

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**FONTES DE MICROMINERAIS SOBRE A HISTOLOGIA INTESTINAL,  
PARÂMETROS ÓSSEOS E COMPOSIÇÃO DA GEMA DE AVES  
POEDEIRAS**

**LEANDRO MOREIRA DA SILVA**

Agrônomo

RECIFE – PE  
FEVEREIRO- 2020

**LEANDRO MOREIRA DA SILVA**

**FONTES DE MICROMINERAIS SOBRE A HISTOLOGIA INTESTINAL,  
PARÂMETROS ÓSSEOS E COMPOSIÇÃO DA GEMA DE AVES  
POEDEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Comitê de orientação:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke.

Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello

**RECIFE – PE**  
**FEVEREIRO- 2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S586ef Silva, Leandro Moreira da Silva  
FONTES DE MICROMINERAIS SOBRE A HISTOLOGIA INTESTINAL, PARÂMETROS ÓSSEOS E  
COMPOSIÇÃO DA GEMA DE AVES POEDEIRAS / Leandro Moreira da Silva Silva. - 2020.  
56 f.  
  
Orientadora: Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke.  
Coorientador: Carlos Boa-Viagem Rabello.  
Inclui referências.  
  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia,  
Recife, 2020.  
  
1. Densitometria óssea. 2. morfometria intestinal. 3. composição mineral. 4. tibias. I. Ludke, Maria do Carmo Mohaupt  
Marques, orient. II. Rabello, Carlos Boa-Viagem, coorient. III. Título

**LEANDRO MOREIRA DA SILVA**

**FONTES DE MICROMINERAIS SOBRE A HISTOLOGIA INTESTINAL, PARÂMETROS  
ÓSSEOS E COMPOSIÇÃO DA GEMA DE AVES POEDEIRAS**

Dissertação defendida em 28/02/2020, pela Comissão examinadora

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Departamento de Zootecnia  
(Orientadora)

---

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

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Thaysa Rodrigues Torres  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
UFRPE – Unidade Serra Talhada

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

LEANDRO MOREIRA DA SILVA – Filho de Adriana de Sousa Moreira e José Wilson Moreira da Silva, nasceu no município de Crato- CE, em 04 de fevereiro de 1994. Iniciou a graduação no Curso de Agronomia no Centro Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Crato-CE/ Universidade Federal do Cariri (CCAB/UFCA), em abril de 2013. Durante a graduação participou do Centro de Referencias, Estudo e Pesquisas em Aves - CREPAV, foi monitor das disciplinas de Forragicultura e Zootecnia I e II sob orientação da Professora Irani Ribeiro Vieira Lopes. No ano de 2018 recebeu o título de Agrônomo, em seguida ingressou no Curso de Pós-graduação em Zootecnia na UFRPE em Recife, na área de concentração de Não Ruminantes, submetendo-se à defesa da dissertação para obtenção do título de Mestre em Zootecnia no dia xx de Fevereiro de 2020.

*“Se você tem disposição para correr o risco, a vista do outro lado é  
espetacular”  
Grey’s Anatomy*

A minha mãe, Adriana de Sousa Moreira por sempre está comigo durante toda essa  
jornada. Minha eterna gratidão.

Ao meu pai, José Wilson Moreira da Silva.

Aos meus irmãos, Gabriela de Sousa Moreira e Rafael Moreira da Silva.

Aos meus anjos (sobrinhos), Andreive, Thaylla, Arthur, Nicollas e Lucas.

***DEDICO***

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), especial ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade da conclusão do curso de Mestrado.

À Estação Experimental de Pequenos Animais da UFRPE, pelo espaço físico e apoio durante a realização do experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento da pesquisa e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa concedida, código de Financiamento 001.

A orientadora Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke pelos ensinamentos e apoio. A Carlos Bôa-Viagem Rabello, pela disposição e preocupação.

A Alluanan, técnico do Laboratório de Patologia Animal da UFRPE, toda minha gratidão durante os procedimentos histológicos.

Agradeço ao CENAPESQ pelo tempo prestado durante a digestão das gemas. Ao laboratório de Química do Solo da UFRPE pela digestão e leitura das amostras.

A Marcos Santos por todo ensinamento, disponibilidade para análises estatísticas.

A Janylle Sheilla, a quem eu vou ser eternamente grato. Fomos unidos pela pesquisa e nos tornamos grandes amigos.

A Claudeana de Souza, irmã que o apartamento 101 me deu.

Aos meus amigos, Darlan, Andrew, Maria Nágila, Dárcio Júnior, Adão, Luana, Renata, Adão, Renan, Vanesca, Lucas Cirilo, Emabile, Williane, Flávia, Felipe, Ailana, Lara e Isabelle.

A CM510, Raimundo Júnior, Rafael, Caio, Renan, Amós, Emerson, Igor e Nairam. Vocês foram essenciais nesse durante todo esse período.

Por fim, agradeço aos meus colegas de curso e professores por compartilharem seus conhecimentos.

## LISTA DE TABELAS

	<b>Páginas</b>
<b>Tabela 1</b> - Composição mineral da água e dietas experimentais .....	31
<b>Tabela 2</b> - Descrição detalhada dos premixes minerais utilizados em cada tratament .....	31
<b>Tabela 3</b> - Composição experimental da dieta.....	32
<b>Tabela 4</b> - Variáveis morfométricas do duodeno de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis microminerais em dietas (78 a 97 semanas de idade).....	36
<b>Tabela 5</b> - Desdobramento das interações das variáveis morfométricas do duodeno de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade) .....	36
<b>Tabela 6</b> - Variáveis morfométricas do jejuno de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis microminerais em dietas (78 a 97 semanas de idade).....	37
<b>Tabela 7</b> - Desdobramento das interações das variáveis morfométricas do jejuno de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).....	38
<b>Tabela 8</b> - Variáveis da morfometria ileum de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).....	39
<b>Tabela 9</b> - Desdobramento das interações das variáveis morfométricas do íleo de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).....	39
<b>Tabela 10</b> - Densitometria tibial óssea de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).....	40
<b>Tabela 11</b> - Desdobramento das interações variáveis da densitometria distal de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).....	41
<b>Tabela 12</b> - Matéria mineral óssea (MM), cálcio (Ca), fósforo (P), razão cálcio: fósforo (Ca: P) na tíbia de galinhas de postura (78 a 97 semanas de idade) suplementadas com diferentes fontes de minerais complexados a aminoácidos.....	41
<b>Tabela 13</b> - Composição mineral da gema de ovos de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade). .....	42

**LISTA DE ABREVIATURAS**

**AAFCO** - Association of American Feed Control Officials

**AV** – Altura de vilo

**CEUA** – Comissão de ética no uso de animais

**Cu** – Cobre

**DC** – Diâmetro de cripta

**Fe** – Ferro

**LV** – Largura de vilo

**MI** – Mineral inorgânico

**Mn** – Manganês

**MNC** – Mineral não complexado

**PC** – Profundidade de cripta

**ppm** – Partes por milhão

**V/C** – Relação vilo cripta

**ZMCAA** – Zinco manganês e cobre complexado a aminoácidos

**ZMC-Glicinato** - Zinco manganês e cobre complexado a aminoácidos

**Zn** – Zinco

### Resumo

Os minerais complexos aminoácidos (AACM) em dietas suplementadas com galinhas poedeiras aumentam a absorção e a biodisponibilidade de microminerais. O objetivo foi avaliar o efeito de diferentes fontes e níveis de microminerais (Zn, Mn e Cu) incluídos nos parâmetros histológicos, densitometria óssea e deposição mineral de ovos. Foram utilizadas 500 galinhas poedeiras (Lohmann White) de 78 a 97 semanas de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial (1 + 2x2), com cinco tratamentos, dez repetições e dez aves / gaiola. Os tratamentos foram uma dieta controle (mineral inorgânico-IM) e quatro outros tratamentos, duas fontes complexadas (glicinato e ZMCAA) e dois níveis de Zn, Mn e Cu suplementados, baixo (20, 20 e 3,5 ppm de Zn, Mn e Cu ) e alta (40, 40 e 7 ppm de Zn, Mn e Cu, respectivamente). Os dados foram submetidos ao procedimento linear generalizado e as médias comparadas pelo teste de tukey ( $p < 0,05$ ). Fontes complexas, principalmente a ZMCAA, independentemente do nível, resultaram em melhorias dos parâmetros morfométricos, densitometria óssea, material mineral dos ossos e deposição mineral nos ovos da gema. Os segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) tiveram suas características alteradas, nas quais o uso de uma fonte não inorgânica resultou em equilíbrio na altura da vilosidade e profundidade da área da cripta, vilosidade / cripta e vilosidade, demonstrando melhor absorção dos microminerais estudados. A fonte de ZMCAA apresentou melhores resultados na integridade intestinal, melhorando a densidade e matéria mineral óssea e a deposição mineral na gema de ovos.

**Palavras-Chaves:** Densitometria óssea, morfometria intestinal, composição mineral, tíbias.

### ABSTRACT

Amino acid-complexed minerals (AACM) in laying hens supplemented diets increase the absorption and bioavailability of microminerals. The objective was to evaluate the effect of different sources and levels of micro minerals (Zn, Mn and Cu) included on histological parameters, bone densitometry and mineral egg deposition. A total of 500 laying hens (Lohmann White) from 78 to 97 weeks of age were used, which were distributed in a completely randomized in factorial arrangement (1+2x2) design with five treatments, ten replicates and ten birds/cage. The treats were a control diet (Inorganic mineral-IM), and four other treatments, two sources complexed (glycinate and ZMCAA) and two levels Zn, Mn and Cu supplemented, low (20, 20 and 3.5 ppm of Zn, Mn and Cu) and high (40, 40 and 7 ppm of Zn, Mn and Cu, respectively). The data were submitted to the generalized linear procedure and the means compared by the tukey test ( $p < 0.05$ ). Complex sources, mainly the ZMCAA regardless of level, resulted in improvements of the morphometric parameters, bone densitometry and mineral deposition in the yolk eggs. The segments of the small intestine (duodenum, jejunum and ileum) had their characteristics changed, in which the use of a non-inorganic source resulted in balance in the height of the villus and depth of the crypt, villus/crypt and villus area, demonstrating better absorption of micro minerals studied. A source of ZMCAA shows the best results of intestinal integrity, better density and bone mineral matter and mineral deposition in egg yolk.

**Key Words:** Bone densitometry, intestinal morphometry, mineral composition, tibias

## 1. INTRODUÇÃO

O fornecimento de alimentos nem sempre vai proporcionar quantidades de minerais adequados, o que induz a uma baixa resposta animal, sendo necessária realizar uma suplementação a fim de compensar tal deficiência (TOKARNIA et al., 2000; PEIXOTO et al., 2005). De acordo com Pedreira & Berchielli (2006) é importante adotar estratégias para suprir a demanda de minerais dos animais, pois a deficiência acarretará em alterações metabólicas, relacionadas ao desempenho produtivo.

De acordo com Bao et al (2007) exigências de minerais pelas aves têm sido suprida tradicionalmente pela suplementação nas suas formas inorgânicas como sais inorgânicos, como sulfatos, óxidos e carbonatos, objetivando fornecer níveis de minerais que impeçam deficiências clínicas e que permitam que a ave atinja seu máximo potencial genético de crescimento.

Estudos recentes vêm trabalhando com uso de minerais quelatados ou orgânicos. Recebem essa denominação por serem formados de íons metálicos ligados a substâncias orgânicas o que os torna mais estáveis e menos sujeitos as interações, assim, mais disponíveis ao organismo quando comparadas as formas inorgânicas (SALDANHA, 2008). Esse tipo de suplementação é uma estratégia adotada com a finalidade de aumentar a biodisponibilidade desses minerais, diminuindo as perdas durante o processo de absorção, permitindo assim uma produção mais eficiente (PACHECO et al., 2010).

As fontes orgânicas podem ser oferecidas as aves em concentrações menores, pressupondo que são prontamente absorvidos e retidos pelas galinhas, sem comprometer o desempenho produtivo, além de reduzirem a excreção mineral para o meio ambiente (NOLLET et al., 2007). A utilização destes minerais visa uma maior absorção do mesmo no trato intestinal, em função de não participarem do processo de competição iônica, com interações antagônicas que acabam inibindo a absorção (HERRICK, 1993).

Essa melhor absorção vai influenciar de forma positiva na produção de ovos, diminuição da mortalidade e estresse, além do que reduz a excreção mineral, prejudiciais ao meio ambiente (FERNANDES et al., 2008).

Os resultados práticos do uso de minerais orgânicos para aves têm-se mostrado controversos, por conta das diferenças entre as fontes e níveis de suplementação que são utilizados nas dietas (VIEIRA, 2008). Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes fontes e de níveis de microminerais (Zn, Mn e Cu) sobre os parâmetros histológicos, densitometria óssea e deposição nos ovos de galinhas poedeiras.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. Produção de ovos**

A criação de aves para produção de carne e ovos é de grande importância para a agropecuária brasileira, visto que tem uma participação significativa na economia do país. Tal fator desperta o interesse dos produtores, que buscam alternativas para aperfeiçoar e melhorar ainda mais essa produção. Esse crescimento na criação de aves e sua lucratividade podem ser comprovados pelos números apresentados por esta atividade ao longo dos anos.

De acordo com relatório anual de 2019 da Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA a produção de ovos do Brasil vem crescendo de forma linear entre os anos 2016 a 2018, onde para o ano de 2018 a produção atingiu um total de 44.487.496.586 de unidades, maior valor desde 2010. De um total de 11.670 toneladas exportado, 67% consistiram de ovos in natura e 33% de ovos industrializados.

Modificações tecnológicas, aperfeiçoamento nas técnicas de manejo, sanidade, mão-de-obra qualificada e melhorias na nutrição dessas aves foram fatores que intensificaram a produção e colocaram o Brasil nesse patamar produtivo, que tem por objetivo suprir a demanda de proteína de origem animal de qualidade para o mercado

interno e externo. A competição observada na cadeia produtiva de produção de ovos foi resultado do uso de tecnologias, que tiveram objetivo de reduzir os custos, mão de obra, tempo de processamento (SILVA & BATALHA, 1999).

Conforme Trindade et al (2007) fatores como a produção, produtividade e qualidade do produto estão entre os principais interesses dos consumidores de ovo, onde estão inteiramente ligados com as questões de higiene, sanidade e, sobretudo, com a saúde e bem-estar animal. A crescente demanda por ovos, conforme Camargo et al (2008), despertou o interesse dos consumidores quanto a qualidade do produto. Logo, características como origem, rastreabilidade, transparência nos processos produtivos e esquemas de qualidade estão cada vez mais fazendo parte do processo produtivo.

Essa crescente eficiência produtiva e econômica do sistema avícola de produção de ovos se dá pela exploração do potencial genético apresentado pelas poedeiras comerciais disponíveis no mercado. Para manter essa eficiência faz-se necessário que as aves recebam aporte nutricional e apresentam bom estado sanitário (FASSANI et al., 2000; BAIÃO & LUCIO, 2005). Para Albuquerque (2004) o fornecimento de uma nutrição ideal é aquela em que aves recebam quantidades adequadas de nutrientes, o que inclui os minerais, importantes em vários processos bioquímicos corporais, com destaque na formação da casca do ovo.

Conforme descrito por Araújo et al (2008) a deficiência de minerais representa uma das mais importantes limitações nutricionais para aves de postura, visto que os concentrados (milho e soja), ingredientes básicos das rações, não atendem as exigências dos animais.

O ovo é uma ótima alternativa para a alimentação saudável, por possuir baixa caloria, ser fonte de proteínas, possuir elevada digestibilidade, alto valor biológico e uma importante fonte de energia (BERTECHINI, 2003). Consoante com a Food and

Agriculture Organization – FAO (2010), a composição nutricional da clara do ovo é representada por 10,5% por proteínas, 88,5% por água e contém traços de gordura, riboflavina e além de outras vitaminas B. A gema é constituída de 16,5% por proteínas, 33% por gordura, 50% por água, além de conter lecitina (um emulsionante), elementos minerais (incluindo ferro) e as vitaminas lipossolúveis A, D, E e K. De acordo com o tipo de dieta ofertado as aves de postura a composição nutricional da gema pode variar.

## **2.2. Funções dos microminerais (Zn, Cu e Mn) nas aves**

### **2.2.1. Zinco**

De acordo com Vieira (2008) e Dieck et al., (2003) os microminerais recebem essa denominação em razão das suas baixas concentrações nos tecidos, por participarem de muitas funções no organismo que envolve a catálise de sistemas enzimático, além de serem constituintes de centenas de proteínas que estão envolvidas no metabolismo intermediário, nos sistemas de defesa imunológica e nas vias de secreções hormonais (NOLLET, 2007).

Considerado um micromineral essencial, o zinco participa de mais de 300 atividades enzimáticas (MCCALL et al., 2000). Sua maior absorção ocorre no duodeno, sendo o tecido ósseo e muscular os órgãos responsáveis pela reserva desse mineral, na qual possui capacidade de acumular o excedente e em condições de deficiência na dieta ocorre sua liberação (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999; SCOTTÁ et al., 2014).

O mecanismo de absorção do zinco ainda não está completamente elucidado. É preciso que o zinco esteja ligado a um transportador de membrana para que ocorra a absorção (MAIORKA & MACARI, 2002). A transferência de zinco a partir da célula da mucosa é mediada pela metalotioneína, proteína sintetizada no fígado, na qual sua produção é influenciada pelos níveis dietéticos e plasmáticos de zinco (McDOWEL, 1992). No fígado essa proteína fica armazenada e a partir das necessidades metabólicas

ela é mobilizada para atender as demandas do organismo. No plasma sanguíneo, o transporte de zinco acontece quando ele está ligado a albumina (MAIORKA & MACARI, 2002).

O zinco é um microelemento necessário para o crescimento normal, manutenção, desenvolvimento ósseo, empenamento, regulação do apetite, atua no equilíbrio ácido-base e é constituinte da metaloenzima anidrase carbônica, na qual está presente em altas concentrações na glândula da casca do ovo e oviduto das aves (BATAL et al., 2001; LESSON & SUMMERS, 2001). Na reprodução o zinco exerce papel de grande importância, pode-se ligar a avidina, biotina, flavoproteína e riboflavina quando ocorre a deposição do albúmen para formação da casca do ovo. Sendo uma proteína dependente de progesterona, a avidina na qual é sintetizada a partir de células caliciformes, presente no albúmen, possui capacidade de reduzir os níveis de biotina no ovo, inibindo o crescimento bacteriano no oviduto, evitando o aparecimento de doenças no embrião (WHITTOW G. C., 1988).

A sua distribuição faz-se presente em todos os tecidos e, em condição de deficiência, verifica-se redução no zinco plasmático, onde pode ser recuperadas em 24h por meio da sua suplementação na dieta. Em caso de deficiência, as metalotioneínas são mobilizadas caso haja necessidade, assim como pode ocorrer liberação a partir das reservas de zinco do tecido muscular e ósseo (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

Deficiência desse mineral provocam alterações nos ossos e empenamentos, crescimento reduzido, queda na eclosão e produtividade de ovos (BACK, 2004). A falta de zinco leva a alterações nas estruturas da epiderme, gastrintestinais, neurais, esqueléticas, reprodutivas e imunológicas, afeta as funções do timo, pois o zinco compõe a timosina, hormônio produzido por esse órgão (SHANKAR & PRASAD, 1998; HAMBIGDE, 2000).

Dietas suplementadas com Zn resultam em melhoras na morfologia intestinal, ocasionando aumento das vilosidades e redução da profundidade da cripta em aves e suínos (LEE et al., 2001; PAYNE et al., 2006).

### 2.2.2. *Manganês*

Conforme Trzeciak et al (2000), o manganês é classificado como um micromineral essencial, atuando em diversas atividades metabólicas das aves, e faz parte da constituição das metaloenzimas: arginase, glutamina sintetase, manganês superóxido dismutase e piruvato carboxilase. O Mn, também, é constituinte das enzimas que participam do sistema metabolismo proteico antioxidante e formação óssea, como superóxido dismutase, transferases, hidrolases e ligases (KEEN et al., 1999; 2000).

Essas metaloenzimas vão atuar sobre o sistema digestivo, reprodutivo e imunológico, além de ser essencial para o crescimento ósseo, metabolismo celular. Logo, exercem papel importante sobre a qualidade da casca, além de está relacionado com a síntese de mucopolissacarídeos (TRZECIAK et al., 2000; MABE, 2001).

A absorção de manganês é relativamente baixa, cerca de 4% e ocorre por toda extensão do intestino delgado, sendo influenciada pela presença de minerais como Ca, P e Fe (SCOTTÁ et al., 2014). Sua absorção no trato intestinal ocorre de forma reduzida. Quando absorvido, o Mn pode ficar na forma livre ou liga-se ao 2- macroglobulina, sendo transferido para o fígado. Uma parte do Mn que está ligado a macroglobulina entra na circulação sistêmica, em que é oxidado e depois é ligada a transferrina, principal proteína responsável pelo transporte do plasma (MCDOWELL, 1992).

No organismo das aves, o osso é a fonte mais abundante em Mn, representando valor aproximado de cerca de 3 a 4 µg/g de tecido, seguido pelo fígado que corresponde a 2 µg/g. As glândulas pituitária e pineal apresentam altas concentrações desse mineral (LEESON & SUMMERS, 2001).

Esse microelemento é essencial para deposição normal e espessura da casca do ovo. O uso de fontes inorgânicas de Mn tem levado a interações com fitatos, que leva a uma baixa na sua biodisponibilidade no organismo. Dietas com altos teores de Mg, Zn, S, P, Fe e Ca interferem na atuação metabólica no organismo. Níveis elevados de Ca P afeta o aproveitamento de Mn, provocando deficiência (FASSANI et al., 2000; KLEYN, 2013).

Essas alterações que reduzem a disponibilidade de Mn na ração provocam distúrbios como ataxia, má formação da casca de ovos, deficiência no crescimento, reprodução e na coagulação sanguínea, além de causar deformidades ósseas (CUPERTINO et al., 2005; OLIVEIRA, 2008). Conforme Leeson e Summers (2001) a deficiência gera ovos com forma arredondada apresentando regiões translúcidas, assim como redução na densidade e resistência da casca, com diminuição na produção.

### *2.2.3. Cobre*

Considerado um microelemento essencial, o cobre é fornecido nas dietas de aves por meio de pré-misturas minerais. Seu uso mais frequente é na forma de sulfato de cobre penta-hidratado (PESTI & BAKALLI, 1996). Por várias décadas utilizou-se desse mineral em altas concentrações em função da atividade antimicrobiana, promoção do crescimento e efeitos no metabolismo lipídico (SKRIVAN et al., 2006; PEKEL & ALP, 2011).

O Cu também atua como cofator enzimático em diversos sistemas como citocromo oxidase, lisil oxidase e superóxido dismutase, além de ser um componente importante de proteínas do sangue como a ceruloplasmina, responsável pela mobilização do ferro dos tecidos para o plasma, além de participar do processo de desenvolvimento do colágeno e da elastina nas aves atuando como cofator enzimático (SCHEIDELER, 2008; FOUAD et al., 2016).

O Cu exerce papel fundamental na saúde e no funcionamento adequado do organismo animal, aumentando a resistência ao estresse e doenças. Na reprodução, o Cu age como precursor da  $\beta$ monooxigenase, que catalisa a hidroxilação da dopamina em norepinefrina, essencial para síntese hormônio liberador de gonadotropina, permitindo o perfeito funcionamento desse sistema (SILVA, 2011; ROYCHOUDHURY et al., 2016).

A maior absorção de cobre ocorre no segmento duodenal e corresponde a 15 a 30% em animais adultos e 5 a 10% em animais jovens (MCDOWEL, 1992). Durante a absorção o Cu interage com outros minerais, principalmente o Zn. Tal absorção depende de um transportador, na qual possui alta afinidade pelo Zn. Logo, alta dose de Zn na dieta pode acarretar em deficiência de Cu em função de sua baixa absorção. Outro mineral que interfere na absorção de Cu é o molibdênio, visto que quando tem alta ingestão de Mo é necessário uma maior suplementação de Cu (LEESON & SUMMERS, 2001).

No trabalho de Lee et al (2001), a concentração sanguínea de cobre e zinco em frangos de corte tiveram seus percentuais aumentados acompanhada de menor excreção desse minerais quando se fez uso de 60 ppm de Cu e 40 ppm de Zn na forma orgânica. Esses mesmos autores concluíram que os quelatos tornam os minerais mais biodisponíveis, podendo ser suplementado em baixas concentrações quando comparadas com as fontes inorgânicas.

Aves que receberam em suas dietas baixas concentrações de Cu (0,7 – 0,9 ppm) tiveram queda tanto na produção quanto na eclodibilidade. Os animais que receberam dietas pobres desse mineral resultaram no aparecimento de embriões anêmicos e com redução no crescimento (MCDOWEL, 1992). Nas aves a carência de cobre pode

provocar a desmielização e ruptura da aorta, afetando a ação da lisil oxidase e falha na síntese de colágeno (DÍAZ et al., 2015).

### **2.3. Deposição de microminerais no ovo**

Há variações nos níveis de microminerais no ovo das poedeiras e a quantidade depositada é dependente da sua forma química (orgânica e inorgânica) como também da quantidade oferecida às aves, comumente ocorrendo uma maior deposição mineral na gema e quantidades menores encontradas no albúmen (RUTZ et al., 2005).

A deposição de microminerais no ovo acontece por mais de uma via, sendo um processo complexo que necessita da participação de proteínas consideradas importantes. Os autores Richards (1997) e Rutz et al (2005), relataram que o transporte de oligoelementos do ovário para a gema acontece por meio da ação da vitelogenina, proteína precursora da gema, que tem a função de levar os minerais dos estoques do fígado para ovário e do ovário para a gema do ovo. A Vitelogenina juntamente com as proteínas ligadoras de minerais lipovitelina e a fosvitina constituem sítios de estoque importantes dentro da subfração granular da gema. De acordo com Uni et al. (2012), essa é a principal rota de transferência de microelementos, visto que a gema constitui a maior reserva destes nutrientes.

Ainda que o maior acúmulo de microminerais seja na fração granular da gema, existe também concentração desses minerais na fração solúvel, conhecida como livetina, formada a partir de proteínas plasmáticas, provenientes do plasma da galinha e formadas por três subfrações chamadas de a (albumina plasmática), b (glicoproteínas) e g (imunoglobinas) (WILLIAMS, 1962; BURLEY & VADEHRA, 1989).

Outra via de transferência desses microelementos envolvem o oviduto e sua síntese de albumina, membrana da casca e a casca propriamente dita. Estrogênio,

progesterona e testosterona participam da síntese da albumina por meio das células tubulares da porção do magno do oviduto (PALMITER, 1972).

#### **2.4. Biodisponibilidade das formas de suplementação de minerais**

Biodisponibilidade é a fração do mineral que realmente é absorvida e aproveitada pelo animal (POLLI, 2002). Fatores como o nível de consumo do mineral, forma química, digestibilidade da dieta, tamanho da partícula, interações com outros minerais e nutrientes, agentes quelantes, inibidores, estado fisiológico do animal, qualidade da água, condições de processamento, idade e espécie animal, podem afetar a biodisponibilidade dos minerais (MILES & HENRY, 2000). Assim, as diferentes formas de suplementação mineral (orgânica e inorgânicas) e seu nível na dieta das aves devem ser conhecidos para fazer uso daquele que possibilite maior aproveitamento no organismo do animal.

Utilizado principalmente na forma de premix, as fontes de minerais pode ser provenientes de fontes inorgânicas ou orgânicas. A decisão de um tipo de suplementação ou fonte mineral a ser utilizada na dieta depende, basicamente, das formas químicas em que os elementos são combinados, garantia de ausência de substâncias tóxicas para os animais e do custo por unidade dos elementos requeridos (ARAUJO et al., 2008).

Os minerais inorgânicos sofrem efeito das mudanças nos valores de pH ao longo do trato digestório da ave que acaba afetando sua biodisponibilidade, facilitando a ocorrência de antagonistas e interações entre metais e até mesmo com outros compostos com objetivo de estabilizar sua molécula, produzindo compostos insolúveis, que não são absorvidos pelas aves (MABE et al., 2003).

Minerais quelatados são uma combinação entre elementos minerais, na qual, são ligados a algum tipo de carregador (aminoácidos, polissacarídeos ou proteínas),

apresentando capacidade de se ligar ao metal através de ligações covalentes, por meio de grupamentos aminos ou oxigênio, constituindo assim uma estrutura cíclica (LEESON E SUMMERS, 2001). Geralmente, é resultado da hidrólise de uma fonte proteica, que resulta na formação de um composto hidrolisado contendo um pool de aminoácidos e peptídeos ligado aos minerais, onde vão apresentar elevada biodisponibilidade e menor toxicidade ao organismo (BERTECHINI, 2006; BARUSELLI, 2010).

No mercado, encontram-se disponíveis diversos produtos contendo diferentes grupos de minerais orgânicos, na qual, cada um apresenta um objetivo específico, tendo uma maior ou menor biodisponibilidade dos elementos traços envolvidos (SALEH et al., 2018). Em função da grande disponibilidade é preciso conhecer seus efeitos sobre a integridade intestinal, avaliando se o produto ocasionará alguma alteração sobre as estruturas que compõe os processos de absorção.

O uso de microminerais complexados a aminoácidos possibilita atender as exigências de forma mais eficaz dos minerais-traços para os animais, uma vez que aumenta sua biodisponibilidade, além de suprir as exigências nutricionais, acarretando em um melhor aproveitamento e reduzindo a excreção para o meio ambiente. Uma maior eficiência pode ser observada quando se utiliza de microminerais orgânicos em fases de maior desenvolvimento de galinhas poedeiras, por haver um intenso metabolismo celular e enzimático e conseqüente necessidade de minerais como cofatores enzimáticos (SANTOS, 2014).

Quando na forma de quelato, os minerais são absorvidos pelos carregadores intestinais de aminoácidos e peptídeos. Logo, não só a biodisponibilidade aumenta assim como, também, são prontamente levados para os tecidos (VIEIRA et al., 2008). Os minerais quelatados apresentam uma maior absorção em relação aos inorgânicos,

pois se utilizam de vias de absorção das moléculas orgânicas que os ligam, fazendo com que não interajam com outros minerais. Essa absorção pode ocorrer de duas formas: o mineral pode ser ligado à borda em escova sendo absorvido pela célula epitelial ou como ocorre na maioria das vezes onde o agente quelante é absorvido levando junto a si o metal (KRATZER & VOHRA, 1996).

Portanto, não só a biodisponibilidade é superior, mas os minerais na forma orgânica são prontamente transportados para os tecidos, onde permanecem armazenados por períodos mais longos que os inorgânicos (RUTZ et al., 2005). Junqueira (2008) relatou que os minerais na forma quelatada podem alcançar taxas de absorção acima de 90% enquanto que os microminerais na forma de sais possui taxa de absorção em média de 10 a 18 % nos animais.

Os quelatos de zinco, incluindo os quelatos de glicina, têm melhor biodisponibilidade que as formas inorgânicas de zinco (JAROSZ, 2017). Altos níveis dietéticos de Zn glicina induziram a uma melhor na atividade da superóxido dismutase de Cu / Zn e glutathione peroxidase e também diminuição do conteúdo de malondialdeído no fígado de galinhas (MA et al., 2011).

## **2.5. Importância das diferentes fontes de microminerais**

A maioria dos minerais orgânicos é classificada como complexos, quelatos ou proteínatos. A Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2001), que define as normas e os padrões dos alimentos destinados à produção animal, conceitua os minerais orgânicos como íons metálicos ligados quimicamente a uma molécula orgânica, formando estruturas com características únicas de estabilidade e de alta biodisponibilidade mineral, existindo a seguinte classificação entre os compostos:

- ✓ Complexo metal-aminoácido: produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com um ou mais aminoácidos. Ex: Complexo ferro aminoácido (Feaminoácido).
- ✓ Complexo metal-aminoácido específico: produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com um aminoácido específico, formando ligações covalentes coordenadas. Ex: zinco-metionina (Zn-Met), zinco-lisina (Zn-Lis), manganês-metionina (Mn-Met), cobre-lisina (Cu-Lis).
- ✓ Proteinato metálico: produto resultante da quelação de um sal solúvel com aminoácidos e/ou proteínas parcialmente hidrolisadas, formando uma estrutura em anel aberta. Ex: proteinato de zinco, proteinato de manganês, proteinato de cobre.
- ✓ Complexo metal-polissacarídeo: produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com uma solução de polissacarídeos, formando um complexo metálico específico. Ex: Complexo zinco-polissacarídeo.
- ✓ Quelato metal-aminoácido: produto resultante da reação de um íon metálico obtido de um sal metálico solúvel com aminoácidos na relação de um mol de metal para um a três moles de aminoácidos, formando ligações covalentes coordenadas.

### **2.5.1. Importância sobre a integridade intestinal**

Para serem absorvidos no lúmen intestinal os microelementos precisam primeiramente ser solubilizados e, assim, liberarem íons metálicos, como  $Zn^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Cu^{++}$  e outros. Ainda no intestino, o transporte desses íons para o interior das células ocorre por meio de transporte passivo ou transporte ativo, sendo necessário que esses íons estejam fixos a um agente ligante ou a uma molécula transportadora permitindo a

passagem para a parede intestinal, atingindo a corrente sanguínea, órgãos e tecidos. Porém, na forma iônica, os minerais na maioria das vezes nem sempre se fixam a um agente ligante, devido a minerais antagônicos principalmente quando estes estiverem em excesso. Também podem ocorrer perdas pela reação com outros compostos, como coloides insolúveis ou no processo de competição pelos sítios de absorção entre elementos minerais, com interações antagônicas que acabam dificultando ou inibindo a sua absorção (HERRICK, 1993; RUTZ et al., 2005).

Para que galinhas poedeiras apresentarem um bom desempenho zootécnico é importante levar em consideração a manutenção da integridade funcional do sistema digestório, pois dela depende a digestão e absorção de nutrientes para conversão do alimento em ovos (FRANZO, 2006). A maior parte dos processos que envolvem digestão e absorção ocorre no intestino delgado, sendo que a quebra do alimento acontece no lúmen do intestino sob influência das enzimas digestivas. Entretanto, parte da digestão ocorre na superfície das células da mucosa (enterócitos) com ação das enzimas da membrana, ou mesmo dentro dela (MACARI, 1999).

A mucosa do intestino delgado é formada por estruturas conhecidas como vilos, que apresentam formatos de dedos. As vilosidades são cobertas por apenas uma camada de células epiteliais, os enterócitos (GROSCWITZ & HOGAN, 2009). No intestino delgado, o número e tamanho das vilosidades em cada segmento (duodeno, jejuno e íleo) vão conferir características próprias, posto que na presença de nutrientes a capacidade de absorção das estruturas vai ser diretamente proporcional à quantidade de vilos, ao tamanho e à área de superfície disponível para absorção. Lesões ou alterações que venha a ocorrer nas estruturas intestino delgado podem comprometer a digestão e absorção (MACARI, 1999). De acordo com Mabe (2001) a integridade da mucosa

intestinal pode ser avaliada através da altura do vilo e profundidade da cripta, estimando o potencial de absorção dos nutrientes.

### **2.5.2. Importância sobre densidade mineral óssea em poedeiras comerciais**

O osso é considerado um tecido conjuntivo, dividido em três regiões, a epífise, diáfise e uma região intermediária entre a epífise e a diáfise, a metáfise na qual é constituído por uma matriz orgânica, em que o zinco, manganês e cobre vão atuar como cofatores enzimáticos, exercendo papel fundamental na sua síntese e a outra parte é constituída por fosfato de cálcio (BARREIRO et al., 2009; SALDANHA et al., 2009).

A matriz óssea possui quatro funções principais, promoção do crescimento, suporte da musculatura, auxiliar na movimentação e servi como reserva mineral, utilizado quando há distúrbios de homeostase mineral (MACARI et al., 2001). Possuem em sua composição aproximadamente 99% do cálcio, 88% do fósforo, 80% do bicarbonato e 50% do magnésio, sendo a maior reserva de mineral do organismo. Cálcio e fosforo são os principais constituintes, por isso é importante conhecer seus efeitos durante o processo de desenvolvimento para estabelecer uma adequada nutrição para as aves (LESSON E SUMMERS, 2005).

Imbalanço mineral na fase de crescimento provocará desequilíbrio na homeostase mineral e calcificação anormal dos ovos, interferindo no desenvolvimento dos ossos (WALDROUP, 1996). A mineralização influencia na força do osso, enquanto a escassez de mineral está atribuída ao aumento no risco fraturas (LESSON et al., 1995; ONYANGO, 2003). O cálcio pode ser obtido de diferentes formas, via transporte sanguíneo depois que absorvido no segmento duodenal e jejunal; pela reabsorção óssea, principalmente pela tíbia e úmero ou então em condições de deficiência de cálcio a partir de ossos estruturais (osso cortical, por exemplo). A concentração de cálcio na

dieta é quem vai definir a participação do intestino e osso como fonte desse mineral. Valores de cálcio próximos ou superior a 3,6% significa que a maior concentração de cálcio é proveniente do intestino, logo se essa concentração for menor ou inferior a 2%, a reabsorção óssea será responsável por 30 a 40% do cálcio na casca do ovo, geralmente ocorrendo no período noturno, quando o trato digestivo ocorre baixa disponibilidade desse mineral (MAZZUCO, 2006). Independente do nível de cálcio na ração as aves vão mobilizar minerais presentes no osso, mostrando-se que a tíbia constitui-se um bom método para avaliação da qualidade do osso (ALMEIDA et al., 2009).

Para Louzada (1997) a densidade mineral óssea é ótima ferramenta de estudo na avicultura, uma vez que permite acompanhar as variações de massa óssea com baixo custo aliado com a tecnologia, permitindo uma melhor percepção e análise do processo de mineralização óssea. A qualidade óssea é um parâmetro que indica que está havendo uma ótima adequação mineral na nutrição das aves. Segundo Ferket et al (1992), a qualidade da matriz óssea, em sua maioria composta de colágeno, também influencia no processo de mineralização. Oligoelementos como zinco, manganês e cobre, estão relacionados com a formação dessa matriz óssea.

Esses microelementos (Zn, Mn e Cu) vão desempenhar papéis importantes funções sobre a integridade óssea. O zinco vai atuar na formação dos ossos e na membrana da casca dos ovos, manganês na formação de ossos longos e da membrana da casca e o cobre na síntese de colágeno (GERALDO et al., 2012)

Avaliando os efeitos das fontes orgânicas e inorgânicas em cinco níveis de suplementação (15, 30, 45, 60 e 75 mg/kg) por 12 semanas, Yildiz et al (2011) observaram melhorias na mineralização óssea e qualidade da casca de galinhas poedeiras suplementadas com fontes orgânicas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de animais – CEUA da Universidade Federal Rural do Pernambuco (CEUA, N°:0 41/2018).

#### 3.1. Local, instalação e delineamento experimental

Foram utilizadas 500 galinhas poedeiras brancas, com idades entre 78 e 97 semanas. As aves foram alojadas em gaiolas com dimensões de 100 x 40 x 45 cm (10 aves / gaiola) instaladas em um galpão de alvenaria convencional coberto com telhas de barro. Ração e água foram oferecidos *ad libitum* durante toda a fase experimental. O fotoperíodo adotado foi de 16 horas (natural + artificial). A temperatura e a umidade relativa do ar no interior do galpão foram registradas por meio de termo-higrômetros digitais (Incoterm) e Datalogger.

A fase de produção (140 dias) foi dividida em cinco períodos de 28 dias. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial (1 + 2x2), com cinco tratamentos, dez repetições e dez aves / gaiola. As guloseimas foram uma dieta controle (mineral inorgânico-MI) e quatro outros tratamentos, duas fontes complexadas (glicinato e ZMCAA) e dois níveis de Zn, Mn e Cu suplementados, baixo (20, 20 e 3,5 ppm de Zn, Mn e Cu ) e alta (40, 40 e 7 ppm de Zn, Mn e Cu, respectivamente). A composição das pré-misturas minerais é detalhada na Tabela 1. A composição mineral da água e as dietas experimentais são mostradas na Tabela 3.

As rações experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais contidas no manual da linhagem (Lohmann LSL, 2017) e balanceadas de acordo com a composição química e valores energéticos dos alimentos, propostas por Rostagno et al. (2017). A composição mineral da água e dietas experimentais encontram-se detalhado na Tabela 1. A composição premixes minerais é detalhada na Tabela 2, enquanto das dietas, na Tabela 3.

**Tabela 1** Composição mineral da água e dietas experimentais.

Micromineral*	Água		Dietas (mg/kg)			
		MI <sup>1</sup>	ZMC-Glicinato baixo % <sup>2</sup>	ZMC-Glicinato alto % <sup>2</sup>	ZMCAA baixo % <sup>3</sup>	ZMCAA alto % <sup>3</sup>
Zinco (mg/kg)	<0,01	49,29	33,92	48,30	31,22	41,39
Manganês (mg/kg)	0,005	46,76	28,91	45,63	28,07	44,58
Cobre (mg/kg)	<0,01	5,79	3,69	6,21	4,56	7,76
Ferro (mg/Kg)	<0,005	311,04	311,99	317,49	303,72	311,13
Cálcio	9,994	-	-	-	-	-

\* Obtido pelo ICP-OES

<sup>1</sup> Fonte inorgânica de zinco, manganês e cobre foram, respectivamente, ZnSO<sub>4</sub>, MnSO<sub>4</sub> e CuSO<sub>4</sub>.

<sup>2</sup> Bi-glicinatos de zinco, manganês e cobre

<sup>3</sup> As fontes complexas de aminoácidos de zinco, manganês e cobre foram Availa® Zn, Availa® Mn e Availa®Cu (Zinpro Corp., Eden Prairie, MN, Estados Unidos)

**Tabela 2** Descrição detalhada dos premixes minerais utilizados em cada tratamento.

Fontes	Nível	Mineral suplementado, mg/kg		
		Zn	Mn	Cu
Sulfatos <sup>1</sup>	-	40	40	7
ZMC-Glicinatos <sup>2</sup>	Baixo	20	20	3,5
ZMC-Glicinatos <sup>2</sup>	Alto	40	40	7
ZMCAA <sup>3</sup>	Baixo	20	20	3,5
ZMCAA <sup>3</sup>	Alto	40	40	7

1 Suplementação por quilograma do produto: Óxido de Zinco 40mg/kg; Óxido de Manganês 40mg/kg; Sulfato de Cobre 7mg/kg.

2 Suplementação por quilograma do produto: Os glicinatos forneceram 20 ou 40 ppm de Zn; 20 o 40 ppm de Mn; 3,5 ou 7 ppm Cu.

3 Suplementação por quilograma do produto: ZMCAA Complexo de aminoácidos de zinco Availa® Zn (20 ou 40 ppm Zn), complexo de aminoácidos de manganês Availa®Mn (20 ou 40 ppm Mn) e cobre de aminoácidos do complexo Availa®Cu (3,5 ou 7 ppm Cu).

\* Sulfato de Ferro 20mg/kg; Selenito de sódio 0.2 mg/kg e Iodato de cálcio 1ppm serão oferecidos na forma inorgânica para todos os tratamentos

**Tabela 3** Composição experimental da dieta.

Ingredients	%
Milho Moído	59,74
Farelo Soja	25,00
Óleo Soja	1,700
Calcário calcítico	10,86
Fostato bicálcico	0,92
Bicarbonato de sódio	0,15
Sal comum	0,29
DL-Metionina 99 %	0,29
L-Treonina 98.5%	0,05
Phytase AB Vista <sup>1</sup>	0,006
Premix Vitamínico <sup>2</sup>	0,10
Premix Mineral	0,15
Inerte (areia)	0,65
Adsorvente <sup>3</sup>	0,10
<b>Total</b>	<b>100</b>
<b>Nutritional Levels</b>	
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2,750
Proteína Bruta, %	16,09
Cálcio, %	4,500
Fósforo disponível, %	0,410
Lisina digestível, %	0,760
Metionina digestível, %	0,526
Met. + Cist. digestível, %	0,744
Treonina digestível, %	0,585
Sódio, %	0,180
Colina, %	1063,5
Potássio, %	0,649
Na+K+Cl (Meq)	180,08

<sup>1</sup> Suplementação por quilograma do produto: Phytase (mín) 10.000 FTU/g. 4 923.

<sup>2</sup> Suplementação por quilograma do produto: Vitamina A (mín): 8.000.000 IU/kg, Vitamina D3 (mín): 2.500.000 IU/kg, Vitamina E (mín): 6.000 IU/kg, Vitamina K3 (mín): 1.000 mg/kg, Vitamina B1 (mín): 1.000 mg/kg, Vitamina B2 (mín): 4.500 mg/kg, Vitamina B6 (mín): 2.000 mg/kg, Vitamina B12 (mín): 12.000 mcg/kg, Niacina (mín): 15 g/kg, Calcium pantothenate (mín): 6.000 mg/kg, folic acid (mín): 400 mg/kg, Biotin (mín): 25 mg/kg.

<sup>3</sup> Suplementação por quilograma do produto: Hydrated sodium and calcium aluminosilicates: 0.10mg g/kg.

### 3.2 Análise histomorfométrica

Ao final da fase experimental, selecionou-se uma ave por unidade experimental. As aves foram eutanasiadas e o intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) coletado. O material obtido foi pesado, acondicionado em potes hermeticamente fechados contendo solução de formol a 10%, identificados e armazenados em local adequado com temperatura ambiente, seguindo as recomendações de Ecolvet (2007).

Para análise histológica, os intestinos foram cortados em circunferências de 0,5 cm e embebidos em parafina. Em seguida, foram seccionados transversalmente em lâminas de 5 µm e corados com hematoxilina-eosina e examinados em microscopia ótica (JUNQUEIRA, 2008). A análise do comprimento dos vilos foi feita com objetiva de 4 vezes de aumento e a medição da profundidade de cripta com objetiva com aumento de 10 vezes. Os valores resultantes foram expressos em µm.

Para obtenção das imagens foi utilizado um microscópio, acoplado a um computador, utilizando um software analisador de imagens (Leica ® Qwin D-1000, versão 4.1). Para as estruturas funcionais como altura e largura de vilos foram utilizadas lentes objetivas de 4 vezes, e para a profundidade e largura de criptas utilizaram-se de lentes objetivas de 10 vezes. As medidas foram realizadas através do programa computacional Image J® (RASBAND, 2004).

As variáveis analisadas nos segmentos do duodeno, jejuno e íleo foram: Altura de vilos (AV); largura de vilos (LV); profundidade de cripta (PC); Diâmetro de cripta (DC); área de absorção e relação vilos cripta (V/C).

A partir das mensurações da altura do vilos, largura do vilos e largura da cripta e utilizando a fórmula proposta por Kisielinski et al. (2002), foi possível obter o comportamento da superfície absorptiva dos segmentos duodenal, jejunal e ileal. A fórmula pode ser visualizada logo abaixo.

$$M = \frac{(largura\ do\ vilos \times altura\ do\ vilos) + \frac{(largura\ do\ vilos + largura\ da\ cripta)^2}{2}}{\left(\frac{largura\ do\ vilos + largura\ da\ cripta}{2}\right)^2} \times \left(\frac{largura\ do\ vilos}{2}\right)^2$$

### 3.3. Densitometria óssea

Realizou-se o procedimento em cinco tíbias por tratamento com o auxílio do equipamento HiSpeed FXI CT scanner (General Electric, Fairfield, CT 06824, USA). Para obtenção das imagens, as tíbias foram retiradas de dentro da solução de formaldeído e dispostas na mesa de exame, lado a lado, separadas por tratamento. Adquiriu-se imagens transversais a partir de cortes seccionais de 2 mm de espessura em um intervalo de reconstrução de 1 mm. Em seguida, estas imagens foram analisadas a partir do software Dicom (versão 1.1.7, Horos, Purview, Annapolis, MD 21401, EUA) a fim de se estimar os valores individuais de radiodensidade óssea nos 3 níveis de corte 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 (OLIVEIRA et al. 2012). Foram obtidos resultados na unidade Hounsfield

(HU), os quais foram convertidos para  $\text{mg/cm}^3$  de hidroxiapatita de cálcio, com o auxílio da equação descrita por Park et al. (2015):

$$BMD = \frac{200 HU_t}{(HUb - HU_w)}$$

Sendo  $HU_t$  a radiodensidade do osso mensurado;  $HUb$  a radiodensidade do phantom de osso, que contém 200mg de hidroxiapatita de cálcio/ $\text{cm}^3$ ; e  $HU_w$  a radiodensidade do phantom da água, sem hidroxiapatita de cálcio.

### **3.4. Composição mineral óssea**

As tíbias foram secas em estufa a  $105^\circ\text{C}$  por aproximadamente 24 horas, após, foram calcinados em mufla por 4 horas a  $600^\circ\text{C}$  (YAN et al., 2005). Pesou-se uma amostra de 0,5 g em balança analítica e posteriormente, digeriu-a com 6ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado, por 10 minutos em sistema aberto. Em seguida, as amostras foram filtradas em papel filtro quantitativo e diluídas até produzir um volume total de 50 ml.

### **3.5. Quantificação mineral na gema**

Após o final de cada período de 28 dias, foi realizada a coleta de ovos para quantificação mineral, em que as gemas foram acondicionadas em sacos plásticos e em seguida feito um pool de duas gemas por cada ciclo.

No laboratório de Nutrição Animal – LNA da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, o material foi colocado em placa de petri e seco em estufa de circulação forçada de ar a  $55^\circ\text{C}$  por 72 horas. Passando a secagem, as amostras foram trituradas e pesadas, aproximadamente 0,5g da amostra seca. No Centro de Apoio a Pesquisa – CENAPESQ da UFRPE, foi realizada a digestão com a adição de 6 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado, em micro-ondas modelo MarsXpress® – CEM Technology durante 35 minutos à temperatura de  $160^\circ\text{C}$ . Ao finalizar a digestão, retirou-se os tubos do carrossel (suporte giratório), pesou-se os extratos em balança analítica e em seguida, adicionou-se as amostras água deionizada (Milli-Q®), a fim de produzir um volume total de 25 ml. As amostras foram filtradas com o auxílio de papel filtro quantitativo e seu volume novamente completado, até o total de 25 ml, conforme Ramos et al. (2010). A quantificação de minerais na gema foi determinada por meio de espectrofotometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICO – OES).

### 3.6. Análise estatística

As variáveis estudadas foram submetidas ao procedimento linear generalizado e as medias foram comparadas pelo teste de tukey a 5% de probabilidade no programa estatístico SAS 9.4

## 4. RESULTADOS

Os resultados mostram que MI x ZMC-glicinatos e fonte de ZMCAA suplementada em dietas para galinhas poedeiras tiveram impacto sobre a morfologia do intestino delgado (Tabela 4). As galinhas poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com ZMC-glicinatos apresentaram menor AV ( $P = 0,0377$ ) do que aquelas alimentadas com MI e ZMCAA. A PC foi maior em galinhas poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com MI do que aquelas alimentadas com ZMC-glicinatos e ZMCAA ( $P < 0,0001$ ); os níveis suplementados afetaram essa variável, em que as aves alimentadas com dietas suplementadas com MI apresentaram menor média de PC do que outras ( $P = 0,0102$ ). Com esses resultados, foram calculados os valores das áreas do segmento duodenal das vilosidades e, assim, as aves alimentadas com a fonte ZMCAA apresentaram melhores valores ( $P < 0,001$ ). Houve interações entre as variáveis LV ( $P = 0,0002$ ), PC ( $P = 0,0112$ ) e razão V / C ( $P < 0,0001$ ) (Tabela 4 e 5). Em geral, LV e V/C apresentaram valores mais altos em aves alimentadas com baixo nível de dietas suplementadas com ZMC-glicinato e maior área de LV quando alimentadas com níveis elevados de suplementação; por outro lado, maior nível de suplementação de ZMCAA proporcionou maior área das vilosidades e melhor V/ C, não afetando a PC.

**Tabela 4** Variáveis morfométricas do duodeno de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis microminerais em dietas (78 a 97 semanas de idade).

Nível	Variáveis					
	AV ( $\mu$ )	LV ( $\mu$ )	PC ( $\mu$ )	DC ( $\mu$ )	ÁREA ( $\mu^2$ )	V/C ( $\mu$ )
Baixo	1854,536	222,970	244,952	78,703	19,154	8,724
Alto	1826,235	207,942	281,718	71,610	20,098	8,084
Fonte						
MI*	1926,470	224,959	422,576	91,847	18,481	5,58
ZMC-Glicinatos	1770,708	217,712	259,201	84,034	17,658	8,276
ZMCAA	1909,297	213,263	266,848	66,451	21,540	8,538
P-value						
Nível	0,6325	0,0923	0,0102	0,0009	0,1303	0,1906
Fonte	0,0216	0,6417	0,6059	<,0001	<,0001	0,5809
Fonte x Nível	0,2159	0,0002	0,0112	0,8570	0,7984	<,0001
Sem	30,316	4,630	7,282	1,195	0,332	0,256
Contraste						
T1 x T2, T3	0,0377	0,5143	<,0001	0,0100	0,2895	<,0001
T1 x T4, T5	0,8198	0,2813	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001

AV: Altura do vilo; LV: Largura do vilo; PC: Profundidade de cripta; DC: Diâmetro de cripta; V/C: Relação vilo cripta.

T1: Sulfatos; T2: Glicinatos-ZMC nível baixo; T3: Glicinatos-ZMC nível alto; T4: ZMCAA nível baixo; T5: ZMCAA nível alto.

\* Para o tratamento inorgânico só foi realizada o contraste ortogonal para comparação de médias quando ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 5** Desdobramento das interações das variáveis morfométricas do duodeno de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).

	Nível	ZMC-GLICINATO	ZMCAA
LV ( $\mu$ )	Baixo	242,850 <sup>aA</sup>	203,906 <sup>bA</sup>
	Alto	192,926 <sup>bB</sup>	222,750 <sup>aA</sup>
PC ( $\mu$ )	Baixo	223,000 <sup>bB</sup>	266,605 <sup>aA</sup>
	Alto	296,977 <sup>aA</sup>	267,095 <sup>aA</sup>
V/C ( $\mu$ )	Baixo	9,577 <sup>aA</sup>	7,884 <sup>bA</sup>
	Alto	6,919 <sup>bB</sup>	9,201 <sup>aA</sup>

As médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

A Tabela 6 mostra os resultados sobre a morfometria do jejuno. As variáveis LV, PC, área DC e razão V / C apresentaram interações ( $P < 0,01$ ). O estudo de diferentes fontes por meio de contraste ortogonal mostrou que a suplementação do MI proporcionou maior AV ( $P < 0,0001$  e  $P = 0,0017$ ), PC ( $P < 0,0001$ , em ambos os

contrastes) e PC ( $P = 0,0342$  e  $P < 0,0001$ ) do que fontes complexas suplementadas, mas a relação V / C ( $P = 0,0009$  e  $P < 0,0001$ ) foi pior no MI (T1) em relação às fontes de ZMC-glicinatos e ZMCAA; sendo a suplementação de ZMCAA (T4, T5) que apresentou o melhor resultado. O ZMCAA teve um LV mais baixo ( $P = 0,0182$ ), mas tinha uma área maior do que aquelas aves alimentadas com fonte MI, que não diferiam dos ZMC-Glicinatos (Tabela 6).

**Tabela 6** Variáveis morfométricas do jejuno de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis microminerais em dietas (78 a 97 semanas de idade).

Nível	Variáveis					
	AV ( $\mu$ )	LV ( $\mu$ )	PC ( $\mu$ )	DC ( $\mu$ )	ÁREA ( $\mu^2$ )	V/C ( $\mu$ )
Baixo	1443,47	156,64	154,87	70,72	17,50	10,41
Alto	1388,94	151,92	169,06	66,67	17,49	8,78
Fonte						
MI	1571,28	165,48	218,84	76,99	16,32	7,18
ZMC-Glicinatos	1341,65	154,63	151,19	70,37	17,13	9,57
ZMCAA	1398,61	147,41	146,69	62,76	18,53	10,11
P-value						
Nível	0,0028	0,0706	0,1006	0,0008	0,3066	0,0120
Fonte	0,2428	0,2670	0,5800	0,0034	0,0217	0,2480
Fonte x Nível	0,2281	<,0001	<,0001	<,0001	0,0002	<,0001
Sem	24,882	3,263	4,008	1,398	0,309	0,237
Contraste						
T1 x T2, T3	<,0001	0,1545	<,0001	0,0342	0,2488	0,0009
T1 x T4, T5	0,0017	0,0182	<,0001	<,0001	0,0019	<,0001

AV: Altura do vilão; LV: Largura do vilão; PC: Profundidade de cripta; DC: Diâmetro de cripta; V/C: Relação vilão cripta.

T1: Sulfatos; T2: Glicinatos-ZMC nível baixo; T3: Glicinatos-ZMC nível alto; T4: ZMCAA nível baixo; T5: ZMCAA nível alto.

\* Para o tratamento inorgânico só foi realizada o contraste ortogonal para comparação de médias quando ( $P < 0,05$ ).

Através do desdobramento (Tabela 7) da interação. Observa-se que, para a fonte de ZMC-Glicinatos suplementados em baixo nível, as aves apresentaram maiores valores de LV, PC e DC, no entanto, para a área das vilosidades e a relação V / C, o baixo nível apresentou menores valores. Para a fonte ZMCAA, valores mais altos de LV, PC e DC são obtidos quando níveis elevados foram suplementados; enquanto níveis

baixos, desde que a variável razão V / C tenha tido melhor resultado. Não houve efeito do ZMCAA na área.

**Tabela 7** Desdobramento das interações das variáveis morfométricas do jejuno de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).

	Nível	ZMC-GLICINATO	ZMCAA
LV ( $\mu$ )	Baixo	173,361 <sup>aA</sup>	140,143 <sup>bA</sup>
	Alto	135,895 <sup>bB</sup>	154,778 <sup>aA</sup>
PC ( $\mu$ )	Baixo	178,852 <sup>aA</sup>	131,221 <sup>bB</sup>
	Alto	123,146 <sup>bB</sup>	164,056 <sup>aA</sup>
DC ( $\mu$ )	Baixo	83,173 <sup>aA</sup>	58,436 <sup>bB</sup>
	Alto	57,378 <sup>bB</sup>	67,236 <sup>aA</sup>
ÁREA ( $\mu^2$ )	Baixo	15,766 <sup>bB</sup>	19,512 <sup>aA</sup>
	Alto	18,527 <sup>aA</sup>	17,671 <sup>aA</sup>
V/C ( $\mu$ )	Baixo	8,968 <sup>bB</sup>	11,869 <sup>aA</sup>
	Alto	10,235 <sup>aA</sup>	8,389 <sup>bB</sup>

As médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

A Tabela 8 mostra os resultados da morfometria do íleo. A comparação entre MI e ZMC-glicinatos e fonte de ZMCAA através do uso de contraste ortogonal foi observado um efeito para PC, DC, área e razão V / C. O MI (T1) proporcionou maior PC e DC, enquanto as variáveis área e razão V / C foram melhores para as aves alimentadas com fontes de ZMC-glicinato e ZMCAA.

Houve interação para as variáveis AV, LV, PC, DC e área das vilosidades ( $P < 0,001$ ). A Tabela 9 mostra o desdobramento da interação; observa-se que o alto nível da fonte de ZMC-glicinato proporcionou maiores valores de AV, LV, PC, DC e área no íleo. Por outro lado, as aves alimentadas com baixos níveis da fonte de ZMCAA apresentaram maiores valores de AV, LV, PC e, área da vilosidade foi melhor quando incluídas dieta de alto nível; para essa mesma fonte, nenhum efeito foi observado para PC.

**Tabela 8** Variáveis da morfometria ileum de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).

Nível	Variáveis					
	AV ( $\mu$ )	LV ( $\mu$ )	PC ( $\mu$ )	DC ( $\mu$ )	ÁREA ( $\mu^2$ )	V/C ( $\mu$ )
Baixo	1373,583	141,992	181,063	64,575	17,822	8,232
Alto	1296,428	144,387	151,753	58,038	18,537	9,524
Fonte						
MI*	1330,713	150,426	213,675	77,888	15,732	6,898
ZMC-Glicinatos	1383,428	145,902	166,229	62,066	18,981	9,334
ZMCAA	1284,720	140,432	166,898	60,546	17,379	8,434
P-value						
Nível	0,0492	0,6488	0,0025	0,0007	0,2028	0,0030
Fonte	0,0058	0,3453	0,9109	0,4376	0,0032	0,0410
Fonte x Nível	<,0001	<,0001	<,0001	0,0009	<,0001	0,1642
Sem	20,898	2,853	5,023	0,982	0,273	0,221
Contraste						
T1 x T2, T3	0,2487	0,4746	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
T1 x T4, T5	0,2658	0,1315	<,0001	<,0001	0,0049	0,0021

AV: Altura do vilo; LV: Largura do vilo; PC: Profundidade de cripta; DC: Diâmetro de cripta; V/C: Relação vilo cripta.

T1: Sulfatos; T2: Glicinatos-ZMC nível baixo; T3: Glicinatos-ZMC nível alto; T4: ZMCAA nível baixo; T5: ZMCAA nível alto.

\* Para o tratamento inorgânico só foi realizada o contraste ortogonal para comparação de médias quando ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 9** Desdobramento das interações das variáveis morfométricas do íleo de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).

	Nível	ZMC-GLICINATO	ZMCAA
AV ( $\mu$ )	Baixo	1582,942 <sup>aA</sup>	1151,909 <sup>bB</sup>
	Alto	1181,103 <sup>bB</sup>	1410,152 <sup>aA</sup>
LV ( $\mu$ )	Baixo	159,416 <sup>aA</sup>	124,568 <sup>bB</sup>
	Alto	132,198 <sup>bB</sup>	156,750 <sup>aA</sup>
PC ( $\mu$ )	Baixo	204,364 <sup>aA</sup>	157,763 <sup>bA</sup>
	Alto	127,558 <sup>bB</sup>	176,293 <sup>aA</sup>
DC ( $\mu$ )	Baixo	68,459 <sup>aA</sup>	60,635 <sup>aA</sup>
	Alto	55,584 <sup>aB</sup>	60,458 <sup>aA</sup>
ÁREA ( $\mu^2$ )	Baixo	19,780 <sup>aA</sup>	15,971 <sup>bB</sup>
	Alto	18,193 <sup>aB</sup>	18,892 <sup>aA</sup>

As médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

A Tabela 10 é apresentada densitometria óssea proximal, medial, distal e total das tíbias da galinha de postura alimentada com minerais inorgânicos e níveis

complexos de fonte mineral. A área tibial proximal e medial foi afetada pela suplementação de fonte mineral; O MI apresentou menor valor de densitometria do que aqueles alimentados com fonte complexada ( $P < 0,0342$  e  $0,0176$ ), a área medial e total foi maior em as aves alimentadas com fonte ZMCAA do que outras fontes, incluindo os glicinatos ZCM ( $P < 0,007$  e  $P < 0,0096$ ). Os altos níveis de minerais suplementados apresentaram o melhor valor de densitometria da área distal.

**Tabela 10** Densitometria tibial óssea de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).

Nível	Diáfase			
	Proximal	Medial	Distal	Média
Baixo	727,856	744,036	670,886	714,259
Alto	724,887	779,539	770,397	754,758
Fonte				
MI*	627,932	645,798	659,940	644,556
ZMC-Glicinatos	719,980	694,962	705,279	703,042
ZMCAA	732,763	820,156	729,492	760,804
P-value				
Nível	0,9335	0,4600	0,0283	0,3099
Fonte	0,7201	0,0031	0,5048	0,1139
Fonte x Nível	0,0460	0,4398	0,0064	0,4485
Sem	18,348	22,374	25,123	17,756
Contraste				
T1 x T2, T3	0,0342	0,2824	0,3656	0,1684
T1 x T4, T5	0,0176	0,0007	0,1494	0,0096

T1: sulfatos; T2: baixo nível de ZMC-glicinato; T3: alto nível de ZMC-glicinatos; T4: baixo nível de ZMCAA; T5: ZMCAA alto nível.

\* Para o tratamento inorgânico, apenas o contraste ortogonal foi utilizado para comparar as médias ( $P < 0,05$ ).

Foi observada interação na densitometria óssea da área distal ( $P = 0,0064$ ). Os resultados mostraram que os níveis mais baixos de glicinato e mais altos de ZMCAA suplementados apresentaram maior densitometria óssea (Tabela 11).

Dados referentes à matéria mineral óssea (MM) estão apresentados na tabela 12. O Conteúdo de cinza foi maior ( $P = 0,0404$ ) para a fonte ZMCAA. Para as variáveis cálcio (Ca), fósforo (P), e relação cálcio:fósforo (Ca: P) não foram observados efeitos da fonte e nível da dieta.

**Tabela 11** Desdobramento das interações variáveis da densitometria distal de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).

	Nível	ZMC-GLICINATO	ZMCAA
Proximal	Baixo	683,543Aa	772,169Aa
	Alto	756.417Aa	693,357Aa
Distal	Baixo	717,665Aa	624,107Ba
	Alto	689,796Ab	834,877Aa

Médias seguidas de mesmas letras, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 8% de probabilidade.

**Tabela 12** Matéria mineral óssea (MM), cálcio (Ca), fósforo (P), razão cálcio: fósforo (Ca: P) na tíbia de galinhas de postura (78 a 97 semanas de idade) suplementadas com diferentes fontes de minerais complexados a aminoácidos.

Nível	Densitometria óssea			
	CZ, g	Ca, mg/kg	P, mg/kg	Ca:P
Baixo	2.531	159.993	73.537	2.176
Alto	2.584	163.682	74.868	2.185
Fonte				
MI	2.585	154.692	71.777	2.156
ZMC-Glicinatos	2.492	159.195	73.158	2.176
ZMCAA	2.623	164.244	75.157	2.184
<i>P-value</i>				
Nível	0.4493	0.4484	0.5324	0.4842
Fonte	0.0404	0.2879	0.3162	0.6029
Fonte x Nível	0.5787	0.6881	0.9659	0.1214
Sem	0.031	2.149	0.911	0.007
Contraste				
T1 x T2, T3	0.2363	0.3602	0.5294	0.1675
T1 x T4, T5	0.6189	0.0701	0.1461	0.0671

T1: Sulfatos; T2: Glicinatos-ZMC nível baixo; T3: Glicinatos-ZMC nível alto; T4: ZMCAA nível baixo; T5: ZMCAA nível alto.

\* Para o tratamento inorgânico só foi realizada o contraste ortogonal para comparação de médias quando ( $P < 0,08$ ).

A Tabela 13 mostra os resultados da composição mineral da gema de ovo. Não houve interação quanto ao uso de microminerais, Zn ( $P = 0,2808$ ), Mn ( $P = 0,1535$ ) e Cu ( $P = 0,4214$ ) na deposição mineral de ovos de gema.

O contraste permitiu observar que a fonte não influenciou a deposição de Zn na gema. A fonte inorgânica de Mn e Cu diferiram da fonte de ZMC-glicinato, que apresentava os valores mais baixos. As galinhas poedeiras alimentadas com dieta

suplementada com ZMCAA apresentaram os maiores valores de Zn, Mn e Cu na deposição gema, principalmente nos menores níveis de suplementação ( $P = 0,0014$ ,  $P = 0,0001$  e  $P = 0,0001$ , respectivamente).

**Tabela 13** Composição mineral da gema de ovos de galinhas poedeiras alimentadas com diferentes fontes e níveis de microminerais nas dietas (78 a 97 semanas de idade).

Nível	Microminerais		
	Zn mg/kg	Mn mg/kg	Cu mg/kg
Baixo	60,674	1,258	1,735
Alto	49,977	0,778	1,334
Fonte			
MI*	55,732	1,077	1,542
ZMC-Glicinatos	51,434	0,912	1,389
ZMCAA	59,521	1,100	1,692
<i>P-value</i>			
Nível	0,0014	<,0001	<,0001
Fonte	0,0094	0,0004	0,0013
Fonte x Nível	0,2808	0,1535	0,4214
Sem	1,893	0,053	0,062
Contraste			
T1 x T2, T3	0,2318	0,0236	0,0035
T1 x T4, T5	0,2566	0,2998	0,9961

T1: sulfatos; T2: baixo nível de ZMC-glicinato; T3: alto nível de ZMC-glicinatos; T4: baixo nível de ZMCAA; T5: ZMCAA alto nível.

\* Para o tratamento inorgânico, apenas o contraste ortogonal foi utilizado para comparar as médias ( $P < 0,05$ ).

## 5. DISCUSSÃO

Em geral, microminerais inorgânicos (IM) são freqüentemente oferecidos acima dos requisitos dos animais, porque sua absorção é menor do que os minerais dos complexos de aminoácidos (AACM). Os resultados do presente estudo mostraram que o uso das fontes orgânicas, com destaque para o ZMCAA melhoram as características morfométricas do intestino delgado, a composição óssea tibial e a deposição na gema de galinhas poedeiras.

As variáveis avaliadas em cada segmento do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) apresentaram comportamento distinto que definiu o efeito das diferentes fontes e níveis sobre a integridade intestinal e conseqüentemente sobre o metabolismo pós-absortivo. Essa resposta se deve à estabilidade da molécula, que permite maior absorção

pelo trato digestivo. Complexos de cobre-aminoácido (zinpro©) em cultura de células Caco-2 facilitam a absorção de íons de cobre por meio de diferentes mecanismos, aumentando a absorção no lado apical ou o efluxo no lado basolateral (GAO et al., 2014). Ensaios com complexos de zinco em células Caco-2 (zinpro©) revelam que os aminoácidos são responsáveis pelo seu transporte, acarretando em um maior enriquecimento intracelular, por utilizar vias menos saturáveis para absorção e por não sofrer ação de antagonistas o que resulta em uma melhor absorção e consequentemente em uma maior biodisponibilidade (SAUER et al., 2017). O Mn orgânico, apresentou maior absorção, devido a expressão melhorada de transportador de metal divalente duodenal 1 (DMT1) frango de corte (LIAO et al., 2019).

A suplementação de fonte inorgânica proporcionou maior AV para os segmentos duodenal e jejunal, tal característica foi acompanhada de uma maior PC. Esses maiores valores promoveram uma baixa relação V/C para os mesmos segmentos. Maiores valores encontrados para AV e PC podem ser resultados de uma maior necessidade de renovação do epitélio intestinal. De acordo com Maiorka et al (2003), essa maior renovação celular gera uma maior PC, em função da hiperplasia, proveniente de uma alta atividade mitótica. Logo, o aumento das vilosidades acontece quando a taxa de mitose é maior que a de extrusão ou quando não está ocorrendo extrusão, assim a manutenção da sua altura é garantida pela perda e proliferação celular, que leva a um aumento na PC (MAIORKA et al., 2008; LOPES et al., 2011). Esse tipo de situação acaba resultando no surgimento de enterócitos imaturos, células que tem baixa capacidade de absorção, assim como uma redução na atividade enzimática na borda da escova. Deste modo, maiores vilosidades nem sempre estão associados com uma maior absorção, visto que os enterócitos precisam estar maduros e funcionando de forma ativa (BOLELI et al., 2002; MÜLLER et., 2019).

A cripta pode ser definida como a fábrica de produção de vilos, e sua menor profundidade indica que está acontecendo uma menor rotatividade celular das vilosidades, permitindo uma menor demanda de nutrientes para produção e manutenção dos tecidos intestinais que podem levar a um melhor desempenho das aves (PARSAIE et al., 2007 ; CHOCT, 2009 ). Para todos os segmentos (duodeno, jejuno e íleo) estudados, a suplementação de fontes orgânicas proporcionaram menores PC. As renovações das células-tronco acontecem na cripta, assim o aparecimento de uma cripta profunda representa em uma maior taxa de proliferação celular, troca rápida de tecidos, acarretando uma alta demanda por síntese residual (XIA et al., 2004). Na cripta ocorre a proliferação dos enterócitos e esses migram em direção ao topo dos vilos, nas quais são descartados no final de sua vida útil.

A resposta positiva da relação vilo/cripta demonstra que o ZMCAA influenciou nas variáveis, altura de vilo e profundidade de cripta, o que seria um indicativo de um menor estresse oxidativo. Conforme Jayaraman et al (2013) a relação V/C é considerada o parâmetro mais importante, em que serve para avaliar a saúde e a recuperação intestinal. Uma alta relação é indicativa de uma vilosidade longa em que o epitélio está completamente amadurecido e funcionalmente ativo, acompanhado com uma cripta rasa com uma renovação celular constante, como consequência uma maior capacidade digestiva e absorptiva de nutrientes (SILVA et al., 2011).

A partir das análises morfométricas DC, AV e LV foi possível calcular a área de absorção. As aves que receberam em suas dietas fontes inorgânicas apresentaram maior AV e LV, o que proporcionou piores respostas para área absorptiva para todos os segmentos. Segundo Kisielinski et al. (2002) quanto menor for a relação entre largura e altura da vilosidade intestinal maior é a área de absorção de nutrientes. Aves que receberam em suas dietas fonte inorgânica tiveram piores valores para o comportamento

absortivo, na qual pode está associado a vários fatores durante o processo de absorção. Aves que receberam fonte MI tiveram piores valores para o processo de absorção.

As fontes orgânicas avaliadas mostram que o ZMCAA resultou em maior área de absorção no duodeno e jejuno nas dietas com maior e menor nível no íleo, enquanto que no ZMC-Glicinato resultou em maior área quando em baixo nível nos três segmentos. A resposta da fonte de ZMCAA em um nível baixo no íleo deve-se à maior absorção que já ocorreu nos segmentos de duodeno e jejuno, na qual sua baixa quantidade disponível após ter sido principalmente absorvida anteriormente resultaria em um valor menor quando comparado com outra fonte. A capacidade de absorção em cada segmento (duodeno, jejuno e íleo) foi dependente das características tais como, o tipo de fonte e a quantidade ofertada, na qual provocou efeito significativo nas variáveis avaliadas. Esses resultados sugerem que a capacidade de absorção de minerais na área da superfície intestinal aumentou, quando houve redução da inclusão, evitando competição pelo local de absorção e, portanto, melhor aproveitamento dos minerais. Yu et al. (2008) observados no duodeno e jejuno de frangos de corte, 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 maneira insaturável

Por meio de ensaio de digestibilidade Bao et al (2009) estimaram a digestibilidade de alguns microminerais na forma orgânica e inorgânica na dieta de frangos de corte. Esse mesmos autores conseguiram demonstrar que digestibilidade do Cu é semelhante em todos os segmentos do intestino delgado; Mn inorgânico e orgânico é digerido principalmente no duodeno e sua taxa de absorção aparente é muito baixa; a digestibilidade do Zn foi a mais alta no íleo e a sua digestibilidade no jejuno foi menor, exibindo diferenças na absorção aparente devido à fonte mineral e ao local intestinal. A

partir dos resultados, infere-se que existem diferenças na taxa de absorção dos minerais, na qual vai depender do tipo de mineral e do local de absorção.

Conforme Mabe et al (2003), os microminerais sofrem efeito das mudanças nos valores de pH ao longo do trato digestório da ave que acaba afetando sua biodisponibilidade, facilitando a ocorrência de antagonistas e interações entre metais e até mesmo com outros compostos com objetivo de estabilizar sua molécula, produzindo compostos insolúveis, que não são absorvidos pelas aves. Também podem ocorrer perdas pela reação com outros compostos, como coloides insolúveis ou no processo de competição pelos sítios de absorção entre elementos minerais (HERRICK, 1993; RUTZ et al., 2005).

A integridade intestinal dos animais alimentados com dieta suplementada com ZMC-AA apresentou melhores resultados do que aqueles alimentados com fonte IM, mas não apresentou resultados diferentes daqueles alimentados com fonte ZMC-Glicinato. E por outras mãos, essas aves apresentaram a melhor densitometria óssea e deposição na gema, comprovando maior biodisponibilidade do que a fonte de ZMC-glicinatos. Zn, Mn e Cu são microelementos diretamente relacionados ao desenvolvimento e crescimento da matriz óssea (UNDERWOOD, 1999).

As fontes complexadas levam a uma maior absorção dos minerais traços, conferindo um composto de alta estabilidade (BRITO et al., 2006). Logo, essa resposta pode aumentar a deposição de cálcio, por não haver antagonismo entre o cálcio com as fontes complexadas, como também uma maior deposição de Zn, Mn e Cu. De acordo com Waldroup (1996), uma dieta com aumento nos níveis de cálcio reduz a absorção de Zn, Mn e Cu, e vice-versa, interferindo no desenvolvimento normal dos ossos das aves.

A melhor deposição de minerais no segmento distal da tíbia foi encontrada para o nível alto ao suplementar o ZMCAA, mas para o ZMC-glicinato não houve diferença

entre os níveis estudados. Segundo Fernandes et al (2008) minerais ofertados em alto níveis para aves impossibilita observar efeitos benéficos dos oligoelementos, seja esses minerais na forma orgânica ou inorgânica, ao contrário o que foi encontrado no presente trabalho. Manangi et al. (2015) mostraram em seu estudo que o uso de minerais quelatados zinco, cobre e manganês com aminoácidos, resultou em maiores valores de resistência óssea.

A qualidade óssea pode não ser a mesma com diferentes idades. No final do período de produção, essa qualidade é dependente de dois fatores, a capacidade de formação óssea na fase de crescimento e menor intensidade de reabsorção óssea durante a fase de postura (WHITEHEAD, 2000). Com isso, esses resultados demonstram que as aves não apresentaram repostas negativas para cinzas ósseas, cálcio, ferro e relação C/P mesmo com uso de diferentes fontes e níveis de microminerais, implicando não haver aumento na ação das células osteoblásticas.

Esse resultado concorda com o de Saldanha (2009) em que fontes e níveis de oligoelementos não influenciaram no teor de cálcio e fósforo na tíbia das aves. Esse autor discutiu que mesmo em menor quantidade os minerais orgânicos conseguiram equilibrar os minerais na tíbia.

O uso de ZMCAA não resultou em diferença quanto à suplementação inorgânica de Zn, Mn e Cu, concordando com alguns trabalhos sobre diferentes tipos de fontes. Não corroborando com Rutz et al (2007), em que relataram que a concentração de minerais no ovo depende da forma química (inorgânico e orgânico) assim como também da quantidade ofertada as galinhas, geralmente havendo maior deposição mineral na gema e quantidades menores depositadas no albúmen.

O presente trabalho corrobora com o de Mabe et al (2003) na qual utilizaram dois níveis (30-30-5 ou 60-60-10 mg / kg Zn, Mn e Cu, respectivamente) e duas fontes

(ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, MnO e CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O o inorgânico e ZMCAA. Houve aumento nas concentrações da gema quando comparada com a dieta basal (não receberam os microminerais) e não houve efeito quanto ao tipo de fonte. Saldanha et al., (2009), relataram que uso de minerais inorgânicos e orgânicos na dieta das aves não foi suficiente para promover o enriquecimento da gema dos ovos, não havendo diferenças entre os tratamentos. A fonte do ZMCAA não mostrou diferença significativa na deposição micro-mineral dos ovos de gema, mas foram observados valores absolutos mais altos, 59.521, 1,1100 e 1.692 que MI, 55.732, 1.077, 1.542, Zn, Mn e Cu, respectivamente. O ZMC-Glicinato apresentou menor deposição mineral (51.434, 0.912, 1.389, respectivamente) .Os estudos mostram que existem diferenças entre as fontes. Avaliando fontes distintas (CuSO<sub>4</sub> e proteinato de cobre), Jegede et al. (2011) observaram que houve aumento na concentração de Cu orgânico na gema com o proteinato de cobre, quando comparado com o CuSO<sub>4</sub>. Assim como, Favero et al. (2013), relataram que a deposição de gema foi maior nas galinhas suplementadas com ZMCAA.

## **6. CONCLUSÃO**

A fonte de ZMCAA ocasionou melhores resultados sobre a integridade intestinal e por ser prontamente utilizado melhorou as características de densidade óssea, material mineral e sobre a deposição na gema.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albuquerque, R. Produção e qualidade da casca de ovos de galinhas poedeiras recebendo microminerais orgânicos em sua dieta. 2004. Tese (Livre-Docência). Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.
- Almeida, P. I. C. L., A. A. Mendes., A. Balog., C. M. Komiyama., S. E. Takahashi., I. C. L. Almeida., and K. F. G. Cardoso. 2009. Efeito do cálcio na qualidade óssea e de ovos de poedeiras. **Arch zootec.** 58(222): 173-183.
- Araújo, J.A., J. H. V. Silva., A. L. Amâncio., C. B. Lima and E. R. A. Oliveira. 2008. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Vet. Brasilica** [online]. 2(3):53-60.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIAL (AAFCO). 1997. Official Publication. Atlanta.
- Back, A. 2004. Manual de doenças das aves. Editora Coluna do Saber.
- Baião, N. C.; and C. G. Lúcio. 2005. Nutrição de matrizes pesadas. In: Macari, M.; A. A. Mendes. Manejo de matrizes de corte. Facta, Campinas. 197-216.
- Bao, Y. M., M. Choct, P. A. Iji., and K. Bruerton. 2009. The digestibility of organic trace minerals along the small intestine in broiler chickens. **Asian Austral J. Anim.** 23:90-97.
- Bao, Y. M., M. Choct., P. A. IJI., and K. Bruerton. 2007. Effect of organically complexed copper, iron, manganese, and zinc on broiler performance, mineral excretion, and accumulation in tissues. **J. Appl. Poultry Res.**16(3): 448-455.
- Barreiro, F. R., A. L. Sagula., O. M. Junqueira., G. T. Pereira., and S. M. Baraldi-Artoni., 2009. Densitometric and biochemical values of broiler tibias at different ages. **Poult. Scienc.** 88:2644-2648.
- Baruselli, M. S. Minerais em forma orgânica: o que são, como funcionam e vantagens da sua utilização na nutrição animal. 2010. Palestra realizada no I seminário Tortuga Cia zootécnica agrária.
- Batal, A. B., T. M. Parr., D. and H. Baker. 2001. Zinc bioavailability in tetrabasic zinc chloride and the dietary zinc requirement of young chicks fed a soy concentrate diet. **Poult. Scienc.**80:87-90.
- Bertechini A.G. 2006. Nutrição de monogástricos. 1. ed. Lavras - MG: Ed. UFLA. 1:302.
- Boleli, I.C, A, Maiorka. & M, Macari. 2002. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M., FURLAN, R.L., GONZALES, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal, São Paulo: Funep, 75-95.
- Brito, J. Á. G. D., A. G Bertechini., E. J, Fassani., P. B, Rodrigu.,, and R. T. F. D, Freitas. 2006. Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **R. Bras. Zootec**, 35:1342-1348.

- Burley, R. W.; D. V. Vadehra, D. V. 1989. The avian egg chemistry and biology. New York: John Wiley and Sons.
- Camargo, M. E.; J. O. J. Barcellos., and G. C. Malafaia. 2008. As convenções sociais de qualidade criadas em sistemas agroalimentares locais: o caso da indicação de procedência da carne do pampa gaúcho. XXXII Encontro da ANPAD, Rio de Janeiro.
- Choct, M. 2009. Managing gut health through nutrition. **British Poult. Sci.** 50:9-15.
- Cupertino, E. S., P. C. Gomes., L. F. T. Albino., H. S. Rostagno., P. R. Cecon., and M. Schmidt, M. 2005. Exigências de Manganês para frangos de corte nas fases de crescimento e terminação. **R. Bras. Zootec.**34(6):2308-2315.
- Díaz, T. G., A. L. Teodoro.,I. C. O. ROJAS., A. F. P. CHITIVA., and J. A. P. GUZMAN. 2015. Metabolismo do cobre na nutrição animal: Revisão. **PUBVET.** 9:252-286.
- Dieck, H. T., F. Doring., and H. P. Roth. 2003. Changes in rat hepatic gene expression in response to zinc deficiency as assessed by DNA arrays. **Br. J. Nutr.** 133:1004-1010.
- Ecolvet. 2007. Manual com orientações para coleta e envio de material. Acessado em Ago. 2018.
- Evaluate Bone Mineralization. **J. Appl. Poult.** 14:492–498.
- Fassani, E. J., G. A. Bertechini., B. L. Oliveira., T. M. Gonçalves., and E. T. Fialho. 2000. Manganês na nutrição de poedeiras no segundo ciclo de produção. **Ciênc. Agrotéc.** 24(2):468-478.
- Favero, A. 2013. Desenvolvimento ósseo da progênie de reprodutoras pesadas suplementadas com fontes inorgânicas e orgânicas de zinco, manganês e cobre. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Ferket, P. R., and M. A. Qureshi. 1992 Effect of level of inorganic and organic zinc and manganese on the immune function of turkey toms. **Poult. Sci.**71(Suppl 1), 60.
- Fernandes, J. I. M., A. E. Murakami., M. I. Sakamoto., L. M. G. Souza., A. Malaguido., and E. N. Martins. 2008 Effects of organic mineral dietary supplementation on production performance and egg quality of white layers. **Rev. Bras. Ciênc. Avíc.**10(1)59-65.
- Fouad, A. M., Y. Li., W. Chen., D. Ruan., S. Wang., W. G. Xie.,Y. C. Lin., and C. T. Zheng. 2016. Effects of dietary copper supplementation on laying performance, egg quality and plasma cholesterol fractions in laying ducks. **Pakistan J Nutr.** 15(9):878-882.
- Franzo, V. S. 2016. Considerações morfofisiológicas do intestino e do fígado de poedeiras comerciais submetidas aos diferentes programas de muda forçada. Tese (Doutora em medicina veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, SP. 30.
- Gao, S., T. Yin., B. Xu., Y. Ma., and M. Hu. 2014. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life sci.** 109:50-56.

Geraldo, A., D. M. Pinto., J. A. G. Brito., M. H. Bernardes., A. L. Silva., and L. C. Machado. 2012. Diferentes programas de suplementação de microminerais para poedeiras semipesadas em primeiro ciclo de produção. **A. Pesq. Anim.** 1(1):48-57.

Groschwitz K. R., and S. P. HOGAN. 2009. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. **J. Allergy Clin. Immunol.**124:3–20.

Hambigde, M. Human zinc deficiency. 2000. **J. Nutr.** 30:1344-1349,

Handbook, FAO Agribusiness. 2010. Poultry Meat and Eggs.

Herrick, J.B. Mineral in animal health. In: ASHMEAD, H.D. (Ed.). 1993. The roles of amino acid chelates in animal nutrition. New Jersey: Noyes. 3-9.

Jarosz Ł., A. Marek., Z. Grądzki., M. Kwiecień., and M. Kalinowski. 2017. The effect of feed supplementation with zinc chelate and zinc sulphate on selected humoral and cell-mediated immune parameters and cytokine concentration in broiler chickens. **Res Vet Sci.** 112:59–65.

Jayaraman, S., G. Thangavel., H. Kurian., R. Mani., R. Mukkalil., and H. Chirakkal. 2013. *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. **Poult. Sci.** 92:370-374.

Jegade, A. V., A. O, Oso., A. O, Fafiolu., R.A, Sobayo., O.M.O, Idowo., and O.O, Oduguwa. 2015. Effect of dietary copper on performance, serum and egg yolk cholesterol and copper residues in yolk of laying chickens. Slovak. **J. Anim. Sci.** 48:29-36.

Junqueira, L. C. U., and J. O. Carneiro. 2008. **Histologia básica** 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Keen, C. L., Ensunsa, J. L., Watson, M.H., Baly, D.L., Donovan, S.M., Monaco, M.H. And Clegg, M.S.1999. Nutritional aspectsof manganese from experimental studies. *Neurotoxicology* 20: 213- 223.

Keen, C. L., J. L. Enunsa., and M. S. Clegg. 2000. Manganese metabolism in animals and humans including the toxicity of manganese. **Metal Ions in Biological Systems.** 37: 89-121.

Kisielinski, K., S. Willis., A. Prescher., B. Klosterhalfen., and V. Schumpelick. 2002. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clin. Exp. med.** 2: 131-135.

Kleyn, R. Chicken Nutrition: 2013. A guide for nutricionists and poultry professionals. Context. 69-78.

Kratzer, F. H., and P. Vohra. 1996. Chelates and chelation. In:\_. Chelates in nutrition. Boca Raton, Floria: CRC Press.5-33

Lee, S.H., B. J. Choi., B. J. Chae., J. K. Lee., and S. P. ACDA. 2001. Evaluation of metal-amino acid chelates and complexes at various levels of copper and zinc in weanling pigs and broiler chicks. **Asian Austral. J. Anim.** 14(12):1734-1740.

- Leeson, S. and J. D. Summers. 2001. **Nutrition of the chicken**. 4 ed. Guelph, Ontario: University Books. 591.
- Leeson, S., G. J. Diaz., and J. D. Summers. 1995. Skeletal disorders. In: Leeson, S.; DIAZ, G. J. J. D. SUMMERS. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. 1st ed. **Guelph: University Books**. 352.
- Leeson, S.; J. D. Summers. 2005. *Commercial Poultry Nutrition*. 3th ed. Department of Animal and Poultry Science, University of Guelph: University Books.
- Liao, X. D., G. Wang., L. Lu., L. Y. Zhang., Y. X. Lan., S. F. Li., and X. G. Luo. 2019. Effect of manganese source on manganese absorption and expression of related transporters in the small intestine of broilers. **Poult. Sci.** 98:4994-5004.
- Lohmann LSL. 2017. *Guia de Manejo*. São José do Rio Preto
- Lopes, C.C., C.B, Rabello., & V.A, Silva. 2011. Desempenho, digestibilidade, composição corporal e morfologia intestinal de pintos de corte recebendo dietas contendo levedura de cana-de-açúcar. *Acta Scientiarum. Animal Sci.*, 33(1), 33-40.
- Louzada, M. J. Q. 1997. Densidade de peças ósseas de frangos. Estudo pela densitometria óptica radiográfica. *Veterinária e Zootecnia*. 9: 95-109.
- MA, W., H. Niu., J. Feng., Y. Wang and J. Feng. 2011. Effects of zinc glycine chelate on oxidative stress, contents of trace elements, and intestinal morphology in broilers. **Biol. Trace Elem. Res.** 142:546-556.
- Mabe, I. Efeitos da suplementação dietética com quelatos de Zinco e Manganês na produção, qualidade de ovos e morfologia intestinal de galinhas poedeiras. 2001. Tese Doutorado. FCF – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2001.
- Mabe, I.C., M, Rapp., M, Bain., and Y, Nys. 2003. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poult. Sci.** 82(12):1903-1913.
- Mabe, I.C., M. Rapp., M. Bain., and Y. Nys. 2003. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poult. Sci.** 82:1903-1913.
- Macari, M. Fisiologia do sistema digestivo das aves (II). *Aves e Ovos*, São Paulo, v. 15, n. 10, p. 2-20, 1999.
- Maiorka, A., I. C. Boleli., and M. Macari, 2008. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M., FURLAN, R.L., GONZALES, E. (Eds). **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. p.113-124.
- Maiorka, A.; and M. Macari. 2002. Absorção de Minerais. In: Macari, M.; R. L. Furlan., and E. Gonzales, E. *Fisiologia Aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP.375.
- Manangi M. K. et al. 2015. The impact of feeding supplemental chelated trace minerals on shell quality, tibia breaking strength, and immune response in laying hens. **J. Appl. Poult. Res.** 24:316–326.

Mazzuco, H. 2006. Integridade óssea em poedeiras comerciais: influência de dietas enriquecidas com ácidos graxos poliinsaturados e tipo de muda induzida. **Embrapa Suínos e Aves-Circular Técnica (INFOTECA-E)**.

Mccall, K. A., C. C. Huang., and C. A. Fierke. 2000. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. **J. Nutr.**130 (5):1437S-46

McDOWEL, L. R. 1992. Copper and molybdenum – minerals in animal and human nutrition. Academy Press Inc. San Diego – Califórnia. 178-204.

Miles, R. D., and P. R. Henry. 2000. Relative trace mineral bioavailability. **Ci Anim. Bras.** 1(2):73-93.

Nollet, L., D. K. J. D. Van., M. Lensing., and P. Spring. 2007. The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. **J. Appl. Poultry Res.** 16(4):592-597.

Oliveira, J. F., J. L. Rossi Jr, F. L. G. Leite, D. C. Oliveira, L. A. V. S. Costa, I. C. C. Silva, M. W. Teixeira and F. S. Costa. 2012. Densitometria da vértebra dorsal, ossopleural e osso neural em t artarugas verdes híidas por tomografia computadorizada quantitativa. **Cienc. Rural.** 42:1440-1 445.

Oliveira, R. C. D. 2008. Morfometria computacional de órgãos de frangos de corte submetidos a duas dietas distintas: suplementação mineral quelada versus suplementação mineral tradicional. (Dissertação de doutorado). São Paulo: Universidade de São Paulo, 2008.

Pacheco, B. H. C., M. A Trindade Neto. R, Albuquerque., & E.A, Schammas. 2010. Níveis de lisina digestível e zinco quelato sobre os parâmetros produtivos de poedeiras marrons. **R. Bras. Zootec.**, 39:2447-2452.

Palmiter, R. D. 1972. Regulation of protein synthesis in the chick oviduct. I. Independent regulation of ovalbumin, conalbumin, ovomucoid, and lysozyme induction. **J. Biol. Chem.** 247:6450-6461.

Parsaie S., F. Shariatmadari., M. J. Zamiri., and K. Khajeh., 2007. Influence of wheat-based diets supplemented with xylanase, bile acid and antibiotics on performance, digestive tract measurements and gut morphology of broilers compared with a maize-based diet. **British Poult. Sci.**, 48:594-600.

Payne, R. L., T. D, Bidner., T. M, Fakler., and L. L. Southern. 2006. Growth and intestinal morphology of pigs from sows fed two zinc sources during gestation and lactation. **J. Anim. Sci.**84:2141-2149.

Pedreira, M. S., and T. T. BERCHIELLI. 2006. Minerais. In: BERCHIELLI, T. T. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: FUNEP. 583.

Peixoto, P. V., P. Malafaia., J. D. Barbosa., and C. H. 2005. Tokarnia. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. Pesquisa Veterinária Brasileira. 25(3):195-200.

Pekel, A.Y.; and Alp, M. 2011. Effects of different dietary copper sources on laying hen performance and egg yolk cholesterol. **J. Appl. Poult. Res.** 20(4): 506-513.

Pesti, G. M., and R. I. Bakalli. 1996. Studies on the feeding of cupric sulfate pentahydrate and cupric citrate to broiler chickens. **Poult. Scienc.** 75:1086-1091.

Polli, S.R. Boletim Informativo Nutron Pet, n.4, 2002. Disponível em: <http://www.animalworld.com.br/vet/ver.php?id=190>. Acessado em 14 de Jan de 2020.

Ramos S. J., V. Faquin, L.R.G. Guilherme, E. M. Castro, F. W. Avila, G. S. Carvalho, C. E. A. Bastos and C. Oliveira. 2010. Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *Plant. Soil. Environ.* 56:584-588.

Rasband, W.S. 2004. ImageJ. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. Available at: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.

Richards, M.P. Trace Mineral Metabolism In The Avian Embryo. **Poult. Scienc.** 76(1):152–164.

Rostagno, H. S., L. F. T. Albino and M. I. Hannas. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos– Composição de alimentos e exigências nutricionais, 4th ed. Viçosa, Minas Gerais.

Roychoudhury, S.; S. Nath., P. Massanyi., R. Stawarz., M. Kacaniova., and A. Kolesarova. 2016. Copper-induced changes in reproductive functions: In vivo and vitro effects. **Physiol. Res.** 65:11–22.

Rutz, F., E. A. Pan., and G. B. Xavier. 2007. Efeito de minerais orgânicos sobre o metabolismo e desempenho de aves. *Revista AveWorld*. Disponível em< <http://www.aveworld.com.br/index.php/documento/141>.> Acesso em 01 de mar de 2020.

Rutz, F., E. A. Pan., and G. B. Xavier. 2007. Efeito de minerais orgânicos sobre o metabolismo e desempenho de aves. *Revista AveWorld*. Disponível em< <http://www.aveworld.com.br/index.php/documento/141>.> Acesso em 01 de mar de 2020.

Rutz, F.; M. A. Anciuti., and E. A. Pan, E. A. 2005. Fisiologia e manejo reprodutivo das aves. In: Macari M., A. A. Mendes, editores. **Manejo de matrizes de corte**. Facta: Campinas.197-216.

Saldanha, E. S. P. B. 2008. Efeitos de minerais orgânicos no desempenho, qualidade de ovos e qualidade óssea de poedeiras semi-pesadas no segundo ciclo de produção. Tese (Doutorado em zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, p. 90,2008

Saldanha, E. S. P. B., E. A. Garcia., and E. A. Pizzolante. 2009. Effect of organic mineral supplementation on the egg quality of semi-heavy layers in their second cycle of lay. **Braz. J. Poult. Sci.** 11:215-222.

Saldanha, E. S. P. B., E. A. Garcia., and E. A. Pizzolante. 2009. Effect of organic mineral supplementation on the egg quality of semi-heavy layers in their second cycle of lay. **Braz. J. Poult. Sci.** 11:215-222.

Saldanha, E. S. P. B., E. A. Garcia., and E. A. Pizzolante. 2009. Effect of organic mineral supplementation on the egg quality of semi-heavy layers in their second cycle of lay. **Braz. J. Poult. Sci.** 11:215-222.

- Saleh, A. A., M. M. Ragab., E. A. M. Ahmed., A. M. Abudabos., and T. A. Ebeid, T. A. 2018. Effect of dietary zinc-methionine supplementation on growth performance, nutrient utilization, antioxidative properties and immune response in broiler chickens under high ambient temperature. **J. Appl. Anim. Res.** 46:820-827.
- Santos, B. M. D. 2014. Suplementação com microminerais quelatados ou inorgânicos para poedeiras comerciais. Tese (Doutorado). Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiana. 2014
- Sauer, A. K., S. Pfaender., S. Hagemeyer., L. Tarana., A. K. Mattes., F. Briel., and A. M. Grabrucker. 2017. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **Biometals.** 30(5):643-661.
- Scheideler, S. E. 2008. Trace minerals balance in poultry. **World's Poultry Journal**, Proceedings of the "Midwest Poultry Federation Convention", Minnesota, U.S.A.,
- Scottá, B. A., R. A. Vieira., A. P. C. Gomide., P. F. Campos., C. C. Barroca., and A. S. Formigoni. 2014. Influência dos minerais quelatados e inorgânicos no metabolismo, desempenho, qualidade da carcaça e da carne de frangos de corte. **PUBVET.** 8(9), Ed. 258, Art. 1710.
- Shankar, A. H., and A. S. Prasad. 1998. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. **Am. J. Clin. Nutr.** 68:447-463.
- Silva, C. A. B.; and M. O. Batalha. 1999. Competitividade em sistemas agroindustriais: metodologia e estudo de caso. In II Workshop brasileiro de gestão de sistemas agroalimentares.
- Silva, M. A. D., B. M. D. S. Pessotti., S. F. Zanini., G. L. Colnago., L. D. C. Nunes., M. R. A. Rodrigues., and L. Ferreira. 2011. Óleo essencial de aroeira-vermelha como aditivo na ração de frangos de corte. **Cienc. Rural.** 41:676-681.
- Skrivan, M.; V. Skrivanov., and M. Marounek. 2006. Effect of various copper supplements to feed of laying hens on cu content in eggs, liver, excreta, soil, and herbage. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 50: 280-283.
- Tokarnia, C. H., J. Döbereiner., and P. V. Peixoto. 2000. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesqui. Vet. Bras. (Online).** 20(3):127-138.
- Trindade, J. L., J. W. B. Nascimento., and D. A. Furtado. 2007. Qualidade do ovo de galinhas poedeiras criadas em galpões no semiárido paraibano. **Rev. Bras. Eng. Agr. Amb.** 11(6):652-657.
- Trzeciak, A., J. Kowalik., E. Malecka-Panas., J. Drzewoski., M. Wojewódzka., T. Iwanenko., and J. Blasiak, J. 2000. Genotoxicity of chromium in human gastric mucosa cells and peripheral blood lymphocytes evaluated by the single cell gel electrophoresis (comet assay). **Med. Sci. Monit. Basic Res.** 6(1), 24-29.
- Underwood, E. J., and N. F. Suttle. 1999. **The mineral nutrition of livestock.** 3<sup>a</sup> ed. Wallingford: CABI, 614 p.

- Uni, Z., L. Yadgary., and R. Yair. 2012. Nutritional limitations during poultry embryonic development. **J. Appl. Poultry. Res.** 21(1):175- 184.
- Vieira, S. L. 2008. Chelated minerals for poultry. **Rev. Bras. Ciênc. Avíc.**10(2):73-79.
- Waldroup, P.W. 1996. Bioassays remain necessary to estimate phosphorus, calcium bioavailability. **Feedstuffs.** 68:13-20.
- Whitehead, C., and R. H. Fleming. 2000. Osteoporosis in cage lens. **Poult. Sci.** 79:1033-1041.
- Whittow, G. C. 1988. Sturkie's Avian Physiology. 5° edição, Germany.
- WilliamS, J. 1962. Serum proteins and the livetins of hen's-egg yolk. **Anal. Biochem.**83:46-355.
- Xia, M. S., C. Hu., and Z. R. Xu.. 2004. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. **Poult. Sci.**, 83, 1868-1875.
- Yan, F.; C. A. Keen, K. Y Zhang and P. W. Waldroup. 2005. Comparison of Methods to Yildiz, A. Ö.; Y, Cufadar., and O. Olgun. 2011. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralization in laying hens. **Ver. Med. Vet.**162(10): 482-488.
- YU, Y. et al. 2008. Kinetics of Zinc Absorption by In Situ Ligated Intestinal Loops of Broilers Involved in Zinc Transporters. **Poult. Sci.** 87:1146–1155.