

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

**HISTOLOGIA INTESTINAL, PARÂMETROS ÓSSEOS E DEPOSIÇÃO MINERAL  
NA GEMA DOS OVOS DE GALINHAS ALIMENTADAS COM MINERAIS  
COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS**

**JAMILLE SHEILA DA SILVA WANDERLEY**

RECIFE – PE  
FEVEREIRO- 2020

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

**HISTOLOGIA INTESTINAL, PARÂMETROS ÓSSEOS E DEPOSIÇÃO MINERAL  
NA GEMA DOS OVOS DE GALINHAS ALIMENTADAS COM MINERAIS  
COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS**

**JAMILLE SHEILA DA SILVA WANDERLEY**

Zootecnista

RECIFE – PE  
FEVEREIRO- 2020

**JAMILLE SHEILA DA SILVA WANDERLEY**

**HISTOLOGIA INTESTINAL, PARÂMETROS ÓSSEOS E DEPOSIÇÃO  
MINERAL NA GEMA DOS OVOS DE GALINHAS ALIMENTADAS  
COM MINERAIS COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS**

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. Dr Carlos Bôa-Viagem Rabello – Orientador Principal

Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mércia Rodrigues Barros – Coorientadora

Dr Marcos José Batista dos Santos – Coorientador

**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)

---

- W245h Wanderley, Jamille Sheila da Silva  
HISTOLOGIA INTESTINAL, PARÂMETROS ÓSSEOS E DEPOSIÇÃO MINERAL NA GEMA DOS OVOS DE GALINHAS ALIMENTADAS COM MINERAIS COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS / Jamille Sheila da Silva Wanderley. - 2020.  
61 f.
- Orientador: Carlos Boa-Viagem Rabello.  
Coorientador: Marcos Jose Batista dos Santos.  
Inclui referências e anexo(s).
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife, 2020.
1. Fonte mineral. 2. Função intestinal. 3. Mineral orgânico. 4. Quelato. 5. Resistência óssea. I. Rabello, Carlos Boa Viagem, orient. II. Santos, Marcos Jose Batista dos, coorient. III. Título

**JAMILLE SHEILA DA SILVA WANDERLEY**

**HISTOLOGIA INTESTINAL, PARÂMETROS ÓSSEOS E DEPOSIÇÃO MINERAL  
NA GEMA DOS OVOS DE GALINHAS ALIMENTADAS COM MINERAIS  
COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS**

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 28 de fevereiro de 2020

Comissão Examinadora:

---

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

---

Profª Drª Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Departamento de Zootecnia

---

Prof. Dr. Julio Cezar dos Santos Nascimento  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Departamento de Zootecnia

RECIFE – PE  
FEVEREIRO 2020

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**JAMILLE SHEILA DA SILVA WANDERLEY**– Filha de Jackeline Rosa da Silva e Denival da Silva, nasceu no município de Pesqueira-PE, em 15 de setembro de 1994. Em março de 2012 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Sede/UFRPE), onde desenvolveu iniciação científica e atividades de monitoria. Em 2017 tornou-se Bacharel em Zootecnia. No ano seguinte ingressou no Curso de Pós-graduação em Zootecnia na UFRPE em Recife, sob orientação do Professor Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello. No dia 28 de fevereiro de 2020 submeteu-se à defesa da dissertação para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

*Deem graças ao Senhor porque ele é bom;  
o seu amor dura para sempre.  
Salmos 107,1.*

*À minha família, em especial aos meus pais e esposo.*

***DEDICO***



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me concedido força, boa saúde, e sabedoria para ultrapassar todas as dificuldades impostas.

Aos meus pais, Jackeline Rosa e Denival da Silva, por todo amor e incentivo. Vocês constituem meu alicerce na vida.

Ao meu marido Augusto Wanderley, por todo amor, companheirismo, carinho, paciência e apoio. Você me ensina a ser alguém melhor a cada dia.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização do mestrado, com a certeza da ética, qualidade e mérito desta instituição.

A todo o corpo docente, pelo suporte no meu aprendizado, proporcionado tantas experiências no meu crescimento profissional.

Agradeço em especial ao meu orientador, Prof<sup>o</sup> Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello, pela orientação, ensinamento, confiança e empenho dedicado à elaboração desta dissertação.

A Prof<sup>a</sup> Dra. Mércia Rodrigues Barros, pelos ensinamentos e contribuições necessárias para concluir a pesquisa.

Ao pós-doutorando do Departamento de Zootecnia, Marcos José pela ajuda na realização das análises estatística e por sua contribuição no trabalho.

A todos os amigos que a pós graduação me proporcionou, em especial, Leandro Moreira, pela amizade e tudo que passamos juntos.

À Zinpro Corporation, pelo financiamento da pesquisa.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos do Laboratório Patologia Animal do DMV/UFRPE, em especial Aluanan pelo apoio no processamento das amostras histológicas.

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

Aos professores Valdemiro, pela assistência nas fotomicrografias e o professor Fabiano Séllos, pelas análises de densitometria óssea.

Tenho muito orgulho em obter essa conquista, pois foi necessária muita determinação, paciência e persistência para alcançar meus objetivos. A todos que ajudaram para que este momento se realizasse, meus sinceros agradecimentos!

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>X</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>XI</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>XII</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XIII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XIV</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 MINERAIS E SUA IMPORTÂNCIA PARA O ANIMAL.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2 FONTES DE MICROMINERAIS COMPLEXADOS.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3 PRINCIPAIS MICROMINERAIS UTILIZADOS COMO SUPLEMENTO EM DIETAS DE AS GALINHAS POEDEIRAS.....</b>	<b>22</b>
2.3.1 Zinco (Zn).....	22
2.3.2 Cobre (Cu).....	24
2.3.3 Manganês (Mn).....	25
2.3.4 Ferro (Fe).....	27
<b>2.4 Metabolismo, digestão e absorção dos minerais.....</b>	<b>28</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
<b>3.1 Local, instalações e delineamento experimental.....</b>	<b>31</b>
<b>3.2 Histologia do intestino.....</b>	<b>34</b>
<b>3.3 Densitometria óssea.....</b>	<b>36</b>
<b>3.4 Composição mineral óssea.....</b>	<b>37</b>
<b>3.5 Coleta e avaliação de gemas.....</b>	<b>37</b>
<b>3.6 Análise estatística.....</b>	<b>38</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>38</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>52</b>

**LISTA DE TABELAS**

	<b>Páginas</b>
<b>Tabela 1</b> Descrição da composição mineral das dietas utilizadas nos tratamentos.....	32
<b>Tabela 2</b> Composição da dieta experimental.....	33
<b>Tabela 3</b> Altura e largura de vilosidades, profundidade e largura de criptas, relação vilo:cripta e área do jejuno e do íleo de galinhas poedeiras de 78 a 98 semanas de idade, alimentadas com dietas contendo MNC e MCAA.....	39
<b>Tabela 4</b> Densitometria óssea de tíbias de poedeiras com 98 semanas de idade alimentadas com dietas contendo MNC e MCAA.....	41
<b>Tabela 5</b> Composição mineral óssea de galinhas poedeiras de 78 a 98 semanas de idade, alimentadas com dietas contendo MNC e MCAA.....	42
<b>Tabela 6</b> Valores médios da composição mineral na gema de ovos de galinhas poedeiras de 78 a 98 semanas de idade, alimentadas com dietas contendo MNC e MCAA .....	43

**LISTA DE FIGURAS**

	<b>Páginas</b>
<b>Figura 1</b> Representação de mineral complexado a aminoácidos.....	29
<b>Figura 2</b> Transporte do mineral complexado a aminoácido ao longo das etapas.....	30

**LISTA DE ABREVIATURAS**

AAFCO - Association of american feed control officials

Ca – Cálcio

Cd – Cádmió

CEUA – Comissão de ética no uso de animais

Cl – Cloro

Co – Cobalto

Cu – Cobre

Fe - Ferro

I – Iodo

K – Potássio

MCAA - Mineral complexado a aminoácidos

Mg – Magnésio

Mn – Manganês

MNC – Mineral não complexado

Mo – Molibdênio

Na – Sódio

P – Fósforo

ppm – Partes por milhão

S - Enxofre

Se – Selênio

Zn - Zinco

## RESUMO

Os minerais complexados, são melhores absorvidos na mucosa intestinal, pois, utilizam as vias absorptivas das moléculas que os complexam, não havendo competição com outros minerais, apresentando, maior biodisponibilidade, que os minerais não complexados. Objetivou-se a determinação do efeito e dos níveis de substituição total das fontes inorgânicas de Zn, Mn, Cu e Fe por fontes complexadas a aminoácidos na alimentação de galinhas poedeiras leves na fase de produção. Foram utilizadas 400 galinhas poedeiras comerciais da linhagem Lohmann White, com idade de 78 a 98 semanas. As aves foram alojadas em 40 gaiolas, com lotação de 10 aves/gaiola. A pesquisa estendeu-se por 140 dias, fracionada em cinco ciclos de 28 dias cada. Utilizou-se quatro dietas, com substituição total da fonte mineral não complexada (MNC) por fonte mineral complexada a aminoácidos (MCAA), com redução do nível de suplementação dos níveis de minerais como sendo: T1- Dieta controle, apenas com MNC; T2- Dieta suplementada com MCAA e inclusão de 70% nos níveis dos minerais; T3- Dieta suplementada com MCAA e inclusão de 50% nos níveis dos minerais e T4- Dieta suplementada com MCAA e inclusão de 40% nos níveis dos minerais. Os dados foram submetidos ao teste de Dunnett, comparando dietas com MNC e MCAA, uma a uma. Em seguida, realizou-se análise de contrastes ortogonais (linear ou quadrático) e de interesses, à 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), com o auxílio do programa estatístico SAS versão 3.1. A histologia indicou variações quanto ao nível e a fonte mineral em todos os segmentos intestinais. Na porção duodenal a fonte e o nível mineral influenciaram a altura e a largura do vilão, com menores valores com a inclusão de 70% de MCAA. No jejuno a fonte influenciou altura e largura do vilão e profundidade da cripta, enquanto o nível influenciou larguras do vilão e da cripta, com vilos mais largos com MNC. Já no íleo, houve influência da fonte em largura do vilão, profundidade e largura da cripta, relação vilão:cripta e área, enquanto o nível influenciou altura e largura do vilão, profundidade e largura da cripta e relação vilão:cripta, com aumento linear para relação vilão:cripta à medida que reduziu a suplementação com MCAA. Para todas as porções intestinais foram observados resultados satisfatórios com a suplementação de MCAA. Na densitometria houve influência da fonte mineral utilizada apresentando maiores densidades no geral e na porção medial para a dieta com 40% MCAA, demonstrando maior resistência e manutenção das características ósseas. Não houve efeito da fonte na composição mineral das tíbias, porém, observou-se maiores relações de Ca e P para as dietas suplementadas com MCAA. Nas gemas houve influência da fonte e do nível mineral nas deposições de Mn e Cu, sendo possível observar redução linear na deposição mineral à medida que reduziu a inclusão de MCAA. Portanto, a inclusão até 50% na suplementação de fontes complexadas de Zn, Mn, Cu e Fe em substituição total das fontes não complexadas, proporcionou melhores condições histológicas, influenciando positivamente na relação vilão:cripta jejunal e ileal, e ainda, em toda a área de superfície de absorção intestinal, assim como, melhores parâmetros ósseos, não apresentando prejuízos quanto a deposição micromineral na gema.

**Palavras-Chaves:** Fonte mineral, função intestinal, mineral orgânico, quelato, resistência óssea, tíbia

## ABSTRACT

Complexed minerals are better absorbed in the intestinal mucosa, as they use the absorptive pathways of the molecules that complex them, with no competition with other minerals, presenting greater bioavailability than non-complexed minerals. The objective was to determine the effect and the levels of total substitution of inorganic sources of Zn, Mn, Cu and Fe by sources complexed with amino acids in the feeding of light laying hens in the production phase. 400 commercial laying hens of the Lohmann White lineage, aged 78 to 98 weeks, were used. The birds were housed in 40 cages, with a capacity of 10 birds / cage. The research lasted 140 days, divided into five cycles of 28 days each. Four diets were used, with total replacement of the non-complex mineral source (NCM) by mineral source complexed to amino acids (AACM), with reduction of the level of supplementation of the mineral levels as being: T1- Control diet, only with NCM; T2- Diet supplemented with AACM and inclusion of 70% in mineral levels; T3- Diet supplemented with AACM and inclusion of 50% in mineral levels and T4- Diet supplemented with AACM and inclusion of 40% in mineral levels. The data were submitted to the Dunnett test, comparing diets with NCM and AACM, one by one. Then, an analysis of orthogonal contrasts (linear or quadratic) and of interests was carried out, at 5% probability ( $p < 0.05$ ), with the aid of the statistical program SAS version 3.1. Histology indicated variations in level and mineral source in all intestinal segments. In the duodenal portion, the source and mineral level influenced the height and width of the villus, with lower values with the inclusion of 70% AACM. In the jejunum the source influenced the height and width of the villus and the depth of the crypt, while the level influenced the widths of the villus and the crypt, with wider villi with NCM. In the ileum, the source influenced the villus width, crypt depth and width, villus: crypt ratio and area, while the level influenced the villus height and width, crypt depth and width and villus: crypt ratio, with linear increase for villus ratio: cypta the measure that reduced the supplementation with AACM. Satisfactory results were observed for all intestinal portions with AACM supplementation. In the densitometry there was influence of the mineral source used, presenting higher densities in general and in the medial portion for the diet with 40% AACM, demonstrating greater resistance and maintenance of bone characteristics. There was no effect of the source on the mineral composition of the tibia, however, higher Ca and P ratios were observed for diets supplemented with AACM. In the buds there was influence of the source and the mineral level in the depositions of Mn and Cu, being possible to observe a linear reduction in the mineral deposition as it reduced the inclusion of AACM. Therefore, the inclusion of up to 50% in the supplementation of complexed sources of Zn, Mn, Cu and Fe in total replacement of non-complexed sources, provided better histological conditions, positively influencing the villus: jejunal and ileal crypt relationship, and yet, throughout intestinal absorption surface area, as well as better bone parameters, showing no damage as to the micromineral deposition in the yolk.

**Key words:** Mineral source, intestinal function, organic mineral, chelate, bone strength, tibia

## 1. INTRODUÇÃO

Mundialmente, o Brasil é um dos maiores produtores de ovos, destacando-se por possuir ótimos índices zootécnicos, em que grande parte da produção é direcionada ao consumo interno (ABPA, 2019). Para manter essa eficiência no sistema de criação, é imprescindível que as aves estejam alojadas com bom estado sanitário, e recebam o aporte nutricional adequado. As linhagens comerciais de poedeiras são selecionadas para alcançar excelentes padrões de produtividade e desempenho. No entanto, inúmeras razões são capazes de influenciar negativamente a manifestação de seu potencial genético.

Com a finalidade de dispor de uma boa nutrição para as aves, é indispensável a oferta de rações que contenham nutrientes em quantidades apropriadas, sobretudo, minerais (Sechinato et al., 2006). Comumente são utilizadas duas formas químicas na ração de poedeiras: inorgânica e orgânica. Ambas com o propósito de suplementar o déficit mineral dos ingredientes (Araujo et al., 2008). Os microminerais são fundamentais na dieta das galinhas poedeiras, pois participam dos processos bioquímicos necessários para reprodução, crescimento, metabolismo, sistema imunológico e diversas outras funções fisiológicas que gerem incremento na produtividade (Richards et al., 2010; M'Sadeq et al., 2018). São capazes de constituir tecidos, órgãos e fluidos, assim como, conseguem catalisar processos hormonais e enzimáticos (Leeson and Summers, 2001).

Para atender as exigências nutricionais, é comum, na formulação de dietas utilizar grande margem de segurança para inclusão dos níveis de minerais (Bao et al., 2007). Porém, o uso desmedido de minerais pode impactar a absorção e o metabolismo de outros minerais, uma vez que há interações e competições pelos sítios de ligação (Bai, 2008; Yu et al., 2008), implicando em prejuízo ao meio ambiente, visto que o excedente de minerais não é absorvido e conseqüentemente, é excretado (Jarosz et al., 2017).



Os minerais inorgânicos encontram-se na forma iônica, os quais podem complexar-se com os ingredientes da dieta, prejudicando o processo absorptivo, ficando indisponíveis para absorção, havendo perdas por meio de disputas pelos sítios de absorção, por antagonismos e por reações diversas entre compostos (Herrick, 1993; Favero et al., 2013).

Já os minerais complexados, são melhores absorvidos pela mucosa intestinal, pois, usam vias alternativas de absorção, normalmente, as vias das moléculas que os complexam (Bao et al., 2007; Scott et al., 2016; Goff, 2018), mantendo-se intactos e não sofrendo dissociação no trato intestinal (Ahmed et al., 2016), com isso, dificulta a competição mineral por antagonistas, decorrendo em maior absorção e, portanto, maior biodisponibilidade, levando a uma redução na excreção de minerais para o meio ambiente (Richards and Dibner, 2005). A maior biodisponibilidade apresentada pelos minerais complexados, dispõe de maiores deposições nas tíbias (Yildiz et al., 2011; Bai et al., 2017) e nos ovos (Yenice et al., 2015), assim como, maior resistência óssea e melhor desenvolvimento do tecido ósseo (Richards et al., 2010), ainda, reduz a excreção dos minerais para o ambiente (Carvalho et al., 2015; Yenice et al., 2015).

Diversas são as pesquisas que avaliam a eficácia da inclusão de minerais complexados na dieta animal, contudo, os estudos relacionados a suplementação destes com a mucosa intestinal do intestino delgado, parâmetros ósseos e deposição em gemas ainda são escassos. Nesta conjuntura, este estudo foi produzido com o objetivo de determinar o efeito e níveis de substituição total das fontes inorgânicas de Zinco, Manganês, Cobre e Ferro por fontes complexadas a aminoácidos na alimentação de galinhas poedeiras leves na fase de produção.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 MINERAIS E SUA IMPORTÂNCIA PARA O ANIMAL

Os minerais exercem funções relevantes na produção animal, das quais estão relacionadas com reprodução e crescimento, metabolismo e sistema imunológico, bem como diversas outras funções fisiológicas que gerem incremento na produtividade (Bertechini; Brito et al., 2006). São encontrados na composição de tecidos, órgãos e fluidos, assim como, conseguem catalisar processos hormonais e enzimáticos (Leeson and Summers, 2001). A fração mineral de cada matéria prima decorre em função de elementos como clima, solo, espécie cultivada e, ainda, seu amadurecimento (Veiga and Cardoso, 2005).

Mcdowell (1992), classificou os minerais em macrominerais e microminerais. Os macrominerais – Ca, Cl, S, P, Mg, K, Na – são requeridos em quantidades maiores pelo organismo animal, os quais são demandados em quantidades superiores a 100 ppm. Enquanto os microminerais ou elementos traços – Co, Cu, Fe, I, Mn, Se, Zn – são requeridos em menores quantidades pelo organismo animal, sendo, portanto, de difícil avaliação, em virtude de suas baixas concentrações nos tecidos. Portanto, a concentração destes minerais na dieta, devem ser atendidas a fim de garantir a manutenção dos processos fisiológicos do animal e a expressão de seu máximo desempenho.

De acordo com Rostagno et al. (2017), o nível adequado dos minerais Zn, Mn, Cu e Fe em sua forma inorgânica durante a postura são de 59,63; 64,20; 9,14 e 45,85 mg/kg respectivamente.

Em geral os minerais são utilizados nas formas inorgânica ou orgânica, em que, ambas suplementam o déficit mineral dos ingredientes (Araujo et al., 2008), diminuindo

as perdas, pois podem aumentar a qualidade (Nunes et al., 2013; Yilmaz et al., 2015) e a produção de ovos (Fernandes et al., 2008; Favero et al., 2013).

É comum a utilização de óxidos e sulfatos na suplementação mineral, os quais passam pelo processo de absorção no intestino, onde há o carreamento de íons metálicos, através do transporte ativo ou pela difusão passiva, porém, frequentemente estes íons não se ligam a moléculas transportadoras, logo, estes minerais são excretados. Deste modo, há perdas por meio de disputas pelos sítios de absorção, por antagonismos e por reações diversas entre compostos (Herrick, 1993).

Os minerais não complexados encontram-se na forma iônica, apresentando, assim, diversas desvantagens (Mezes et al., 2012; Favero et al., 2013; Lukasz et al., 2017). Aprimorar a suplementação de minerais é uma das práticas que mais asseguram a saúde animal e atenuam a carga ambiental. Portanto, inúmeros pesquisadores têm analisado os microminerais ligados à uma matriz orgânica, quelatados ou complexo orgânico, visando a possibilidade de possuírem melhor biodisponibilidade sobre as habituais fontes minerais de óxidos e sulfatos, conseqüentemente, irão intervir no desempenho, na deposição dos minerais nos produtos e na longevidade animal, reduzindo a eliminação dos microminerais que contaminam o ambiente (Nollet et al., 2007; Aksu et al., 2010; Costa et al., 2010; Mantovani et al., 2010).

## **2.2 FONTES DE MICROMINERAIS COMPLEXADOS**

Estabeleceu-se que minerais complexados é uma combinação de elementos minerais, os quais se ligam a carreadores como proteínas, aminoácidos ou polissacarídeos, que, mediante ligações covalentes, se ligam ao metal, através do oxigênio ou do grupo amino, gerando uma estrutura cíclica (Leeson and Summers, 2001).

Consequentemente, a estabilidade e absorção desses minerais é favorecida, visto que não se complexam com outras substâncias, aumentando, portanto, a biodisponibilidade e reduzindo a capacidade do micromineral se desassociar do alimento (Leeson and Summers, 2001; Rutz et al., 2007).

A Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2001), determinou que os minerais complexados são íons metálicos quimicamente ligados com uma molécula orgânica, gerando conformações com elevada biodisponibilidade e estabilidade. A utilização destes minerais na dieta possui capacidade de satisfazer as exigências nutricionais para microminerais dos animais, em virtude de sua superior biodisponibilidade, melhorando a absorção, bem como reduzindo a excreção para o ambiente. Durante os períodos de acentuado metabolismo enzimático e celular, (compreendendo as fases de recria e pré-postura, onde galinhas poedeiras possuem maior crescimento), o emprego de minerais complexados é mais eficiente (Paik, 2001; Brito et al., 2006; Santos, 2014).

A continuidade da produtividade das aves com o avançar da idade, requer novos estudos, no que se refere ao emprego dos minerais complexados, quanto ao estado fisiológico e nutrição das poedeiras, uma vez que, colaboram com o metabolismo, integridade de órgãos digestivos e reprodutivos, e na formação do ovo, amenizando a queda de produção nesta fase da vida (Leesons and Summers, 2001). Tais estudos possuem o propósito de reduzir os níveis de suplementação de microminerais na dieta de poedeiras, promovendo uma menor excreção de resíduos no meio ambiente, tendo em vista que, os minerais complexados dispõem de biodisponibilidade superior, quando comparados as fontes minerais comumente utilizadas, óxidos e sulfatos (Nollet et al., 2007; Rutz et al., 2007 ; Santos, 2014).

Em nutrição animal, a utilização da palavra absorção está atribuída a assimilação dos nutrientes pelas células, tendo como exemplo, os minerais advindos da dieta (Polli, 2002). Já a biodisponibilidade refere-se a quanto do nutriente é aproveitado, e, portanto, está disponível para o metabolismo do animal (Ammerman et al., 1995). Contudo, existem fatores que reduzem a absorção de nutriente no lúmen intestinal, podendo acontecer antagonismos entre os nutrientes da dieta, influenciando, portanto, sua biodisponibilidade (Leeson and Summers, 2001; Richards et al., 2010).

Conforme Richards and Dibner (2005), a os melhores resultados obtidos pelos minerais complexados está na estabilidade do complexo no trato digestivo, logo, dificultando a competição mineral por antagonistas. Para que haja a absorção dos minerais, as moléculas necessitam ser solubilizadas no lúmen intestinal, propiciando o transporte dos metais ionizados através das proteínas carreadoras por intermédio da membrana celular dos enterócitos.

O excesso e a carência de minerais são capazes de gerar prejuízos no animal, podendo suceder-se diversos tipos e amplitudes de anormalidades. Para que ocorra a manutenção da homeostase, favorecendo a integridade intestinal e o desempenho zootécnico, necessita-se de níveis adequados de minerais. São realizados diversos estudos que possuem o objetivo alcançar a forma e a quantidade ideal de minerais que serão suplementados na dieta dos animais. As anormalidades podem ser atenuadas com o fornecimento ideal do mineral carente (Spears, 1999; Maiorka and Macari, 2002; Baião and Lucio, 2005; Goff, 2006).

Como apresentado por Rostagno et al. (2017), os minerais complexados possuem requerimentos significativamente menores que os minerais não complexados, com uma redução média de 56% na suplementação. Segundo os estudos de Bittencourt et al. (2014), o emprego de microminerais complexados a uma matriz orgânica na dieta de galinhas

poedeiras, possibilita a redução de sua inclusão, melhora a qualidade da casca e colabora com maior deposição mineral nos ovos, não havendo prejuízos quanto ao desempenho zootécnico dos animais, com relação ao uso de microminerais inorgânicos. A utilização dos minerais complexados cobre, manganês e zinco como suplementação de 50% na dieta basal de poedeiras comerciais, tem capacidade de reduzir a quantidade de ovos danificados e ainda, aumentar o peso e a gravidade específica dos ovos (Maciel et al. 2010).

De acordo com Xavier et al. (2004), há vantagens na utilização dos microminerais Mn, Se e Zn em forma de complexo orgânico, na dieta de poedeiras semipesadas em seu segundo ciclo produtivo, pois constatou-se melhor índice produtivo com melhor qualidade dos ovos. Brito et al. (2006), analisaram o emprego de microminerais amino-complexados na dieta de aves para reposição e constataram maiores índices de produção nos animais que receberam suplementação com minerais complexados, apresentando como principal justificativa uma menor utilização e melhor proveito dos minerais a fim de atender às necessidades nutricionais das frangas.

Segundo os estudos de Figueiredo Junior et al. (2013), que buscaram analisar os índices produtivos, qualidade de ovos e análise econômica de rações para poedeiras, suplementadas com fontes complexadas e não complexadas de cobre, ferro, manganês, selênio e zinco; eles atestaram que os melhores resultados encontrados, para as variáveis analisadas, foi com a substituição de 66% dos minerais complexados com relação aos não complexados.

No mercado é possível encontrar diversas formas químicas para os complexos orgânicos que são utilizados na suplementação da dieta animal. Tais suplementos diferenciam-se quanto ao tipo de ligantes para configurar o quelato ou metal complexado, quanto a fonte e quanto ao percentual do micromineral existente. Essas diferenças na

estrutura química do quelato determinam a qualidade do produto (Santos, 1998; Vieira, 2008).

A AAFCO (2001) estabeleceu estas diferenças: 1) Complexo metal aminoácido - produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com um aminoácido; 2) Complexo metal aminoácido específico - produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com um aminoácido específico. 3) Quelato metal aminoácido - produto resposta de um íon metálico ligado a aminoácidos em uma relação molar de um mol de metal para um a três moles de aminoácidos; 4) Complexo metal polissacarídeo - produto da complexação de um sal solúvel com uma solução de polissacarídeos; 5) Metal proteinado - produto da quelação de um sal solúvel com aminoácidos e/ou proteína parcialmente hidrolisada.

Em algumas regiões do Brasil com grandes concentrações de aves e suínos, é alarmante o volume de excreção micromineral advindas das criações, em que pode haver contaminações no lençol freático e no solo (Brito, 2005). Portanto, o uso de minerais complexados tem sido objeto de estudo de diversos pesquisadores, visto que são encontrados resultados com melhor disponibilidade mineral e conseqüentemente melhor desempenho e menor excreção mineral no ambiente.

## **2.3 PRINCIPAIS MICROMINERAIS UTILIZADOS COMO SUPLEMENTO EM DIETAS DE AS GALINHAS POEDEIRAS**

### **2.3.1 Zinco (Zn)**

O Zn em conjunto com o Cu e o Mn, são componentes fundamentais na dieta de poedeiras, pois são indispensáveis para a atividade fisiológica, o crescimento ósseo, a

formação da casca dos ovos e a produtividade das aves, conseqüentemente, esses minerais influenciam na produção e na qualidade dos ovos (Lim and Paik, 2003).

O Zn, também, influencia no funcionamento de enzimas associadas a síntese de proteínas e DNA, a mineralização óssea, ao metabolismo e ao sistema imune (Cheng et al., 1998). É encarregado por estimular sistemas enzimáticos, fixar o carbonato de cálcio nos ovos e nos ossos, e por ser cofator da anidrase carbônica, enzima que possui função na deposição de carbono, durante o desenvolvimento da casca do ovo (Nys et al., 1999; Park et al., 2004). É encontrado em maior concentração na pele, ossos e no fígado, tendo os ossos como principal local de reserva (McDowell, 1992).

A toxidez por Zn pode ser alcançada, apenas com a inclusão de quantidades muito elevadas do micromineral. Sua deficiência pode acarretar pobre empenamento, lesões de pele e mudanças corneais, descamação cutânea, encurtamento e espessamento dos ossos da perna, discondroplasia tibial, redução do apetite, redução no consumo e, conseqüentemente, na taxa de crescimento, causando menor eficiência no aproveitamento da dieta, e em casos de alta severidade, a morte das aves. A carência em poedeiras, possui ainda, capacidade de reduzir a produtividade e a qualidade da casca (Scott et al., 1982; Rutz et al., 2005; Atkins and Jones, 2006; Goff, 2006).

A absorção de Zn acontece sobretudo no intestino delgado (Cousins, 1985). Caso não haja interferência de outros constituintes da dieta do animal, mais de 70% de sua absorção, ocorrerá nesta porção do sistema digestivo (Loonnerdal, 2000).

O trato intestinal é responsável pela regulação da homeostase do mineral, em que, a absorção é um mecanismo de resposta lenta, que possui resistência a grandes alterações do Zn na dieta, enquanto a excreção endógena, é um mecanismo rápido (Sechinato, 2006).

Mediante o estudo de Moreng (1992) constatou-se haver redução na deformidade e maior resistência da casca dos ovos, em aves que tiveram o Zn quelatado incorporado



em sua dieta, tais benefícios não foram observados nas aves que se alimentaram do produto em sua forma inorgânica. Do mesmo modo, Aoyagi e Baker (1993), que comparou formas de minerais, chegou-se à conclusão que o Zn em forma de mineral amino-complexado possui melhor disponibilidade para as aves, resultando em melhor qualidade de ovos, sendo uma boa alternativa na dieta dos animais.

Conforme as pesquisas de Lee et al. (2001), houve uma elevação na concentração sanguínea de Zn e Cu, assim como, uma redução na concentração mineral nas fezes, quando utilizou-se fontes quelatadas, portanto, a suplementação destes minerais quelatados na dieta de aves, são mais biodisponíveis e podem ser utilizadas em concentrações mais baixas, quando comparadas com suplementação de fontes de óxido e sulfato.

### **2.3.2 Cobre (Cu)**

O Cu integra algumas proteínas sanguíneas, dentre elas, a eritrocupreína, a qual desempenha papel relevante no metabolismo do oxigênio, podendo ser encontrada nos eritrócitos (Leeson and Summers, 2001).

O Cu é indispensável para formação normal dos ossos, crescimento, evolução do tecido conjuntivo, reprodução, coloração da pele, sistema imunológico e na prevenção de doenças cardiovasculares (Leeson and Summers, 2001). É, também, componente de diversas enzimas como lisil (estimula a formação de elastina e colágeno) e citocromo oxidase (indispensável no transporte de elétrons na respiração aeróbica), ceruloplasmina (fundamental na absorção e transporte do Fe na síntese de hemoglobina) e superóxido dismutase (resguarda as células de possíveis toxidades no metabolismo do oxigênio) (NRC, 2001).

A hematopoiese é uma das funções mais importantes do Cu, contribuindo para a proteção contra o estresse oxidativo, na mineralização óssea e na composição da matriz da casca do ovo, intervindo, portanto, na textura, estrutura e formato da casca dos ovos (Baumgartner et al., 1978; Nys et al., 2003).

A escassez deste mineral pode acarretar déficit no crescimento, ineficiência reprodutiva, anemia, fibrose do miocárdio e insuficiência cardíaca, motivadas pela inabilidade na absorção do ferro, necessitando ser mobilizado dos tecidos e utilizá-lo na síntese de hemoglobina (Scott et al., 1982; Goff, 2006). Em poedeiras ocasiona crescimento anormal das penas, ossos frágeis e cartilagens espessas, redução na produtividade, alta incidência de ovos deformados, com casca fina e distribuição anormal de suas fibras (Baumgartner et al., 1978; Leeson and Summers, 2001).

A absorção de Cu decorre da ligação com um transportador, porém, o Cu pode interagir com outros minerais ao longo da absorção. O Zn é o principal elemento que interage com o Cu, em que há um sítio de interação de Cu e Zn, no qual, dietas com alto nível de Zn, causa déficit de Cu, pois ocorre redução da sua absorção (Leeson and Summers, 2001).

### **2.3.3 Manganês (Mn)**

O Mn é associado ao desenvolvimento e desempenho do sistema reprodutivo animal (Underwood, 1981; Swiatkiewicz and Koreleski, 2008). Contribui para a síntese de glicoproteínas e mucopolissacarídeos, as quais influenciam na composição da matriz dos ossos e da casca do ovo (Siske et al., 2000).

Leeson and Summers (2001), afirmaram que a maior reserva do mineral é encontrada no osso, e em seguida, no fígado. Mencionaram, também, que a biodisponibilidade de Mn nas matérias primas é pequena, assim como, a absorção do

mineral, a qual ainda pode ser inibida devido à redução de sua solubilidade pelos minerais Ca, Fe e P. Ainda relataram modificações na absorção e excreção de Mn, quando foi utilizado o mineral ligado a uma molécula orgânica, visto que, o mineral necessita estar atrelado a um quelato para que haja sua absorção e, conseqüente, distribuição pelo organismo do animal, melhorando, portanto, sua disponibilidade.

O déficit de Mn modifica o metabolismo de lipídios e carboidratos, reduz a produtividade, aumenta a incidência de ovos sem casca ou com casca fina e pode ainda, causar perose, em aves jovens, a qual é intensificada através do alto consumo de minerais como P e Ca (Scott et al., 1982; Rutz et al., 2005; Cozzolino 2007).

Nos estudos de Scott et al. (1982) pode-se constatar uma maior ocorrência de ovos com casca mole ou sem casca, enquanto nas pesquisas de Leeson e Summers (2001), verificou-se uma redução na resistência e na densidade da casca, assim como, redução na produtividade, de poedeiras com deficiência de Mn. Em concordância com os demais estudos, Leach Jr. e Gross (1983), relataram redução nas deformidades e produção de ovos, bem como, no peso da casca de poedeiras com deficiência de Mn na ração.

De acordo com as análises de Sazzad et al. (1994), que tinham por objetivo demonstrar a exigência de Mn na dieta de poedeiras comerciais na primeira fase de produção, porém, neste estudo, não se sucederam alterações na produção e peso dos ovos, assim como, na conversão alimentar. Tal resultado se deu em função da exigência animal para este mineral, ter sido atendida através da dieta basal.

Conforme Klecker et al. (2002), a substituição Zn e Mn inorgânicos, pelas fontes quelatadas, promove benefícios ao desempenho animal, bem como, na qualidade da casca. Wedekind et al. (1992), sugerem a utilização de Zn e Mn quelatados, pois possuem maior disponibilidade para o animal que os mesmos minerais em sua forma inorgânica.

Segundo Carvalho et al. (2016), houve aumento na matéria mineral do conteúdo interno do ovo, durante a utilização dos microminerais Mn, Cu, Fe e Zn complexados, em substituição total à fonte inorgânica.

#### **2.3.4 Ferro (Fe)**

O Fe auxilia no controle da diferenciação celular e do desenvolvimento, assim como, nos processos bioquímicos e fisiológicos, pois é constituinte de inúmeras enzimas e proteínas (Andrews, 1999). Em poedeiras, a suplementação deste mineral dar-se pela participação na composição da casca do ovo (Scott et al, 1982).

A escassez de Fe causa grave anemia hipocrômica e, conseqüentemente, redução do consumo e do ganho de peso. Animais adultos possuem as exigências nutricionais reduzidas para o Fe, portanto é difícil haver carência. Já o excesso pode originar a hemocromatose, uma patologia caracterizada pelo acúmulo exacerbado de ferro principalmente no fígado, baço e medula óssea, causando danos em seu funcionamento (Scott et al., 1982; Sheppard and Dierenfeld, 2002; Goff, 2006; Atkins and JONES, 2006; Baião and Lucio, 2005; Cubas, 2007).

A absorção do Fe é mais eficaz no duodeno, sendo reduzida no restante do intestino delgado (Kohlmeier, 2003). Sua absorção pode ser influenciada por diversos fatores, como: condições do trato gastrointestinal, fonte química e quantidade do mineral e de outros compostos na dieta, e, ainda, quantidade do mineral no organismo e idade do animal. Cd, Co, Cu e Mn são os principais compostos que influenciam na absorção do Fe, pois competem pelo menos sítio de absorção (Underwood, 1999).

De acordo com Bertechini et al. (2000), a inclusão de 0, 20, 40, 60 e 80 ppm de Fe quelatado, como suplemento para poedeiras comerciais, ocasionou aumento linear na deposição do mineral na gema, favorecendo o valor nutricional do produto final.

Conforme descrito por Paik (2001), houve incremento na deposição de Fe na gema do ovo dos animais que receberam o mineral na forma de complexo (ferro-metionina), quando em comparação com as aves que receberam o mineral de uma fonte não complexada.

De mesmo modo, nas análises de Skrivan et al. (2005), as quais utilizaram a suplementação de Zn, Cu e Fe orgânicos, constatou-se elevação na deposição de Fe na gema e albúmen em 36,7 e 34,9%, respectivamente. Quando apenas o Fe foi utilizado, o aumento na deposição foi de 6,3% e 2,2%, respectivamente.

#### **2.4 Metabolismo, digestão e absorção dos minerais**

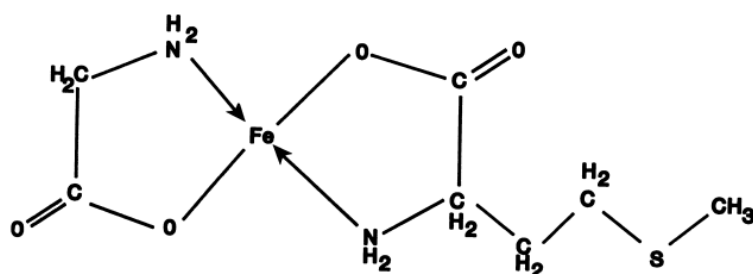
O metabolismo foi descrito como o resultado de diversas reações catabólicas e anabólicas que propiciam a normal atividade celular e, portanto, a manutenção do animal (SENAI, 2016). Já a digestão é o processo de divisão, quebra e absorção alimentar pelo trato gastrointestinal do animal (SENAI, 2016). A absorção está relacionada a motilidade dos produtos da digestão através do trato gastrointestinal para a circulação (Aires, 2001).

A desagregação dos alimentos acontece no lúmen intestinal através da ação de enzimas digestivas, porém uma parcela da digestão acontece na superfície dos vilos, os quais são constituídos pela ação das enzimas de membrana e pelos enterócitos (Maiorka, 2004).

Os minerais inorgânicos são sais que são solubilizados no intestino, os quais sofrem dissociação de moléculas ao alcançarem o estômago, graças ao seu pH ácido e libera os íons metálicos  $Mn^{++}$  e  $Zn^{++}$  (Polli, 2002). Os íons dissociados deslocam-se ao longo do sistema digestivo e ligam-se a agentes quelantes, facilitando o trânsito pelo lúmen intestinal (Ashmead and Zunino, 1993). Contudo, alguns íons metálicos livres não

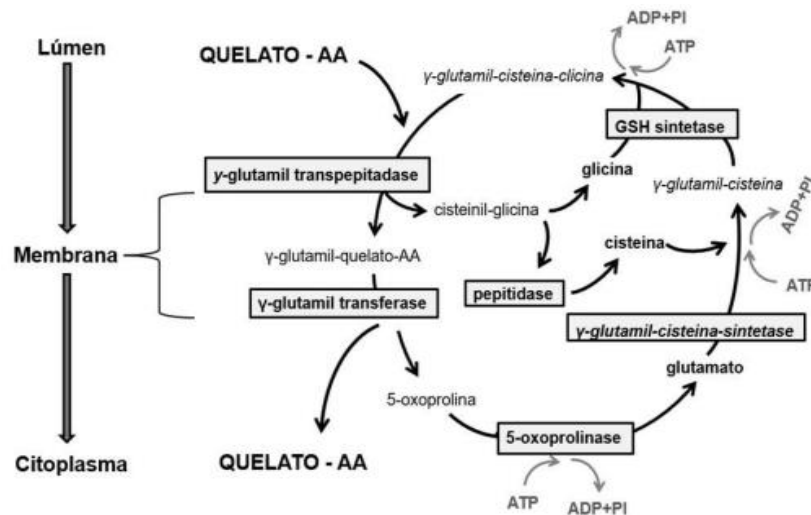
conseguem um quelante, deslocando-se através do intestino e sendo excretados, outros, porém, tornam-se indisponíveis para absorção (Ashmead, 1993).

Já os minerais complexados a aminoácidos possuem formação molecular característica, em que, o aminoácido constitui um anel específico com cada metal, preservando a estrutura do mineral ao longo do trato gastrointestinal e suas moléculas são absorvidas intactas (Figura 1) (Macinnis et al., 1976; Ashmead, 1993). A estrutura do anel compreende um átomo de metal, um átomo de oxigênio carboxil ativo, um átomo de carbono carbonil, um átomo alfa-carbono e um átomo alfa-nitrogênio. A ligação deste anel é realizada por meio de ligações covalentes e iônicas coordenadas. Dois ou três aminoácidos podem ser ligados a um íon metálico, a fim de formar moléculas bicíclicas ou tricíclicas (Ashmead, 1993).



**Figura 1.** Representação de mineral complexado a aminoácidos. (Fonte: Ashmead, 1993)

Na absorção, os minerais complexados são absorvidos no jejuno por meio de transporte passivo e as moléculas geradas pela digestão, deslocam-se através do lúmen do intestino delgado, o qual é responsável pela digestão final do alimento e absorção dos nutrientes, e adentram no sistema sanguíneo, sendo demonstrada na Figura 2 (Bell; Boleli et al., 2002). Segundo Oliveira (2008), nesta forma complexada, os minerais não sofrem competição pelo sítio, pois eles dispõem de pelo menos um aminoácido ao entrarem no trato gastrointestinal e, também, não se inter-relacionam com os íons metálicos livres. Desta maneira, deslocam-se ainda quelatados ao plasma, por meio de células intestinais.



**Figura 2.** Transporte do mineral complexado a aminoácido ao longo das etapas (Adaptado de Ashmead, 1993).

Após absorção, o emprego do mineral complexado é diversificado, ingressando em inúmeros processos metabólicos ou sendo transportado íntegro para os tecidos, em que a desagregação do aminoácido e do metal pode acontecer apenas quando demandado pelos tecidos (Ashmead, 1993; Malik et al., 2017).

A grande vantagem na utilização do mineral complexado é não haver interação com outros minerais, com isso, há menor influência no trato gastrointestinal (Moraes, 2002).

Os minerais são nutrientes fundamentais para o metabolismo animal. Existem diversas fontes minerais passíveis de utilização, sendo as fontes inorgânicas mais frequentemente utilizadas, as quais denotam desvantagens, impactando na absorção mineral e reduzindo a eficiência de utilização. Já as fontes de minerais complexados a uma molécula orgânica, demonstram maior estabilidade durante o deslocamento pelo trato gastrointestinal e pela absorção ativa e, conseqüentemente, maior biodisponibilidade, aprimorando a utilização dos nutrientes e a produtividade animal, além de reduzir a excreção mineral para o meio ambiente.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA, N° 041/2018).

#### *3.1 Local, instalações e delineamento experimental*

O experimento foi executado nas instalações destinadas às pesquisas da Estação Experimental de Pequenos Animais de Carpina (EEPAC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, localizada no município de Carpina na Zona da Mata Norte do estado de Pernambuco.

Foram utilizadas 400 galinhas poedeiras comerciais da linhagem Lohmann White, com idade de 78 a 98 semanas. As mesmas foram alojadas em 40 gaiolas, medindo 100 x 40 x 45 cm, as quais estavam instaladas em galpão convencional de alvenaria e coberto com telhas de barro. A lotação utilizada foi de 10 aves/gaiola com uma densidade de 450m<sup>2</sup>/ave. A ração e a água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental. A umidade relativa situou-se entre 75,64 e 86,59%, enquanto a temperatura média entre 26,07 e 29,30°C.

Adotou-se um programa de luz com fornecimento de 16 horas diárias de luz (natural + artificial). A temperatura e umidade relativa do ar no interior do galpão foram registradas diariamente através de Termohigrômetro digital e Datalogger.

A fase de produção estendeu-se por 140 dias, fracionada em cinco ciclos de 28 dias cada. As aves foram distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e dez repetições, com dez aves por parcela experimental. Foram utilizados os minerais Zn, Mn, Cu, Fe, Se e I na suplementação das aves, em que, apenas o I foi utilizado na sua forma não complexada para todos os tratamentos, enquanto os demais minerais foram inclusos na forma de complexo metal



aminoácido. Os tratamentos consistiram de quatro dietas, com substituição total da fonte mineral inorgânica por fonte mineral complexada a aminoácidos (MCAA), com redução do nível de suplementação dos níveis de minerais como sendo: T1- Dieta controle, apenas fontes de minerais não complexados (contendo 60, 60, 7, 40 e 0,20 ppm de Zn, Mn, Cu, Fe e Se); T2- Dieta suplementada com fonte mineral complexada a aminoácidos e inclusão de 70% nos níveis dos minerais (contendo 42, 42, 4,9, 28 e 0,14 ppm de Zn, Mn, Cu, Fe e Se); T3- Dieta suplementada com fonte mineral complexada a aminoácidos e inclusão de 50% nos níveis dos minerais (contendo 30, 30, 3,5, 20 e 0,10 ppm de Zn, Mn, Cu, Fe e Se) e T4- Dieta suplementada com fonte mineral complexada a aminoácidos e inclusão de 40% nos níveis dos minerais (contendo 24, 24, 2,8, 16 e 0,08 ppm de Zn, Mn, Cu, Fe e Se).

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 dos premixes minerais encontram-se detalhado na Tabela 1, enquanto a das dietas, na Tabela 2.

**Tabela 1** Descrição da composição mineral das dietas utilizadas nos tratamentos

Tratamentos	Zn	Mn	Cu	Fe	Se	I
	mg/kg					
(100% MNC) <sup>1</sup>	60	60	7,0	40	0,20	2,0
(70% MCAA) <sup>2</sup>	42	42	4,9	28	0,14	1,4
(50% MCAA) <sup>3</sup>	30	30	3,5	20	0,10	1,0
(40% MCAA) <sup>4</sup>	24	24	2,8	16	0,08	0,8

**Tabela 2** Composição da dieta experimental

Ingredientes	MNC	70% MCAA	50% MCAA	40% MCAA
Milho Moído	59,74	59,74	59,74	59,74
Farelo Soja	25,00	25,00	25,00	25,00
Óleo Soja	1,700	1,700	1,700	1,700
Calcário calcítico	10,86	10,86	10,86	10,86
Fostato bicálcico	0,92	0,92	0,92	0,92
Bicarbonato de sódio	0,15	0,15	0,15	0,15
Sal comum	0,29	0,29	0,29	0,29
DL-Metionina 99 %	0,29	0,29	0,29	0,29
L-Treonina 98,5%	0,05	0,05	0,05	0,05
Phytase AB Vista <sup>1</sup>	0,006	0,006	0,006	0,006
Premix Vitamínico <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix Mineral	0,15	0,15	0,15	0,15
Inerte (areia)	0,64	0,64	0,64	0,64
Adsorvente <sup>3</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição Nutricional</b>				
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2750	2750	2750	2750
Proteína Bruta, %	16,09	16,09	16,09	16,09
Cálcio, (Ca) %	4,500	4,500	4,500	4,500
Fósforo disponível, (P) %	0,410	0,410	0,410	0,410
Lisina digestível, %	0,760	0,760	0,760	0,760
Metionina digestível, %	0,526	0,526	0,526	0,526
Met. + Cist. digestível, %	0,744	0,744	0,744	0,744
Treonina digestível, %	0,585	0,585	0,585	0,585
Sódio, %	0,180	0,180	0,180	0,180
Colina, %	1063,5	1063,5	1063,5	1063,5
Potássio, %	0,649	0,649	0,649	0,649
Na+K+Cl (Meq)	180,08	180,08	180,08	180,08
Zinco (mg/kg)	84,39	66,39	54,39	48,39
Manganês (mg/kg)	71,14	53,14	41,14	35,14
Cobre (mg/kg)	12,32	10,22	8,82	8,12
Ferro (mg/kg)	91,53	79,53	71,53	67,53
Seleênio (mg/kg)	0,35	0,29	0,25	0,23
Iodo (mg/kg)	2,00	1,40	1,00	0,80

<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 Histologia do intestino***

Ao final da fase experimental, selecionou-se uma ave por unidade experimental. As aves foram eutanasiadas por deslocamento cervical, de acordo com a resolução normativa nº 37/2018 do CONCEA, e o intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) coletado. O material obtido foi pesado, acondicionado em frascos hermeticamente fechados contendo solução de formol a 10%, identificados e armazenados em local adequado com temperatura ambiente, seguindo as recomendações de Ecolvet (2007). Cada segmento intestinal foi coletado sem que houvesse sua abertura transversal e consequente, exposição de sua mucosa.

As análises foram realizadas no laboratório de Patologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, utilizando as metodologias descritas por Junqueira (2008). As amostras passaram por diversos processos, tais como: clivagem, fixação, emblocagem, cortes, coloração e a montagem das lâminas.

No processo de clivagem, as amostras estudadas foram selecionadas e cortadas, possuindo aproximadamente 5mm de comprimento. Na fixação, o material é desidratado submerso em crescentes concentrações de álcool e clarificado submerso em xileno, impregnados e incluídos em parafina, por diferentes períodos de tempo (álcool absoluto I: 30 minutos, álcool absoluto II: 30 minutos, álcool absoluto III: 30 minutos; álcool e xilol: 20 minutos; xilol I: 10 minutos, xilol II: 10 minutos; parafina I: 45 minutos; parafina II: 45 minutos).

Na emblocagem, o material foi inserido em parafina e em seguida, sofreu microtomia para obtenção de cortes semi-seriados de 5µm de espessura, com o auxílio do Micrótomo automático Leica® HistoCore AUTOCUT, específico para cortar tecidos em parafinas, sendo as fitas obtidas, transferidas para o banho-maria a 40°C. Os cortes foram

distendidos na superfície da água e posteriormente dispostos em lâminas, produzindo-se uma lâmina por animal, com três cortes para cada porção intestinal, totalizando 120 lâminas (3 lâminas x 4 tratamentos x 10 repetições).

Para coloração, as lâminas foram desparafinadas em estufa a 60°C por aproximadamente 12 horas e posteriormente em dois banhos de xilol por 2 minutos cada. Logo em seguida, estas foram submersas em série decrescente de álcoois (100%, 90% e 70%) durante 2 minutos e lavadas em água destilada por 6 minutos. As lâminas foram coradas com hematoxilina de Meyer por 12 segundos. O excesso de corante foi retirado em água corrente por 10 minutos. Após, as lâminas foram submersas em eosina por 5 minutos. Continuou-se à coloração com a desidratação das lâminas em série crescente de álcoois (70% por 1 minuto, 90% por 1 minuto, 100% I por 3 minutos e 100% II por 3 minutos). Posteriormente, as lâminas foram submersas em dois banhos de xilol por 5 minutos cada. A montagem das lâminas foi realizada com lamínula e Entellan<sup>®</sup>, que auxilia na aderência da lamínula.

Todos os cortes histológicos foram analisados através de imagens digitalizadas, obtidas em aumentos de 4 e 10 vezes com auxílio de uma câmera acoplada a um microscópio, ligada a um computador, utilizado um software analisador de imagens (Leica<sup>®</sup> Qwin D-1000, versão 4.1). As medidas foram realizadas pelo programa computacional Image J<sup>®</sup>. (Alvarenga et al., 2004).

Os parâmetros analisados foram: altura e largura das vilosidades, profundidade e largura das criptas, bem como, a relação vilo:cripta e a área. Para cada segmento e variável foram realizadas 12 medidas, totalizando 72 medidas por tratamento. A partir das mensurações dos vilos e das criptas, utilizou-se uma fórmula proposta por Kisielinski et al. (2002), com a finalidade de analisar o comportamento da superfície absorptiva dos seguimentos, segue a fórmula:

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

As análises das lâminas histológicas foram processadas no Setor de Patologia Animal, do Departamento de Medicina Veterinária, da Universidade Rural Federal do Pernambuco.

### 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), selecionou-se uma região circular de interesse (ROI) para avaliar a densitometria do osso cortical (Oliveira et al., 2012). Foram obtidos resultados na unidade Hounsfield (HU), os quais foram convertidos para mg/cm<sup>3</sup> de hidroxiapatita de cálcio, com o auxílio da equação descrita por Park et al., 2015:

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

Sendo  $HU_t$  a radiodensidade do osso mensurado;  $HU_b$  a radiodensidade do phantom de osso, que contém 200mg de hidroxiapatita de cálcio/cm<sup>3</sup>; 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°C por aproximadamente 24 horas, após, foram calcinadas em mufla por 4 horas a 600°C (Yan et al., 2005). Pesou-se uma amostra de 0,5 g em balança analítica e posteriormente, digeriu-a com 6ml de HNO<sub>3</sub> 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 Coleta e avaliação de gemas**

Para a avaliação do conteúdo de minerais na gema, as mesmas foram coletadas e acondicionadas em sacos plásticos e, em seguida, foi realizado um *pool* com duas gemas por repetição, advindas de dois ovos obtidos no final de cada ciclo de 28 dias. O material foi disposto em placas de petri e seco em estufa a 105°C por cerca de 12 horas (Souza et al., 2002). Adiante o material foi triturado e pesado, aproximadamente 0,5g da amostra seca, com a qual foi realizada a digestão com a adição de 6 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado, em micro-ondas modelo MarsXpress<sup>®</sup> – CEM Technology durante 35 minutos à temperatura de 160°C.

Ao finalizar a digestão, retirou-se os tubos do carrossel (suporte giratório), pesou-se os extratos em balança analítica e em sequência, adicionou-se as amostras água deionizada (Milli-Q<sup>®</sup>), a fim de produzir um volume total de 25 ml. As amostras foram ainda, filtradas com o auxílio de papel filtro quantitativo e diluídas até o volume total de 25 ml, conforme Ramos et al. (2010). A quantificação de minerais nas amostras foi realizada no laboratório de Química Ambiental do Solo, Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco por meio do espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de Plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

### ***3.6 Análise estatística***

Os dados foram submetidos ao teste de Dunnet, comparando-se a dieta com MNC com cada uma das dietas com MCAA, em seguida, as variáveis estudadas foram submetidas à análise de contrastes ortogonais (linear ou quadrático) e contrastes de interesses, à 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), com o auxílio do programa estatístico Analysis System versão 3.1 (SAS, 2009).

## **4. RESULTADOS**

Os resultados referentes à histologia intestinal obtidos para os diferentes níveis de inclusão do MCAA nas rações de galinhas poedeiras estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** Altura e largura de vilosidades, profundidade e largura de criptas, relação vilo:cripta e área do intestino delgado de galinhas poedeiras com 98 semanas de idade, alimentadas com dietas contendo MNC e MCAA

Duodeno						
Variáveis	Altura do vilo (μ)	Largura do vilo (μ)	Profundidade da cripta (μ)	Largura da cripta (μ)	Vilo:Cripta (μ)	Área (μ <sup>2</sup> )
100% MNC	1307,818	185,272	254,960	68,748	15,826	5,124
70% MCAA	1130,985*	161,259*	236,239	72,400	15,343	5,161
50% MCAA	1299,271	172,622	252,145	72,318	15,475	5,159
40% MCAA	1251,286	182,251	237,187	66,770	14,988	5,252
Média	1248,210	175,095	244,990	70,148	15,413	5,173
Contrastes						
MNC x MCAA	0,062	0,041	0,214	0,527	0,183	0,395
Linear	0,002	0,026	0,917	0,084	0,506	0,776
Quadrático	<0,001	0,226	0,107	0,316	0,490	0,539
SEM	13,957	2,877	4,100	1,161	0,179	0,086
Jejuno						
Variáveis	Altura do vilo (μ)	Largura do vilo (μ)	Profundidade da cripta (μ)	Largura da cripta (μ)	Vilo:Cripta (μ)	Área (μ <sup>2</sup> )
100% MNC	1205,060	129,349	171,825	63,961	7,394	16,720
70% MCAA	1056,320*	108,444*	146,123*	67,121	7,485	15,399
50% MCAA	1074,600	120,939	139,154*	62,798	7,516	15,216
40% MCAA	1015,110*	126,507	144,782*	56,476	7,600	16,033
Média	1087,77	121,383	150,037	62,571	7,499	15,832
Contrastes						
MNC x MCAA	0,008	0,050	<0,001	0,517	0,735	0,059
Linear	0,466	0,007	0,884	0,002	0,819	0,396
Quadrático	0,427	0,547	0,435	0,739	0,952	0,439
SEM	20,324	2,380	3,366	1,231	0,178	0,266
Íleo						
Variáveis	Altura do vilo (μ)	Largura do vilo (μ)	Profundidade da cripta (μ)	Largura da cripta (μ)	Vilo:Cripta (μ)	Área (μ <sup>2</sup> )
100% MNC	898,192	92,829	164,161	57,990	15,329	5,830
70% MCAA	997,651	140,786*	160,252	73,592*	12,670*	7,216*
50% MCAA	918,995	104,765	138,404*	63,740	15,017	7,410*
40% MCAA	886,811	102,360	127,377*	50,680	15,881	7,771*
Média	924,018	108,891	147,606	61,217	14,715	7,053
Contrastes						
MNC x MCAA	0,362	<0,001	0,006	0,104	0,123	<0,001
Linear	0,026	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,242
Quadrático	0,596	0,004	0,526	0,605	0,179	0,841
SEM	17,599	2,548	3,548	1,342	0,235	0,173

\*Diferem estatisticamente pelo teste de Dunnet à 5% de probabilidade.



A histologia indicou variações quanto ao nível e a fonte mineral em todos os segmentos intestinais.

Na porção duodenal, é possível observar a influência significativa ( $p < 0,05$ ) das fontes e dos níveis de minerais na altura e largura dos vilos, em que se obteve os menores valores com a inclusão de 70% de MCAA, diferindo da dieta com inclusão de MNC.

No jejuno, a fonte influenciou de forma significativa ( $p < 0,05$ ) a altura e largura do vilos, assim como, a profundidade da cripta. Observou-se que a altura e a largura dos vilos foram maiores para aves alimentadas com MNC, diferindo apenas do tratamento com 70% de MCAA, por outro lado a profundidade da cripta foi maior para o MNC, diferindo das demais dietas. O nível de MCAA influenciou nas larguras do vilos e da cripta, verificando vilos mais largos com MNC, enquanto para criptas com MCAA.

Já no íleo, as fontes influenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) a largura do vilos, profundidade e largura da cripta, relação vilos:cripta e área. Observa-se que para larguras do vilos e da cripta, bem como para área, as dietas com MCAA apresentaram maiores valores, diferindo da dieta com MNC. Altura e largura do vilos, profundidade e largura da cripta e relação vilos:cripta ainda foram influenciados pelo nível de MCAA, em que apenas para relação vilos:cripta constatou-se aumento linear à medida que a suplementação com MCAA reduziu.

Resultados relacionados a densitometria óssea das tíbias, encontram-se na Tabela 4.

**Tabela 4** Densitometria óssea de tíbias de poedeiras com 98 semanas de idade alimentadas com dietas contendo MNC e MCAA.

Variáveis	Diáfise			
	Proximal	Medial	Distal	Geral
	mg/cm <sup>3</sup>			
100% MNC	690,5385	678,3090	680,1208	682,9894
70% MCAA	763,1270	739,4732	734,3986	759,2406
50% MCAA	704,0765	761,0720	732,9517	732,7000
40% MCAA	626,4721	823,3518*	755,0956	779,0639
Média	687,6906	741,6205	722,9640	730,7107
	Contrastes			
MNC x MCAA	0,8963	0,0118	0,1492	0,0202
Linear	0,093	0,1052	0,7003	0,6344
Quadrático	0,8868	0,5989	0,7997	0,2795
SEM	25,3982	19,3774	17,7942	15,1143

\*Diferem estatisticamente pelo teste de Dunnet à 5% de probabilidade.

Houve influência ( $p < 0,05$ ) da fonte mineral suplementada nas dietas, verificando aumento da densitometria óssea na porção medial e na diáfise geral das tíbias das poedeiras. Ainda na diáfise medial, observa-se que a dieta com menor inclusão (40%) de MCAA apresenta maior densidade óssea quando comparada com a MNC. Não foram encontradas diferenças ( $p > 0,05$ ) na diáfise das tíbias quanto aos níveis de suplementação com MCAA.

Dados referentes à composição mineral nas tíbias estão descritos na Tabela 5.

**Tabela 5** Composição mineral óssea de galinhas poedeiras as 98 semanas de idade, alimentadas com dietas contendo MNC e MCAA

Variáveis	Cinzas		Ca	P	Relação Ca:P
	g	%			
100% MNC	2,5640	34,3250	176,4280	79,8607	2,2109
70% MCAA	2,6390	35,1810	169,2258	75,8361	2,2328
50% MCAA	2,7400	34,9300	194,4601	87,3914	2,2325
40% MCAA	2,7260	34,0470	156,2082	69,3432	2,2611*
Média	2,6591	34,5863	173,5579	77,8698	2,2343
Contrastes					
MNC x MCAA	0,2292	0,7220	0,7676	0,6645	0,0688
Linear	0,5204	0,3930	0,3640	0,3327	0,1720
Quadrático	0,6826	0,8181	0,0524	0,0532	0,4347

\*Diferem estatisticamente pelo teste de Dunnet à 5% de probabilidade.

Não foram verificados efeitos ( $p > 0,05$ ) quanto a fonte mineral utilizada para cinzas e composições de Ca e P nas tíbias. No entanto, observa-se influência da fonte mineral para relação de Ca:P, em que à medida que reduziu a suplementação com MCAA, aumentou a relação, havendo diferença apenas entre a dieta com MNC, apresentando menor relação e a dieta com 40% MCAA, apresentando maior relação.

Dados referentes à composição mineral das gemas para os diferentes níveis de inclusão do MCAA nas rações de galinhas poedeiras estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6** Valores médios da composição mineral da gema de ovos de galinhas poedeiras de 78 a 98 semanas de idade, alimentadas com dietas contendo MNC e MCAA

Variáveis	Zn	Mn	Cu	Fe
	mg/kg			
100% MNC	56,3376	1,1329	1,7179	82,1860
70% MCAA	54,8544	1,2406	1,6645	77,1108
50% MCAA	55,0326	1,0969	1,5542	82,8353
40% MCAA	45,9329	0,8051*	1,2669*	72,4559
Média	53,1333	1,0645	1,5449	78,6447
Contrastes				
MNC X MCAA	0,2240	0,3211	0,0708	0,4772
Linear	0,0639	0,0002	0,0140	0,5665
Quadrático	0,2330	0,4184	0,4936	0,2555
SEM	1,6565	0,0441	0,0581	2,8148

\*Diferem estatisticamente pelo teste de Dunnet à 5% de probabilidade.

Tais resultados indicam haver influência da fonte mineral nas deposições de Mn e Cu na gema dos ovos. A dieta com menor suplementação (40%) de MCAA apresentou menor deposição que a dieta suplementada com MNC. Houve ainda, influência quanto ao nível de MCAA, em que é possível observar um comportamento de redução linear da deposição mineral à medida que reduziu a suplementação com MCAA.

## 5. DISCUSSÃO

Considerando que a altura dos vilos é diretamente proporcional à área de absorção (Kisielinski et al., 2002), os resultados do presente estudo mostram haver diferenças ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos com MCAA na porção duodenal e ileal. Já na porção jejunal estas diferenças não foram observadas, porém observa-se crescimento, influenciando de forma positiva no desenvolvimento das mucosas do intestino delgado, à medida que reduziu a inclusão do MCAA na dieta. O desenvolvimento das vilosidades ocorre quando

a taxa mitótica é maior que a taxa de extrusão, ou quando o processo de extrusão ocorre com menor intensidade (Maiorka et al., 2008). Em estudos realizados por Oliveira (2008), a altura das vilosidades e a profundidade das criptas no grupo de animais tratados com minerais quelatados foi maior ao daqueles que receberam minerais inorgânicos. Tais resultados divergem deste estudo, devido a utilização de quantidades equivalentes de minerais quelatados e não quelatados, enquanto a presente pesquisa analisou a redução destes minerais.

O desenvolvimento e a performance do animal dependem da digestão e absorção dos nutrientes contidos nas dietas (Macari, 1999; Uni, 2000). A absorção ocorre principalmente no intestino delgado, presumindo-se que o melhor desenvolvimento intestinal está diretamente ligado a uma maior área de superfície de absorção. O desenvolvimento da mucosa intestinal, bem como, o transporte e a absorção de nutrientes são influenciados por fatores intrínsecos e extrínsecos, incluindo composição da dieta e nível de nutrientes que percorrem pelo trato intestinal (Maiorka et al., 2008).

Klein (1989) expôs que o aumento na largura dos vilos amplia a área disponível para absorção dos nutrientes. De mesmo modo, Tufarelli et al. (2010), relataram que uma maior largura dos vilos, acarretará em melhor digestão e absorção intestinal; estando o presente trabalho parcialmente em desacordo com tais autores, pois, maiores áreas para absorção foram encontradas nas porções duodenal e ileal, utilizando as dietas com MCAA. Verificou-se vilos mais largos para as dietas com MNC nas porções duodenal e jejunal, enquanto para a porção ileal, as maiores larguras foram encontradas nas dietas com MCAA, sendo estas, responsáveis por grande parte da digestão e absorção dos nutrientes. Além disso, Ficou comprovado por diversos pesquisadores que fontes minerais complexadas possuem maior biodisponibilidade quando comparados as fontes não complexadas (Paik et al., 1999; Cao et al., 2000; Guo et al., 2001; Leeson, 2005;

Predieri et al., 2005; Yan and Waldroup, 2006), sendo possível utilizar níveis mais baixos de MCAA em relação aos MNC (Tavares et al., 2013), com redução de 33%, sem que houvessem perdas para as aves (Peric, et al., 2007).

De acordo com Dowling (1992) e Furlan et al. (2004), a maior profundidade de cripta, está relacionada com a grande atividade proliferativa celular, que frequentemente ocorre como resposta do intestino para algum dano na mucosa, visando recuperar as perdas na altura dos vilos. A cripta é o local onde as células-tronco renovam os vilos, logo, o surgimento de uma cripta profunda representa um maior número de células em proliferação, uma troca rápida de tecidos e, conseqüentemente, uma alta demanda por síntese tecidual (Xia et al., 2004). Barker et al. (2009), demonstraram que a renovação do epitélio intestinal é relacionada principalmente à proliferação e diferenciação das criptas. Os resultados deste trabalho corroboraram com os achados de Ma et al. (2011), no qual observaram que o aumento da profundidade da cripta das aves suplementadas com MNC confirmou a hipótese de que a utilização de MCAA beneficia o desenvolvimento intestinal e contribui para manutenção da integridade do epitélio, afirmando ainda, que as criptas demandam mais energia para manter o epitélio intestinal. Igualmente, Arruda et al. (2008), comprovaram que criptas com profundidades menores são desejáveis, uma vez que beneficia a absorção intestinal.

Os resultados desta pesquisa concordam com tais autores, pois as aves alimentadas com as dietas com MCAA tiveram criptas menos profundas, tendo estes minerais, melhor biodisponibilidade de nutrientes e, conseqüentemente, melhor absorção intestinal. Igualmente, Gao et al. (2014), demonstraram que MCAA, utilizam seus transportadores específicos, resultando, portanto, em aumento da absorção. Ibrahim (2011), comprovou que criptas rasas são um bom indicativo de um intestino eficiente; fato este que corrobora com este estudo, em que possivelmente a renovação celular nas criptas dos animais

alimentados com MCAA demanda menos nutrientes e, como resultado, a digestão e absorção dos nutrientes se tornam mais eficientes.

Observa-se diferença ( $p > 0,05$ ) entre as fontes (MNC e MCAA) e os níveis de minerais para relação vilosidade:cripta na porção ileal, constatando menor relação na dieta com inclusão de 70% de MCAA, não havendo diferença entre as demais dietas. No entanto, percebe-se maior relação para dieta com menor inclusão mineral. O presente estudo corroborou com a descrição de diversos autores, em que houve uma redução na profundidade da cripta e de aumento na relação vilosidade:cripta nos segmentos analisados para aves alimentadas com MCAA, sendo portanto, uma evidência de melhor absorção dos nutrientes, com menores perdas energéticas para a renovação das células epiteliais.

A histologia do intestino é o principal indicativo da saúde intestinal, em que, a funcionalidade do intestino delgado é determinada principalmente pela altura dos vilos e pela profundidade da cripta. Sendo assim, uma boa relação entre estas variáveis intestinais acontece quando temos altas vilosidades e criptas pouco profundas, logo, quanto maior for esta relação, melhor será a absorção (Santos et al., 2002; Wu et al., 2004), melhor será a saúde intestinal (Viola and Vieira, 2007) e menores serão as perdas energéticas com a renovação celular (Arruda et al., 2008).

As mensurações de criptas e de vilos apresentam uma boa indicação da capacidade funcional dos enterócitos nos vilos, ou seja, da eficiência digestiva da ave (Arruda et al., 2008). Arouca et al. (2012), expuseram que para dispor de um melhor desenvolvimento da mucosa intestinal, reduz-se a profundidade da cripta e aumenta-se a relação vilosidade:cripta. Ainda há o fato dos minerais complexados, sofrem menores interferências pelos nutrientes da dieta, em razão da molécula complexada possuir grande estabilidade no trato intestinal, evitando disputas entre antagonistas e consequentes perdas (Richards and Dibner, 2005; Favero et al., 2013). Os resultados relacionados à histologia das porções

intestinais possivelmente referem-se à forma estrutural das moléculas dos MCAA, a qual possibilita a absorção pelo enterócito, sem que haja a dissociação anterior a absorção (Goff, 2018), em que, os minerais complexados são capazes de melhorar a eficiência absorptiva em até duas vezes (Pal et al., 2010).

A partir da fórmula proposta por Kisielinski et al. (2002), obteve-se a área de absorção intestinal, em que, foram constatados efeitos ( $p < 0,05$ ) entre as dietas que incluíam MNC e as dietas com MCAA, apenas na porção ileal. Observou-se aumento da área de superfície absorptiva à medida que se reduziu o nível de MCAA na dieta. Segundo Macari e Maiorka (2000), Geyra et al. (2001) e Furlan et al. (2004), quanto maior a profundidade da cripta, maior será o tamanho dos vilos, a quantidade de enterócitos e, conseqüentemente, a área de absorção.

Kisielinski et al. (2002) e Boleli et al. (2002), mencionaram que a altura e o número de vilos, bem como a área, estão diretamente ligados a capacidade de absorção intestinal. De acordo com Cera (1988), a redução na área da superfície intestinal culmina em menor transporte de nutrientes, e, portanto, à má absorção, infecções intestinais e desequilíbrio hídrico. Informações que fundamentam os resultados deste trabalho, em que, a dieta com inclusão de MNC apresentou menor valor na área da superfície de absorção que as demais, nas porções duodenal e ileal, possivelmente porque estes minerais competem pelos sítios absorptivos durante os processos de captação, absorção e transporte, reduzindo sua utilização pelo animal.

Aguiar (2016), comprovou que a inclusão de minerais complexados na dieta de codornas japonesas beneficiou o desenvolvimento de características histomorfométricas que propiciaram maior absorção dos nutrientes, em comparação aos minerais não complexados. Resultados estes que corroboram com os achados desta pesquisa, confirmando a hipótese de que os minerais complexados são melhores absorvidos na



mucosa intestinal (Dibner, 2005; Richards et al., 2006; Yan and Waldroup, 2006), pois promovem uma melhor utilização dos nutrientes, sobretudo, o zinco, desempenhando importante função na histologia intestinal, contribuindo para o crescimento dos vilos, a relação vilos:cripta e área de superfície de absorção (Levkut et al., 2017).

A absorção ocorre na forma de aminoácidos livres, em que, cada aminoácido possui velocidade de absorção distinta, de acordo com seu carreador específico (McDonald, 1995), onde, no jejuno, ocorre absorção de cerca 15 a 30% de aminoácidos livres na membrana do enterócito, e cerca de 70 a 85% de peptídeos, enquanto no íleo, ocorre apenas na forma de aminoácidos livres (Peixoto and Maier, 1993). Carreadores intestinais de aminoácidos e monossacarídeos absorvem os minerais complexados, enquanto os transportadores intestinais de minerais, absorvem os não complexados, diferença essa, que evita a competição entre minerais complexados pelos mesmos locais de absorção (Gravena et al., 2011; Figueiredo Júnior et al., 2013).

Portanto, os MCAA minimizam os problemas absorptivos, possivelmente por utilizarem diferentes sítios. Logo, tomados em conjunto, esses resultados sugerem que a capacidade absorptiva de minerais na área da superfície intestinal aumenta à medida que houve redução na inclusão dos MCAA, evitando a competição pelo sítio de absorção e, portanto, um melhor aproveitamento dos minerais.

Saldanha (2008) concluiu que a suplementação com mineral complexado no nível de 70% (21, 28, 4,2, 21, 0,21 e 0,42 mg/kg de Zn, Mn, Cu, Fe, Se e I respectivamente) para poedeiras em segundo ciclo de produção mantém as características ósseas e produtivas. Assim como, para Gobesso (2014), em que a suplementação com minerais complexados propicia maior estimativa na densidade óssea se comparada aos não complexados, relacionando este resultado à maior biodisponibilidade das fontes complexadas, pois facilitam a absorção e a entrada do mineral no organismo (Gravena et

al., 2011). Segundo Barreiro et al. (2009), uma maior densidade mineral óssea propõe maior mineralização do osso, e, portanto, sua maior resistência. Desta maneira, os resultados desta pesquisa corroboram com os autores acima, havendo maiores densidades em geral e na porção medial da diáfise com a inclusão de 40% de MCAA, demonstrando haver manutenção das características e maior resistência óssea.

A partir da análise do conteúdo de Ca e P, observamos que as fontes de microminerais não influenciaram na composição mineral das tíbias das aves, ainda que se utilize o nível mais baixo de minerais complexados, elas equilibraram o conteúdo mineral, não havendo aumento de osteoclastos, células que são encarregadas pela reabsorção óssea, e, conseqüentemente, não houve liberação dos macrominerais Ca e P dos ossos (Saldanha, 2008).

É possível observar maiores valores para as relações de Ca:P para as dietas à medida que se reduziu a suplementação com MCAA, havendo efeito apenas para dieta com inclusão de 40% de MCAA quando relacionada com MNC. Estudos com minerais não complexados revelam a existência de antagonismos entre Ca e microminerais como Zn, Mn e Fe; sendo este antagonismo reduzido a partir da utilização de minerais complexados (Faria et al., 2020). Mesmo no menor nível (40%) de suplementação com MCAA, as aves foram capazes de balancear o conteúdo dos minerais na tíbia e ainda expressar a maior relação de Ca e P.

A suplementação com minerais complexados possui maior biodisponibilidade de minerais no lúmen intestinal em comparação com suas fontes inorgânicas (Yenice et al., 2015). Logo, o Cu complexado apresenta maior biodisponibilidade quando comparado ao Cu inorgânico (Dobrzanski et al., 2008). Os resultados deste estudo demonstraram influência da fonte mineral em sua deposição nas gemas, com diferenças entre MNC e 40% de MCAA. Verificam-se ainda, concentrações distintas na deposição de Cu, a partir

do contraste das dietas com MCAA, sendo possível observar uma menor deposição à medida em que houve redução na suplementação mineral.

Contudo, Cherian (2006) fornecendo 100% da exigência com minerais inorgânicos, constatou deposição de Cu de aproximadamente 0,241 mg/kg, não corroborando com os valores encontrados no presente estudo de 1,266 mg/kg, salientando que houve menor suplementação de MCAA nas diferentes dietas.

Entretanto, os resultados demonstrados na literatura estão parcialmente em desacordo, tais como os encontrados por Yenice et al. (2015), que indicam aumento significativo na concentração mineral dos ovos a partir do fornecimento de dietas suplementadas com minerais complexados, quando comparadas à suplementação inorgânica. Ademais, Dobrzanski et al. (2008) constatou que Cu complexado promove aumento da concentração desse mineral no ovo, em detrimento à sua forma inorgânica.

A suplementação de microminerais na forma de MCAA nas dietas de galinhas poedeiras consiste numa técnica de manejo eficiente para aprimoramento da composição mineral dos ovos. Tal como ocorreu com o Cu, os resultados de Mn demonstraram influência da fonte mineral em sua deposição nas gemas, com diferenças entre as dietas com MNC e 40% de MCAA. Verifica-se diferentes concentrações na deposição de Mn, a partir do contraste das dietas com MCAA, em que se nota redução na deposição à medida que reduziu a suplementação mineral.

Nesse contexto, menores níveis de inclusão de Mn complexado depositaram concentrações mais elevadas, especificamente 0,805 mg/kg para dietas suplementadas com 40% de MCAA, em relação as referidas por Cherian (2006), que demonstrou resultado de 0,241 mg/kg de Mn, utilizando 100% da suplementação inorgânica. Esses resultados divergem do estudo de Venglovská et al. (2014), que relata elevação de 16,40%

na quantificação de Mn presente na gema do ovo de galinhas alimentadas com dieta enriquecida com Mn complexado, em relação a dieta fornecida com Mn inorgânico.

Minerais complexados possuem melhor aplicabilidade, por promoverem estabilidade no trato intestinal, dificultando competições com agentes antagonistas e amenizando possíveis perdas durante processos digestivos (Richards and Dibner, 2005). Portanto, propiciam rápida absorção; incrementando na qualidade das gemas; possibilitando redução no nível de inclusão; e atenuando o impacto ambiental das excretas, através da diminuição na liberação de agentes poluentes para o ambiente (Richards et al., 2010).

Para os minerais Zn e Fe não foram encontrados efeitos na deposição das gemas nos diferentes níveis de suplementação, bem como, para as diferentes fontes. Embora não tenham sido encontradas diferenças, confrontando os valores com os encontrados por Cherian (2006), 31,325 e 35,542 mg/kg respectivamente, atendendo a 100% do exigido com mineral inorgânico, verificou-se que o Zn, em seu menor nível de inclusão (40%) possui maior deposição, apresentando 45,932 mg/kg. O mesmo acontece para o Fe, com deposição de 72,455 mg/kg. Em discordância com tais resultados, Bahakaim et al. (2014), observou maiores deposições de Zn no ovo, quando se utilizou o mineral em sua forma complexada. Dessa forma, verifica-se que o Fe e o Zn complexados fornecidos no menor nível de inclusão (40%) alcançou superioridade na deposição dos minerais na gema dos ovos de galinhas.

Em conclusão, a inclusão até 50% nos níveis de minerais recomendados, com suplementação de minerais complexados a aminoácidos, proporcionou melhores condições histológicas, influenciando positivamente na relação vilo:cripta jejunal e ileal, e ainda, em toda a área de superfície de absorção intestinal, bem como, melhores

parâmetros ósseos, não apresentando prejuízos quanto a deposição de microminerais na gema.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, L. L. 2016. **Zinco orgânico e cobre sobre parâmetros histomorfométricos e contagem diferencial de leucócitos de codornas japonesas**. Dissertação. Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.

Ahmed, A. U., J. Hoddinott, S. Roy, E. Sraboni, W. Quabili and A. Margolies. 2016. **Which kinds of social safety net transfers work best for the ultra poor in Bangladesh? Operation and impacts of the transfer modality research initiative**. 1th ed. Dhaka: International Food Policy Research Institute, Bangladesh.

Alvarenga, B. O., M. E. Beletti, E. A. Fernandes, M. M. Silva, L. F. B. Campos and S. P. Ramos. 2004. Efeitos de fontes alternativas de fósforo nas rações de engorda e abate sobre a morfologia intestinal de frangos de corte. **Biosci. J.** 20:55-59.

Araujo, J. A., J. H. V. Silva, A. L. L. Amancio, C. B. Lima and E. R. A. Oliveira. 2008. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Vet. Bras.** 2:53-60.

Arouca, C. L. C., M. P. Maciel, F. S. Aiura, M. M. Barbosa, L. F. R. Botelho and F. M. Pereira. 2012. Desempenho, morfometria de órgãos e histologia intestinal de suínos na fase de terminação tardia alimentados com cana-de-açúcar. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** 13:1074-1083.

Arruda, A. M. V., R. T. V. Fernandes, J. M. Silva and D. C. Lopes. 2008. Avaliação morfo-histológica da mucosa intestinal de coelhos alimentados com diferentes níveis e fontes de fibra. **Rev. Caatinga.** 21:1-11.

Associação Brasileira de Proteína Animal - ABPA. 2019. Relatório Anual 2019. Acessado em novembro de 2019. <http://cleandrodias.com.br/wp-content/uploads/2019/05/RELATO%C3%ACRIO-ANUAL-ABPA-2019.pdf> .

Association of American Feed Control Officials - AAFCO. 2001. Official Publication. **Official guidelines for contaminant levels permitted in mineral feed ingredients**. Indiana.

Bahakaim A. S. A., H. A. A. Magied, S. M. H. Osman, A. S. Omar, N. Y. A. Malak and N. A. Ramadan. 2014. Effect of using different levels and sources of zinc in layer's diets on egg zinc enrichment. **Egypt Poult. Sci.** 34:39-56.

Bai, E., G. Jin, D. Li, X. Ding, J. Wang, K. Zhang, Q. Zeng, F. Ji and J. Zhao. 2017. Dietary organic trace minerals level influences eggshell quality and minerals retention in hens. **Ann. Anim. Sci.** 17:503–515.

Bai, S. P., L. Lu, X. G. Luo and B. Liu. 2008. Kinetics of Manganese Absorption in Ligated Small Intestinal Segments of Broilers. **Poult. Sci.** 87:2596–2604.

Barker, N., R. A. Ridgway, J. H. V. Es, M. V. Wetering, H. Begthel, M. V. D. Born, E. Danenberg, A. R. Clarke, O. J. Sansom and H. Clevers. 2009. Crypt stem cells as the cell-of-origin of intestinal cancer. **Nature.** 457:608–611.

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. Poult. Res.** 16:448–455.

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. Sci.** 88:2644-2648.

Boleli, I. C., A. Maiorka and M. Macari. 2002. **Estrutura Funcional Do Trato Digestório.** Pages 75-96. in Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal.

Cao, J., P. R. Henry, R. Guo, R. A. Holwerda, J. P. Toth, R. C. Littell, R. D. Miles and C. B. Ammerman. 2000. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. **J. Anim. Sci.** 78:2039–2054.

Carvalho, L. S. S., D. R. V. Rosa, F. H. Litz, N. S. Fagundes and E. A. Fernandes. 2015. Effect of the inclusion of organic copper, manganese, and zinc in the diet of layers on mineral excretion, egg production, and eggshell quality. **Braz. J. Poult. Sci.** 17:87–92.

Cera, K. R. 1988. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and morphology in young swine. **J. Anim. Sci.** 66:574-584.

Cherian, G. 2006. **Egg biology.** Pages 153-4–154-5 in Handbook of food science, technology, and engineering. Y. H. Hui, ed. CRC Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton.

Dibner, J. J. 2005. **Early nutrition of zinc and copper in chicks and poults: Impact on growth and immune function.** Pages 23–32 in Proc. 3rd Mid-Atlantic Nutrition Conference, Timonium. **Anais...** Timonium.

- Dobrzanski, Z., M. Korczynski, K. Chojnacka, H. Gorecki and S. Opalinski. 2008. Influence of organic forms of copper, manganese and iron on bioaccumulation of these metals and zinc in laying hens. **J. Elementol.** 13:309–319.
- Dowling, R H. 1992. Cellular and molecular basis of intestinal and pancreatic adaptation. *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* 27:64-67.
- Ecolvet. 2007. **Manual com orientações para coleta e envio de material.** Acessado em Ago. 2018. <[http://www.ecolvet.com.br/arquivos/manual\\_coleta.pdf](http://www.ecolvet.com.br/arquivos/manual_coleta.pdf)>.
- Faria, B. D., L. M. Silva, V. Ribeiro Junior, A. H. N. Ferreira, H. S. Rostagno, L. F. T. Albino and M. I. Hannas. 2020. Organic trace minerals and calcium levels in broilers' diets to 21 days old. **Sci. Agri.** 77:20180071.
- Favero, A., S. L. Vieira, C. R. Angel, F. Bess, H. S. Cemin and T. L. Ward. 2013. Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. **J. Appl. Poult. Res.** 22:80–91.
- Figueiredo Júnior, J. P.; F. G. P. Costa, P. E. N. Givisiez, M. R. Lima, J. H. V. Silva, D. F. Figueiredo-Lima, E. P. Saraiva and M. H. M. Santana. 2013. Substituição de minerais inorgânicos por orgânicos na alimentação de poedeiras semipesadas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 65:513-518.
- Furlan, R. L., M. Macari and B. C. Luquetti. 2004. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. Pages 6-28 in Simpósio técnico de incubação, matrizes de corte e nutrição, balneário camboriú. **Anais...** Balneário Camboriú.
- Gao, S., Y. Tajun, B. Xu, Y. Ma and S. Hu. 2014. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life Sci. J.** 109:50–56.
- Geyra, A., Z. Uni, and D. Sklan. 2001. The effect of fasting at different ages on growth and tissues dynamics in the small intestine of the young chick. **Br. J. Nutr.** 86:53-61.
- Gobesso, A. A. O., A. Soares, R. M. Ribeiro, W. T. Tamas and I. V. F. Gonzaga. 2014. Bone deposition of calcium and phosphorus, radiographic density and body development in foals fed with organic minerals. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 51:142-148.
- Goff, J. P. 2018. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **J. Dairy Sci.** 101:1– 51.

- Gravena, R. A.; R. H. Marques, J. Roccon, J. Picarelli, F. H. Hada, J. D. T. Silva, S. A. Queiroz and V. M. B. Moraes. 2011. Egg quality during storage and deposition of minerals in eggs from quails fed diets supplemented with organic selenium, zinc and manganese. **R. Bras Zootec.** 40:2767-2775.
- Guo, R., P. R. Henry, R. A. Holwerda, J. Cao, R. C. Littell, R. D. Miles and C. B. Ammerman. 2001. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. **J. Anim. Sci.** 79:1132–1141.
- Herrick, J. B. 1993. **Mineral in animal health.** Pages 3-9 in The roles of amino acid chelates in animal nutrition. New Jersey.
- Ibrahim, Z. A. 2011. Modulation of immunity and some biological functions of japonsese quail by mannan oligosaccharide and B-glucan administration. **Egypt. Poult. Sci. J.** 31:867-882.
- Jarosz, L., A. Marek, Z. Grądzki, M. Kwiecien 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.
- Jegade, A. V., A. O. Oso, A. O. Fafiolu, R. A. Sobayo, O. M. O. Idowu 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. 2008. **Histologia básica.** 11th ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- 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. **J. Clin. Exp. Med.** 2:131-135.
- Klein, R. M. 1989. Small intestinal cell proliferation during development. In **Human gastrointestinal development.** New York.
- Leeson, S. 2005. **Trace mineral requirements of poultry - Validity of the NRC recommendations.** Pages 107-117 in Redefining Mineral Nutrition. Reino Unido.
- Leeson, S. and J. D. Summers. 2001. **Nutrition of the chickens.** 4th ed. University Books, Guelph.
- Levkut Jr, M., M. Fukasová, K. Bobíková, M. Levkutová, K. Cobanová and M. Levkut. 2017. The effect of inorganic or organic zinc on the morphology of the intestine in broiler chickens. **Folia Vet.** 61:52-56.



Liu Y., Y. L. Ma, J. M. Zhao, M. Vazquez-Anon and H. H. Stein. 2014. Digestibility and retention of zinc, copper, manganese, iron, calcium, and phosphorus in pigs fed diets containing inorganic or organic minerals. **J. Anim. Sci.** 92:3407-3415.

Lohmann LSL. 2017. **Guia de Manejo**. São José do Rio Preto.

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., C. Rapp, M. 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. 1999. Fisiologia do sistema digestivo das aves. **Aves e ovos.** 15:2–20.

Macari, M. and A. Maiorka. 2000. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, Campinas. **Anais...** Campinas.

Maiorka, A., I. C. Boleli and M. Macari. 2008. **Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal**. Pages 113–124 in Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal.

McDonald, P., R. A Edwards and J. F. D. Greenhalgh. 2002. **Nutrição Animal**. 6th ed. Longman, Londres e Nova York.

M'Sadeq, S. A., S. B. Wu, M. Choct and R. A. Swick. 2018. Influence of trace mineral sources on broiler performance, lymphoid organ weights, apparent digestibility, and bone mineralization. **Poult. Sci.** 97:3176–3182.

Oliveira, R. C. 2008. **Morfometria computacional de órgãos de frango de corte submetidos a duas dietas distintas: suplementação mineral quelatada versus suplementação mineral tradicional**. Tese. Universidade de São Paulo, Sao Paulo.

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, osso pleural e osso neural em tartarugas verdes hípidas por tomografia computadorizada quantitativa. **Cienc. Rural**, 42:1440-1445.

Paik, I. 2001. Application of chelated minerals in animal production. **Asian-Australas. J. Anim. Sci.** 14:191-198.

- Paik, I. K., S. H. Seo, J. S. Um, M. B. Chang and B. H. Lee. 1999. Effects of supplementary copper chelate on the performance and cholesterol level in plasma and breast muscle of broiler chickens. **Asian-Australas. J. Anim. Sci.** 12:794–798.
- Pal, D. T., N. K. Gowda, C. S. Prasad, R. Amarnath, U. Bharadwaj, G. Suresh Babu and K. T. Sampath. 2010. Effect of copper- and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. **J. Trace Elem. Med. Biol.** 24:89–94.
- Park, H. J., O. J. Lee, M. C. Lee, B. M. Moon, H. W. Ju, J. M. Lee, J. H. Kim, D. W. Kim and C. H. Park. 2015. Fabrication of 3D porous silk scaffolds by particulate (salt/sucrose) leaching for bone tissue reconstruction. **Internat. J. Bio. Macromol.** 78:215-223.
- Peixoto, R. R. and J. C. Maier. 1993. **Aditivos**. Pages 125-1302 in *Nutrição e Alimentação Animal*. 2th ed. EDUCAT/UFpel, Pelotas.
- Peric, L., L. Nollet, N. Milosevic and D. Zikic. 2007. Effect of Bioplex and Sel-Plex substituting inorganic trace mineral sources on performance of broilers. **Archiv. Geflugelk.** 71:122–129.
- Pierce, J., T. Ao, P. Charlton and L. A. Tucker. 2009. Organic minerals for broilers and laying hens: Reviewing the status of research so far. **World. Poult. Sci. J.** 65:493-498.
- Predieri, L., G. Elviri, H. Tegoni, I. Zagnoni, E. Cinti, L. Biagi, S. Ferruzza and L. Leonardi. 2005. Metal chelates of 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid in animal feeding. Part 2: Further characterizations, in vitro and in vivo investigations. **J. Inorg. Biochem.** 99:627–636.
- 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.
- Richards, J. and J. Dibner. 2005. Organic trace minerals are not all equally effective. **World Poult. Sci. J.** 21:17-19.
- Richards, J. D., J. Z. Zhao, R. J. Harrel, C. A. Atwell and J. J. Dibner. 2010. Trace mineral nutrition in poultry and swine. **Asian-Australas. J. of Anim. Sci.** 23:1527-1534.
- Richards, J., T. Hampton, C. Wuelling, M. Wehmeyer and J. J. Dibner. 2006. Mintrex Zn and Mintrex Cu organic trace minerals improve intestinal strength and immune responses to coccidiosis infection and/or vaccination in broilers. International Poultry Scientific Forum. Atlanta. **Anais...** Atlanta.

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.

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. Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Santos, W. G., E. P. Filgueiras and H.O. Silva. 2002. Efeito da manose como prebiótico sobre a morfologia intestinal (relação vilosidade:cripta) de leitões na fase de creche. Reunião Anual da Sociedade Brasileira De Zootecnia. Recife. **Anais...** Recife.

SAS Institute. 2009. **SAS Proprietary Software Release 9.3**. SAS. Inst., Inc. Cary, NC.

Scott, A., K. P. Vadalasetty, E. Sawosz, M. Łukasiewicz, R. K. P. Vadalasetty, S. Jaworski and A. Chwalibog. 2016. Effect of copper nanoparticles and copper sulphate on metabolic rate and development of broiler embryos. **Anim. Feed Sci. Technol.** 220:151–158.

Sechinato, A. S., R. Albuquerque and S. Nakada. 2006. Efeito da suplementação dietética com microminerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 46:159-166.

Souza, G. B., A. R. A. Nogueira and J. B. Rassini. 2002. **Determinação de matéria seca e umidade em solos e plantas com forno de microondas doméstico**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudoeste.

Tavares, T., J. L. Mourão, Z. Kay, P. Spring, J. Vieira, A. Gomes and M. Vieira-Pinto. 2013. O efeito da substituição de minerais vestigiais inorgânicos por Bioplex® e Sel-Plex® orgânicos no desempenho e na qualidade da carne de frangos de corte. **J. Appl. Anim. Nutr.** 2:1-7.

Tufarelli, V., S. Desantis, S. Zizza and V. Laudadio. 2010. Performance, gut morphology, and carcass characteristics of fattening rabbits as affected by particle size of pelleted diets. **Arch. Anim. Nutr.** 64:373–382.

Uni, Z. 2000. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chickens in small intestine. **Br. Poult. Sci.** 41:410–415.

Venglovská, K., L. Gresakova, I. Placha, M. Ryzner and K. Cobanova. 2014. Effects of feed supplementation with manganese from its different sources on performance and egg parameters of laying hens. **Czech J. Anim. Sci.** 59:147–155.

Viola, E. S. and S. L. Vieira. 2007. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Rev. Bras. Zootec.** 36:1097-1104.

Wu, G, Bazer, F. W., Cudd, T. A., Meininger, C. J. and Spencer, T. E. 2004. Maternal Nutrition and Fetal Development. **J. Nutr.** 134:2169–2172.

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 Evaluate Bone Mineralization. **J. Appl. Poult.** 14:492–498.

Yan, F. and P. W. Waldroup. 2006. Evaluation of Mintrex manganese as a source of manganese for young broilers. **Int. J. Poult. Sci.** 5:708–713.

Yenice, E., C. Mızrak, M. Gultekin, Z. Atik and M. Tunca. 2015. Effects of Organic and Inorganic Forms of Manganese, Zinc, Copper, and Chromium on Bioavailability of These Minerals and Calcium in Late-Phase Laying Hens. **Biol. Trace Elem. Res.** 167:300-307.

Yildiz, A. O., Y. Cufadar and O. Olgun. 2011. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralization in laying hens. **Rev. Med. Vet.** 162:482-488.

Yu, Y., L. Lu, X. G. Luo and B. Liu. 2008. Kinetics of Zinc Absorption by In Situ Ligated Intestinal Loops of Broilers Involved in Zinc Transporters. **Poult. Sci.** 87:1146–1155.

## ANEXO



Universidade Federal Rural de Pernambuco

Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n,  
Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE



CEUA - UFRPE  
Aprovado em:  
13/04/2018  
Validade  
18/04/2020

Comissão de ética no uso de animais - CEUA

**Licença para o uso de animais em experimentação e/ou ensino**

O Comitê de ética no uso de animais CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no uso de suas atribuições, autoriza a execução do projeto discriminado abaixo. O presente projeto também se encontra de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11794/2008.

Número da licença	041/2018
Número do processo	23082.003794/2016
Data de emissão da licença	18 de abril de 2018
Título do Projeto	Organic minerals avaluation in diets of laying hens.
Finalidade (Ensino, Pesquisa, Extensão)	Pesquisa
Responsável pela execução do projeto	Carlos Bôa-Viagem Rabello
Colaboradores	Mércia Rodrigues Barros; Valdemiro Amaro da Silva Júnior; Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke; Helena Emília Cavalcanti da Costa C. Manso; Waleska Rocha Leite de Medeiros; Luiz Henrique Santos Ferreira da Silva; Heraldo Bezerra de Oliveira; Andresa de Gusmão Faria; Gizelia Lemos Pinto; Rogério Ventura da Silva Júnior; Almir Ferreira da Silva; Guilherme Rodrigues do Nascimento.
Tipo de animal e quantidade total autorizada	Ave; total 3.064 animais (fêmeas).

Prof.<sup>a</sup> Dra. Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim  
(Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA /UFRPE)