²	0,15	0,15	0,15	0,15
Fitase ³	0,006	0,006	0,006	0,006
Premix Vitamínico ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix mineral 1	0,10	-	-	-
Premix mineral 2	-	0,10	-	-
Premix mineral 3	-	-	0,10	-
Premix mineral 4	-	-	-	0,10
Availa-ZMC	-	0,075	0,075	-
Availa-Fe	-	-	0,040	0,040
Caulim	0,200	0,125	0,085	0,160
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Nutricional				
EM(kcal/kg)	2770	2770	2770	2770
Proteína Bruta, %	16,50	16,50	16,50	16,50
Proteína Bruta ⁵ ,%	16,33	16,44	16,31	16,44
Matéria seca ⁵ ,%	90,89	90,62	90,67	91,51
Matéria mineral ⁵ ,%	16,74	16,93	16,90	16,38
Aminoácidos digestíveis, %				
Lisina	0,78	0,78	0,78	0,78
Metionina	0,49	0,49	0,49	0,49
Metionina + cistina	0,71	0,71	0,71	0,71
Treonina	0,59	0,59	0,59	0,59
Arginina	1,01	1,01	1,01	1,01
Isoleucina	0,69	0,69	0,69	0,69
Valina	0,70	0,70	0,70	0,70
Cálcio, %	4,00	4,00	4,00	4,00
Fósforo disponível,%	0,41	0,41	0,41	0,41
Sódio	0,18	0,18	0,18	0,18
Balanço eletrolítico, mEq/kg	184,57	184,57	184,57	184,57

Fornecido por quilo de produto: ¹*Bacillus licheniformis* (mín) > 16x10¹⁰UFC/g, ² Aluminossilicatos de sódio e cálcio hidratados: 1000 g/kg, ³Fitase (mín) 10000 FTU/g, 4 923. ⁴ Vitamina A (mín): 8000000 UI / kg, Vitamina D3 (mín): 2500000 UI/kg, Vitamina E (mín): 6000 UI / kg, Vitamina K3 (mín): 1000 mg / kg, Vitamina B1 (mín): 1000 mg/kg, Vitamina B2 (mín): 4500 mg/kg, Vitamina B6 (mín): 2000 mg/kg, Vitamina B12 (mín) 12000 mcg/kg, Niacina (mín): 15 g/kg, pantotenato de cálcio (mín): 6000 mg/kg, ácido fólico (mín): 400 mg/kg, Biotina (mín): 25 mg/kg. ⁵valores analisados.

Tabela 4. Composição mineral das rações e da água (ppm) utilizada durante o período experimental

Minerais	Água	MI	MCA-ZMC	MCA-ZMCFe	MCA-Fe
Zinco	<0,01	96,86	96,79	97,16	97,29
Manganês	0,018	96,96	97,05	98,21	98,35
Cobre	<0,01	13,05	12,97	12,96	13,19
Ferro	0,201	118,11	115,92	119,09	117,66

Foram utilizados o óxido de zinco (73% ZnO), óxido de manganês (57% MnO), sulfato de cobre (34,5% CuSO₄H₂O), sulfato ferroso (30% SO₄Fe), iodato de cálcio (62% I) e selenito de sódio (45% Se) como fontes inorgânicas; E Zn, Mn, Cu e Fe complexados com um ligante de aminoácidos essenciais, com exceção do triptofano que se perde na hidrólise ácida.

Análise de bioquímica sérica e hormonal. Ao final da 50ª semana de idade, foi realizada a coleta de 4 ml de sangue por meio da punção da jugular de uma ave por parcela experimental. Posteriormente, foram centrifugados com rotação entre 3800-4000 rpm por cinco minutos para obtenção do soro. As análises de bioquímica sérica foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFRPE em sistema automatizado, utilizando um multi-calibrador liofilizado, em matriz proteica humana para calibração dos ensaios, tendo como controle interno o Qualitrol 1H ou 2H e submetidos aos kits de referência para cada enzima e substratos. O método do refratômetro de temperatura compensada foi utilizado para determinar os níveis totais de proteína plasmática. As análises de perfil hormonal foram realizadas no Centro de Apoio a Pesquisa (CENAPESQ) da Universidade Federal Rural do Pernambuco. Amostras de soro sanguíneo foram mantidas em microtubos de 1,5 ml e armazenadas a -80°C. No momento da análise, foram descongeladas a temperatura ambiente, homogeneizadas em vortex, centrifugadas em velocidade de giro de 3000G por 10 minutos. Posteriormente, através do método de eletroquimioluminescência, cada amostra foi colocada em cubetas individualizadas de acordo com o funcionamento do aparelho de análise (Beckham Coulter Access2).

Eutanásia. Na última semana experimental, uma ave de cada parcela foi escolhida através do peso médio e eutanasiadas. As tíbias esquerdas foram dissecadas e identificadas no momento da coleta e armazenadas em potes plásticos contendo solução de formaldeído a 10% e encaminhadas para o laboratório para a realização da análise de tomografia computadorizada. As tíbias direitas foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos e congeladas em freezer a -20°C para avaliação futura das características ósseas e composição mineral.

Densitometria óssea. Foi realizada em cinco tíbias por tratamento através do equipamento Hi-Speed FXI CT scanner (General Electric, Fairfield, CT 06824, USA). Os ossos foram retirados da solução de formaldeído e as tíbias foram separadas por tratamento e posicionadas lado a lado na mesa de exame para aquisição das imagens. Imagens transversais foram adquiridas a partir de cortes seccionais de 2 mm de espessura em um intervalo de reconstrução de 1 mm, 120 kV e corrente de tubo automática (mA) na velocidade de uma rotação por segundo.

Posteriormente, as imagens foram analisadas com o software Dicom (versão 1.1.7, Horos, Purview, Annapolis, MD 21401, EUA) para a estimativa dos valores individuais de radiodensidade óssea em 3 níveis de corte distintos da diáfise (proximal, medial e distal). Cada região foi dividida em quatro quadrantes e uma região circular de interesse (ROI) selecionado para avaliação densitométrica do osso cortical (Figura 2). Os resultados foram dados em unidades Hounsfield (HU), sendo posteriormente corrigidos e convertidos mg/cm³ hidroxiapatita de cálcio usando a equação $BMD = 200 HU_t / (HU_w - HU_b)$, conforme metodologia descrita por Oliveira et al. (2012) e Souza et al. (2018).

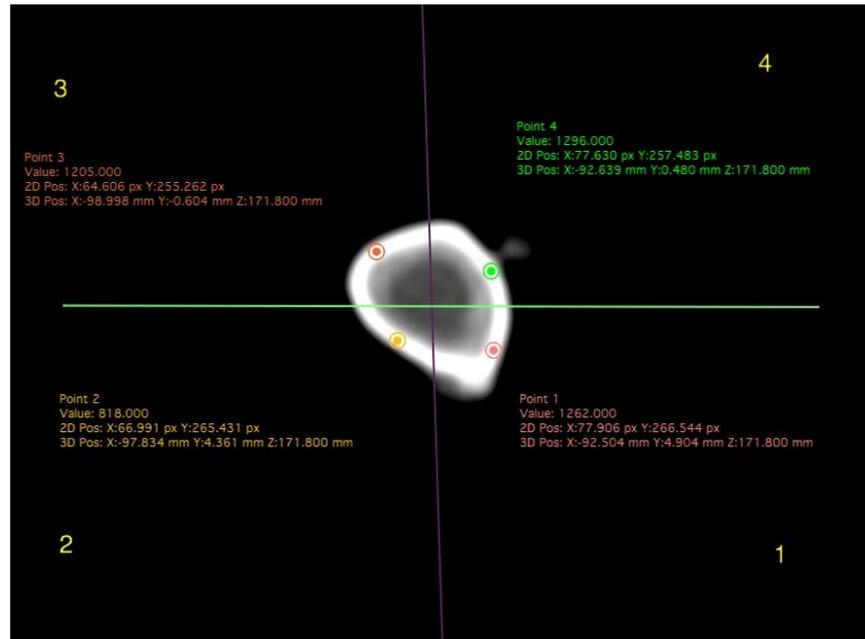


Figura 2: Imagem tomográfica em corte transversal da tíbia de galinha poedeira

Análise de Resistência Óssea e Índice de Seedor. As tíbias direitas foram descongeladas e os tecidos envolventes foram retirados sem provocar injúrias na estrutura óssea. Em seguida, pesadas em balança semianalítica ($\pm 0,01g$) e seu comprimento medido com auxílio de um paquímetro digital (capacidade de 0 a 150 mm e precisão de 0,01 mm). Em seguida, realizou-se o cálculo do Índice de Seedor dividindo-se o peso do osso (mg) pelo seu comprimento (mm) (Seedor et al., 1991).

A análise de resistência óssea foi realizada no Laboratório de Avaliação de produtos de Origem Animal da Universidade Federal da Paraíba (LAPOA, UFPB) com as tíbias *in natura*, utilizando o aparelho universal de teste TA-XT Plus Stable Micro Systems (Surrey, UK) com célula de carga de 50 kg à uma velocidade de 30 mm/min.

Preparo das tíbias para análise de composição. As tíbias anteriormente submetidas à resistência óssea foram encaminhadas ao Laboratório de Nutrição Animal (LNA, UFRPE) onde foram secos em estufa a 105°C por um período de 24 horas e posteriormente calcinados em mufla por 4 horas a 600°C (YAN et al., 2005).

Uma amostra de 0,5 g foi pesada em balança analítica ($\pm 0,0001$ g) e digerida com 6ml de HNO₃ (65% PA) por 10 minutos em sistema aberto. Após esse intervalo, foram filtradas em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas para produzir um volume final de 50 ml.

Preparo dos fígados para análise de composição. Na ocasião do abate, os fígados foram coletados e acondicionados em potes coletores e congeladas em freezer a -20°C. Posteriormente, foram descongelados a temperatura ambiente e com auxílio de um bisturi foram fracionados em placa de petri para aumentar a área superficial das partículas e obtenção de uma secagem homogênea. As amostras fracionadas foram secas em estufa a 105°C durante 24h. Posteriormente, um fragmento de aproximadamente 0,5g foi pesado em balança analítica ($\pm 0,0001$ g) e digerido com 6,0 mL de HNO₃ (65%) em forno micro-ondas (*Mars Xpress: Thechnology Inside, CEM Corporation*), por 30 minutos a 160 °C.

Quantificação dos minerais. A quantificação dos minerais nas rações, túbias e fígado foram realizadas no laboratório de Química Ambiental do Solo da UFRPE por meio do espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de Plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

Análise estatística. Os dados foram padronizados a média zero e desvio padrão um e analisados pela análise multivariada de variância (MANOVA) e análise de fatores, considerando 0,70 o valor mínimo de carga para uma variável apresentar importante contribuição dentro do fator e o método de rotação utilizado foi o varimax (KAISER, 1958). O teste de tukey foi usado considerando 5% de probabilidade. O software utilizado foi o Statistical Analysis System versão 3.1 (SAS, 2009). O seguinte modelo estatístico foi utilizado: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \beta_j\gamma_k + e_{ijk}$

Onde, Y_{ijk} é a resposta na unidade de observação, μ é a média geral esperada da variável de resposta, α_i é o efeito diferencial atribuível ao tratamento de controle i , β_j é o efeito diferencial atribuível ao tratamento de ZMC i , γ_k é o efeito diferencial atribuível

ao tratamento de Fe i , $\beta_{j\gamma k}$ é a interação entre o efeito atribuível aos tratamentos ZMC i e Fe j e e_{ijk} é o erro aleatório associado à unidade experimental j no grupo de tratamento i .

RESULTADOS

Para as características ósseas, com exceção do índice de seedor, não houve interação entre a suplementação dietética de minerais complexados a aminoácidos durante a fase de crescimento e produção. Durante a fase de produção, aves alimentadas com MI apresentaram maior resistência à ruptura e as alimentadas com a suplementação parcial de MCA-Fe apresentaram menor valor, não diferindo daquelas alimentadas com suplementação parcial de MCA-ZMC e MCA-ZMCFe (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios das características da tíbia de poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos

Fase crescimento	Peso (g)	Comp (mm)	IS (mg mm ⁻¹)	Resistência (Kgf)	Cinzas (g)	Cinzas (%)
MI	10,06	115,46	86,89 ^b	25,31	2,91	45,36
MCA-ZMC	10,34	115,74	89,34 ^a	25,44	3,05	44,83
Fase produção						
MI	10,37	116,11	89,31	27,53 ^a	3,10	46,94
MCA-ZMC	10,20	114,83	88,85	23,77 ^{ab}	3,03	45,47
MCA-ZMCFe	10,12	115,25	87,36	26,82 ^{ab}	2,95	44,34
MCA-Fe	10,11	116,21	86,95	23,48 ^b	2,86	43,72
P-valor						
Fase crescimento	0,0576	0,6749	0,0334	0,8977	0,1164	0,9755
Fase produção	0,5699	0,3947	0,3974	0,0124	0,0680	0,1286
Cresc. x produção	0,1689	0,7605	0,0580	0,3632	0,3632	0,6852
SEM	0,073	0,371	0,591	0,544	0,0314	0,4051

^{a, b, ab} Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).
Comp = Comprimento IS= Índice de Seedor. SEM: erro padrão da média

Conforme mencionado, houve interação para o índice de seedor e após o desdobramento, verificou-se aumento desta variável para as aves suplementadas com o MCA-ZMC durante a fase de crescimento e que receberam o MCA-ZMCFe durante a fase de produção (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios de interação entre dietas de crescimento e produção sobre o índice de Seedor de galinhas poedeiras suplementadas com minerais inorgânicos ou complexados a aminoácidos

Variável	Crescimento	Produção			
		MI	MCA-ZMC	MCA -ZMCFe	MCA -Fe
IS	MI	90,03 ^{Aa}	88,35 ^{Aa}	83,84 ^{Ba}	85,83 ^{Aa}
	MCA-ZMC	88,51 ^{Aa}	89,34 ^{Aa}	90,90 ^{Aa}	88,54 ^{Aa}

^{Aa, Ab} Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e letras minúsculas na linha são semelhantes, análise pelo teste de Tukey (P =0,05). IS= Índice de Seedor

Dados referentes a composição de minerais nas tíbias estão descritos na Tabela 7. Com exceção da relação cálcio/fósforo, não houve interação entre as fases de crescimento e produção e a suplementação dos minerais complexados a aminoácidos. Levando em consideração os fatores de forma isolada, verificou-se que a utilização de minerais complexados a aminoácidos durante a fase de crescimento diminuiu a concentração e percentual de fósforo. Na fase de produção, aves suplementadas com MCA-Fe também reduziram a deposição de fósforo, no entanto, aumentaram a concentração de cálcio no osso, refletindo na relação cálcio/fósforo.

Tabela 7. Valores médios da composição mineral óssea de poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos

Tratamentos	Fe	Zn	Cu	Mn	Ca	P	Ca	P	Ca/P
	mg/kg				g/kg		%		
Fase crescimento									
MI	231,02	402,54	3,63 ^a	18,82	435,37	187,15 ^a	20,41	8,73 ^a	2,34 ^b
MCA-ZMC	227,85	382,32	3,40 ^b	17,68	445,32	159,63 ^b	20,26	7,20 ^b	2,79 ^a
Fase produção									
MI	224,79	400,14	3,56	19,03	433,89 ^b	182,15 ^a	20,79	8,58 ^a	2,40 ^d
MCA-ZMC	222,88	398,99	3,52	17,90	430,61 ^b	172,47 ^b	19,56	7,83 ^{ab}	2,52 ^c
MCA-ZMCFe	234,37	389,15	3,45	19,19	446,03 ^{ab}	172,90 ^{ab}	20,30	7,94 ^{ab}	2,60 ^b
MCA-Fe	235,55	382,06	3,54	16,96	452,91 ^a	164,91 ^b	20,72	7,69 ^b	2,72 ^a
P-valor									
Fase crescimento	0,7299	0,0717	<0,0001	0,3433	0,1192	<0,0001	0,7957	<0,0001	<0,0001
Fase produção	0,7611	0,6103	0,1448	0,5325	0,0482	0,0013	0,3156	0,0215	<0,0001
Crescimento x produção	0,0689	0,0643	0,0004	0,1497	0,9986	0,4469	0,3425	0,5612	0,0006
SEM	0,0055	0,0065	0,0064	0,0006	5,5375	2,8360	0,2871	0,1415	0,0303

^{a,b} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P <0,05). SEM: erro padrão da média.

A interação entre as dietas demonstrou que as aves que receberam o MCA-ZMC durante a fase de crescimento apresentaram maior relação cálcio/fósforo e na fase de produção esta relação foi maior para as aves suplementadas com MCA-Fe. Também houve redução na concentração de cobre para as aves do grupo MCA-ZMCFe (Tabela 8).

Tabela 8. Média de interação entre dietas de crescimento e produção sobre a relação cálcio e fósforo e concentração de cobre nas tíbias de poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos

Crescimento	Produção			
	Relação Ca/P			
	MI	MCA-ZMC	MCA-ZMCFe	MCA-Fe
MI	2,25 ^{Bb}	2,27 ^{Bb}	2,33 ^{Bb}	2,51 ^{Ba}
MCA-ZMC	2,57 ^{Ab}	2,77 ^{Ab}	2,87 ^{Ab}	2,94 ^{Aa}
Crescimento	Cobre			
	MI	MCA-ZMC	MCA-ZMCFe	MCA-Fe
	MI	3,65 ^{Aa}	3,52 ^{Aa}	3,64 ^{Aa}
MCA-ZMC	3,47 ^{Aab}	3,51 ^{Aa}	3,26 ^{Bb}	3,35 ^{Bab}

^{Aa, Ab} Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e letras minúsculas na linha são semelhantes, análise pelo teste de Tukey (P =0,05).

Os valores da radiodensidade de diferentes regiões da diáfise tibial estão descritos na Tabela 9. Não houve interação entre as fases de alimentação e tratamentos para nenhuma das regiões avaliadas. No entanto, considerando os fatores de forma isolada, verificou-se aumento da densidade mineral óssea na região distal e na média geral da radiodensidade da diáfise para as aves alimentadas com MCA-ZMCFe durante a fase de produção.

Tabela 9. Valores médios da radiodensidade das diferentes regiões da tíbia de galinhas poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos

	Diáfise			
	Promixal	Medial	Distal	Geral
	mg/cm ³			
Fase crescimento				
MI	1204,83	1260,14	1295,11	1253,36
MCA-ZMC	1130,90	1232,80	1275,33	1213,01
Fase produção				
MI	1209,41	1299,98	1307,27 ^{ab}	1272,22 ^{ab}
MCA-ZMC	1149,16	1209,67	1259,91 ^{ab}	1206,25 ^{ab}
MCA-ZMCFe	1217,41	1290,56	1373,15 ^a	1293,71 ^a
MCA-Fe	1097,31	1183,37	1198,99 ^b	1159,89 ^b
P-valor				
Fase crescimento	0,0935	0,5382	0,6088	0,2870
Fase produção	0,1667	0,1689	0,0197	0,0567
Crescimento x produção	0,2290	0,2923	0,3999	0,2227
SEM	0,1368	0,1377	0,1332	0,1325

^{a, b, ab} Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p <0,05). SEM: erro padrão da média

Não houve interação entre as dietas suplementadas durante a fase de crescimento e produção para nenhuma das variáveis de perfil hormonal e bioquímica sérica. Considerando os fatores isolados, verificou-se diferença para a enzima AST e TotT4 para as aves que consumiram o MCA-ZMC durante a fase de crescimento (Tabela 10).

Tabela 10. Valores médios da bioquímica sérica e perfil hormonal de galinhas poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos

	ALT (UI/L)	AST (UI/L)	GGT (UI/L)	FA (UI/L)	URE (mg/L)	ALB (g/dL)	CREA (mg/dL)	PROT (g/L)	COL (g/L)	TGR (g/L)	CORT (ug/dL)	TotT4 (ug/dL)	TotT3 (ug/dL)
Fase crescimento													
MI	7,4	168,9 ^b	11,6	536,8	24,9	1997,98	0,16	57,2	10,92	47,58	0,01	0,70 ^b	1,36
MCA-ZMC	7,5	264,2 ^a	14,3	586,9	20,4	1976,08	0,13	57,0	9,86	52,39	0,01	0,90 ^a	1,22
Fase produção													
MI	8,1	213,6	10,9	513,6	24,3	2038,45	0,15	59,5	10,85	47,89	0,01	0,75	1,32
MCA-ZMC	6,9	213,8	10,5	498,6	22,8	1987,28	0,16	58,3	11,16	57,01	0,01	0,82	1,67
MCA-ZMCFe	8,1	212,9	12,9	629,3	19,9	2014,68	0,12	56,7	9,97	47,02	0,01	0,80	1,24
MCA-Fe	6,3	218,2	16,5	614,8	24,0	1907,32	0,16	53,7	9,64	47,45	0,02	0,79	1,12
P-valor													
Fase crescimento	0,8940	<0,001	0,2628	0,2559	0,3040	0,6347	0,3013	0,8385	0,1015	0,4831	0,9215	0,0441	0,3603
Fase produção	0,3880	0,9835	0,1723	0,3912	0,8501	0,3187	0,5807	0,1355	0,3465	0,7452	0,4725	0,9626	0,2958
Crescimento x produção	0,2780	0,2955	0,3947	0,5444	0,4496	0,2511	0,4990	0,1334	0,2368	0,1963	0,5528	0,6950	0,0692
SEM	0,4274	7,1092	1,1765	28,1773	0,2046	0,0261	0,0001	0,0917	3,2533	32,8651	0,0029	0,0496	0,0776

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p <0,05). ALT= alanina aminotransferase; AST= Aspartato aminotransferase; GGT= Gama-glutamilttransferase; FA= Fosfatase alcalina; URE=Ureia; ALB=Albumina; Crea=Creatinina; Prot=Proteínas; Col=Colesterol; TGR=Triglicerídeos; Cort= Cortisol; TotT4=Tiroxina; TotT3=Triiodotironina. SEM: erro padrão da média

Em relação a composição de minerais no fígado houve interação entre as dietas suplementadas nas fases de crescimento e produção para manganês e cobre. Para os minerais cálcio e fósforo, levando em consideração os fatores de forma isolada, verificou-se menor retenção destes minerais para as aves alimentadas com MCA-Fe associado ou não ao MCA-ZMC durante a fase de produção. E na fase de crescimento houve maior deposição de fósforo para as aves suplementadas com MI (Tabela 11).

Tabela 11. Valores médios da composição mineral no fígado de galinhas poedeiras suplementadas com fontes inorgânicas ou complexados a aminoácidos

	Ca	P	Zn	Mn	Cu	Fe
	mg/kg					
Fase crescimento						
MI	302,29	7553,61 ^a	73,27	5,93	6,68	181,12
MCA-ZMC	297,31	6255,94 ^b	75,67	6,55	6,78	191,15
Fase produção						
MI	324,86 ^a	7704,44 ^a	74,51	5,95	7,36 ^a	206,07
MCA-ZMC	312,13 ^a	7216,67 ^a _b	77,51	6,67	7,05 ^{ab}	191,41
MCA-ZMCFe	298,23 ^{ab}	6545,00 ^b _c	71,86	6,11	6,35 ^b	173,24
MCA-Fe	262,04 ^b	6162,00 ^c	74,03	6,67	6,45 ^{ab}	173,82
P-valor						
Fase crescimento	0,9808	<,0001	0,2612	0,1626	0,8258	0,3381
Fase produção	0,0018	<,0001	0,5848	0,6417	0,0244	0,0858
Crescimento x produção	0,1802	0,1463	0,0680	0,0141	0,0157	0,0674
SEM	6,1733	153,31	2,0663	0,7575	0,1446	5,4870

^{a, b, ab} Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p <0,05). SEM: erro padrão da média

O desdobramento da interação demonstrou que as aves que receberam o MCA-ZMC desde a fase de cria até a produção apresentaram maior concentração de manganês quando comparado com as aves que receberam o MCA-ZMC apenas na fase de produção. Além disso, a concentração de cobre foi maior para as aves alimentadas com MCA-ZMC durante a criação e produção quando comparada com as aves que receberam a mesma suplementação durante a fase de crescimento e dietas com apenas o MCA-Fe durante a fase de produção (Tabela 12).

Tabela 12. Média de interação entre dietas de crescimento e produção sobre a concentração de manganês e cobre no fígado de galinhas poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com minerais inorgânicos e complexados a aminoácidos

Crescimento	Produção			
	Manganês			
	MI	MCA-ZMC	MCA-ZMCFe	MCA-Fe
MI	5,73 ^{Aa}	5,33 ^{Ba}	5,84 ^{Aa}	6,88 ^{Aa}
MCA-ZMC	6,17 ^{Aa}	8,02 ^{Aa}	6,42 ^{Aa}	5,57 ^{Aa}
Crescimento	Cobre			
	MI	MCA-ZMC	MCA-ZMCFe	MCA-Fe
	MI	7,43 ^{Aa}	6,51 ^{Aa}	6,26 ^{Aa}
MCA-ZMC	7,30 ^{Aab}	7,59 ^{Aa}	6,44 ^{Aab}	5,57 ^{Ab}

^{Aa, Ab} Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e letras minúsculas na linha são semelhantes, análise pelo teste de Tukey (P =0.05).

Na análise de fatores, o perfil hormonal e bioquímica sérica, características ósseas e composição de minerais nas tíbias e no fígado, foram explicados pelos dois primeiros fatores com contribuições de 76,96, 71,6, 70,37 e 100%, respectivamente, da variação total dos dados. As variáveis que apresentaram maiores contribuições no perfil hormonal e bioquímica sérica foram proteínas totais, albumina e colesterol no fator 1. Para as características ósseas, todas as variáveis estudadas apresentaram importantes contribuições de pesos e com exceção do comprimento da tíbia, as demais variáveis apresentaram altas comunalidades. Já para a composição mineral nas tíbias, a concentração e percentual de fósforo e a relação cálcio/fósforo foram as variáveis consideradas mais importantes apresentando maiores retenções de pesos no fator 1. No fígado, o fósforo foi a variável com maior contribuição no fator 1 (Tabela 13).

Tabela 13. Peso dos fatores para perfil hormonal e bioquímica sérica, características ósseas e retenção mineral de galinhas poedeiras

Variável	Perfil hormonal e bioquímica sérica		
	Fator 1	Fator 2	Comunalidades
Proteínas	0,94071	0,00966	0,8850
Albumina	0,78795	-0,18703	0,6558
Colesterol	0,72032	-0,25122	0,5820
Alanina aminotransferase	0,61412	0,10066	0,3873
Triiodotironina	0,57597	-0,06602	0,3361
Ureia	0,27017	0,02286	0,0735
Creatinina	0,24876	-0,09418	0,0707
Gama-glutamilttransferase	-0,09066	0,07740	0,0142
Fosfatase alcalina	-0,016053	0,11049	0,0380
Aspartato aminotransferase	0,00345	0,54865	0,3010
Tiroxina	0,09995	0,48467	0,2449
Cortisol	-0,10946	0,40034	0,1722
Triglicerídeos	-0,25503	0,32637	0,0142
VTA*	60,08	76,96	
	Características ósseas		
Peso da tíbia (mg)	0,9861	0,0002	0,9723
Índice de Seedor	0,9045	0,0453	0,8201
Cinzas (g)	0,6376	0,7292	0,9383
Comprimento da tíbia (mm)	0,4138	-0,0866	0,1787
Resistência à ruptura	-0,3384	0,6949	0,5973
Cinzas (%)	0,0391	0,8879	0,7899
VTA*	43,0	71,6	
	Composição mineral óssea		
P (g/kg)	0,8944	0,1666	0,8277
P (%)	0,7392	0,4781	0,7749
Ca/P	-0,9466	0,0642	0,9001
Cu (mg/kg)	0,6018	-0,0730	0,3675
Mn (mg/kg)	0,0387	0,6919	0,4802
Zn (mg/kg)	0,1233	0,7230	0,5380
Fe (mg/kg)	-0,0357	0,4585	0,2151
Ca (g/Kg)	-0,0288	0,3356	0,1135
Ca (%)	0,2376	0,6441	0,4713
VTA*	46,06	70,37	
	Composição mineral no fígado		
	Fator 1	Fator 2	Comunalidades
P	0,7288	0,3351	0,6647
Ca	0,6232	0,1863	0,4856
Fe	0,4980	0,2637	0,5182
Cu	0,5788	0,6738	0,8735
Mn	0,1718	0,6066	0,4120
Zn	0,3299	0,5458	0,6192
VTA*	97,89	100,00	

*Variância Total Acumulada

DISCUSSÃO

No nosso estudo, aves suplementadas com MCA-ZMC apresentaram aumento nos níveis séricos de tiroxina, hormônio tireoidiano que participa na regulação da taxa metabólica e oxidação dos tecidos, neste sentido, o aumento da concentração circulante deste hormônio é um indicativo de maior participação no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídeos que resulta em acréscimo no desempenho (SMITH et al., 2002).

Em função do intenso metabolismo a demanda de nutrientes é aumentada promovendo maior sobrecarga do sistema hepático para metabolização dos nutrientes, refletindo em aumento dos níveis séricos de AST tendo em vista seu papel na transferência de grupos aminos para síntese proteica (BARBOSA et al., 2010). No entanto, esta enzima também é encontrada na mitocôndria e citosol de células musculares, renais, neurais dentre outras e, portanto, apenas em níveis acima de 275 UI/L são considerados com maior potencial agravante para o fígado (CAMPBELL, 2004; GRUNKEMEYER, 2010).

Estudos para estimar a biodisponibilidade verificam acúmulo dos minerais nos tecidos (HENRY et al., 1989). Especificamente, o manganês, está presente nos tecidos ricos em mitocôndrias como é o caso das células hepáticas e é componente da Mn-superóxido dismutase, importante enzima que participa no sistema de defesa antioxidante (ZHU et al., 2015). Nesse sentido, o aumento na retenção de manganês no fígado observado nas aves suplementadas com MCA-ZMC desde a fase de crescimento até a produção sugere maior biodisponibilidade destas fontes e maior capacidade antioxidante e redução do estresse oxidativo. No entanto, com relação ao nível de cobre tecidual no fígado, observou-se menor concentração quando as aves suplementadas foram com MCA-ZMCFe e MCA-Fe, achados semelhantes foram encontrados por Aksu et al. (2010) que observaram maior eficiência na deposição deste mineral quando suplementados na forma inorgânica e justificaram como um resultado importante devido a redução do efeito tóxico do cobre neste tecido.

Aves suplementadas como MCA-Fe apresentaram redução da concentração de cálcio no fígado e de fósforo no fígado e nas tíbias. A sobrecarga de ferro pode reduzir o sequestro de cálcio para a mitocôndria no fígado e alterar a homeostase do osso com aumento da reabsorção promovida pelos osteoclastos e diminuição da formação óssea pela ação dos osteoblastos (BRITTON et al., 1991; BALOGH et al., 2018).

É importante considerar que, a substituição da fonte inorgânica de ferro pelo MCA-Fe foi equivalente a 80% da suplementação deste metal na pré-mistura mineral. Partindo do pressuposto que os metais-aminoácidos apresentam maior biodisponibilidade, o suprimento excessivo de ferro pode contribuir para maior acúmulo nos tecidos influenciando no metabolismo de outros minerais a nível celular (KWIATKOWSKA et al., 2018). Gou et al. (2019) observaram redução da força de ruptura tibial quando suplementaram dietas com excesso de ferro (100 ppm) para galinhas reprodutoras.

A menor deposição de fósforo reduz sua tenacidade pela diminuição da formação de cristais de hidroxiapatita, principal componente da matriz inorgânica do osso responsável pelas propriedades de rigidez e resistência à compressão (RATH et al., 2000). Esta hipótese, também, foi apontada por Kwiatkowska et al. (2018) que observaram tíbias mais elásticas e com resultados positivos na estrutura e função óssea ao fornecerem um quelato de ferro substituindo 25 ou 50% da exigência quando comparado com o grupo de aves suplementadas com a fonte inorgânica ou quelatada com atendimento de 100% dos requerimentos nutricionais.

No entanto, a maior deposição de cálcio e relação cálcio/fósforo observada nas aves do grupo MCA-Fe e o aumento no índice de seador e radiodensidade observado no grupo de aves que receberam o MCA-ZMC associada ao MCA-Fe tornam o efeito deste micromineral ainda inconclusivos. Nesse sentido, sugere-se o desenvolvimento de mais estudos com a suplementação de ferro metal-aminoácidos com redução da suplementação para avaliação dos fatores que podem influenciar as características ósseas.

No nosso estudo, a utilização da análise de fatores permitiu a identificação de outras variáveis da bioquímica sérica, características ósseas e composição de minerais nas tíbias que apresentaram relação direta com os tratamentos estudados e devem ser levados em consideração em estudos futuros que também avaliem a utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras desde as fases iniciais de criação.

Proteínas totais, albumina e colesterol foram as variáveis da bioquímica sérica que apresentaram maior grau de importância no estudo. De fato, os minerais atuam como ativadores e componentes de diversas enzimas como quinases, hidrolases, transferases e descarboxilases que estão diretamente envolvidas no metabolismo dos carboidratos, dos lipídios e das proteínas. Estudos com diferentes fontes de zinco encontraram aumento da proteína sérica quando utilizaram fontes mais biodisponíveis na dieta de galinhas poedeiras (IDOWU et al., 2011). O zinco, cobre e manganês estão envolvidos no metabolismo lipídico refletindo na diminuição do colesterol total sérico e aumento do HDL-colesterol plasmático que facilita o transporte do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado (AKSU et al., 2010). A albumina, por sua vez, é responsável por carrear o Zn^{2+} para o fígado onde é liberado na circulação sistêmica e redistribuído para os tecidos de armazenamento e utilização (GOFF, 2017).

As características ósseas estudadas apresentam um grau importante de contribuição e relação direta com o estudo, este comportamento pode ser justificado pelo fato de 70% do osso ser constituído por minerais atuando principalmente como reservatório destes (RATH et al., 2000). Além disso, na composição mineral, os microminerais zinco e manganês retiveram pesos importantes, fato já confirmado em outros estudos com minerais complexados a moléculas orgânicas que verificaram acúmulo de manganês no osso resultando no fortalecimento e solidez óssea (YILDIZ et al., 2011) e mais recentemente Min et al. (2019) utilizando MHA-Zn na dieta de poedeiras com idade avançada observaram aumento da concentração de zinco na tíbia e

aumento da atividade da anidrase carbônica que estimula a deposição de carbonato de cálcio na tíbia.

Em conclusão, a suplementação parcial de zinco, manganês e cobre complexados a aminoácidos desde o início da vida até a fase de produção acelera o metabolismo e aumenta a retenção de manganês no fígado e o ferro-aminoácido altera as características ósseas e retenção de minerais nas tíbias. A técnica de multivariada aplicada foi eficiente na redução da dimensionalidade dos dados com a identificação de outras variáveis também consideradas importantes no estudo de minerais complexados a aminoácidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSU, D.S. et al. The effects of replacing inorganic with a lower level of organically complexed minerals (Cu, Zn and Mn) in broiler diets on lipid peroxidation and antioxidant defense systems. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, v.23, p.1066-1072, 2010.

ARAÚJO, J.A. et al. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**. v.2, p.53-60, 2008.

ASHMEAD, H.D.; ZUNINO, H. Factors which affect the intestinal absorption of minerals. In: Ashmead HD, editor. *The roles of aminoacid quelates in animal nutrition*. Westwood: Noyes Publications, 1993.

BAI, S. et al. Dietary organic trace minerals level influences eggshell quality and minerals retention in hens. **Ann. Anim. Sci.**, v.17, p.503–515, 2017.

BAI, S.P. et al. Kinetics of Manganese Absorption in Ligated Small Intestinal Segments of Broilers. **Poultry Science**, v.87, p.2596–2604, 2008.

BALOGH, E.; PARAGH, G.; JENEY, V. Influence of Iron on Bone Homeostasis. **Pharmaceutical**, v.11, p.107-125, 2018.

BARBOSA, A.A. et al. Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas. **R. Bras. Zootec.**, v.39, p.308-312., 2010.

BRITTON, R.S., O'NEILL, R., BACON, B.R. Chronic dietary iron overload in rats results in impaired calcium sequestration by hepatic mitochondria and microsomes 1,2, and 3. **Gastroenterology**, v.101, p.806-811, 1991.

CAMPBELL, T. Blood biochemistry of lower vertebrates. 55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP), ACVP and ASVCP (Eds.) Publisher: American College of Veterinary Pathologists & American Society for Veterinary Clinical Pathology, Middleton WI, USA, 2004.

CARVALHO, L.S.S. et al. Effect of the Inclusion of Organic Copper, Manganese, And Zinc in The Diet of Layers on Mineral Excretion, Egg Production, and Eggshell Quality. **Braz. J. Poult. Sci.**, v.17, p.87–92, 2015.

GOFF, J.P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **J. Dairy Sci.**, v.101, p.1–51, 2017.

GOU, Z. et al. Effects of dietary iron on reproductive performance of Chinese Yellow broiler breeder hens during the egg-laying period. **Poultry Science**, v.0, p.1–9, 2019.

GRUNKEMEYER, V. L. Advanced diagnostic approaches and current management of avian hepatic disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v.13, p.413–427, 2010.

HENRY, P.R., AMMERMAN, C.B., MILES, R.D. Relative Bioavailability of Manganese in a Manganese-Methionine Complex for Broiler Chicks. **Poultry Science**, v.68, p.107-112, 1989.

IDOWU, O.M.O. et al. Effects of Zinc Supplementation on Laying Performance, Serum Chemistry and Zn Residue in Tibia Bone, Liver, Excreta and Egg Shell of Laying Hens. **International Journal of Poultry Science**, v.10, p.225-230, 2011.

KAISER, H.F. The varimax criteria for analysis rotation in factor analysis. **Psychometric**, v.23, p.187–200, 1958.

KWIATKOWSKA, K., WINIARSKA-MIECZAN, A., KWIECIEŃ, M. Effect of application of Fe-glycinate chelate in diet for broiler chickens in an amount covering 50 or 25% of the requirement on physical, morphometric and strength parameters of tibia bones. **Biol Trace Elem Res.**, v.184, p.483–490, 2018.

MIN, Y. et al. Effects of organic zinc on tibia quality, mineral deposit, and metallothionein expression level of aged hens. **Poultry Science**, v.98, p.366–372, 2019.

NOLLET, L. et al. The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. *The Journal of Applied Poultry Research*, v.16, p.592–597, 2007.

OLIVEIRA, J.F. et al. Densitometria da vértebra dorsal, osso pleural e osso neural em tartarugas verdes hípidas por tomografia computadorizada quantitativa. **Ciência Rural**, v.42, p.1440-1445, 2012.

RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, W.E. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1024-1032, 2000.

RICHARDS, J.D. et al. Trace mineral nutrition in poultry and swine. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, p.1527-1534, 2010.

SAS. SAS/STAT 3.1 User's Guide. Version 3.1 Cary, NC: SAS, Institute Inc, 2009.

SAUER, A.K. et al. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **Biometals**, v.30, p.643–661, 2017.

SECHINATO, A.S.; ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com microminerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, v.43, p.159-166, 2006.

SEEDOR, J.G. The biophosphanate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.4, p.265-270, 1991.

SMITH, J. W.; et al. Thyroid hormones, brain function and cognition; a brief review. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v.26, p.45-60, 2002.

SOUZA, J.C.S. et al. Quantitative computed tomography of healthy adult boas (boa constrictor). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.49, p.000–000, 2018.

SUN, Q. et al. Effects of Methionine Hydroxy Analog Chelated Cu/Mn/Zn on Laying Performance, Egg Quality, Enzyme Activity and Mineral Retention of Laying Hens. **J. Poult. Sci.**, v.49, p.20-25, 2012.

VIEIRA, S. L. Chelated minerals for poultry. **Braz. J. Poult. Sci.**, v.10, p.73–79, 2008.

YAN, F.; KEEN, C.A.; ZHANG, K.Y, et al. Comparison of Methods to Evaluate Bone 1016 Mineralization. **J. Appl. Poult.**, 14: 492–498, 2005.

YENICE, E. et al. 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.

YILDIZ, A. Ö., CUFADAR1, Y., OLGUN, O. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralization in laying hens. **Revue Méd. Vét.**, v.162, p.482-488, 2011.

YU, Y. et al. Kinetics of Zinc Absorption by In Situ Ligated Intestinal Loops of Broilers Involved in Zinc Transporters. **Poultry Science**, v.87, p.1146–1155, 2008.

ZHU, Y.W. et al. Effect of dietary manganese on antioxidant status and expression levels of heat-shock proteins and factors in tissues of laying broiler breeders under normal and high environmental temperatures. **Br J Nutr.**, v.114, p.1965–1974, 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há um acréscimo no desempenho e a qualidade interna e externa dos ovos é melhorada com a utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras semipesadas desde a fase inicial de criação até a produção. A comprovação desta hipótese leva a importantes benefícios na indústria de ovos, pois norteia os nutricionistas para minimizar a problemática dos prejuízos causados pela baixa qualidade das cascas, permitindo a melhoria nos índices produtivos, refletindo em possível aumento da rentabilidade para os produtores.

É fato que a fonte mineral, inorgânica ou complexada a moléculas orgânicas, promove alteração no metabolismo das aves. A morfometria intestinal, os perfis bioquímicos e hormonais, as características ósseas, a densitometria óssea e a capacidade de retenção mineral são alteradas com a suplementação parcial de minerais complexados a aminoácidos. Em um primeiro momento, os resultados podem parecer contraditórios com os resultados encontrados nos índices zootécnicos (desempenho e qualidade), no entanto, deve-se partir do pressuposto que aves mais produtivas exigem mais metabolicamente para expressar seu potencial produtivo.

Existem muitos produtos comerciais e diferentes fontes de moléculas quelantes, por esse motivo, muitos resultados ainda são controversos, necessitando de mais estudos e do conhecimento do processo de fabricação dessas moléculas e seus efeitos no metabolismo das aves. As características de maior estabilidade, solubilidade, absorbilidade e metabolizabilidade da molécula, levam a maior biodisponibilidade. Neste sentido, é fundamental que estudos sejam direcionados para redução da suplementação destas fontes, pois seu excesso pode comprometer a homeostase metabólica.

É fundamental, portanto, o desenvolvimento de mais pesquisas no campo da nutrição de poedeiras sobre exigência dos microminerais de acordo com as fontes de suplementação e através de estudos moleculares compreender a real utilização desses microminerais associados ou não a fontes orgânicas pelas aves e a partir disso quantificar de forma mais precisa os níveis para melhor atendimento das exigências desses minerais para estes animais.