



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

**GABRIELA DUARTE SILVA**

**ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDO PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE DE  
CRIA E RECRIA**

**RECIFE – PE  
2023**

**GABRIELA DUARTE SILVA**

**ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDO PARA POEDEIRAS LEVES NA  
FASE DE CRIA E RECRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Da Universidade Federal Rural de Pernambuco para obtenção do título de Doutora em Zootecnia

Área de concentração: Zootecnia

Orientador(a): Prof. Dr. Carlos Bôa-iagem Rabello

Coorientador(es): Profa. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza

Profa. Dra. Maria do Carmo Mohaupt  
Marques Ludke

Dr. Marcos José Batista dos Santos

**RECIFE – PE**

**2023**

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)

---

S586z Silva, Gabriela Duarte  
ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDO PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE DE CRIA E RECREIA /  
Gabriela Duarte Silva. - 2023.  
93 f. : il.

Orientador: Carlos Boa-Viagem  
Rabello. Inclui referências.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia, Recife, 2023.

1. Fitase. 2. Zinco. 3. Ingestão suplementar. 4. Retenção corporal. 5. Zinco orgânico. I. Rabello, Carlos Boa-  
Viagem, orient. II. Título

CDD 636

---



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

**ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDO PARA POEDEIRAS LEVES NA  
FASE DE CRIA E RECRIA**

Tese elaborada por:

**GABRIELA DUARTE SILVA**

Aprovado em 28/07/2023

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **CARLOS BOA VIAGEM RABELLO**  
 Data: 04/09/2023 09:27:36-0300  
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello**  
 Universidade Federal Rural de Pernambuco  
 (Presidente)

Documento assinado digitalmente  
 **ALBA KYONARA BARBOSA ALVES TENORIO**  
 Data: 07/08/2023 11:47:43-0300  
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Dra. Alba Kyonara Barbosa Alves Tenório Fireman**  
 (Zinpro Animal)

Documento assinado digitalmente  
 **EDNARDO RODRIGUES FREITAS**  
 Data: 08/08/2023 08:59:02-0300  
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas**  
 Universidade Federal do Ceará

Documento assinado digitalmente  
 **ALEX MARTINS VARELA DE ARRUDA**  
 Data: 08/08/2023 16:34:05-0300  
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Alex Martins Varela de Arruda**  
 Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Documento assinado digitalmente  
 **LILIAN FRANCISCO ARANTES DE SOUZA**  
 Data: 09/08/2023 14:36:48-0300  
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Profa. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza**  
 Universidade Federal Rural de Pernambuco

*Nunca foi sobre sorte, mas sempre foi e será Deus!*

*A Deus acima de tudo.*

*À minha avó **Josefa Duarte** (in memoriam)*

*Por ter sido a grande responsável por quem eu me tornei.*

***Dedico***

## Agradecimentos

Primeiramente, agradeço ao meu senhor Deus, minha fortaleza, e que é o grande centro das minhas conquistas, vitórias e realizações, e, que nas horas mais difíceis me deu sabedoria e força para continuar firme na caminhada.

À minha família, em especial a minha mãe Maria do Carmo e irmão Marcus Vinícius, tia Hilda Duarte e Eva Duarte, minha afilhada Maria Luísa e a minha sobrinha Ana Maria, aos meus primos Débora, Hildany, Jaime e Douglas. Agradeço imensamente pelo grande apoio e carinho em todos os momentos dessa caminhada e que mesmo na distância, senti o apoio e o aconchego de todos. Agradeço sempre por ter ensinado, que em cada etapa da vida, a alegria, o respeito, a humildade, a honestidade, o caráter, o companheirismo e o amor ao próximo são os pontos principais para os primeiros passos de cada conquista. Para vencer desafios e cumprir novas missões, obtendo o sucesso, servindo como aprendizado e ensinamento ao longo da vida e mostrando que não desistimos jamais.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco em especial ao Departamento de Zootecnia e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por todos os serviços prestados. Além de todos os professores e funcionários do departamento por toda a contribuição para a minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado.

A Advancing Animal Health and Nutrition – Zinpro® pelo fornecimento dos ingredientes testados no estudo, e também por todo o apoio prestado para a realização do trabalho e das análises.

Ao meu orientador Prof. O Dr. Carlos Bôa-viagem Rabello pelos ensinamentos que não foram poucos e pela confiança na execução deste trabalho. Agradeço pela compreensão, conselhos e paciência durante toda minha trajetória no doutorado e pelo exemplo de competência e profissionalismo. Quero agradecer em especial, a minha co-orientadora/orientadora Prof. Dra. Lilian Francisco de Arantes Souza, que apesar de ter conhecido nos meus últimos anos de doutorado, se manteve disposta a sempre me ajudar no que fosse preciso. Por isso, serei eternamente grata por toda a paciência e ensinamentos, e por sempre estar presente quando foi preciso. Também gostaria de deixar aqui minha gratidão ao meu primeiro orientador que foi o Prof. Dr. Wilson Moreira Dutra Júnior, obrigada pelo início da minha orientação, o senhor foi fundamental.

Aos meus demais co-orientadores Dr. Marcos Santos, por todas as contribuições e paciência, você me ajudou muito em todas as análises, meus sinceros agradecimentos por toda a ajuda e confiança. A Prof. Dra. Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke por ter aceitado essa co-orientação, disponibilidade e pelos ensinamentos, que foram muitos, foi de grande ajuda para a minha formação e vida, serei eternamente grata.

A Universidade Federal de Pernambuco, a clínica Focus Diagnóstico Veterinário e todos os Laboratórios e departamentos que contribuíram de certa forma para as análises fossem realizadas. E a todo o apoio de técnicos e funcionários desses estabelecimentos.

Aos meus amigos que levarei para vida, apesar de conhecerem nos dois últimos anos de doutorado, elas se mostraram fiéis, dedicadas e amigas (só elas sabem o quanto é difícil de aturar a Gabriela), a vocês Jamille Sheila e Katariny Lima meu eterno agradecimento por tudo. Portanto, quero dedicar essa mensagem a vocês e às minhas amigas Diana, Steyce e Sanara (Uma amizade que já dura mais de 13 anos). “Há pessoas estrelas e há pessoas cometas. Os cometas passam. Apenas são lembrados pelas datas que passam e que retornam. Mas, existem as pessoas estrelas, que permanecem. O sol permanece. Passam anos, milhões de anos, e as estrelas permanecem. Há uma necessidade de criar um mundo de estrelas (vocês são minha constelação particular). Todos

os dias poder contar com elas poder sentir seu calor. Assim são os amigos estrelas na vida da gente. Ser estrela neste mundo passageiro, nesse mundo cheio de pessoas cometas, é desafio, mas acima de tudo uma recompensa”. Obrigada minhas amigas estrelas, que brindemos sempre por nossas conquistas juntas, independente de toda distância.

Quero deixar aqui também, meu agradecimento a todos que fazem parte do grupo da avicultura, em especial a Elayne que sempre se dispôs a me ajudar em tudo, até contribuindo com uma ajudinha extra, mas além de tudo por sua amizade e conselhos ao longo de todo o doutorado. Obrigada por cada ponto e vírgulas pelo caminho.

A Rafael Victor meu agradecimento, que desde o começo do experimento se mostrou presente a ajudar e sempre esteve disposto a apreender e contribuir com toda ajuda necessária. Além de ter ajudado as meninas depois que estive ausente. Rafa meus sinceros agradecimentos por todos os momentos juntos, por toda a ajuda no CENAPESQ, por estar presente sempre querendo ajudar e por enlouquecer comigo alguns milhares de vezes durante as análises. Espero levar essa amizade e parceria pra vida.

A todos os PAVIS e PIBICS que se mantiveram presentes durante o experimento, que ajudaram em todos os manejos e na conclusão do experimento, em especial à Rafael e Tatiane por toda ajuda oferecida. E também obrigada aos que não faziam parte do grupo de avicultura, mas se dispuseram a ajudar nas batidas de rações e outros manejos realizados no galpão, um agradecimento especial a Luiz e Ayrton.

Aos amigos que o programa de pós-graduação em Zootecnia me deu, em especial a Andréa, Day, Apolônio, Daiane, Géssica, Aurielle, Matheus e Francisco (Chico) muito obrigada por sua amizade.

Agradeço ao Darlan e Isis, meus companheiros e amigos de casa, me aturaram nas minhas bagunças e nas nossas divergências. Pessoas com personalidades completamente diferentes e improváveis de darem certos morando juntas, mas no final deu super certo e criamos um laço que irá permanecer. Obrigada por toda paciência e companheirismo, vocês foram e são muito especiais para mim, irei levar pra vida.

A todos os servidores da UFRPE, pelo acolhimento e convívio durante o período de trabalho. Em especial ao técnico do laboratório Carlos.

Enfim, a todas as pessoas que de forma direta e indireta contribuíram para que essa pesquisa se realizasse e desses frutos.

Meu eterno Agradecimento!

## RESUMO

O objetivo desse trabalho foi estimar o consumo ideal do zinco complexado a aminoácidos (Zn-CAA) com inclusão da enzima fitase (EZF), sobre o desempenho, perfil bioquímico, qualidade físico-química das tibiás e retenção corporal de Zn de pintainhas e frangas poedeiras. Foram utilizadas 648 pintainhas (experimento fase de cria) e 360 frangas de postura (experimento fase de recria) da linhagem Dekalb White, distribuídas em o delineamento inteiramente ao acaso em seis tratamentos com seis repetições de 18 e 10 aves cada, respectivamente. Os tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas, variando apenas os níveis de suplementação de Zn-CAA. No experimento 1, representado pela fase de cria (um a seis semanas de idade), os níveis de inclusão de zinco complexado a aminoácidos (Zn-CAA) foram: 18, 30, 42, 54, 66 e 78 mg kg<sup>-1</sup>. E no experimento 2, representado por frangas poedeiras, os níveis de inclusão de zinco Zn-CAA foram: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg kg<sup>-1</sup>. Desempenho (peso corporal, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar), características ósseas (peso, comprimento, índice de Seedor, matéria mineral, resistência, densitometria e concentração de minerais na tibia), perfil sanguíneo (hemácias, volume corpuscular médio, leucócitos, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, albumina e globulina), biometria dos órgãos (fígado, baço, Bursa de Fabricius, timo, pâncreas, intestino) e retenção corporal do Zn das aves foram avaliados. A ingestão de Zn foi calculada pela equação  $Y = R_{max} * 1 - e^{-bx}$ . A estimativa de Zn para cada variável foi calculada pela inversão do modelo. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ( $P < 0,05$ ). O nível suplementar de Zn-CAA influenciou ( $P < 0,05$ ) o hemograma, perfil bioquímico, avaliação óssea e a retenção corporal de Zn. Os parâmetros  $R_{max}$  e  $b$ , para o hemograma, são, volume corpuscular médio (VCM): 130,3, 5,53 e leucócitos (LEU): 17,498, 2,750. Para o perfil bioquímico,  $R_{max}$  e  $b$  foram para aspartato aminotransferase (AST) 175,8, 73,647; para fosfatase alcalina (FA): 6779,8, 39,737 e para albumina (ALB): 16,604, 124,1.  $R_{max}$  e  $b$  para avaliação óssea, foram para peso ósseo (PO) 3679,9, 209,7; comprimento ósseo (CO): 72,616, 105,400; resistência óssea (RO): 7,6355, 61,934; densitometria óssea distal (DOD): 822,24, 19,111; e, para retenção corporal de Zn (RTCZn), 8,0883, 2,7487. O consumo de Zn-CAA estimado foi: 0,54, 1,09, 0,0407, 0,276, 0,072, 0,014, 0,104, 0,145, 0,157 e 1,09 mg ave dia<sup>-1</sup> para VCM, LEU, AST, FA, ALB, PO, CO, RO, DOD e RTCZn, respectivamente para pintainhas leves de postura. Em frangas poedeiras, observamos diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) influenciadas pelo nível suplementar de Zn-CAA na FA, avaliação óssea e retenção corporal de Zn nas aves. Para a variável FA os parâmetros  $R_{max}$  e  $b$  foram 1086,9, 10,3489, onde a estimativa da ingestão suplementar do Zn foi de 0,289 mg ave dia<sup>-1</sup>. Os parâmetros  $R_{max}$  e  $b$  para o ganho de peso médio (GPM) foram 12,0191, 25,6703; para consumo de ração (CR) 43.3056, 17.6338; e 3.597, 19.0476 para conversão alimentar (CA). As estimativas de ingestão de Zn foram 0,117, 0,624 e 0,158 mg ave dia<sup>-1</sup> para GPM, CR e CA, respectivamente. Os parâmetros  $R_{max}$  e  $b$  para comprimento do osso (CO) foram 115,3 e 769,66, densitometria óssea proximal (DOP) foram 819,4, 1211,8; e 1080.36, 85.001 para DOD. Para esta fase, o consumo ideal de Zn-CAA, foi estimado em 0,006, 0,004 e 0,05 mg ave dia<sup>-1</sup> para CO, DOP e DOD, respectivamente. De acordo com a retenção de Zn (RTCZn), a estimativa foi de 1,86 mg/ave/dia. Recomendamos, portanto, 1,09 e 1,86 mg ave dia<sup>-1</sup> de Zn-CAA para pintainhas e frangas poedeiras respectivamente, com inclusão de fitase (600 FTU), para garantir um desenvolvimento saudável e melhor deposição mineral.

**Palavras-chave:** Fitase. Zinco. Ingestão suplementar. Retenção corporal. Zinco orgânico

## ABSTRACT

The objective was to estimate an ideal intake of zinc complexed to amino acids (Zn-CAA) with the inclusion of the enzyme phytase (EZF), on the performance, biochemical profile, physical-chemical quality of the tibias and body retention of Zn in laying-type chicken and laying pullets. 648 chicks (experiment 1) and 360 laying pullets (experiment 2) of the Dekalb White strain were used, distributed in 36 cages (50x80x50 cm) according to a completely randomized design in six treatments with six replications (R) of 18 and 10 poultry each, respectively. Treatments consisted of isonutritive and isoenergetic experimental diets, varying only the levels of Zn-CAA supplementation. In experiment 1, represented by the rearing phase, the diet with the highest concentration of Zn-CAA was Zn of 78 mg kg<sup>-1</sup>, the low level was 18 mg/kg and the intermediate levels were: 30, 42, 54 and 66 mg/kg, respectively. In experiment 2 (laying pullets), the diet with the highest concentration of Zn-CAA had a Zn content of 75 mg/kg, the lowest level was 5 mg/kg and the intermediate levels were: 15, 25, 35 and 55 mg kg<sup>-1</sup>, respectively. All diets were obtained by successive dilutions of the highest level diet with the lowest level diet. In the 3rd and 12th week of the study, blood samples were collected from one poultry per R for evaluation of the blood count and biochemical profile. At the end of the 4th and 13th weeks of age, one poultry per R with average weight of each experimental plot was selected for euthanasia and we collected the organs (thymus, Fabricius pouch, liver, spleen, pancreas and intestine), and right and left tibias for measurements (weight, length, Seedor index, resistance and bone densitometry of the tibias). Another six poultry were euthanized at the beginning of each experiment, to compose the initial body composition sample and at the end of each study, one poultry per R was selected based on the average weight to compose the final body composition sample, so that we could carry out the Zn body retention calculation. Zn intake was calculated by the equation  $Y = R_{max} * 1 - e(-bx)$ . The Zn estimate for each variable was calculated by inverting the model. Data were adjusted by the Nlin procedure ( $P < 0.05$ ). Increasing levels of Zn-CAA influenced ( $P < 0.05$ ) the blood count, biochemical profile, bone evaluation and body Zn retention. The Rmax and b parameters for the blood count and mean corpuscular volume (MCV): 130.3, 5.53 in leukocytes (WBC): 17,498, 2,750. For the biochemical profile, respectively, aspartate aminotransferase (AST) were 175.8, 73.647; alkaline phosphatase (AP): 6779.8, 39.737; albumin (ALB): 16.604, 124.1; for bone evaluation, respectively, they were for bone weight (PO) 3679.9, 209.7; bone length (CO): 72,616, 105,400; bone strength (OR): 7.6355, 61.934; distal bone densitometry (DOD): 822.24, 19.111; and 8.0883, 2.7487 for Zn body retention (BRTZn). Applying the inverse model to estimate the consumption of Zn-CAA were: 0.54, 1.09, 0.0407, 0.276, 0.072, 0.014, 0.104, 0.145, 0.157 and 1.09 mg poultry day<sup>-1</sup> for VCM, LEU, AST, FA, ALB, PO, CO, RO, DOD and BRTZn, respectively for laying-type chicken. In laying pullets, we observed significant differences ( $P < 0.05$ ) in AP, bone evaluation and body Zn retention in poultry. For the AF variable, the Rmax and b parameters were 1086.9, 10.3489, where the estimate of supplemental Zn intake was 0.289 mg bird day<sup>-1</sup>. The Rmax and b parameters for ADG were 12.0191, 25.6703; ADFI 43.3056, 17.6338; and 3597, 190476 for FCR. Estimates of Zn intake were 0.117, 0.624 and 0.158 mg poultry day<sup>-1</sup>, respectively. The Rmax and b parameters for bone length were 115.3 and 769.66, proximal tibial densitometry were 819.4, 1211.8; and 1080.36, 85,001 for distal tibial densitometry. Applying the inverse model to estimate Zn consumption, 0.006, 0.004 and 0.05 mg poultry day<sup>-1</sup> were found, respectively. The equation found for Zn retention was  $12.1113 - e(-1.6135x)$ , and the estimate was 1.86 mg/poultry/day. We therefore recommend 1.09 and 1.86 mg poultry day<sup>-1</sup> of Zn- CAA for laying-type chicken and laying pullets respectively, with the inclusion of phytase (600 FTU), to ensure better mineral deposition and which will guarantee the health of these animals and future egg production.

**Keyword:** Phytase. Zinc. Supplementary intake. Body Retention.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** Mecanismo de absorção do zinco ionizado em quantidade adequada. Fonte: Adaptado GOFF (2017) e BYRNE; MURPHY (2022) ..... 14

### CAPÍTULO 1

**Figura 2** Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental ..... 41

**Figura 3** A resposta máxima das variáveis com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base no volume corpuscular médio e leucócitos de pintainhas poedeiras (um dia a cinco semanas) está representada pela linha tracejada de vermelho ..... 48

**Figura 4** A resposta máxima das variáveis com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base no aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina e albumina de pintainhas poedeiras (De um a cinco semanas de idade) está representada pela linha tracejada de vermelho ..... 49

**Figura 5** A resposta máxima das variáveis com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base do peso, comprimento, resistência e densitometria óssea distal de pintainhas poedeiras (De um a quatro semanas de idade) está representada pela linha tracejada em vermelho. .... 51

**Figura 6** A resposta máxima das variáveis com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base NA RTCZn de pintainhas poedeiras (De um a quatro semanas de idade) está representada pela linha tracejada em vermelho..... 52

### CAPÍTULO 2

**Figura 8** Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental ..... 66

**Figura 9** Nos gráficos são mostrados, a resposta máxima do GPM, CR e CA com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia-1) com base no GPM, CR e CA de frangas poedeiras (Seis a 13° semana de idade) está representada pela linha tracejada em verde. .... 73

**Figura 10** No gráfico é mostrado, a resposta máxima da FA com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia-1) com base na FA no soro de frangas poedeiras (Seis a 13° semana de idade) está representada pela linha tracejada em verde..... 74

**Figura 11** Nos gráficos são mostrados, a resposta máxima do CO, DOP e DOD com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia-1) com base no CO, DOP e DOD de frangas poedeiras (Seis a 13° semana de idade) está representada pela linha tracejada em verde. .... 76

**Figura 12** Nos gráficos são mostrados, a resposta máxima da RTCZn com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia-1) de acordo com a RTCZn em frangas poedeiras (Seis a 13° semana de idade) está representada pela linha tracejada em verde ..... 77

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

<b>Tabela 1</b> Composição calculada e analisada das dietas experimentais .....	42
<b>Tabela 2</b> Concentração de Zn, Mn, Fe, Cu nas dietas e água utilizadas no experimento.....	43
<b>Tabela 3</b> Desempenho produtivo de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com Zn-CAA.....	47
<b>Tabela 4</b> Hemograma e Bioquímica sérica de pintainhas poedeiras com um a quatro semanas de idade suplementadas com níveis de inclusão de Zn-CAA .....	48
<b>Tabela 6</b> Avaliação óssea das tíbias de pintainhas poedeiras suplementadas com Zn-CAA.....	50
<b>Tabela 7</b> Retenção corporal de Zn das pintainhas poedeiras suplementada com Zn-CAA.....	52

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 8</b> Composição calculada e analisada das dietas experimentais .....	67
<b>Tabela 9</b> Concentração de Zn, Mn, Fe, Cu, Ca e P nas dietas e água experimentais.....	67
<b>Tabela 10</b> Desempenho de frangas poedeiras (6 a 13 semanas de idade) suplementadas com diferentes níveis Zn-CAA nas dietas.....	72
<b>Tabela 11</b> Bioquímica sérica de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com Zn-CAA .....	74
<b>Tabela 12</b> Densitometria das tíbias das frangas de postura (13 semanas de vida) suplementadas com Zn-CAA .....	75
<b>Tabela 13</b> Retenção corporal de Zn das frangas poedeiras (6 a 13 semana de vida) suplementada com Zn-CAA .....	77

**LISTA DE ABREVIACÕES**

AC – Anidrase carbônica  
AAOC - Association of Official Analytical Chemists  
AAFCO - Association of American Feed Control Officials  
UE – União Européia  
Zn – Zinco  
Ca – Cálcio  
P – Fósforo  
Mn – Manganês  
Cu – Cobre  
Fe – Ferro  
Se – Selênio  
I – Iodo  
Zn-CAA – Zinco complexado a aminoácidos  
PCMI – Peso corporal médio inicial  
PCMF – Peso corporal médio final  
GMD -Ganho médio de peso  
CA - Conversão alimentar  
CR - Consumo de ração  
HEM – Hemácias  
LEU – Leucócitos  
AST – Aspartato aminotransferase  
FA – Fosfatase alcalina  
ALB – Albumina  
GLOB - Globulina  
VCM – Volume corpuscular médio  
CCEC – comprimento do ceco  
CINT - comprimento do intestino  
PO – Peso ósseo da tibia  
CO – Comprimento ósseo da tibia  
IS - índice de Seedor  
ROT – Resistência óssea da tibia  
DOP – Densitometria óssea proximal da tibia  
DOM – Densitometria óssea medial da tibia  
DOD – Densitometria óssea distal da tibia  
ZnCCI – Concentração corporal inicial de zinco  
ZnCCF – Concentração corporal final de zinco  
RTCZn – Retenção corporal de zinco

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2. IMPORTÂNCIA DO ZINCO PARA AS AVES</b> .....	<b>9</b>
<b>3. METABOLISMO E ABSORÇÃO MINERAL</b> .....	<b>10</b>
3.1 FONTES CONVENCIONAIS .....	10
<b>3.2 ABSORÇÃO DO ZINCO</b> .....	<b>13</b>
<b>5. CLASSIFICAÇÃO E ABSORÇÃO DOS METAIS COMPLEXADOS A MOLÉCULAS ORGÂNICAS</b> .....	<b>15</b>
<b>6. DESENVOLVIMENTO ÓSSEO DE POEDEIRAS</b> .....	<b>18</b>
6.1 BIOLOGIA DO TECIDO ÓSSEO.....	19
6.2 EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DO ZINCO SOBRE A QUALIDADE ÓSSEA DAS AVES.....	23
<b>7. ZINCO NA FASE DE CRESCIMENTO DE GALINHAS POEDEIRAS</b> .....	<b>27</b>
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>36</b>
ESTIMATIVA DA EXIGÊNCIA SUPLEMENTAR DE ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA PINTAINHAS DE POSTURA LEVE .....	36
<b>RESUMO</b> .....	<b>37</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>38</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>39</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>40</b>
2.1 LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES.....	40
2.2 DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS .....	41
2.3 DESEMPENHO PRODUTIVO .....	43
2.4 PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO.....	43
2.5 AMOSTRAGEM PARA RETENÇÃO CORPORAL DE Zn E AVALIAÇÃO DE OSSOS 43	
2.5.1 Retenção corporal .....	43
2.5.3 Coleta das tíbias.....	44
2.6 AVALIAÇÃO DAS TÍBIAS .....	44
2.6.1 Peso, comprimento e índice de <i>Seedor</i> das tíbias .....	44
2.6.3 Resistência óssea.....	45
2.7 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MINERAL .....	45
2.8 QUANTIFICAÇÃO MINERAL .....	45
2.8.1 Composição corporal das aves e rações experimentais .....	45
2.9 RETENÇÃO CORPORAL DE ZINCO .....	46
2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>47</b>
3.1 DESEMPENHO PRODUTIVO .....	47
3.2 PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO.....	47
3.3 AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	49
3.4 RETENÇÃO CORPORAL DE Zn.....	51
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>52</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>57</b>
<b>6 AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>57</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>57</b>

<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>61</b>
ESTIMATIVA DA EXIGÊNCIA SUPLEMENTAR DE ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA FRANGAS POEDEIRAS LEVES .....	61
<b>RESUMO</b> .....	<b>62</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>63</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>64</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>65</b>
2.1 LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES.....	65
2.2 DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS .....	66
2.3 DESEMPENHO PRODUTIVO .....	68
2.4 PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO.....	68
2.5 AMOSTRAGEM PARA RETENÇÃO CORPORAL DE Zn E AVALIAÇÃO DE OSSOS 68	68
2.5.1 Retenção corporal .....	68
2.5.2 Coleta das tíbias.....	68
2.6 AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	68
2.6.1 Peso, comprimento e índice de Seedor das tíbias .....	68
2.6.2 Densitometria óssea .....	69
2.6.3 Resistência óssea.....	69
2.7 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MINERAL .....	70
2.7.1 Amostras de composição corporal.....	70
2.8 QUANTIFICAÇÃO MINERAL .....	70
2.8.1 Composição corporal de frangas e rações experimentais .....	70
2.9 RETENÇÃO CORPORAL DE ZINCO.....	70
2.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	71
<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>71</b>
3.1 DESEMPENHO PRODUTIVO .....	71
3.2 PERFIL BIOQUÍMICO .....	73
3.3 AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	74
3.4 RETENÇÃO CORPORAL DE Zn.....	76
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>77</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>83</b>
<b>6 AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>83</b>
<b>7 REFERÊNCIA</b> .....	<b>83</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A avicultura de postura atual, está continuamente em busca de aumentar sua produção e melhorando a qualidade e o número de ovos vendáveis, por um período mais longo de produção sem comprometer a saúde, pois o intenso estudo com melhoramento genético, associado a evolução das técnicas de manejo, ambiência e fortalecimento da nutrição têm proporcionado animais mais resistentes. Porém, esse potencial genético, só será devidamente aproveitado e expresso, dando a devida importância e implementação de boas práticas de produção, programas de criação e manejo. Todas essas práticas devem ser iniciadas ainda na fase de cria e recria. As primeiras semanas da vida de uma galinha poedeira são cruciais para o seu desenvolvimento posterior como uma boa produtora de ovos longa e saudável. Nesse período de intenso desenvolvimento fisiológico, o animal apresenta elevado metabolismo celular e enzimático, e é o período em que o osso estrutural ou cortical é formado. Quando falamos em formação óssea, o zinco (Zn) é um dos minerais mais importantes, já que atua como cofator enzimático na maioria dos processos orgânicos que envolvem este processo, desde a tradução de códigos genéticos, a atividade do sistema enzimático, superóxido dismutase, até a atividade da anidrase carbônica.

Portanto, é imprescindível o fornecimento balanceado de nutrientes, como o Zn para aves de postura, devendo atender o consumo ideal nas diferentes fases de criação. Nesse sentido, o Zn é um micromineral que ganha cada vez mais destaque nas pesquisas, pois é essencial para o crescimento e a vida dos animais, atuando como cofatores enzimáticos e fatores de transcrição, além de participar de uma ampla variedade de processos bioquímicos (RICHARDS et al., 2010; NAZ et al., 2016; ZAFAR; FATIMA, 2018).

O zinco (Zn) é um micromineral que constitui proteínas ligadas ao sistema imunológico, participa da síntese de DNA e mineralização óssea (GOFF, 2018; MUSZYNSKI et al., 2018). Este metal é um componente ativo de metaloenzimas, como a anidrase carbônica, essencial para a formação da casca do ovo, além de promover melhorias na capacidade digestiva e absorviva do intestino (ABD EL-HACK et al., 2017).

Os níveis e a forma como o Zn, oriundo dos ingredientes vegetais incluídos em dietas comerciais, não são suficientes para atender às necessidades nutricionais das galinhas, o elemento é comumente suplementado nas dietas principalmente na forma de metal inorgânico (sulfatos e óxidos) e metal “orgânico” (ligado a aminoácidos e/ou peptídeos e proteínas). No estômago, minerais nas formas inorgânicas, assim como todas as moléculas de minerais comercializados

32 como “orgânicos” que não têm estabilidade em pH ácido, ou que sofrem digestão por pepsina, se  
33 dissociam e liberam íons metálicos devido à baixa estabilidade dos sais em meio ácido, reduzindo  
34 sua absorção. Além disso, são higroscópicos e catalisam a oxidação lipídica reativa, reagindo com  
35 outros componentes da alimentação, como ácido fítico ou outros metais (BYRNE; MURPHY,  
36 2022).

37 Com o avançar das pesquisas e visando melhoria no desempenho produtivo e na  
38 sustentabilidade das criações animais, fontes denominadas “orgânicas” do Zn ganharam destaque  
39 nas pesquisas com galinhas poedeiras. As principais moléculas orgânicas suplementadas em dietas  
40 para galinhas poedeiras são as complexadas a aminoácidos ou a peptídeos. Esta suplementação do  
41 Zn nas dietas das aves, é essencial para melhorar os índices de produção, como a qualidade óssea  
42 e conseqüentemente da casca dos ovos. Os animais têm apresentado melhoria no desenvolvimento  
43 e formação óssea, aumentando a resistência à quebra e melhorando a qualidade química do osso  
44 (LIAO et al., 2010; IDOWU et al., 2011; ABEDINI et al., 2017; OLGUN; YILDIZ, 2017;  
45 MUSZYŃSKI et al., 2018; MIN et al., 2019; CUFADAR et al., 2020). Além de apresentarem  
46 efeitos antioxidantes, beneficiamento do desenvolvimento de órgãos e a saúde intestinal das aves  
47 (LI et al., 2019a; LI et al., 2019b; CUFADAR et al., 2020; YU et al., 2020).

48 Vale ressaltar, que as fontes complexadas de Zn atuam metabolicamente mais eficiente que  
49 as inorgânicas, principalmente por ter molécula menores, ser solúvel em pH neutro, ser estável ao  
50 pH do organismo animal, além de não competir com carreadores específicos do metal,  
51 conseqüentemente aumentando sua disponibilidade. Ocorrendo assim, maior velocidade na  
52 absorção e utilização pelo organismo animal, uma vez que é realizada por carreadores intestinais  
53 de aminoácidos e/ou peptídeos, evitando competição com minerais e outros antagonistas como o  
54 ácido fítico (GOFF, 2018). Portanto, está revisão tem como objetivo abordar a importância do uso  
55 do Zn de fonte “orgânica” e sua importância nas dietas de galinhas poedeiras.

## 56 **2. IMPORTÂNCIA DO ZINCO PARA AS AVES**

57 O Zn foi estabelecido como essencial para plantas em 1926 e para mamíferos em 1934. No  
58 entanto, só depois de 20 anos foram descritas as primeiras deficiências de zinco em animais de  
59 produção, e, somente, em 1958 foi relatado que a deficiência de Zn induz crescimento deficiente,  
60 anormalidades nas pernas, empenamento deficiente e paraqueratose em pintos (NIELSON, 2012).

61 O Zn é componente essencial em mais de 200 metaloenzimas, que desempenham funções  
62 importantes no organismo animal, participando em muitas vias metabólicas essenciais para o

63 crescimento e a vida dos animais, atuando como cofator enzimático e fator de transcrição,  
64 participando de uma ampla variedade de processos bioquímicos e apresentando papel essencial  
65 para as aves (SUTTLE, 2010; RICHARDS et al., 2010; NAZ et al., 2016; ZAFAR; FATIMA,  
66 2018). Está envolvido na síntese de proteínas estruturais (colágeno e queratina) (QUDSIEH et al.,  
67 2018) e na capacidade antioxidante (LI et al., 2019a), conferindo proteção e integridades nos  
68 tecidos, incluindo função imunológica (HAN et al., 2020; HE et al., 2019; JAROSZ et al., 2017).

69 Sua atuação catalítica resulta em benefícios ao desenvolvimento e formação óssea,  
70 interagindo com hormônios envolvidos no crescimento ósseo, como fator de crescimento  
71 semelhante à insulina 1, osteocalcina e testosterona (MUSZYŃSKI et al., 2018). Além disso, a  
72 formação do tecido ósseo é influenciada pelas enzimas fosfatase alcalina, colagenase e aminoácido-  
73 tRNA sintetase. Essas enzimas dependem da concentração adequada de zinco para que garantam  
74 resistência óssea satisfatória aos animais (GLIMCHER, 1998; WHITEHEAD, 2004; LONG;  
75 ORNITZ 2013; FLORÊNCIO – SILVA et al., 2015). Complementando, o Zn é o componente da  
76 anidrase carbônica (AC), enzima envolvida no fornecimento de íons carbonato durante a formação  
77 da casca do ovo, conferindo-lhe resistência e aumento na espessura (ZANG et al., 2017; MIN et  
78 al., 2018; LI et al., 2019), e, também, atua na calcificação óssea (MIN et al., 2019),  
79 consequentemente, aumentando sua resistência (KWIECIEŹ et al., 2016; OLGUN; YLDIZ, 2017).

80 Deficiência significativa do Zn nos animais, em especial nas aves, pode alterar o  
81 funcionamento correto do metabolismo, pode acontecer devido a falhas na formulação e mistura  
82 das rações, baixo consumo da dieta, fatores antinutricionais, como o ácido fítico e/ou ingredientes  
83 de baixa qualidade. Quando a deficiência de Zn ocorre, pode comprometer o crescimento, o  
84 consumo alimentar, desenvolvimento e formação óssea irregular, irregularidades no crescimento  
85 das penas, dermatites, alopecia, redução na eclodibilidade dos ovos e prejuízos na reprodução  
86 (BYRNE; MURPHY, 2022), consequentemente, queda na imunidade, comprometendo todo o  
87 desenvolvimento dos animais.

### 88 **3. METABOLISMO E ABSORÇÃO MINERAL**

#### 89 **3.1 FONTES CONVENCIONAIS**

90 Os minerais são nutrientes químicos sólidos que não podem ser decompostos ou sintetizados  
91 por reações químicas normais. Assim, os organismos vivos não apresentam a capacidade de  
92 sintetizar minerais, devendo, portanto, serem fornecidos na dieta. Contudo, a forma como os  
93 minerais são suplementados interferem na sua absorção. Rotineiramente na indústria avícola, os

94 minerais são fornecidos na dieta como fontes inorgânicas, normalmente na forma de óxido,  
95 sulfatos, fosfatos e carbonatos. Com o avançar das pesquisas, começou-se a observar que esses  
96 minerais não eram totalmente disponíveis para o animal, então foi necessário suplementar com  
97 doses elevadas, porém isso acarretou comprometimento do meio ambiente e na homeostase do  
98 animal.

99 A resposta dos animais às concentrações dos minerais na dieta pode ocorrer de três maneiras:  
100 níveis muito baixos podem acarretar sinais de deficiência; níveis intermediários resultam em  
101 manutenção da homeostase e podem proporcionar alguma reserva nos tecidos; níveis tóxicos, além  
102 do necessário ao animal podem acarretar sinais de toxicidade, como redução no crescimento. Com  
103 isso, nos últimos anos pesquisas vêm se intensificando com o uso de minerais complexados,  
104 visando aumentar a biodisponibilidade desses minerais, buscando manter o equilíbrio homeostático  
105 do organismo animal (MACARI, et al., 2017).

106 O processo de captação e absorção do mineral ocorre no lúmen intestinal, em via de regra  
107 por meio de transporte passivo, mediados por captadores de proteínas transportadoras para  
108 adentrarem nas células epiteliais que revestem o trato gastrointestinal (TGI), onde a maior parte  
109 ocorre no intestino delgado, seguindo via corrente sanguínea para serem absorvidas e direcionadas  
110 até os tecidos alvo. No entanto, fatores como: tipo de ligação, forma que se encontra no alimento,  
111 fatores antagônicos e sinérgicos, quantidades ingeridas e fatores inerentes ao animal, podem  
112 interferir na captação e absorção do mineral. Um ponto importante para que ocorra de fato a  
113 absorção de minerais é a solubilidade em água da molécula a pH neutro. De maneira geral, os  
114 minerais como o sódio, cálcio e magnésio são amplamente solúveis na variação do pH no trato  
115 gastrintestinal, do contrário, minerais como o alumínio, o manganês, o zinco, o cobre e o ferro são  
116 susceptíveis a reação de hidroxí-polimerização, que será um diferencial para a absorção (MACARI,  
117 et al., 2017).

118 O intestino delgado é recoberto por camadas de células epiteliais ligadas por proteínas,  
119 formando a junção firmes entre as células adjacentes. A superfície da membrana das células  
120 epiteliais é composta pela membrana apical, que tem contato direto com o lúmen intestinal. A  
121 membrana apical por sua vez, é formada por microvilosidades, que formam borda em escova, que  
122 possibilita o aumento da área de superfície de absorção.

123 As microvilosidades que recobrem a membrana apical são recobertas por muco formado por  
124 glicoproteínas conhecida como glicocálice, acima dela, uma camada de água não agitada adere ao

125 glicocálice por tensão superficial. A membrana basolateral das células epiteliais está em contato  
126 direto com os fluidos extracelulares. Na parte inferior do epitélio, está a lâmina própria, formada  
127 por capilares linfáticos e vasculares, esses últimos responsáveis pelo transporte de minerais no  
128 sangue (GOFF, 2018).

129 Durante o processo de digestão, os minerais presentes no lúmen são direcionados às  
130 vilosidades do intestino delgado. Entretanto, antes de chegar à membrana do enterócito, onde  
131 ocorrerá a captação, os íons metálicos precisarão ultrapassar uma camada de água com  
132 características não homogêneas, que mede entre 600  $\mu\text{m}$  de espessura e uma outra camada de muco,  
133 medindo 50-100  $\mu\text{m}$  de espessura. As células caliciformes são responsáveis por secretar a camada  
134 de muco, que é composta por glicoproteínas (mucinas) apresenta um peso molecular de 20 milhões  
135 de Dalton (RUTZ; MURPHY, 2009). A mucina apresenta alta densidade de grupos sulfatos e  
136 grupos carboxilatos, que possuem natureza negativa a mucosa. Significando, que a camada da  
137 mucosa apresenta alta afinidade e capacidade de se ligar a íons (cátions) trivalentes, divalentes e  
138 monovalentes, apresentando o seguinte padrão de afinidade:  $\text{Fe}^{3+} > \text{Al}^{3+}, \text{Cr}^{3+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} >$   
139  $\text{Ca}^{2+} > \text{Na}^+, \text{Cs}^+$  (ou seja,  $\text{M}^{3+} > \text{M}^{2+} > \text{M}^+$ ) (POWELL et al., 1999), mas para absorção dos metais  
140 o padrão seria:  $\text{M}^+ > \text{M}^{2+} > \text{M}^{3+}$  (WHITEHEAD et al., 1996). Desse modo, a capacidade dos íons  
141 metálicos passarem as camadas da mucosa para serem absorvidos dependerá de sua mobilidade  
142 através das camadas (POWELL et al., 1999).

143 No intestino delgado, a entrada dos íons para o interior dos enterócitos poderá ocorrer por  
144 difusão passiva ou transporte ativo, pois estas moléculas necessitam de transportadores específicos,  
145 que auxiliem sua entrada na parede intestinal. Contudo, a concentração de minerais será  
146 determinante para esse processo de absorção. Quando os minerais estão em altas concentrações,  
147 podem utilizar a absorção paracelular. Nesse processo, em consequência da resistência causada  
148 pela diferença de potencial elétrico entre o lúmen intestinal (negativo) e o espaço intersticial  
149 (positivo), a alta concentração de minerais ionizáveis gera uma força difusional em cada lado da  
150 junção firme sendo o suficiente para empurrar o mineral através da junção apertada para o espaço  
151 intersticial, passando pelo endotélio capilar e indo direto para o sangue. Um outro aspecto da  
152 absorção paracelular dos minerais é a absorção por arrasto de solvente, onde o movimento dos  
153 minerais suspensos na água que se move através dos poros da junção firmes. Os minerais livres,  
154 altamente solúveis, podem ser mantidos solubilizados por interações de íons dipolo de água,  
155 portanto, quando a água passa pelos poros, o mineral em suspensão na água também pode ser

156 absorvido (GOFF, 2018).

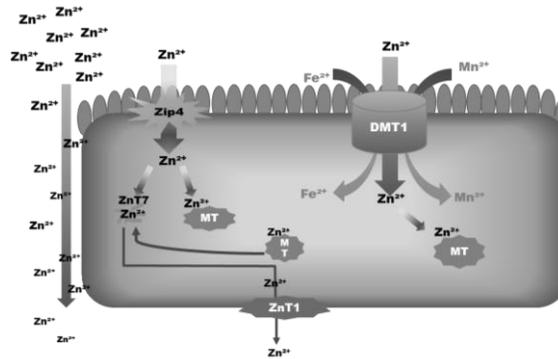
157 Por outro lado, quando os minerais estão em baixas concentrações, necessitam de mecanismo  
158 de transporte transcelular, auxiliados por proteínas transportadoras específicas. A absorção  
159 transcelular permite que minerais cruzem a membrana apical, se movam através do citosol da célula  
160 e movam o íon através da membrana celular basolateral para o espaço intersticial e lâmina própria  
161 e seguir para corrente sanguínea (GOFF, 2018). Esse processo ocorre em três etapas, a primeira  
162 etapa, irá ocorrer com auxílio de transportadores específicos de minerais, onde, o mineral solúvel  
163 se move dos fluidos digestivos através da camada de água não agitada e glicocálice, e atinge a  
164 membrana apical. Na segunda etapa do processo, o mineral é transportado através do citosol da  
165 célula, ocorrendo a movimentação da membrana apical para a membrana basolateral, podendo  
166 ocorrer por difusão simples ou como na maioria dos minerais, com auxílio de proteínas  
167 transportadoras especializadas, as chaperonas. Por fim, a terceira parte o mineral é transportado do  
168 citosol da célula epitelial através da membrana basolateral para o espaço intersticial, abaixo das  
169 junções firmes (GOFF, 2018).

170

### 171 3.2 ABSORÇÃO DO ZINCO

172 As fontes convencionais de zinco, ao chegarem no estômago, sofrem dissociação das suas  
173 formas químicas, pois o pH do estômago é muito ácido, resultando na liberação de íons metálicos  
174 livres, que conseqüentemente, pode sofrer interações antagonicas, e sofrer complexação com o  
175 ácido fítico presente nos ingredientes da dieta. Além do que, o Zn é um metal que está sujeito a  
176 reações de hidroxipolimerização, essas reações deixam-no altamente solúvel em pH ácido  
177 (estômago), mas com o aumento do pH (alcalino) ao longo do intestino delgado, as moléculas de  
178 água às quais o Zn está ligado, fazem com que o Zn perca rapidamente seus prótons para formar  
179 compostos hidróxi-metálicos. Conforme a solução ácida se aproxima de pH neutro, a molécula de  
180 água ligada ao metal, liberam prótons para manter o equilíbrio. Isto pode levar a uma ampla  
181 polimerização dos hidróxi-metais e, provocar precipitação, fazendo com que o metal não fique  
182 disponível para a absorção (POWELL et al., 1999). Portanto, antes de ser absorvido, esse metal  
183 não pode estar envolvido com hidróxi-polimerização, pois antes de chegar à membrana do  
184 enterócito se deparará com uma camada de água heterogênea e uma camada de muco, com  
185 diferentes espessuras, que dificulta a absorção de metais polimerizados (RUTZ; MURPHY, 2009).

186 A captação e absorção das fontes convencionais de Zn ocorre principalmente no íleo (YU et  
 187 al., 2010) e muito pouco no proventrículo e no intestino delgado, e sua passagem pelo enterócito  
 188 pode se dar por transporte transcelular. A captação do elemento ocorre na membrana apical do  
 189 enterócito pela proteína transportadora de Zn (ZIP4) que se encontra em grande quantidade, porém  
 190 compete com cobre (Cu), ferro (Fe) e manganês (Mn) para ser transportado pela proteína de  
 191 transporte de metal divalente (DMT1). No enterócito, a ZnT7, uma chaperona, captura  $Zn^{2+}$  que  
 192 cruza a membrana apical e o transporta para a membrana basolateral, onde transferindo o  $Zn^{2+}$  para  
 193 o transportador ZnT1, que move o  $Zn^{2+}$  para o líquido intersticial, a partir de onde será transportado  
 194 via portal, pela albumina (Alb) (GOFF, 2018; BYRNE; MURPHY, 2022) (Figura 1).



195 **Figura 1** Mecanismo de absorção do zinco ionizado em quantidade adequada. Fonte: Adaptado de GOFF (2017) e  
 196 BYRNE; MURPHY (2022)

197 Na circulação portal, a albumina e outros ligando, transportarão o  $Zn^{2+}$  para o fígado, de onde  
 198 é liberado na circulação sistêmica e redistribuído para outros tecidos alvos, quando necessário  
 199 (BREMNER; BEATTIE, 1990). Dietas deficientes em zinco, presença de antagonistas e/ou fatores  
 200 antinutricionais na dieta causam desequilíbrio na homeostase do Zn e reduzem sua concentração  
 201 no sangue, causando deficiência em camundongos (SAUER et al., 2017).

202 Quando o corpo tem Zn suficiente, a quantidade de ZIP4 na membrana apical é regulada  
 203 negativamente. Conjuntamente, os enterócitos começam a produzir metalotioneína (MT), que se  
 204 ligará ao  $Zn^{2+}$  adicional, que atravessa a membrana apical. A MT funciona como um reservatório  
 205 de Zn que será mobilizado durante a necessidade metabólica. Entretanto, com a morte celular, o  
 206 Zn ligado a MT é eliminado e excretado nas fezes. O Zn pode interferir na absorção de Cu,  
 207 regulando positivamente a síntese de metalotioneína nos enterócitos, o que pode causar deficiência  
 208 de Cu. Mas quando as proporções de Cu: Zn da dieta são muito altas (50: 1), o Cu pode interferir  
 209 na absorção de Zn induzindo metalotioneína nos enterócitos (GOFF, 2018; SILVA JUNIOR,  
 210 2021). Contudo, uma das soluções para reduzir esse antagonismo, é justamente complexar o Zn

211 com aminoácidos, pois irá fazer com que ele seja captado e absorvido por transportadores de  
212 aminoácidos e não por receptores específicos.

213 Atualmente as moléculas “orgânicas” de zinco mais usuais nas dietas de poedeiras, são  
214 complexadas e queladas quimicamente com aminoácidos e/ou peptídeos, apesar de serem  
215 consideradas “orgânicas”, essas moléculas podem se comportar de forma diferente no ambiente do  
216 trato gastrintestinal. Por isso, os estudos estão focando nos metais ligados a aminoácidos, pois eles  
217 possuem alternativas de caminhos menos saturáveis para absorção devido à alta demanda por esse  
218 nutriente (SAUER et al., 2017; OLIVEIRA, 2019), sendo, portanto, captados e absorvidos por  
219 proteínas transportadoras de aminoácidos (Gao et al., 2014).

## 220 **5.CLASSIFICAÇÃO E ABSORÇÃO DOS METAIS COMPLEXADOS A MOLÉCULAS** 221 **ORGÂNICAS**

222 Os metais “orgânicos” se diferenciam pelo seu tipo de ligando químico e, atualmente no  
223 mercado, podem ser encontrados principalmente complexados ou quelados por meio de ligações  
224 entre o metal e aminoácidos, peptídeos e polissacarídeos. Além destes existem os metais  
225 complexados com ácidos orgânicos. Apesar de todos eles serem classificados como “minerais  
226 orgânicos”, existem diferenças importantes nas suas funcionalidades e bioquímica de digestão e  
227 absorção, principalmente no que concerne ao tamanho das moléculas de proteinatos, à solubilidade  
228 em pH neutro e à estabilidade em pH ácido.

229 Há uma incoerência na literatura com os termos complexo e quelato que são empregados  
230 para o processo de complexação e quelação dos metais “orgânicos”. A nomenclatura e classificação  
231 a Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2021) criou uma definição para os  
232 “minerais orgânicos”, classificando-os como:

- 233 a) Complexo metal aminoácido: Molécula resultante da complexação de um sal metálico  
234 com um único aminoácido, podendo se ligar a um aminoácido específico (p. ex.  
235 complexo zinco-metionina) ou se ligar a um aminoácido inespecífico (complexo zinco-  
236 aminoácidos).
- 237 b) Quelato: Molécula resultante de um íon metálico oriundo de um sal metálico solúvel  
238 com aminoácidos dentro de uma relação molar de 1 mole de metal para 1 a 3  
239 (preferência 2) moles de aminoácidos para formar ligações covalentes coordenadas.  
240 Quando o tamanho do ligante aumenta, diminui a força de ligação entre as moléculas,  
241 podendo reduzir a absorção.

- 242 c) Quelato metal-MHA: ligação de duas moléculas do hidroxí análogo de metionina com  
243 um mineral.
- 244 d) Complexo metal polissacarídeo: Molécula resultante da complexação de um sal solúvel  
245 com uma solução de polissacarídeos. A formação dessa molécula, apresenta uma  
246 ligação química fraca, entre o mineral e o carboidrato, mas os minerais ficam envolvidos  
247 pela matriz de polissacarídeo, promovendo proteção física contra degradação no  
248 intestino.
- 249 e) Metal proteínato: Molécula resultante da quelação de um sal solúvel com uma proteína  
250 parcialmente hidrolisada.

251 O termo complexo se caracteriza por produtos formados pela associação de um íon metálico  
252 com um grupo doador de um par de elétrons. Os íons ou moléculas ligadas ao íon metálico são  
253 denominados ligando e devem possuir um ou mais pares de elétrons não compartilhados para  
254 formar ligações. Diferentemente, o quelato é quando o ligando químico se une aos íons metálicos  
255 por meio de dois ou mais grupos doadores, formando uma ou mais estruturas em anel (MACARI  
256 et al., 2017).

257 Esta classificação considera apenas a classificação química das moléculas, não considerando,  
258 a possibilidade de diferenças na biodisponibilidade e seu uso no organismo do animal. Pois, o  
259 principal objetivo quando o metal se complexa a uma molécula “orgânica”, é proporcionar maior  
260 biodisponibilidade, pois geralmente, utilizam as vias transportadoras da molécula orgânica e reduz  
261 a competição por sítios de ligação com outros minerais, além de evitar a formação de complexos  
262 com fatores antinutricionais, como ácido fítico. De maneira geral, os autores justificam que a razão  
263 da complexação dos metais com os compostos orgânicos é que a molécula resultante reduz a  
264 possibilidade de interação de íons metálicos, aumentando a estabilidade mineral no menor valor de  
265 pH, melhorando a absorção e utilização dos metais, conseqüentemente, reduzindo a excreção de  
266 metais no ambiente (ZAFAR; FATIMA, 2018).

267 A biodisponibilidade de fontes “orgânicas” é maior porque é considerado que o elemento não  
268 passe por dissociação da molécula, na qual está complexado, portanto não se ionize e por isso não  
269 sofra interferência de fatores antagonistas e antinutricionais da dieta e dos fatores físico-químicos  
270 do lúmen intestinal. A não exposição da carga do metal impede as interações negativas com fatores  
271 dietéticos, tais como o fitato presentes no lúmen intestinal. Os íons metais não se adaptam ao  
272 microclima intestinal, como a pH neutro, em contrapartida, estes valores de pH são mais

273 apropriados para a formação de complexos com aminoácidos. Possibilitando, os metais chegarem  
274 na mucosa em uma forma não precipitada. Um outro ponto é a taxa de passagem dos íons através  
275 da mucosa, sendo que quanto menor a carga mais rápido é sua passagem pela mucosa  
276 ( $M^+ > M^{2+} > M^{3+}$ ). Como o metal de fonte “orgânica”, deixa de expor seus íons de ligação, isso  
277 facilita sua entrada na mucosa. Por fim, como o metal complexado não compete com íons não  
278 protegidos por sítios de ligação na mucina, antagonismos como os observados entre cobre e zinco  
279 são evitados (RUTZ; MURPHY, 2009).

280 Os autores consideram que, após a captação intacta do metal ligado ao aminoácido pela  
281 mucosa das células, a parte do aminoácido se liga a porção da gama-glutamil da glutathione.  
282 Posteriormente, ocorre uma quebra enzimática, resultando no transporte ativo do metal-aminoácido  
283 do lado luminal da mucosa para o citoplasma. Estando já no citosol do enterócito, o metal-  
284 aminoácido é liberado, devido a uma mudança de pH, que quebra a ligação da molécula de  
285 transporte com o complexo metal aminoácido. Desta forma, o complexo metal-AA poderá ser  
286 transportado rapidamente da membrana apical para a membrana basolateral e de lá diretamente  
287 para o plasma, como uma molécula intacta e nenhum transportador intracelular é necessário  
288 (ASHMEAD, 1993). Depois dessa absorção, a molécula orgânica é mobilizada intacta para ser  
289 depositada no tecido, e ser utilizada no metabolismo. O rompimento da ligação entre o metal e o  
290 aminoácido ocorre quando existe uma necessidade orgânica pelo animal, quando podem ser  
291 liberados gradativamente dentro da célula, possibilitando que as células regulem os íons livres  
292 produzidos (ASHMEAD, 1993; OLIVEIRA, 2019).

293 No entanto, é importante ressaltar que a captação e absorção do complexo metal de  
294 aminoácido no organismo do animal depende do tipo de aminoácido presente no complexo, pois  
295 os aminoácidos são captados no intestino por diferentes proteínas transportadoras de acordo,  
296 principalmente, com sua cadeia lateral e carga iônica, mas também de sua quiralidade. Diante disso,  
297 é importante entender como esses aminoácidos são captados. Nesse sentido, os aminoácidos são  
298 captados por pelo menos quatro transportadores de aminoácidos dependentes de sódio e  
299 transportadores independentes de sódio, mediando a captação de aminoácidos ácidos, básicos e  
300 neutros (SAUER et al., 2017).

301 Devido sua possibilidade de elevar a disponibilidade no organismo animal, os minerais de  
302 fonte “orgânica”, se tornaram uma opção vantajosa e adequada para serem suplementados nas  
303 dietas das aves, porém quando complexado a aminoácidos o efeito é acentuado. Em um estudo

304 utilizando células Caco-2, verificaram que todas as formas complexadas a aminoácidos tiveram  
305 facilidade na captação e absorção de Cu (GAO et al., 2014). Sauer et al., (2017), utilizando as  
306 mesmas células como modelo, concluíram que o Zn-CAA se sobrepõe as fontes inorgânicas, pois  
307 aumenta a disponibilidade do Zn. Os citados autores foram unânimes em concluir que os  
308 complexos metal-aminoácido mantêm sua estrutura durante a passagem pelo trato gastrointestinal,  
309 sendo captados e absorvidos como moléculas intactas, além de ter sua passagem pelo enterócito  
310 mais rápida que o de um inorgânico. Esta é uma vantagem expressiva, desde que o sequestro do  
311 mineral pela proteína citosólica armazenadora o expõe a uma maior chance de perda por  
312 descamação natural do tecido intestinal, e de ser excretado nas fezes.

313 De maneira geral, o metal complexado ao aminoácido é captado por carreadores de  
314 aminoácidos passando rápido pelo enterócito e absorvido no sangue sem a necessidade de um  
315 transportador específico. Esse diferencial é apresentado pelo menor tamanho da molécula, ser  
316 solúvel em pH neutro, ser estável ao pH fisiológico do animal, além de não competir com proteínas  
317 transportadoras específicas do metal (SAUER et al., 2017; ASHMEAD, 1993). De fato, os metais  
318 ligados a aminoácidos possuem uma formulação molecular especial que permite serem absorvidos  
319 intactos preservando sua estrutura inicial.

320 Porém, em um estudo publicado recentemente, Yu et al. (2019) mostraram que o ferro,  
321 quando complexado à glicina é captado pela mesma proteína transportadora que o  $\text{FeSO}_4$ . O que  
322 provavelmente, ocorre porque a glicina não tem cadeia lateral e seu carbono central tem apenas 3  
323 grupos químicos ligados a ele, uma carboxila, um grupo amino e 2 hidrogênios. Isto faz com que  
324 a glicina seja o único aminoácido proteogênico que não possui seu enantiômero, ou seja, sua forma  
325 molecular não se difere em arranjo espacial. Não existe forma L e D é a glicina, mas todos os  
326 aminoácidos que formam as proteínas dos organismos vivos, são L aminoácidos. Fredman (2019)  
327 e Gardner (1976), mostraram que em várias espécies estudadas, que a taxa relativa de absorção e  
328 acúmulo nos tecidos de glicina em comparação com outros aminoácidos é significativamente  
329 menor. É provável que a glicina não seja um ligando adequado para metais quando se objetiva  
330 melhora da biodisponibilidade do elemento.

## 331 **6. DESENVOLVIMENTO ÓSSEO DAS GALINHAS POEDEIRAS**

332 O osso é um tecido multifuncional e metabolicamente ativo, tendo grande impacto na  
333 formação da casca do ovo e na sustentação da ave. Galinhas poedeiras apresentam três tipos de  
334 tecido ósseo: cortical, trabecular e medular (OLGUN; AYGUN, 2016). Por sua vez, o tecido ósseo

335 é formado por quatro tipos de células (osteogênicas, osteoblastos, osteoclastos e osteócitos), que  
336 coordenam uma sequência de eventos, fundamentais para o desenvolvimento, formação e  
337 mineralização óssea durante a vida da ave (KIM et al., 2012).

338 No sistema de criação de galinhas poedeiras, a qualidade física e química do osso é essencial  
339 e deve ser garantida ao longo da vida, já que o osso apresenta um papel essencial no crescimento e  
340 desenvolvimento normais da ave. A má formação óssea pode influenciar diretamente na ineficácia  
341 da produção. As galinhas poedeiras em fase de produção, têm uma renovação óssea única  
342 sincronizada com ciclo diário de postura, indicando que ocorre rápida remodelação nos ossos nestas  
343 aves, isso faz com que ocorra mobilização intensa de Ca dos ossos, para formação da casca do ovo  
344 (KIM et al., 2012), logo é necessário que o osso esteja bem formado e que tenha reserva mineral  
345 suficiente para apoiar o desenvolvimento da ave e a produção de ovos.

346 Além disso, a resistência da casca do ovo e dos ossos tende a reduzir com o avançar da idade  
347 e o aumento da produção de ovos, uma vez que, o osso serve como reserva lábil de cálcio e fósforo  
348 e dá sustentação ao animal. Portanto, estudos que investigam a atuação da suplementação mineral  
349 sobre a qualidade óssea, são relevantes, para entendermos como ocorre a atuação dos metais, como  
350 o Zn, sobre o metabolismo do desenvolvimento e formação óssea nas aves dentre as diferentes  
351 fases de criação (MIN et al., 2019; CUFADAR et al., 2020).

352 A suplementação do Zn em dietas para as aves, é essencial para melhorar os índices de  
353 produção, como a qualidade óssea e, conseqüentemente, da casca dos ovos. Os estudos têm  
354 demonstrado que as aves alimentadas com fontes mais biodisponíveis de minerais apresentam  
355 melhoria no desenvolvimento e formação óssea, aumentando a resistência à quebra e melhorando  
356 a qualidade química dos ossos (LIAO et al., 2010; IDOWU et al., 2011; ABEDINI et al., 2017;  
357 OLGUN; YILDIZ, 2017; MUSZYŃSKI et al., 2018; MIN et al., 2019; CUFADAR et al., 2020).

## 358 6.1 BIOLOGIA DO TECIDO ÓSSEO

359 O osso é um material complexo composto por água e uma fase inorgânica (hidroxiapatita)  
360 mineralizando uma matriz orgânica (colágeno tipo I). As propriedades mecânicas dos ossos são  
361 determinadas pela massa óssea total, sua distribuição geométrica, grau de mineralização,  
362 porosidade, organização estrutural (osteons, fibras de colágeno, hidroxiapatita) e constituintes do  
363 osso (cristalinidade mineral, reticulação de colágeno). O osso é um tecido vivo que está  
364 constantemente mudando e se adaptando durante o crescimento, através da remodelação das células  
365 ósseas em resposta a estímulos externos, como mudança de peso corporal, exercício físico ou

366 demanda de cálcio (GLIMCHER, 1998).

367       Ao longo da vida do animal o tecido ósseo é composto por quatro tipos de células,  
368 denominadas osteogênica ou osteoprogenitora, osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. As células  
369 osteogênicas ou osteoprogenitoras, são precursoras dos osteoblastos e dos osteócitos, são células  
370 não especializadas e derivadas do mesênquima, que se diferenciam em condroblastos, fibroblastos,  
371 adipócitos e mioblastos; os osteoblastos são células responsáveis por sintetizar e regular a  
372 mineralização da matriz orgânica do tecido ósseo, ou seja, atua na formação óssea, sendo  
373 responsável pela síntese e secreção das glicoproteínas e do colágeno do tipo I; os osteoclastos estão  
374 diretamente relacionados à reabsorção óssea, tendo como principal função reabsorver o osso  
375 mineralizado, a dentina e a cartilagem calcificada; e por fim os osteócitos, que são células mais  
376 abundantes do tecido ósseo, representam de 90 a 95% do total das células ósseas, representando a  
377 forma madura de um osteoblastos, possuindo a capacidade de remodelar o tecido ósseo com base  
378 na necessidade fisiológica do animal, mas de forma limitada (FLORÊNCIO-SILVA et al., 2015;  
379 PIZAURO JUNIOR et al., 2017).

380       E por sua vez, as células do tecido ósseo, dão origem a três tecidos específicos, o cortical, o  
381 trabecular e o medular. O tecido cortical é conhecido como osso compacto, apresenta estrutura  
382 organizada e tem finalidades mecânicas e estruturais. Apresenta forma tubular, que envolve a  
383 cavidade medular e constitui a estrutura externa dos ossos redondos, oferecendo resistência ao osso.  
384 Os ossos trabeculares, conhecido como osso esponjoso, possuem arquitetura tridimensional no  
385 formato hexagonal. Estão localizados internamente ao osso cortical, apresentam superfície  
386 osteogênica mais rápida e eficiente, além de apresentar remodelação intensa. Assim como o osso  
387 cortical, o trabecular está presente em todas as aves e têm função estrutural e de sustentação do  
388 esqueleto. Por fim, diferente dos outros tecidos, o osso medular só está presente em galinhas  
389 poedeiras, pois esse tecido ósseo se desenvolve durante a maturidade sexual sob efeito de  
390 estrogênio e androgênio no sangue, sendo facilmente mobilizado. Conferindo, atuação na reserva  
391 de cálcio para a formação da casca do ovo (WHITIHEAD, 2004; KIM et al., 2012; SORIANO,  
392 2021).

393       A estrutura de um osso longo, como, a tíbia, é composta por epífise proximal e distal, formada  
394 principalmente por osso trabecular e camada fina de osso compacto na parte externa. Na parte  
395 interna temos a linha epifisária ou linha de crescimento ou zona de crescimento, que é responsável  
396 pela formação e mineralização óssea e na parte externa das epífises, temos às articulações

397 recobertas por cartilagem hialina. No corpo do osso temos a diáfise, dividida em proximal, medial  
398 e distal. A diáfise é composta principalmente por osso compacto ou cortical, revestido internamente  
399 por uma camada de osso esponjoso. Entre a epífise e a diáfise, temos a parte da metáfise,  
400 representada por proximal e distal. Além do mais, temos o endóstio que reveste toda a superfície  
401 óssea em contato com a cavidade medular e o perióstio que reveste a camada fibrosa de tecido  
402 conjuntivo, toda a parte externa do osso, sendo formado por tecido conjuntivo. E por fim, temos a  
403 artéria nutrícia e o canal nutrícia, são vasos sanguíneos que alimentam todo o processo metabólico  
404 de formação óssea.

405 De maneira geral, o tecido ósseo tem em sua composição aproximadamente 69% de mineral,  
406 22% de proteína e 8 % de água. Com relação a composição mineral, é observado de forma geral,  
407 que o total da concentração de Zn encontrada no corpo, aproximadamente 30% desse metal está  
408 nos ossos (HASHIMOTO; KAMBE, 2022). Contudo é um tecido dinâmico, que é influenciado por  
409 fatores fisiológicos, nutricionais e mecânicos, logo sua formação e integridade física é de grande  
410 importância para o desempenho animal e pode sofrer alterações em sua composição ao longo da  
411 vida (ARAÚJO et al., 2006; PIZAURO JUNIOR et al., 2017).

412 A formação do osso da galinha poedeira é estabelecida durante a fase de criação (cria e  
413 recria). O crescimento, desenvolvimento e/ou formação óssea ocorre por meio de uma cascata de  
414 eventos relacionados aos mecanismos intramembranoso e endocondral. A formação  
415 intramembranosa ocorre em espessura ou diâmetro por meio do aumento da circunferência óssea.  
416 O aumento da circunferência, ocorre através dos osteoblastos que se desenvolvem no pericôndrio  
417 e produzem espículas de osso que se fundem para produzir uma rede de osso com cavidades  
418 revestidas por osteoblastos. Essas cavidades são gradualmente preenchidas por osteoblastos que  
419 continuam a secretar camadas concêntricas de osso cortical lamelar, responsável pela mecânica e  
420 proteção dos ossos (WHITEHEAD, 2004).

421 Em contrapartida, a formação e/ou ossificação endocondral se dá longitudinalmente, na placa  
422 de crescimento epifisária, por fases específicas, iniciando pela proliferação dos condrócitos,  
423 seguido da calcificação da matriz, invasão vascular, degradação da matriz e formação primária dos  
424 ossos. Inicialmente, alguns dos condrócitos em repouso se diferenciam em condrócitos  
425 proliferativos e se multiplicam e formam colunas de células achatadas que contém alto teor de  
426 colágeno tipo II, formando a zona de condrócitos proliferativos, que é nutrida por capilares  
427 sanguíneos epifisários. Posteriormente, os condrócitos se diferenciam em um estado hipertrófico,

428 se tornando maiores e mais arredondados secretando o colágeno tipo X (WHITEHEAD, 2004).

429 Diante disso, na zona hipertrófica inferior, onde de fato ocorre a ossificação (WHITEHEAD,  
430 2004), os condroblastos iniciam, reabsorvendo a matriz e os condrócitos totalmente hipertrofiados,  
431 secretando fosfatase alcalina e auxiliando a formação inicial de cristais de hidroxapatita, o mineral  
432 ósseo. Os condrócitos, então sofrem apoptose e são reabsorvidos e novos osteoblastos formam-se  
433 por meio de células precursoras da medula (LONG; ORNITZ, 2013). Os condrócitos secretam  
434 outros componentes da matriz, como proteoglicanos e fatores de crescimento, por sua vez, regulam  
435 o desenvolvimento adicional dos condrócitos (DIBNER et al., 2007; WHITEHEAD, 2004).

436 As células de reabsorção óssea, os osteoclastos, também são ativas na região da zona  
437 hipertrófica (WHITEHEAD, 2004). Na área da superfície endosteal, ocorre a reabsorção dos ossos  
438 pelos osteoclastos, de modo que ocorre formação e reabsorção óssea, na parte externa e interna,  
439 respectivamente. Esses eventos ocorrem, através do mecanismo de remodelação dos ossos, quando  
440 células velhas são substituídas por um células novas. Esse processo ocorre por quatro fases: a  
441 primeira ocorre a ativação, onde os osteoclastos são mobilizados para a superfície do osso; a  
442 segunda os osteoclastos iniciam a reabsorção óssea; a terceira é o período de reversão da reabsorção  
443 formando novos ossos e a quarta fase é a formação óssea pelos osteoblastos (FLORÊNCIO –  
444 SILVA et al., 2015).

445 Na fase de crescimento a remodelação dos ossos é baixa, mas no final deste período os  
446 ósteons secundários são formados, nos quais os osteoclastos cortam um túnel no osso e são  
447 seguidos por osteoblastos formando novas camadas concêntricas de osso lamelar. Então os  
448 osteoblastos se diferenciam em osteócitos, que irão regulando a remodelação óssea em resposta a  
449 forças biomecânicas (WHITEHEAD, 2004; FLORÊNCIO-SILVA, 2015).

450 Com o início da maturidade sexual da galinha (próximo à 16<sup>a</sup> semana), ocorrem mudanças  
451 na biologia óssea. Antes os osteoblastos produziam osso cortical lamelar, e agora no início da fase  
452 produtiva das poedeiras, os osteoblastos passam a produzir osso medular. Esse osso é a fonte  
453 principal de Ca e P para apoiar a formação da casca do ovo. A quantidade de osso medular aumenta  
454 rapidamente durante os estágios iniciais da postura e pode continuar a se acumular lentamente  
455 durante o restante do período de postura, enquanto a reabsorção osteoclástica do osso estrutural se  
456 torna intensa com o declínio do conteúdo do osso estrutural das galinhas, pois ocorre o  
457 desaceleramento da remodelação ou formação óssea. Esses eventos, geram perda progressiva de  
458 osso estrutural durante o período de postura, podendo caracterizar osteoporose, que por sua vez,

459 resulta no enfraquecimento do esqueleto e aumento de fraturas (DIBNER et al., 2007;  
460 WHITEHEAD, 2004; LONG; ORNITZ, 2013; FLORÊNCIO-SILVA, 2015). Logo, é a reserva  
461 mineral de osso cortical formada na fase de crescimento que garante manutenção desses processos  
462 de reabsorção e remodelação ao longo da vida produtiva da galinha.

## 463 6.2 EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DO ZINCO SOBRE A QUALIDADE ÓSSEA DAS AVES

464 Para as galinhas poedeiras a suplementação de Zn é necessária desde o primeiro dia de idade,  
465 já que nessa fase ocorre o início do desenvolvimento fisiológico do animal se estendendo ao longo  
466 de toda vida. Em relação aos ossos, a finalidade do uso do Zn para poedeiras seria a obtenção de  
467 alta resistência e qualidade química óssea que seja satisfatória para que o animal mantenha reserva  
468 mineral para a produção futura dos ovos.

469 As primeiras 15 semanas da vida de uma galinha poedeira são cruciais para o seu  
470 desenvolvimento posterior garantindo uma boa produtora de ovos longa e saudável. Nesse  
471 período de intenso desenvolvimento fisiológico, o animal apresenta elevado metabolismo celular e  
472 enzimático, e é o período em que o osso estrutural ou cortical é formado. Quando falamos em  
473 formação óssea, o Zn é um dos minerais mais importantes, já que atua como cofator enzimático na  
474 maioria dos processos orgânicos que envolvem este processo, desde a tradução de códigos  
475 genéticos, a atividade do sistema enzimático, superóxido dismutase, até a atividade da anidrase  
476 carbônica.

477 O Zn apresenta diversas funções no organismo animal, estando relacionado diretamente no  
478 metabolismo dos nutrientes (proteínas, lipídios e carboidratos), assim como cofator de diversas  
479 enzimas, principalmente as envolvidas no metabolismo ósseo. No osso é muito importante durante  
480 os estágios de crescimento rápido, desempenhando papel catalítico de muitas enzimas que afetam  
481 o desenvolvimento, formação e metabolismo ósseo, além de interagir com hormônios envolvidos  
482 no crescimento ósseo, como fator de crescimento semelhante à insulina 1, osteocalcina,  
483 testosterona e insulina (MUSZYŃSKI et al., 2018).

484 Logo, fontes denominadas “orgânicas” do zinco ganharam destaques nas pesquisas com  
485 galinhas poedeiras, possibilitando trazer benefícios na produção, além de enriquecimento da  
486 qualidade química e física dos ovos (ESFAHANI et al., 2021), aumento na espessura da casca do  
487 ovo e da atividade da anidrase carbônica (ZHANG et al., 2017), melhoria na qualidade da tíbia,  
488 retenção de nutrientes como o zinco (Zn) e cálcio (Ca) e aumento do nível de expressão de  
489 metalotioneína no fígado (MIN et al., 2018) e atuação no aumento da resistência óssea (CUFADAR

490 et al., 2020). Ainda, o Zn atua no processo antioxidante (LI et al., 2019) e aumenta a capacidade  
491 imunológica (HAN et al., 2020). Porém, são escassos os resultados em fases iniciais de criação de  
492 poedeiras, sob a qualidade óssea, são escassos.

493 A formação do tecido ósseo é influenciada por enzimas dependentes de Zn, como a fosfatase  
494 alcalina, colagenase e aminoacil-tRNA sintetase. Essas enzimas dependem da concentração  
495 adequada de Zn para que garanta uma resistência óssea satisfatória ao animal (GLIMCHER, 1998;  
496 WHITEHEAD, 2008; LONG; ORNITZ, 2013; FLORÊNCIO – SILVA et al., 2015). Por isso  
497 estudos que identifiquem níveis de inclusão e fontes que promovam melhoria na qualidade óssea  
498 são necessários, podendo assim garantir melhor produção futura de ovos.

499 Na produção de galinhas poedeiras o Zn é adicionado rotineiramente às dietas por meio de  
500 pré-mistura mineral e, como se utilizam tradicionalmente fontes minerais de baixa  
501 biodisponibilidade, é comum que o nutricionista escolha garantir uma margem de segurança,  
502 incluindo maior quantidade que a real necessidade das aves. No que se refere à poedeiras, o  
503 desequilíbrio nutricional dos minerais nas dietas, pode acarretar má formação óssea e,  
504 consequentemente, da casca do ovo. Portanto, é necessário que fontes complexadas a aminoácidos,  
505 sejam escolhidas, pois viabilizará melhoria na qualidade desses ossos, pois em se tratando de fontes  
506 “orgânicas”, os estudos têm demonstrado que não diferem muito de fontes inorgânicas.

507 O uso de diferentes fontes de Zn (proteinato, óxido, sulfato, carbonato e cloreto) influenciam  
508 na retenção de Zn nas tíbias. No entanto, a concentração de Zn na tíbia, foi mais expressiva quando  
509 os animais receberam Zn-proteinato (140 mg/kg) e uma tendência semelhante foi observada na  
510 casca do ovo, havendo maior concentração de Zn na casca, quando os animais consumiram Zn-  
511 proteinato. O Zn inorgânico ou proteinato aumentou a utilização de Ca e P em galinhas, o que  
512 provavelmente demonstra melhoria dos parâmetros qualitativos dos ossos e da casca do ovo  
513 (IDOWU et al., 2011). Apesar do aparente efeito do Zn-proteinato sobre as características ósseas,  
514 o nível utilizado foi muito alto (140mg/kg), o que não seria necessário para uma fonte considerada  
515 “orgânica”. Proteinatos são resultantes de hidrólise enzimática parcial de proteínas, com peptídeos  
516 de diferentes tamanhos e pesos moleculares, que possuem baixa estabilidade em pH ácido e,  
517 provavelmente dissociam-se do metal, e perdendo o efeito “orgânico” no animal, passando pelos  
518 mesmos desafios fisiológicos que uma fonte inorgânica como a competição por proteína  
519 transportadora com outros minerais e a interação com fatores antinutricionais.

520 Olgun e Yldiz (2017) observaram que o óxido e sulfato de Zn se sobrepõe às fontes

521 nanopartículas e Zn-glicina, sendo observada maior resistência dos ossos das tíbias nas aves que  
522 consumiram 75 mg/kg de óxido e sulfato de Zn. No entanto, à medida que se elevaram os níveis  
523 das fontes de óxido e nanopartículas de Zn, houve redução da concentração de Ca nas tíbias dos  
524 animais. No entanto, os animais que receberam suplementação de sulfato de Zn e Zn-glicina,  
525 depositaram mais Zn e Ca nas tíbias. E a concentração de Zn na tíbia só aumentou  
526 significativamente com a maior dose de Zn (100 mg / kg) adicionada às dietas.

527 Esses resultados refletem o tipo de molécula utilizada, pois o Zn-glicina apesar de ser  
528 considerada uma fonte “orgânica”, a glicina é um aminoácido de baixa absorção, conforme  
529 comentado anteriormente. Sendo o único aminoácido que não apresenta cadeia lateral, essas  
530 características dificultam sua captação e absorção por transportadores de aminoácidos, fazendo  
531 com que o Zn seja dissociado da molécula e perdendo seu efeito de complexo “orgânico”, fazendo  
532 com que o Zn seja reconhecido na célula e seja captado por proteínas transportado de Zn (Zip e  
533 ZnT), além de gerar perdas do mesmo, fato que pode estar relacionado com a manutenção da  
534 integridade do epitélio (SANTOS, 2018), por isso altas dosagens são recomendadas.

535 O Zn auxilia na absorção do cálcio e fósforo, importantes minerais para a formação do ovo  
536 e ossos. O Ca necessário para a formação da casca do ovo é absorvido pelo intestino, sendo uma  
537 parte depositada no osso medular (GLIMCHER, 1998), onde, posteriormente, pode ser liberado  
538 para a calcificação da casca do ovo. Portanto, a manutenção da saúde óssea é importante para a  
539 proteção da saúde das galinhas e otimização da qualidade da casca do ovo. A suplementação de Zn  
540 aumenta a resistência óssea modulando favoravelmente o osso e inibindo a diferenciação de  
541 osteoclastos (MUSZYŃSKI et al., 2018).

542 Abedini et al. (2017) comparando diferentes fontes de Zn (nanopartículas de óxido, óxido e  
543 metionina) em dietas de galinhas poedeiras (52 semanas de idade), verificaram que as  
544 características morfométricas da tíbia não foram influenciadas pelas diferentes fontes de zinco.  
545 Corroborando com esses resultados, Cufadar et al. (2020) não encontraram diferenças ao avaliarem  
546 diferentes fontes de Zn (óxido de Zn, proteinato de Zn e nanopartícula de óxido de Zn) e seus níveis  
547 (20, 40, 60, 80 e 100 mg/kg). Por outro lado, a utilização de Zn metionina ocasionou aumento da  
548 concentração de matéria mineral nas tíbias das galinhas poedeiras e a fonte nanopartículas de óxido  
549 de Zn proporcionou maior resistência óssea e retenção de Zn das tíbias dos animais (ABEDINI et  
550 al., 2017). Fontes de Zn complexadas á aminoácido têm ação melhorada no organismo animal, pois  
551 sua molécula promove estabilidade, solubilidade e redução de interação com outro nutrientes,

552 sendo, portanto, consideradas superiores as demais fontes.

553 Provavelmente, o Zn promove aumento do número e da atividade dos osteoblastos,  
554 auxiliando na deposição de cálcio na diáfise dos ossos e no aumento da mineralização da tíbia.  
555 Estudos histomorfométricos ósseos e de níveis hormonais poderiam comprovar esta hipótese.  
556 Infelizmente, ABEDINI et al. (2017) não realizaram tais análises. Trabalhos com frangos de corte  
557 já verificaram que o Zn auxilia na melhoria da composição celular e metabólica do osso,  
558 estimulando a produção do fator de crescimento semelhante à insulina I-(IGF-I) que aumenta a  
559 síntese de colágeno, DNA e matriz óssea (MUSZYŃSKI et al., 2018; TOMASZEWSKA et al.,  
560 2016). Portanto, muitos efeitos do Zn no metabolismo ósseo podem estar relacionados ao  
561 metabolismo de ácidos nucleicos e proteínas (ABEDINI *et al.*, 2017).

562 O Zn atua no estímulo da atividade da anidrase carbônica, hidrolisando dióxido de carbono  
563 e proporcionando maior deposição de carbonato de cálcio e melhoria na qualidade da tíbia. MIN  
564 et al. (2019) observaram que aves que receberam suplementação de 40 ou 80 mg/kg de Zn-  
565 metionina aumentaram a resistência óssea, retenção de Zn e Ca na tíbia (63 a 72 semanas de idade),  
566 principalmente com o aumento da suplementação. Indicando que o parâmetro ósseo é um critério  
567 sensível e adequado para a estimativa da necessidade de Zn para poedeiras. Os autores concluíram  
568 que 40 mg/kg de Zn-metionina para as poedeiras de 59 a 72 semanas de idade satisfaz a qualidade  
569 óssea, pois garante melhoria na retenção e ainda possibilita redução na poluição ambiental.

570 A avaliação dos parâmetros ósseos em galinhas poedeiras na fase de crescimento é  
571 importante para identificarmos o desenvolvimento ósseo e permitir a observação da evolução da  
572 sua qualidade física e química. O uso de zinco na suplementação de dietas de poedeiras demonstrou  
573 efeitos benéficos sob a avaliação óssea independente da fonte, o que nos esclarece que dietas isentas  
574 da suplementação de zinco podem ser prejudiciais à produção e ao bem-estar animal. As dosagens  
575 frequentemente estudadas das diferentes fontes são altas, com considerável chance de perda de Zn  
576 por sobra metabólica ou por não absorção, tanto das fontes inorgânicas e “orgânicas”.

577 Porém quando objetivamos otimizar o sistema produtivo de galinhas, queremos fornecer  
578 nutrientes da forma mais acurada possível, visando a absorção e utilização pelo animal. A opção  
579 por fontes complexadas a aminoácidos, pode ser a maneira mais adequada de suplementar as aves  
580 com mais biodisponibilidade do metal.

581

## 582 7. ZINCO NA FASE DE CRESCIMENTO DE GALINHAS POEDEIRAS

583 As cinco primeiras semanas da vida de uma pintainha são marcadas pelo início do  
584 desenvolvimento da ave, onde começa o crescimento ósseo e muscular. Até a semana 15 a franga  
585 forma tecido cortical ósseo, e partir da semana 16, quando começam os estímulos de luz e a alta  
586 produção de estrógenos, a franga começa a preparar seu organismo para o período produtivo.  
587 Portanto, um manejo ineficiente em ambas as fases de criação, pode ser refletido na fase de  
588 produção.

589 Diante de tal, é crucial que se adote manejo nutricional que atenda o consumo ideal de  
590 nutrientes nestas fases. O manejo nutricional adequado para o animal, deve ser capaz de atender ao  
591 consumo ideal dos nutrientes nas diferentes fases de criação. Nesse sentido o animal deve receber  
592 nutrientes como proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e minerais, que satisfaçam suas  
593 exigências sem prejudicar o ambiente.

594 Atualmente os pesquisadores têm focado em estudar os efeitos dos minerais traços  
595 complexados a moléculas orgânicas sobre o desempenho produtivo, qualidade óssea, imunologia,  
596 produção e qualidade de ovos entre outros. No entanto, estudos determinando exigências  
597 nutricionais, principalmente nas fases iniciais são raros ou inexistentes.

598 As recomendações de Zn para pintainhas (de um dia a cinco semanas de idade) e frangas de  
599 postura (seis a dezesseis semanas de idade) são de 68,72 e 54,21 mg/kg de ração do mineral  
600 inorgânico, respectivamente (ROSTAGNO et al., 2017). No entanto com o avançar das pesquisas,  
601 houve uma redução de 55,56% na recomendação do Zn quando oriundo de fontes “orgânicas”,  
602 onde pintainhas e frangas podem receber na sua ração respectivamente 30,54 e 24,09 mg/kg de  
603 zinco proveniente de diferentes fontes “orgânicas” (ROSTAGNO et al., 2017). As recomendações  
604 de Zn (inorgânica) de acordo com o National Research Council (NRC, 1994) é de 40 a 35 mg/kg  
605 para a fase de pintainhas e frangas (0 a 12 semanas de idade), para que possam atingir o crescimento  
606 ideal, aumentar a eficiência alimentar, resistência óssea e retenção de nutrientes. No entanto, essas  
607 recomendações são antigas e foram baseadas no desempenho de frangos de corte e linhagens de  
608 poedeiras antigas.

609 Além do que, quando diferentes fontes de Zn denominadas “orgânicas” (proteínatos, quelatos  
610 de carboidratos, MHA e de ácidos orgânicos) são utilizadas em dietas de poedeiras (IDOWU et al.,  
611 2011; CHEN et al., 2018; LI et al., 2019b; CUFADAR et al., 2020), comparados a fontes  
612 inorgânicas, não apresentam resultados superiores, e quando melhoram parâmetros produtivos,

613 altas dosagens são recomendadas. Portanto, é provável que essas fontes sofreram dissociação no  
614 ambiente intestinal e o Zn ligado a molécula volta a forma ionizável, pois perdeu a estabilidade  
615 que deveria ser proporcionado, quando o metal se liga a uma molécula orgânica. Durante a ingestão  
616 até absorção do mineral, no intestino delgado, vários destinos podem afetar a absorção final desse  
617 mineral, que por sua vez afeta sua solubilidade.

618 É importante entender que a captação e absorção do metal “orgânico” pode sofrer  
619 interferências, na solubilidade em água, estabilidade em diferentes faixas de pH, além de diferenças  
620 no peso molecular, na geometria, densidade de carga e tamanho do complexo formado, o que pode  
621 resultar em diferentes afinidades do mineral pelos sítios de ligação (BYRNE; MURPHY, 2022),  
622 além de proporcionar dissociação do metal com o ligante orgânico. Logo, caso haja dissociação  
623 em qualquer porção do trato gastrointestinal antes da captação e absorção, o mineral passa a ser  
624 inorgânico, e assim terá que encontrar outro transportador e ser absorvido da mesma forma que  
625 uma fonte convencional (MEDEIROS -VENTURA, 2022).

626 O uso de fontes “orgânicas” do Zn é compreendido como a melhor forma de suplementação  
627 em dietas para galinhas poedeiras comerciais por apresentar um maior aproveitamento no processo  
628 absorptivo pelo animal, sendo sua fonte mais disponível. NIELSEN (2012), observou que entre 2 e  
629 7 mg/kg de hidrolisado de caseína de Zn causa deficiência, mas 12 mg/kg é suficiente para  
630 manutenção de pintinhos, pois eles permanecem com crescimento ideal e não altera as articulações.  
631 No entanto, para uma máxima eficiência fisiológica e metabólica é necessário que os pintinhos  
632 consumam uma suplementação de 46 mg/kg de hidrolisado de caseína de Zn. Fontes orgânicas de  
633 Zn, sejam complexadas e/ou queladas a aminoácido, devem substituir fontes inorgânicas de  
634 microelementos.

635 Muitos estudos demonstram que o Zn tem efeito na fase de produção (GHEISARI et al.,  
636 2011; ZHANG et al., 2017; MIN et al., 2018; CUFADAR et al., 2020; LI et al., 2019; HAN et al.,  
637 2020; ESFAHANI et al., 2021). Nesta fase ocorre intenso metabolismo celular e enzimático e,  
638 consequentemente, maior necessidade de minerais traço como cofatores. No entanto, animais em  
639 fase de crescimento necessitam de um aporte mineral que satisfaça o seu desenvolvimento e  
640 formação óssea, além de serem capazes de reter mais nutrientes, que possibilite apoiar a produção  
641 futura de ovos.

642 Poucos são os estudos encontrados onde se utilizou diferentes fontes de Zn nas fases iniciais  
643 de poedeiras. No trabalho desenvolvido por Pimentel et al. (1990), avaliando duas formas

644 diferentes do Zn (óxido e metionina), os autores não verificaram diferença entre fontes utilizadas,  
645 mas verificaram melhoria no desempenho com os níveis de 28 e 38 mg/kg de Zn sobre a qualidade  
646 óssea com os níveis de 8 e 28 mg/kg de Zn e melhoria no sistema imunológico, independentemente  
647 do nível.

648 Em contrapartida, para frangas de reposição (7 a 12 semanas de idade) Brito et al. (2006),  
649 trabalhando com um premix mineral (Zn, Mn, Cu, Fe e I) complexado a uma molécula “orgânica”,  
650 determinou que à suplementação de 30; 40; 35; 5; 0,5 e 0,15 mg/kg de Zn, Fe, Mg, Cu, I e Se,  
651 respectivamente, pode ser adotado, pois não influenciou negativamente nas características ósseas  
652 e manteve o desempenho das aves na fase estudada, notando -se que o nível estabelecido de Zn foi  
653 de 30 mg/kg, estando próximo ao recomendado por Rostagno et al. (2017) e o NRC (1994).  
654 Contudo, os autores não citam qual fonte “orgânica” utilizada no estudo, e precisamos considerar  
655 que fontes “orgânicas” não são iguais, apresentam diferenças a nível de captação e absorção no  
656 animal. Logo, se os resultados de Brito et al. (2006) foram iguais as fontes inorgânicas,  
657 provavelmente essas moléculas têm baixa disponibilidade e alta instabilidade no organismo animal.  
658 No entanto são necessários mais estudos que avaliem de forma isolada do Zn, principalmente fontes  
659 do metal complexada a aminoácidos, para se estimar um consumo ideal desse metal para as  
660 diferentes fases de criação das galinhas poedeiras comerciais.

661 Em dietas de galinhas poedeiras em fase de produção, fontes de Zn complexada a aminoácido  
662 são superiores aos sulfatos de Zn. Os principais efeitos de Zn-Met (80mg/kg), foi aumento da altura  
663 das vilosidades, aumento da área de superfície das vilosidades e na expressão do mRNA da MT no  
664 jejuno. Entretanto, de acordo com os autores, não foram observadas diferenças nas expressões  
665 gênicas dos transportadores específicos de Zn (Zip5, ZnT1, ZnT5, MTF-1 e DMT1 mRNA) no  
666 duodeno e jejuno em resposta à suplementação de Zn-Met (80 mg/kg). Sugerindo que, os  
667 transportadores de Zn eram significativamente diferentes nos níveis de proteína e não nos níveis  
668 de mRNA (LI et al., 2019b), o que indica que foram utilizadas rotas de captação e absorção  
669 diferentes, provavelmente ao do aminoácido ligado ao Zn.

670 O Zn está envolvido na síntese de duas proteínas estruturais importantes, que são a queratina  
671 e o colágeno. A queratina é a principal proteína estrutural das penas, pele, bicos e garras, enquanto  
672 o colágeno é a principal proteína estrutural da matriz extracelular e dos tecidos conjuntivos dos  
673 tecidos internos, incluindo cartilagem e ossos. Esse colágeno é reticulado pela enzima lisil oxidase,  
674 a reticulação pela lisil oxidase promoverá resistência da pele, ossos, tendões e intestino. Contudo,

675 a lisil é uma enzima cuja síntese é dependente de Cu, logo, as funções desempenhadas pelo Zn são  
676 aprimoradas por enzimas dependentes de Cu (RICHARDS et al., 2010). Como explicado  
677 anteriormente o Zn e cobre são antagônicos entre si, ambos interferem na absorção do outro, pois  
678 ambos são armazenados na proteína metalotioneína nos enterócitos, então o excesso de um pode  
679 causar deficiência do outro. Pintainhos alimentados com 8 mg/kg de Zn na dieta apresentaram  
680 maiores concentrações de cobre no osso (PIMENTEL et al., 1990). Logo, deficiência ou excesso  
681 do Zn no início do crescimento e desenvolvimento das pintainhas e frangas, influenciam  
682 diretamente o desempenho e qualidade dos tecidos externos e internos.

683 As fases iniciais são marcadas por alta suscetibilidade a doenças e vários tipos de estresse,  
684 como transporte, recebimento, alojamento, manuseio e debicagem, por isso, esses animais são  
685 vacinados para as principais enfermidades que possam ser adquiridas nessas fases, e por sua vez as  
686 vacinas, compostas de vírus vivos ou inativados, se convertem em um alto potencial de estresse  
687 para as pintainhas, pois estes antígenos estimulam a resposta imune específica, exigindo da ave  
688 imediata produção de proteínas de fase aguda e compostos anti-inflamatórios naturais.

689 A avaliação da imunidade em frangos de corte e poedeiras, muitas vezes é realizada por meio  
690 do peso de órgãos linfoides, Bursa cloacal, baço e timo. Mas, o maior órgão do sistema imune é o  
691 intestino, e muitos autores de estudos com pintainhas realizam a mensuração do peso e  
692 comprimento do ceco, medidas envolvidas no processo da resposta imune, através das tonsilas (ou  
693 amígdalas) cecais (MEDEIROS-VENTURA et al., 2020).

694 No entanto, diferentemente do timo, as amígdalas cecais não estão presentes logo após o  
695 nascimento, pois seu aparecimento depende de estímulos antigênicos produzidos na mucosa  
696 intestinal, o que ocorre com o estabelecimento normal da microbiota ou com a ingestão de  
697 alimentos. Em estudo utilizando um premix mineral (Zn, Cu e Mn) complexado a aminoácidos em  
698 dietas para pintainhas poedeiras, houve maior comprimento do ceco medido aos 35 dias de vida  
699 das pintainhas. A suplementação com fontes mais biodisponíveis de Zn, Mn e Cu, segundo os  
700 autores, pode ter acelerado processos do sistema linfático, modulando as tonsilas cecais  
701 (MEDEIROS-VENTURA et al., 2020). É de conhecimento geral que o Zn tem papel importante  
702 na resposta imunológica dos animais, porque tem impacto nos principais mediadores da imunidade,  
703 como enzimas, peptídeos do timo e citocinas, o que explica a importância de seus níveis sobre a  
704 regulação da proliferação, ativação e apoptose de células linfoides (RICHARDS et al. 2010).

705 No estudo de Pereira et al. (2020), os autores observaram que a suplementação de Zn, Mn

706 e Cu complexados a aminoácidos nas dietas de galinhas poedeiras, de um dia até 182 dias de idade,  
707 promoveu melhor desenvolvimento do oviduto, precocidade, peso tibial, resposta imune e maior  
708 secreção de T4, um hormônio indispensável às funções reprodutivas, em relação a dieta  
709 suplementada apenas com fontes inorgânicas. Portanto, microminerais complexados a aminoácidos  
710 desde o início de criação é uma boa estratégia para manter e melhorar o desempenho animal. O  
711 excesso de fontes inorgânicas no lúmen intestinal, pode interferir na absorção de minerais,  
712 principalmente por competirem pelo mesmo sítio de absorção. Diferentes de fontes complexadas  
713 aminoácido, que minimiza esses problemas, pois são captadas e absorvidas por diferentes sítios de  
714 absorção de aminoácidos.

715 Os estudos com diferentes fontes (inorgânica ou “orgânica”) de Zn para galinhas poedeiras  
716 nas fases iniciais, ainda são escassos ou muito antigos, além de que, muitos focam no efeito do  
717 elemento mineral sobre alguns parâmetros produtivos, sem estimar o nível ideal do Zn. Mas diante  
718 do exposto é possível notar, que o Zn é crucial em todos os períodos de vida do animal e que seu  
719 uso é melhorado quando complexado a uma molécula “orgânica”. Portanto, apesar de já existirem  
720 recomendações do metal nas diferentes formas, ainda são inexistentes resultados de pesquisas que  
721 determinem o consumo ideal de Zn complexado a aminoácidos nas diferentes fases de criação das  
722 galinhas poedeiras comerciais.

723 O Zn desempenha um papel muito importante em todas as fases da vida de uma poedeira  
724 comercial. A suplementação de Zn nas dietas das aves por uma fonte mais biodisponível, torna  
725 mais eficiente a absorção do elemento, conferindo melhores índices produtivos e maior  
726 sustentabilidade. Os estudos científicos com estimativas da suplementação ideal de Zn na fase  
727 produção de ovos têm recebido maior atenção dos pesquisadores, mas estudos nas diferentes fases  
728 de criação, em especial na fase de pintainhas e frangas poedeiras, são muito necessários, mas, ainda  
729 são muito raros. E nas condições comparáveis às que implementamos este estudo, inexistentes.

## 730 **6.REFERÊNCIAS**

- 731 AAFCO - Association of American Feed Control Officials. Official Feed Terms, Common or Usual  
732 Ingredient Names and Ingredient Definitions: Mineral Products. **Official Publication**, Canada, p.  
733 408-425, 2021.
- 734 ARAÚJO, C. S. S. DA. et al. Densidade óssea de frangos de corte alimentados com diferentes  
735 níveis de aminoácidos e cálcio durante a fase final de criação. **Acta Scientiarum. Animal**  
736 **Sciences**, v. 28, n.2, p. 203-208, 2006.

- 737 ABD EL-HACK, M. E. et al. Organic or inorganic zinc in poultry nutrition: A review. **World's**  
738 **Poultry Science Journal**, v.73, n. 4, p. 904–915, 2017.
- 739 ABEDINI, M. et al. Effects of a dietary supplementation with zinc oxide nanoparticles, compared  
740 to zinc oxide and zinc methionine, on performance, egg quality, and zinc status of laying hens.  
741 **Livestock Science**, v.203, n. 1, p.30–36, 2017.
- 742 ASHMEAD, H.D.; ZUNINO, H. Factors which affect the intestinal absorption of minerals. *In:*  
743 *Ashmead HD, editor. The roles of amino acid chelates in animal nutrition.* Westwood: Noyes  
744 Publications, 1993.
- 745 BOLELI, I. C.; THIMOTEHO, M. Estrutura funcional do trato gastrintestinal: da percepção à  
746 absorção. *In:* Marcos Macari e Alex Maiorka (org.): **Fisiologia das aves comerciais**, Jaboticabal:  
747 Funep, 2017.
- 748 BREMNER, I.; BEATTIE, J. H. Metallothionein and the trace minerals. **Annual Review of Nutrition**,  
749 n. 10, p. 63–83, 1990.
- 750 BRITO, J. Á. G. De et al. Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para  
751 frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**,  
752 v.35, n. 4, p. 1342-1348, 2006.
- 753 BYRNE, L.; MURPHY R. A. Relative Bioavailability of Trace Minerals in Production Animal  
754 Nutrition: A Review. **Animals**, v.12, n. 15, p.19-81, 2022.
- 755 CHEN, N. N. et al. Safety evaluation of zinc methionine in laying hens: Effects on laying  
756 performance, clinical blood parameters, organ development, and histopathology. **Poultry Science**,  
757 v.97, n. 4, p. 1120–1126, 2018.
- 758 CUFADAR, Y. et al. Effects of Dietary Different Levels of Nano, Organic and Inorganic Zinc  
759 Sources on Performance, Eggshell Quality, Bone Mechanical Parameters and Mineral Contents of  
760 the Tibia, Liver, Serum and Excreta in Laying Hens. **Biological Trace Element Research**, v.193,  
761 n. 1, p. 241–251, 2020.
- 762 DIBNER, J. J. et al. Metabolic Challenges and Early Bone Development. **Journal of Applied**  
763 **Poultry Research**, v. 16, n. 1, p. 126-137, 2007.
- 764 ESFAHANI, B. M. et al. Comparison the Zn-Threonine, Zn-Methionine, and Zn Oxide on  
765 Performance, Egg Quality, Zn Bioavailability, and Zn Content in Egg and Excreta of Laying Hens.  
766 **Biological Trace Element Research**, v.199, n. 1, p. 292–304, 2021.
- 767 FLORÊNCIO-SILVA, R. et al. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That  
768 Influence Bone Cells. **BioMed Research International**, v. 2015, n. 1, p. 1–17, 2015.
- 769 GAO et al. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life**  
770 **Science**, v. 109, n. 1, p. 50-6, 2014.
- 771 GHEISARI, A. A. et al. Effect of Diets Supplemented with Different Levels of Manganese, Zinc,  
772 and Copper from their Organic or Inorganic Sources on Egg Production and Quality Characteristics  
773 in Laying Hens. **Biological Trace Element Research**, v.142, n. 3, p. 557–571, 2011.
- 774 GLIMCHER, M. J. The Nature of the Mineral Phase in Bone: Biological and Clinical Implications.  
775 *In:* Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders. Louis V. Avioli; Stephan M. Karl  
776 (org.). **Copyright: Academic Press**, p. 23-50, 1998.

- 777 GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–  
778 base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy**  
779 **Science**, v.101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.
- 780 HAN, Q. et al. Effects of Dietary Zinc on Performance, Zinc Transporters Expression, and Immune  
781 Response of Aged Laying Hens. **Biological Trace Element Research**, v.196, n. 1, p. 231-242,  
782 2020.
- 783 HE, B. et al. Zinc source influences the gene expression of zinc transporters in jejunum and cecal  
784 tonsils during broiler challenge with *Eimeria maxima* and *Clostridium perfringens*. **Poultry**  
785 **Science**, v.98, n. 3, p. 1146–1152, 2019.
- 786 HASHIMOTO, A.; KAMBE, T. Overview of the zinc absorption mechanism for improving zinc  
787 nutrition. **Metallomics Research**, v. 2, n. 1, p. 20-28, 2022.
- 788 IDOWU, O. M. O. et al. Effects of Zinc Supplementation on Laying Performance, Serum  
789 Chemistry and Zn Residue in Tibia Bone, Liver, Excreta and Egg Shell of Laying Hens.  
790 **International Journal Poultry Science**, v.10, n. 3, p. 225–230, 2011.
- 791 JAROSZ, Ł. et al. Effect of feed supplementation with zinc glycine chelate and zinc sulfate on  
792 cytokine and immunoglobulin gene expression profiles in chicken intestinal tissue. **Poultry**  
793 **Science**, v.96, n. 12, p. 4224–4235, 2017.
- 794 KWIECIEŃ, M. et al. Effects of zinc glycine chelate on growth performance, carcass  
795 characteristics, bone quality, and mineral content in bone of broiler chicken. **Livestock Science**,  
796 v.191, n. 1, p. 43–50, 2016.
- 797 KIM, W. K.; BLOOMFIELD, S. A.; SUGIYAMA, T.; RICKE, S. C. Concepts and methods for  
798 understanding bone metabolism in laying hens. **World's Poultry Science Journal**, v. 68, n. 1, p.  
799 71-82, 2012.
- 800 LI, L. L. et al. Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg  
801 quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. **Poultry Science**, v.98, n. 2, p.  
802 923–931, 2019.
- 803 LIAO, C.D. et al. Nano/sub-microsized lignan glycosides from sesame meal exhibit higher  
804 transport and absorption efficiency in Caco-2 cell monolayer. **Food Chemistry**, v.119, n. 3, p.  
805 896–902, 2010.
- 806 LONG, F.; ORNITZ, D. M. Development of the Endochondral Skeleton. **Cold Spring Harbor**  
807 **Perspectives in Biology**, v.5, n.1, p. a008334–a008334, 2013.
- 808 MACARI M, FURLAN R L, G. E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2 ed.  
809 Jaboticabal: [s.n.], 2002.
- 810 MASSUQUETTO et al. Absorção de minerais. In: Marcos Macari e Alex Maiorka (org.):  
811 **Fisiologia das aves comerciais**, Jaboticabal: Funep, 2017.
- 812 MEDEIROS-VENTURA, W. R. L. Fontes e níveis de microminerais com e sem fitase em dietas  
813 de poedeiras. **Tese de doutorado**, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil,  
814 2022.
- 815 MEDEIROS-VENTURA, W. R. L. et al. Zinc, manganese, and copper amino acid complexes

- 816 improve performance and bone characteristics of layer-type chicks under thermoneutral and cold  
817 stress conditions. **Poultry Science**, v.99, n. 11, p. 5718-5727, 2020.
- 818 MIN, Y. N. et al. Effects of methionine hydroxy analog chelated zinc on laying performance,  
819 eggshell quality, eggshell mineral deposition, and activities of Zn-containing enzymes in aged  
820 laying hens. **Poultry Science**, v.97, n. 10, p. 3587–3593, 2018.
- 821 MIN, Y. N. et al. Effects of organic zinc on tibia quality, mineral deposit, and metallothionein  
822 expression level of aged hens. **Poultry Science**, v.98, n. 1, p. 366–372, 2018.
- 823 MUSZYŃSKI, S. et al. Subsequent somatic axis and bone tissue metabolism responses to a low-  
824 zinc diet with or without phytase inclusion in broiler chickens. **PLOS ONE**, v. 13, n. 1, p.  
825 e0191964, 2018.
- 826 National research council. **Nutrient Requirements of Poultry**. 9. ed. Washington: Acad. Press,  
827 1994.
- 828 NAZ, S. et al. The activity and use of zinc in poultry diets. **World's Poultry Science Journal**,  
829 v.72, n. 1, p. 159–167, 2016.
- 830 NIELSEN, F. H. History of Zinc in Agriculture. **Advances in Nutrition**, v.3, n. 6, p. 783-789,  
831 2012.
- 832 ONYANGO, E. M. et al. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks  
833 fed varying dietary calcium and phosphorus levels. **Poultry Science**, v. 82, n. 11, p. 1787–1791,  
834 2003.
- 835 OLGUN, O.; YILDIZ, A. Ö. Effects of dietary supplementation of inorganic, organic or nano zinc  
836 forms on performance, eggshell quality, and bone characteristics in laying hens. **Annals of Animal  
837 Science**, v.17, n. 2, p. 463–476, 2017.
- 838 OLIVEIRA, H. B. Utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas  
839 poedeiras semipesadas na fase de produção. **Tese de doutorado**, Universidade Federal Rural de  
840 Pernambuco, Recife, Brasil, 2019.
- 841 OLGUN, O.; AYGUN, A. Nutritional factors affecting the breaking strength of bone in laying  
842 hens. **World's Poultry Science Journal**, v. 72, n. 4, p. 821-832, 2016.
- 843 PEREIRA, C. G. et al. Zinc, manganese and copper amino acid complexed in laying hens' diets  
844 affect performance, blood parameters and reproductive organs development. **Plos One**, v. 15, n.  
845 11, p.1-16, 2020.
- 846 PIMENTEL, J. L.; COOK, M. E.; GREGER, J. L. Bioavailability of Zinc-Methionine for Chicks,  
847 Research Note. **Poultry Science**, v.70, n. 7, p. 1637-1639, 1990.
- 848 PIZAURO JUNIOR, J. M. et al. **Fisiologia das aves comerciais: Regulação do metabolismo  
849 ósseo por hormônios e íons inorgânicos**. Jaboticabal: Funep, 2017.
- 850 RICHARDS, J. D. et al. Trace Mineral Nutrition in Poultry and Swine. **Asian-Australasian  
851 Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 11, p. 1527–1534, 2010.
- 852 ROSTAGNO, H. S. et al. Suplementação de vitaminas e de microminerais para aves e suínos.  
853 In:\_\_\_\_\_ (org.). **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Viçosa, 2017.
- 854 RUTZ, F.; MURPHY, R. Minerais orgânicos para aves e suínos. In: Congresso Internacional sobre  
855 o uso da levedura na alimentação animal, 1, 2009, Campinas, SP. **Anais**. Campinas: Universidade

- 856 Federal de Pelotas, 2009. p. 21 – 36.
- 857 SANTOS, C. S. Suplementação de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas  
858 poedeiras de 78 a 98 semanas de idade. **Tese de doutorado**, Universidade Federal Rural de  
859 Pernambuco, Recife-PE, Brasil, 2018.
- 860 SAUER, A. K. et al. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using  
861 Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **BioMetals**, v.30, n. 5, p. 643–661, 2017.
- 862 SILVA JUNIOR, R. V. Minerais complexados com aminoácidos em dietas de poedeiras da fase de  
863 cria ao período final de produção. **Tese de doutorado**, Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
864 Recife, PE, Brasil, 2021.
- 865 SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock: Fourth edition**. [S.l.]: [s.n.], 2010.
- 866 SWINKELS, J. W. G.; KORNEGAY, E. T.; VERSTEGEN, M. W. A. Biology of zinc and biology  
867 value of dietary organic zinc complexes and chelates. **Nutrition Research Reviews**, v. 7, n. 1, p.  
868 129-149, 1994.
- 869 TOMASZEWSKA, E. et al. Comparison of the Effect of a Standard Inclusion Level of Inorganic  
870 Zinc to Organic Form at Lowered Level on Bone Development in Growing Male Ross Broiler  
871 Chickens. **Annals of Animal Science**, v. 16, n. 2, p. 507–519, 2016.
- 872 WHITEHEAD, C. C. Overview of Bone Biology in the Egg-Laying Hen. **Poultry Science**, v. 83,  
873 n. 1, p. 193-199, 2004.
- 874 YU, Y. et al. Effects of zinc source and phytate on zinc absorption by in situ ligated intestinal loops  
875 of broilers. **Poultry Science**, v. 89, n. 10, p. 2157–2165, 2010.
- 876 ZAFAR, M. H.; FATIMA, M. A Review: Efficiency Comparison of Organic Minerals in Poultry  
877 Nutrition. **Veterinary Research**, v.70, n. 3, p. 53–59, 2018.
- 878 ZHANG, Y. N. et al. Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic  
879 anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v.96, n.  
880 7, p. 2176–2183, 2017.

881  
882  
883  
884  
885  
886  
887  
888  
889

## **CAPÍTULO 1**

---

890  
891  
892  
893

### **ESTIMATIVA DA EXIGÊNCIA SUPLEMENTAR DE ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA PINTAINHAS DE POSTURA LEVE**

894

**RESUMO**

895 Esta pesquisa teve como objetivo estimar o consumo ideal de zinco aminoácido complexado (Zn-CAA) em  
 896 dietas contendo a enzima fitase para pintainhas de postura, com base no desempenho produtivo, perfil  
 897 sanguíneo, biometria dos órgãos, avaliação óssea e retenção corporal de Zn. Um total de 648 pintainhas  
 898 Dekalb White, com um dia foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em 6 tratamentos  
 899 com 6 repetições de 18 aves cada. Os tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e  
 900 isoenergéticas, variando apenas os níveis de inclusão de zinco complexado a aminoácidos (Zn-  
 901 CAA) em: 18, 30, 42, 54, 66 e 78 mg kg<sup>-1</sup>. Aos 28 dias de idade, foram coletados sangue para análises  
 902 de hematologia e bioquímica sérica. E com 35 dias de idade, foram selecionadas pintainhas (347.83±6.44)  
 903 para avaliação óssea e avaliação da retenção corporal de Zn, no início e no final do experimento foram  
 904 selecionadas aves para compor amostras de composição corporal e final. A ingestão de Zn foi calculada  
 905 pelo modelo  $Y = R_{max} * (1 - e^{-b * x})$ . A estimativa de Zn para cada variável foi calculada pela inversão do  
 906 modelo. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ( $P < 0,05$ ). Os parâmetros  $R_{max}$  e  $b$ , foram:  
 907 130,3, 5,533; 17,498, 2,750; 175,8, 73,647; 6779,8, 39,737; 16,604, 124,1; 3679,9, 209,7; 72,616, 105,400;  
 908 7,6355, 61,934; 822,24, 19,111 e 8,0883, 2,7487, para o volume corpuscular médio (VCM); leucócitos  
 909 (LEU) aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e albumina (ALB), peso ósseo (PO),  
 910 comprimento ósseo (CO), resistência óssea (RO), densitometria óssea distal (DOD) e retenção corporal de  
 911 Zn (RTCZn), respectivamente. Aplicando o modelo inverso para estimar o consumo de Zn-CAA foram:  
 912 0,542; 1,09; 0,041; 0,277, 0,072, 0,014; 0,104; 0,145; 0,157 e 1,09 mg ave dia<sup>-1</sup> para VCM, LEU, AST, FA,  
 913 ALB, PO, CO, RO, DOD e RTCZn, respectivamente. A suplementação recomendada de zinco complexado  
 914 a aminoácidos para aves poedeiras de 1 a 5 semanas é de 1,09 mg ave dia<sup>-1</sup> para dietas com 600 FTU de  
 915 fitase para melhor deposição corporal de Zn, desenvolvimento corporal e ósseo.

916 **Palavras-chave:** Pintainhas de postura. Zinco aminoácido. Estimativa do consumo. Desenvolvimento  
 917 ósseo. Retenção mineral.

918

919

920

921

922

923

924

925

926

927

928

929

930

931

932

933

934

935

936

937

938

939

940

**ABSTRACT**

941 This study aimed to estimate the ideal consumption of Zinc amino acid-complexed (Zn-CAA) in diets with  
942 phytase enzyme inclusion for laying-type chicken. A total of 648 Dekalb White, one day old, were  
943 distributed into 36 cages (50x80x50 cm) according to a completely randomized design with 6 treatments  
944 and 6 replications. The summit diet had a Zn content of 78 mg/kg, the low level was 18 mg/kg, and the  
945 intermediate levels were 30, 42, 54, and 66 mg/kg, respectively, obtained by successive dilutions of the  
946 summit diet with the low-level diet. One week before the end of the 4th week of life, blood was collected  
947 for analysis of the serum biochemical profile. At the end of the fourth week of life, two pullets with the  
948 average weight of each experimental plot were selected for euthanasia and organ collection (thymus, bursa  
949 of Fabricius, liver, spleen, pancreas, and intestine), and right and left tibias for measurements (weight,  
950 length, Seedor index, resistance, and bone densitometry of tibias). One bird was processed by autoclave and  
951 then analyzed by ICP-OES at the beginning and end of the experimental period to quantify the Zn in the  
952 bird's body, followed by the calculation of body Zn retention. The Zn intake was calculated by the equation  
953  $Y = R_{max} * 1 - e^{-bx}$ , where  $R_{max}$  is the maximum response,  $e$  is Euler's number,  $b$  is the growth ratio, and  
954  $x$  is the Zn intake. The estimate of Zn for each variable was calculated by the inversion of the model, The  
955 data were adjusted by the Nlin procedure ( $P < 0,05$ ).The increasing levels of Zn-CAA did not influence ( $P$   
956  $> 0,05$ ) the performance, organ weight, intestine length, and Seedor index.The parameters  $R_{max}$  and  $b$ , for  
957 the biochemical profile, respectively, aspartate aminotransferase (AST) were 175.8, 73.647; alkaline  
958 phosphatase (AKP): 6779.8, 39.737; albumin (ALB): 16.604, 124.1; globulin (GLOB): 11.989, 124.9; for  
959 bone evaluation, respectively, to bone weight were (BW) 3679,9, 209,7;bone length (BL): 72,616, 105,4;  
960 bone resistance (BR): 7,6355, 61,934; distal tibia densitometry (DOD): 822,24, 19,111; and 8,0883, 2,7487,  
961 for Zn corporal retention (RTCZn), Applying the inverse model to estimate Zn-AAC intake were: 0,0407,  
962 0,276, 0,072, 0,024, 0,014, 0,104, 0,145, 0,157, and 1,09 mg/kg/bird/day for AST, AKP, ALB, GLOB, BW,  
963 BL, BR, DOD and RTCZn, respectively. The recommended supplementation is 1,09 mg/kg/bird/day of Zn-  
964 AAC for diets with 600 FTU of Phytase enzyme for the best Zn deposition in the body of the birds for better  
965 body and bone development.

966 **Keywords:** Laying-type chicken. Zinc amino acid complex. Supplementary intake. Bone development.  
967 Body Retention.

968

969

970

971

972

973

974

975

976

977

978

979

980

981

982

983

984

985

986

987

## 1. INTRODUÇÃO

988

989 As fontes inorgânicas de Zn (sulfato ou óxido) são comumente utilizadas para suplementar  
990 as dietas das aves. Porém, essas fontes naturalmente sofrem dissociação em baixo pH no  
991 proventrículo, e têm reduzida solubilidade em pH neutro, expondo o metal Zn ao antagonismo e a  
992 fatores antinutricionais, tornando-o indisponíveis para o animal (GOFF, 2018; M'SADEQ et al.,  
993 2018) e aumentando sua excreção no meio ambiente (YENICE et al., 2015). As fontes  
994 denominadas “orgânicas” de Zn vem se destacando, por possibilitar benefícios à produção e  
995 composição dos ovos (ESFAHANI et al., 2021), aumento da espessura da casca e da atividade da  
996 anidrase carbônica (ZHANG et al., 2017), maior concentração de Zn e Ca nas tíbias e aumento da  
997 expressão de metalotioneína (MIN et al., 2018a), maior resistência óssea (CUFADAR et al., 2020),  
998 além do efeito antioxidante (LI et al., 2019) e imunológico (Han et al., 2020).

999

O zinco complexado a aminoácidos (Zn-CAA) é uma fonte “orgânica”, sendo sua absorção  
1000 intestinal mais eficiente quando comparada ao das fontes inorgânicas, podendo ser absorvido  
1001 intacto pela mucosa intestinal (ASHMEAD, 1993), utilizando transportadores intestinais de  
1002 aminoácidos (GAO et al., 2014; SAUER et al., 2017; GOFF, 2018) evitando a dissociação e,  
1003 consequentemente, a interação com outros elementos minerais e fatores antinutricionais, como o  
1004 ácido fítico. Embora estudos já tenham sido realizados com minerais provenientes de fontes  
1005 “orgânicas” na alimentação de galinhas poedeiras, sua disponibilidade e uso reacendeu o debate  
1006 sobre os níveis adequados destas fontes nas dietas, em função da grande variedade de suplementos  
1007 comercializados como orgânico. Em fases iniciais de poedeiras comerciais este é um trabalho  
1008 pioneiro em estudar a exigência de Zn complexado a aminoácidos em dietas nas quais todos os  
1009 outros minerais traço (Mn, Cu, Fe e Se) exceto iodo, são suplementados, como fontes únicas de  
1010 suplementação, complexados a aminoácidos.

1011

De acordo com Rostagno et al. (2017), a recomendação de Zn na forma orgânica (30,54 mg  
1012  $\text{kg}^{-1}$ ) para pintainhas representa 44% da recomendação do zinco oriundo de fontes inorgânicas  
1013 ( $68,72 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Tais recomendações são provenientes de pesquisas realizadas com frangos de  
1014 corte avaliando a suplementação de diferentes fontes “orgânicas” de zinco, desconsiderando as  
1015 particularidades de cada tipo de fonte.

1016

A adequada suplementação de Zn é muito importante considerando que é um elemento que  
1017 participa de todas as rotas metabólicas essenciais para o crescimento e a vida do animal. Sua  
1018 atuação catalítica resulta em benefícios ao desenvolvimento e formação óssea, interagindo com

1019 hormônios envolvidos no crescimento ósseo, como fator de crescimento semelhante à insulina 1,  
1020 osteocalcina e testosterona (MUSZYŃSKI et al., 2018). Além disso, a formação do tecido ósseo é  
1021 influenciada pelas enzimas fosfatase alcalina, collagenase e aminoácido-tRNA sintetase. Essas  
1022 enzimas dependem da concentração adequada de zinco para que garantam resistência óssea  
1023 satisfatória aos animais (GLIMCHER, 1998; WHITEHEAD, 2004; LONG; ORNITZ 2013;  
1024 FLORÊNCIO – SILVA et al., 2015). Complementando, o Zn é o componente da anidrase carbônica  
1025 (AC), enzima envolvida no fornecimento de íons carbonato durante a formação da casca do ovo,  
1026 conferindo-lhe resistência e aumento na espessura (ZANG et al., 2017; MIN et al., 2018; LI et al.,  
1027 2019), e também atua na calcificação óssea (MIN et al., 2019).

1028 Neste sentido, ainda não se conhece a ingestão ideal de Zn complexado a aminoácidos, capaz  
1029 de promover a máxima resposta em desempenho, saúde, propriedades físicas, químicas e  
1030 morfológicas dos ossos em pintainhas de poedeiras brancas consumindo dietas contendo Mn, Cu,  
1031 Fe e Se complexados a aminoácidos.

1032 Considerando o papel fundamental do Zn sobre o metabolismo de aves poedeiras,  
1033 hipotetizamos que a determinação da ingestão ideal de zinco complexado a aminoácidos garantirá  
1034 o desenvolvimento, a formação e a retenção mineral adequada do sistema esquelético de aves  
1035 poedeiras na fase inicial de criação. Sendo assim, objetivamos estimar o consumo ideal de Zn-CAA  
1036 para pintainhas leves de postura, de acordo com a performance, crescimento, peso, resistência,  
1037 densitometria e concentração mineral das tíbias, hematologia, bioquímica sérica e retenção mineral  
1038 no corpo das aves.

## 1039 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

1040 Todos os procedimentos realizados nesse estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no  
1041 uso dos Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) sob o protocolo  
1042 (n°6000110221).

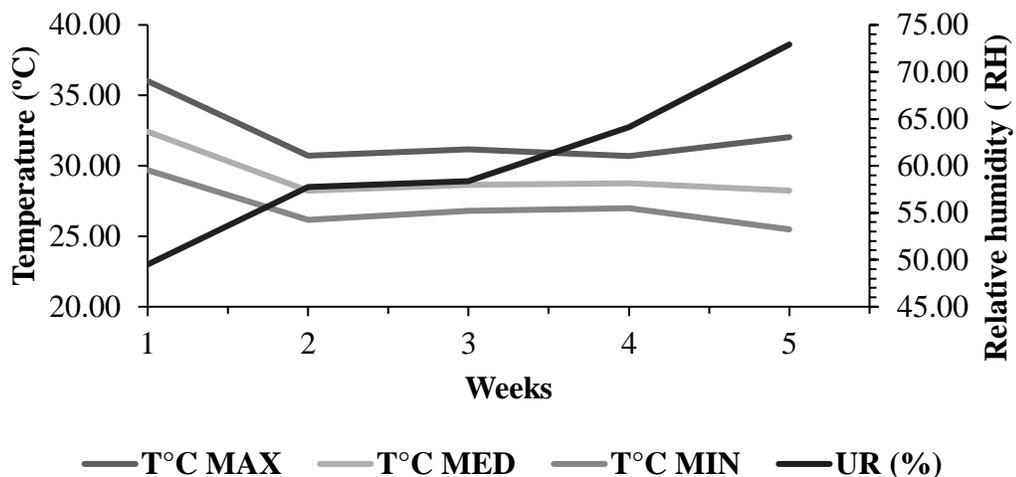
### 1043 **2.1 LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES**

1044 O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisas com Aves (LAPAVE) do  
1045 Departamento de Zootecnia pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco (Latitude:  
1046 8°01'11,3"S e Longitude: 34°57'14,6"W).

1047 Foram utilizadas 648 pintainhas de postura da linhagem Dekalb White com um dia de vida  
 1048 alojadas em 36 gaiolas experimentais equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro automático  
 1049 com copinho acoplado. As gaiolas experimentais foram previamente pintadas com pinturas  
 1050 eletrostática, elas tinham dimensões de 50Lx80Ax50C cm, além de respeitar a densidade de  
 1051 140cm<sup>2</sup>/ave. Durante o experimento o fornecimento de água foi *ad libitum*, enquanto o de ração foi  
 1052 ajustado semanalmente conforme a necessidade nutricional.

1053 As aves foram vacinadas ainda no incubatório contra Newcastle, Marek e Gumboro, além de  
 1054 serem vacinadas contra as principais enfermidades da região aos cinco, 14 e 35 dias de vida contra  
 1055 a Bronquite e doença de Newcastle; Pneumovirus; Boubá, Encefalomielite e coriza,  
 1056 respectivamente.

1057 O programa de luz adotado foi o recomendado pelo manual da linhagem. Na primeira semana  
 1058 de vida foram fornecidas 24 horas de luz, reduzindo posteriormente uma hora diária até permanecerem  
 1059 apenas com luz natural de 12 horas. A temperatura e umidade relativa do ar foram registradas  
 1060 diariamente através de Datalogger (HOBO U12-012), localizado nas extremidades do galpão e  
 1061 termo-higrômetro digital (Incoterm, modelo 7663.02.0.00) localizado na região média do galpão  
 1062 (Figura 1).



1063 **Figura 2** Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental

1064

## 1065 2.2 DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

1066 As pintainhas de um dia foram distribuídas em delineamento inteiramente ao acaso em 6  
 1067 tratamentos com 6 repetições de 18 aves cada, de acordo com peso médio ( $34,49 \pm 0,16$  g). O  
 1068 período experimental compreendeu as 5 primeiras semanas de vida.

1069 Os tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas, variando  
 1070 apenas nos níveis de inclusão de Zn-CAA em: 18, 30, 42, 54, 66 e 78 mg kg<sup>-1</sup>. O Zn utilizado no  
 1071 estudo é um complexo 1:1 com os aminoácidos alanina, arginina, ácido aspártico, ácido glutâmico,  
 1072 glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina,  
 1073 tirosina e valina em sua composição (Zinpro Corporation, Eden Prairie, MN, Estados Unidos).

1074 O premix micromineral utilizado foram compostos pelos elementos zinco, cobre, manganês  
 1075 e ferro complexados a aminoácidos, selênio na forma de Zinco-L-Selenometionina e o iodo na  
 1076 forma de iodato de cálcio. O premix foi formulado seguindo a exigências da linhagem (Dekalb  
 1077 White – Nutrition Guide, 2009), exceto o zinco que foi formulado de acordo com os tratamentos.

1078 As rações experimentais foram formuladas de acordo com o Rostagno et al. (2017) para  
 1079 atender às exigências nutricionais de acordo com a fase de criação das aves (Tabela 1).

1080 **Tabela 1** Composição calculada e analisada das dietas experimentais

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>	<b>Composição Nutricional</b>	
<b>Milho</b>	61,635	<b>EMA<sup>5</sup>, kcal/kg</b>	2950
<b>Farelo de soja</b>	34,882	<b>Proteína Bruta, %</b>	21,035
<b>Calcário calcítico</b>	1,468	<b>Proteína Bruta<sup>6</sup>, %</b>	22,140
<b>Fosfato Bicálcico</b>	0,820	<b>Matéria Seca<sup>6</sup>, %</b>	87,460
<b>Bicarbonato de sódio</b>	0,200	<b>Matéria Mineral<sup>6</sup>, %</b>	5,8780
<b>Sal Comum</b>	0,171	<b>Fósforo disponível, %</b>	0,4500
<b>DL-metionina 99</b>	0,241	<b>Cálcio, %</b>	1,1000
<b>L-lisina 78,8</b>	0,204	<b>Sódio, %</b>	0,1800
<b>L-treonina 99</b>	0,024	<b>Lisina digestível, %</b>	1,1610
<b>Premix mineral<sup>2</sup></b>	0,200	<b>Metionina digestível, %</b>	0,5290
<b>Premix Vitamínico<sup>3</sup></b>	0,150	<b>Metionina + Cistina, %</b>	0,8590
<b>Fitase<sup>4</sup></b>	0,006	<b>Na+K+Cl (Meq) mEq/kg</b>	242,68
<b>Total</b>	100		

1081 <sup>2</sup>Availa Zn: 120 g/kg de zinco, Availa Mn: 80 g/kg de manganês, Availa Cu: 100 g/kg de Cobre, Availa Fe:100 g/kg  
 1082 de ferro, Availa Se: 1000 mg/kg de selênio, 628 g/kg de Iodato de cálcio;

1083 <sup>3</sup>Vitamina A (mín): 9,000,000,00 UI/kg, Vitamina D3 (mín): 2,500,000,00 UI/kg, Vitamina E (mín): 20,000,00 UI/kg,  
 1084 Vitamina K3 (mín): 2,50 g/kg, Vitamina B1 (mín): 2,0 g/kg, Vitamina B2 (mín): 6,0 g/kg, Vitamina B6 (mín): 3,0  
 1085 g/kg, Vitamina B12 (mín): 15,000,00 mg/kg, Niacina (mín): 35,00 g/kg, Ácido, Fólico (mín): 1,50 g/kg, Ácido,  
 1086 Pantotênico (mín): 11,00 g/kg, Biotina (mín): 0,10 g/kg;<sup>4</sup>Fitase (mín) 10,000 FTU/g;

1087 <sup>5</sup>Energia metabolizável; <sup>6</sup>Valores analisados (AOAC 2001).

1088

1089 Após a confecção das rações experimentais foi retirada uma alíquota de 500g de cada ração  
 1090 e congelada em freezer a -20°C, para posterior análise de matéria seca (MS), proteína bruta (PB)  
 1091 por Micro - Kjeldahl (N × 6,25) (n° 954,01) e Matéria Mineral (MM) em mufla (550°C; 18h) (n°  
 1092 942,05) (AOAC, 2000).

1093 As dietas experimentais e a água utilizadas durante o estudo foram analisadas quanto à  
1094 composição mineral apresentadas na Tabela 2.

1095 **Tabela 2** Concentração de Zn, Mn, Fe, Cu nas dietas e água utilizadas no experimento

<b>Dietas*</b>	<b>Zn (mg/kg)</b>	<b>Mn (mg/kg)</b>	<b>Cu (mg/kg)</b>	<b>Fe (mg/kg)</b>	<b>Ca (g/kg)</b>	<b>P Total (g/kg)</b>
<b>Zn-CAA - 18</b>	55.71	81.90	10.51	341.14	7.87	5.76
<b>Zn-CAA - 30</b>	69.14	83.78	10.41	188.67	6.87	5.27
<b>Zn-CAA - 42</b>	97.38	83.24	9.29	360.53	7.32	5.45
<b>Zn-CAA - 54</b>	118.82	83.30	10.56	397.70	7.14	6.08
<b>Zn-CAA - 66</b>	129.40	84.26	12.16	348.61	7.62	5.76
<b>Zn-CAA - 78</b>	149.41	83.99	10.46	329.52	7.08	5.81
<b>Água*</b>	0,02	0,001	0,000	0,004	18,2	0,000

1096 \*Valores obtidos em ICP-OES

### 1097 2.3 DESEMPENHO PRODUTIVO

1098 O desempenho foi avaliado por meio do peso vivo (g), ganho de peso médio (g), consumo  
1099 de ração (g) e conversão alimentar (g/g). O consumo de ração e a pesagem dos animais foram  
1100 realizados semanalmente.

### 1101 2.4 PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

1102 Uma semana antes de completarem 35 dias de idade foram coletadas amostra de sangue da  
1103 veia jugular de duas aves por repetição, sendo coletado 5ml de sangue por ave. Uma amostra de 5  
1104 ml foi destinada a análise do perfil hematológico. A contagem das hemácias, leucócitos e plaquetas  
1105 foi realizada em câmara de Neubauer, após diluição com reagente Natt-Herrick. O hematócrito foi  
1106 obtido através do método de microcapilar. A segunda amostra de 5 ml foi destinada para análise  
1107 do perfil bioquímico, sendo identificadas e centrifugadas a 3500 - 4000 rpm durante 15 minutos;  
1108 em seguida, com o auxílio de uma pipeta, foram coletados 2 ml de soro, que foi congelado em  
1109 freezer até o momento das análises. Foram avaliados, ácido úrico, Aspartato Aminotransferase  
1110 (AST), fosfatase alcalina (FA), albumina, proteínas totais e globulina. As amostras foram  
1111 descongeladas à temperatura ambiente e preparadas de acordo com a metodologia descrita pelo kit  
1112 comercial (BIOCLIN®), sendo posteriormente submetidas à leitura em espectrofotômetro  
1113 (Bioclin, Biolisa Reader).

### 1114 2.5 AMOSTRAGEM PARA RETENÇÃO CORPORAL DE Zn E AVALIAÇÃO DE OSSOS

#### 1115 2.5.1 Retenção corporal

1116 Para avaliação da retenção corporal do mineral foram coletadas no início do experimento seis  
1117 aves com um dia de idade e uma ave por repetição aos 35 dias de idade (5 semanas de idade),  
1118 totalizando 36 aves.

1119 2.5.3 Coleta das tíbias

1120 As tíbias direita e esquerda de pintainhas (35 dias de idade) foram coletadas e acondicionadas  
1121 em tubos coletores devidamente identificados e congelados em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Inicialmente todas  
1122 as tíbias foram descongeladas em temperatura ambiente e descarnadas sem provocar injúrias na  
1123 estrutura óssea. As tíbias esquerdas foram destinadas à avaliação do peso, comprimento e índice  
1124 de *Seedor* e as tíbias direitas foram destinadas para a avaliação da densitometria e resistência óssea.

1125 2.6 AVALIAÇÃO DAS TÍBIAS

1126 2.6.1 Peso, comprimento e índice de *Seedor* das tíbias

1127 Para determinação do peso, comprimento e índice de *Seedor*, as tíbias foram descongeladas  
1128 em temperatura ambiente e pesadas em balança semi-analítica de precisão de 0,01g (Modelo  
1129 L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália); para o comprimento, as tíbias foram postas sobre uma  
1130 bancada plana e então medidas com o auxílio de um paquímetro digital (Model Absolute Digital  
1131 AOS Mitutoyo, SP, BR – precisão de 0,01 mm). Posteriormente, as tíbias foram analisadas em  
1132 mufla para obtenção da matéria mineral ou cinzas ( $550^{\circ}\text{C}$ ; 4h) (n° 942.05) (AOAC, 2001). Após a  
1133 pesagem das cinzas dos ossos e medição das tíbias, foi calculado o Índice de *Seedor* (SEEDOR et  
1134 al., 1993), dividindo-se o peso das cinzas do osso (mg) pelo seu comprimento (mm).

1135 2.6.2 Densitometria óssea

1136 A densitometria óssea foi avaliada por tomografia computadorizada com o equipamento  
1137 HiSpeed FXI CT scanner (General Electric, Fairfield, CT 06824, USA). O espectro de  
1138 hidroxapatita de cálcio foi usado para identificação da densidade óssea. Os ossos foram dispostos  
1139 lado a lado na mesa de scanner para aquisição das imagens. Posteriormente, as imagens foram  
1140 analisadas no Software Dicom (versão 1,1,7, Horos, Purview, Annapolis, MD 21401, EUA) e então  
1141 identificada a região da diáfise. Para a estimativa dos valores individuais da radiodensidade óssea  
1142 da tíbia, primeiramente foram executados três níveis de corte da diáfise (proximal, medial e distal)  
1143 e cada região dos cortes foram divididos em quadrantes e uma região circular de interesse (ROI)  
1144 selecionada para avaliação da densitometria do osso cortical (OLIVEIRA et al., 2012). Os  
1145 resultados foram obtidos em unidade Hounsfield (HU), os quais foram convertidos para  $\text{mg}/\text{cm}^3$   
1146 de hidroxapatita de cálcio (BMD), com o auxílio da equação descrita por Park et al., (2015):

1147 
$$\text{BMD} = \frac{200 \text{ HU}_t}{(\text{HU}_b - \text{HU}_w)}$$

1148 Sendo  $\text{HU}_t$  a radiodensidade do osso mensurado;  $\text{HU}_b$  a radiodensidade do espectro de osso, que  
1149 contém 200 mg de hidroxapatita de cálcio/ $\text{cm}^3$ ; e  $\text{HU}_w$  a radiodensidade do espectro da água, sem

1150 hidroxiapatita de cálcio.

1151

1152 2.6.3 Resistência óssea.

1153 A análise de resistência óssea foi realizada utilizando um texturômetro universal (Modelo  
1154 TA-XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido). A resistência óssea foi definida através  
1155 da aplicação da força por meio de um ensaio de flexão, em que a força é aplicada em um ponto  
1156 central, previamente definido através da média do comprimento da tíbia. A força é empregada até  
1157 a deformação máxima do osso, sendo realizada em máquina de ensaios universais com capacidade  
1158 de 100kN (EMIC, modelo DL-10000), com o auxílio do software Tesc EMIC, que registrou a força  
1159 (kgf) necessária para ocorrer a quebra total do osso. A distância entre apoios foi de 40 mm e a  
1160 velocidade de deslocamento empregada pela célula de carga de 50 kg a uma velocidade de 2  
1161 mm/min.

## 1162 2.7 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MINERAL

### 1163 2.7.1 Amostras de composição corporal

1164 As carcaças das aves foram armazenadas em sacos plásticos selados a vácuo para o  
1165 processamento. Em seguida, cozido em autoclave vertical (Phoenix Inc., São 530 Paulo, Brasil) a  
1166 127° C a 1 atm por 1:30h e em seguida houve a homogeneização em liquidificador industrial  
1167 (Skymesen Inc, Santa Catarina, Brasil) para obtenção de uma alíquota amostral representativa. As  
1168 amostras de composição corporal inicial (CCI) e composição corporal final (CCF) das pintainhas  
1169 passaram por secagem em liofilizador (n° 925,09) (AOAC, 2001) e foram armazenadas para análise  
1170 de mineral.

## 1171 2.8 QUANTIFICAÇÃO MINERAL

### 1172 2.8.1 Composição corporal das aves e rações experimentais

1173 Depois da secagem, foram pesadas 0,5 g das amostras de composição corporal e ração, que  
1174 logo foram digeridas em 6 ml de HNO<sub>3</sub> (65%) em forno micro-ondas (*Mars Xpress: Thechnology*  
1175 *Inside, Cem Corporation*) e submetidas ao programa de aquecimento com três etapas, onde 1°  
1176 etapa: 1,300 potência (W), 10 minutos e temperatura de 120°C; 2° etapa: 1,500 potência (W), 15  
1177 minutos e temperatura de 170°C e 3° etapa: 1,500 potência (W), 35 minutos e temperatura de  
1178 170°C. A solução obtida foi filtrada em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas com água  
1179 deionizada até atingirem o volume de 25ml.

1180 Os minerais cálcio, fósforo, zinco, manganês, cobre e ferro, foram quantificados na ração e  
1181 e na água. Na amostra da composição corporal quantificamos apenas o zinco. A quantificação dos

1182 minerais foi realizada pelo Laboratório de Química Ambiental de Solos da UFRPE através do  
 1183 espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (*Optima 7000*  
 1184 *DV ICP – OES, PerkinElmer*).

## 1185 2.9 RETENÇÃO CORPORAL DE ZINCO

1186 A retenção corporal de Zn (RTCZn), foi calculada a partir da seguinte fórmula:

1187 
$$\text{RTCZn} = (\text{peso final da carcaça} \times \text{conteúdo corporal final de Zn}_{\% \text{ matéria natural}}) - (\text{peso inicial}$$
  
 1188 
$$\text{da carcaça} \times \text{conteúdo corporal inicial de Zn}_{\% \text{ matéria natural}})$$

## 1189 2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

1190 Os dados foram submetidos previamente a homogeneidade das variâncias (Bartlett) e  
 1191 normalidade dos resíduos (Shapiro-wilk) e, em seguida submetidos à análise de variância.  
 1192 Posteriormente, efetuou-se a análise de regressão não-linear pelo procedimento PROC NLIN no  
 1193 SAS (2004) com 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

1194 A relação entre cada variável estuda e a ingestão do Zn-CAA foi modelada pela função  
 1195 matemática de Mitscherlich e, a partir da inversão desse modelo matemático foi estimado a  
 1196 ingestão suplementar de Zn-CAA para cada variável.

1197 O modelo utilizado (Mitscherlich 1909) está relacionado com a interação entre a variável  
 1198 estudada e a ingestão do Zn-CAA por dois fatores: máxima resposta ( $R_{\text{max}}$ ) e qualidade da variável  
 1199 resposta ( $b$ ):

$$1200 \text{Zn-CAA} = R_{\text{max}} * (1 - e^{(-b * x)})$$

1201 Onde:  $R_{\text{max}}$  é a resposta máxima, “e” é o número de Euler,  $b$  é a taxa de incremento e  $x$  é a ingestão de Zn.  
 1202 Sendo que, o número de Euler é o valor da suplementação a partir do qual a resposta se estabiliza.

1203 Invertendo esta equação, obtém-se a estimativa do consumo ideal de Zn-CAA para máxima  
 1204 resposta da variável resposta, tendo:

$$1205 Y = -\ln \frac{\left(\frac{x - R_{\text{max}}}{R_{\text{max}}}\right)}{\beta}$$

1207 E derivando o modelo de Mitscherlich, encontramos a eficiência marginal com base na resposta da  
 1208 ingestão e/ou consumo máximo de Zn-CAA:

$$1209 \frac{\Delta x}{\Delta y} = R_{\text{max}} * (1 - e^{(-\beta * x)}) = R_{\text{max}} * \beta * \exp^{(-\beta * x)}$$

### 3 RESULTADOS

1210

#### 3.1 DESEMPENHO PRODUTIVO

1211

1212 Não foram observados efeitos significativos dos níveis de suplementação de Zn-CAA ( $P >$   
1213 0,05) sobre o peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), consumo de ração (CR) e conversão  
1214 alimentar (CA) (Tabela 3).

1215 **Tabela 3** Desempenho produtivo de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com  
1216 Zn-CAA

Zn-CAA <sup>1</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn-CAA <sup>2</sup> (mg ave dia <sup>-1</sup> )	PCMF (g) <sup>3</sup>	GPM (g) <sup>4</sup>	CR (g ave dia <sup>-1</sup> ) <sup>5</sup>	CA (g.g <sup>-1</sup> ) <sup>6</sup>
<b>18</b>	<b>0,40</b>	345,74	8,89	22,24	2,502
<b>30</b>	<b>0,67</b>	346,03	8,89	22,22	2,499
<b>42</b>	<b>0,94</b>	345,63	8,89	22,29	2,530
<b>54</b>	<b>1,21</b>	349,24	9,00	22,66	2,519
<b>66</b>	<b>1,47</b>	348,27	8,96	22,38	2,497
<b>78</b>	<b>1,74</b>	352,09	9,07	22,08	2,435
<b>Média</b>		347,83	8,95	22,35	2,497
<b>P-Valor</b>		0,73	0,43	0,34	0,41
<b>EPM<sup>7</sup></b>		1,35	0,05	0,07	0,05

1217 <sup>1</sup>Suplementação de Zn-CAA; <sup>2</sup>Consumo de Zn-CAA; <sup>3</sup>PCMF – peso corporal médio final; <sup>4</sup>GPMD – ganho de peso  
1218 médio; <sup>5</sup>CR – consumo de ração; <sup>6</sup>CA – conversão alimentar; <sup>7</sup>Erro padrão da média.

1219

#### 3.2 PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

1220

1221 O perfil hematológico e bioquímico das aves foi influenciado pela suplementação do Zn-CAA,  
1222 (Tabela 4). Observamos resposta máxima com a suplementação do Zn-CAA para volume  
1223 corpuscular médio (VCM), leucócitos (LEU), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina  
1224 (FA) e albumina (ALB), e através de cada uma destas respostas, estimamos o consumo ideal de Zn  
1225 pelas pintainhas.

1226

1227

1228

1229

1230

1231

1232

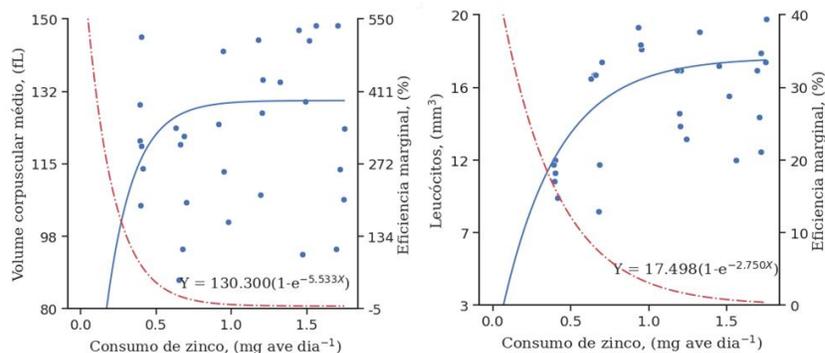
1233

1234 **Tabela 4** Hemograma e Bioquímica sérica de pintainhas poedeiras com um a quatro semanas de  
 1235 idade suplementadas com níveis de inclusão de Zn-CAA

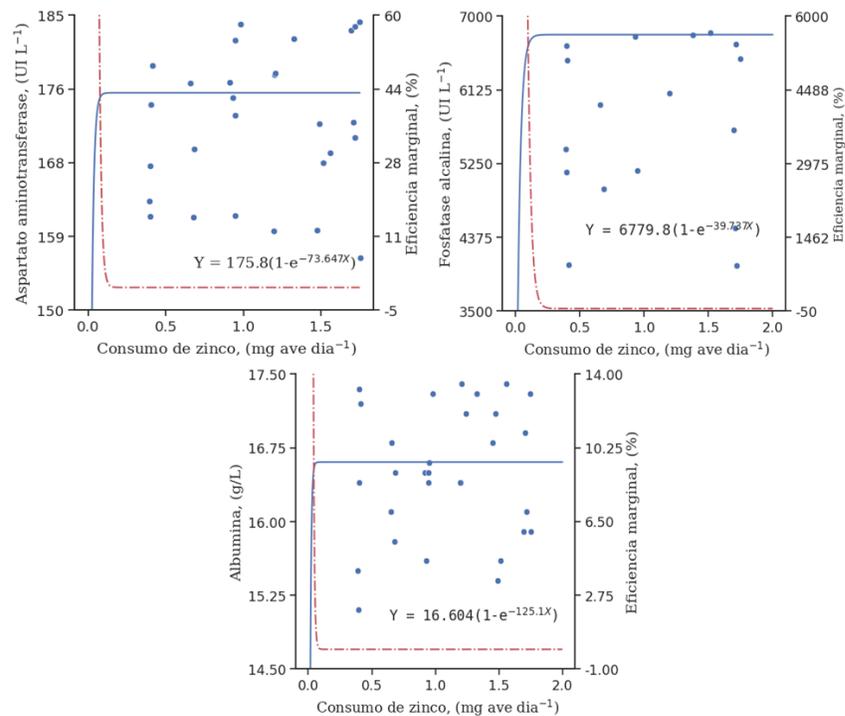
Zn-CAA <sup>1</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn-CAA <sup>2</sup> (mg ave dia <sup>-1</sup> )	VCM <sup>3</sup> (fL)	LEU <sup>4</sup> (/mm <sup>3</sup> )	AST <sup>5</sup> (U/L)	FA <sup>6</sup> (U/L)	ALB <sup>7</sup> (g/L)
<b>18</b>	<b>0,40</b>	122,31	12,59	172,85	5192,47	16,53
<b>30</b>	<b>0,67</b>	108,69	14,38	179,88	6572,26	16,88
<b>42</b>	<b>0,94</b>	131,89	19,08	175,41	6443,2	16,48
<b>54</b>	<b>1,21</b>	135,05	15,50	183,32	7041,24	16,50
<b>66</b>	<b>1,47</b>	138,29	17,83	170,65	7337,06	16,46
<b>78</b>	<b>1,74</b>	127,48	16,25	176,19	5982,37	16,63
<b>Média</b>		127,28	15,94	174,04	6428,10	16,58
<b>P-Valor</b>		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
<b>EPM<sup>8</sup></b>		5,014	9,16	2,29	296,67	0,18
<b>Rmax<sup>9</sup></b>		130,300	17,498	175,8	6779,8	16,604
<b>B<sup>9</sup></b>		5,533	2,750	73,647	39,737	125,1

1236 <sup>1</sup>Suplementação de Zn-CAA; <sup>2</sup>Consumo de Zn-CAA; <sup>3</sup>Volume corpuscular médio; <sup>4</sup>Leucócitos; <sup>5</sup>Aspartato  
 1237 aminotransferase; <sup>6</sup>Fosfatase alcalina; <sup>7</sup>Albúmina; <sup>8</sup>Erro padrão da média; <sup>9</sup>Parâmetros do modelo matemático.

1238 A partir desses resultados foi possível estimar a ingestão suplementar do Zn-CAA baseado  
 1239 nas médias gerais da resposta máxima. Assim, foram estimadas a ingestão suplementar do Zn-CAA  
 1240 de 0,542, 1,09, 0,041, 0,277 e 0,072 mg ave dia<sup>-1</sup> para a VCM (P = 0,01), LEU (P = 0,01), AST (P  
 1241 = 0,01), FA (P = 0,01) e ALB (P = 0,01), respectivamente. Verificando-se a estabilização das  
 1242 variáveis resposta com o aumento da ingestão de Zn-CAA, conforme é mostrado nos gráficos  
 1243 (Figura 2 e 3).



1244 **Figura 2** A resposta máxima das variáveis com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a  
 1245 eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base no volume corpuscular médio e leucócitos de  
 1246 pintainhas poedeiras (um dia a cinco semanas) está representada pela linha tracejada de vermelho



1247 **Figura 3** A resposta máxima das variáveis com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a  
 1248 eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base no aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina  
 1249 e albumina de pintainhas poedeiras (De um a cinco semanas de idade) está representada pela linha tracejada de  
 1250 vermelho

### 1251 3.3 AVALIAÇÃO ÓSSEA

1252 As pintainhas poedeiras quando suplementadas com Zn-CAA, apresentaram melhoria (P <  
 1253 0,05) no peso, comprimento, resistência e densidade óssea da diáfise distal das tíbias (Tabela 6).  
 1254 No entanto, apesar da ingestão de Zn-CAA ter influenciado na DOM das tíbias das aves, a resposta  
 1255 da DOM não se ajustou ao modelo matemático, impossibilitando a estimativa do consumo ideal de  
 1256 Zn-CAA.

1257 **Tabela 5** Avaliação óssea das tíbias de pintainhas poedeiras suplementadas com Zn-CAA

Zn-CAA <sup>1</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn-CAA <sup>2</sup> (mg ave dia <sup>-1</sup> )	PO <sup>3</sup> (mg)	CO <sup>4</sup> (mm)	RO <sup>5</sup> (kgf)	DOP <sup>6</sup> (mg cm <sup>3</sup> )	DOM <sup>7</sup> (mg cm <sup>3</sup> )	DOD <sup>8</sup> (mg cm <sup>3</sup> )
<b>18</b>	<b>0,40</b>	3685,60	71,52	6,95	543,84	687,39	885,12
<b>30</b>	<b>0,67</b>	3671,82	73,05	7,74	461,60	802,56	638,81
<b>42</b>	<b>0,94</b>	3763,28	73,37	7,59	698,93	1003,65	994,54
<b>54</b>	<b>1,21</b>	3628,48	71,97	7,66	541,54	845,77	731,19
<b>66</b>	<b>1,47</b>	3637,58	71,35	7,16	495,62	745,95	826,92
<b>78</b>	<b>1,74</b>	3685,42	73,17	7,74	514,24	751,41	843,67
<b>Média</b>		3678,70	72,40	7,47	542,63	806,12	820,04
<b>P-Valor</b>		0,001	0,001	0,001	0,10	0,05	0,03
<b>EPM<sup>9</sup></b>		0,42	0,04	0,03	0,32	0,34	0,37
<b>Rmax<sup>10</sup></b>		3679,900	72,616	7,635	-	-	822,240
<b>b<sup>10</sup></b>		209,700	105,400	61,934	-	-	19,111

1258 <sup>1</sup>Suplementação de Zn-CAA; <sup>2</sup>Consumo de Zn-CAA; <sup>3</sup>Peso ósseo; <sup>4</sup>Comprimento ósseo; <sup>5</sup>Resistência ossea,1259 <sup>6</sup>Densitometria óssea proximal, <sup>7</sup>Densitometria óssea medial, <sup>8</sup>Densitometria óssea distal, <sup>9</sup>Erro Padrão da média,1260 <sup>10</sup>Parâmetros do modelo matemático

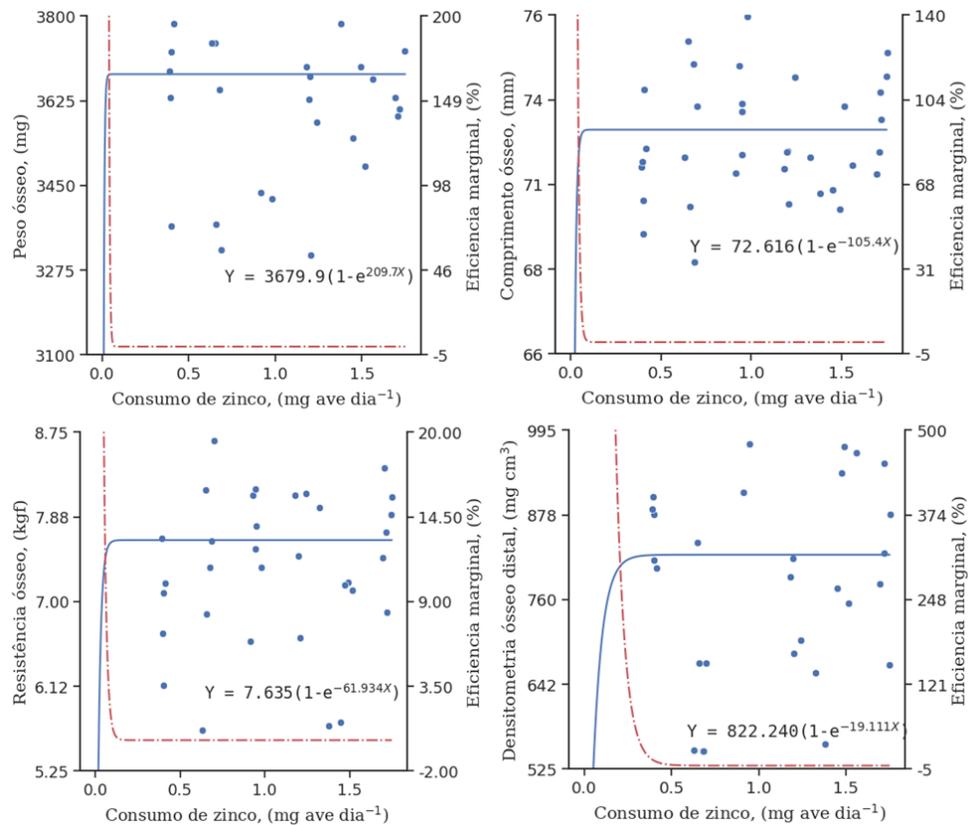
1261

1262 Com estes resultados, obteve-se a estimativa da ingestão suplementar de Zn-CAA de 0,014;

1263 0,104; 0,145; 0,157 mg ave dia<sup>-1</sup> de acordo com o PO (P = 0,001), CO (P = 0,001), RO (P = 0,001)

1264 e DOD (P = 0,030) das tíbias das aves, respectivamente. Verificando-se a estabilização das

1265 variáveis resposta com o aumento da ingestão de Zn-CAA (Figura 4).



1266 **Figura 4** A resposta máxima das variáveis com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a  
 1267 eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base do peso, comprimento, resistência e densitometria  
 1268 óssea distal de pintainhas poedeiras (De um a quatro semanas de idade) está representada pela linha tracejada em  
 1269 vermelho.

### 1270 3.4 RETENÇÃO CORPORAL DE Zn

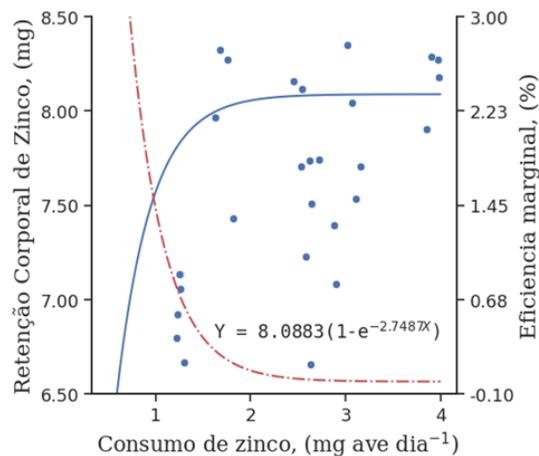
1271 A retenção corporal de pintainhas poedeiras foi influenciada pela ingestão suplementar de  
 1272 Zn-CAA (Tabela 7).

1273 **Tabela 6** Retenção corporal de Zn das pintainhas poedeiras suplementada com Zn-CAA

Zn-CAA <sup>1</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn-CAA <sup>2</sup> (mg ave dia <sup>-1</sup> )	PCMi <sup>3</sup> (g)	PCMf <sup>3</sup> (g)	[ZnCCI] <sup>4</sup> (g)	[ZnCCF] <sup>4</sup> (g)	RTCZn <sup>5</sup> (g)
18	0,40	34,49	354,00	0,0215	0,0218	6,952
30	0,67	34,49	370,33	0,0215	0,0242	8,207
42	0,94	34,49	356,00	0,0215	0,0265	8,684
54	1,21	34,49	364,00	0,0215	0,0222	7,326
66	1,47	34,49	357,00	0,0215	0,0244	7,968
78	1,74	34,49	370,00	0,0215	0,0247	8,405
<b>Média</b>		-	-	-	-	7,924
<b>P-Valor</b>		-	-	-	-	0,001
<b>EPM<sup>6</sup></b>		-	-	-	-	0,254
<b>Rmax<sup>7</sup></b>		-	-	-	-	8,0883
<b>B<sup>7</sup></b>		-	-	-	-	2,7487

1274 <sup>1</sup>Suplementação de Zn-CAA; <sup>2</sup>Consumo de Zn-CAA; <sup>3</sup>Peso médio da carcaça inicial e final; <sup>4</sup>Concentração corporal  
1275 inicial e final de Zn; <sup>5</sup>Retenção corporal de Zn-CAA; <sup>6</sup>Erro padrão da média; <sup>7</sup>Parâmetros do modelo matemático  
1276

1277 De acordo com esses resultados, obteve-se a estimativa da ingestão suplementar de Zn-CAA  
1278 de 1,09 mg ave dia<sup>-1</sup> conforme equações, observando uma estabilização das variáveis resposta com  
1279 o aumento da ingestão de Zn-CAA (Figura 5).



1280 **Figura 5** A resposta máxima das variáveis com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a  
1281 eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base NA RTCZn de pintainhas poedeiras (De um a  
1282 quatro semanas de idade) está representada pela linha tracejada em vermelho

1283

#### 4 DISCUSSÃO

1284 É conhecido que experiências desafiadoras aumentam a exigência nutricional de  
1285 microminerais em geral. As pintainhas deste estudo estiveram sob temperatura e umidade diárias  
1286 que atendem às faixas consideradas de conforto no manual da linhagem (Hendrix Genetics, 2009).

1287 E na condição confortável em que se desenvolveram, níveis suplementares de Zn como Zn-CAA  
1288 não influenciaram seu desempenho produtivo. Isto demonstra que, quando uma fonte com maior  
1289 biodisponibilidade de Zn é usada em condições de conforto, em dietas contendo fitase e com os  
1290 outros minerais traço oferecidos também como fontes de alta biodisponibilidade, níveis baixos de  
1291 Zn são suficientes para dar suporte ao desenvolvimento da pintainhas em suas cinco semanas de  
1292 vida.

1293 De acordo com a concentração de leucócitos, perfil bioquímico, avaliação óssea e retenção  
1294 corporal de Zn, conseguimos determinar uma estimativa de ingestão ideal de Zn-CAA para as  
1295 pintainhas criadas nas condições deste estudo. Naturalmente, observam-se variações nas  
1296 estimativas das ingestões de Zn-CAA entre as variáveis estudadas. É esperado que variáveis  
1297 diferentes respondam a níveis distintos de nutrientes. Embora os níveis estimados de máxima  
1298 resposta para os parâmetros bioquímicos sanguíneos, tenham sido muito baixos, observamos  
1299 valores mais altos relacionados com a concentração de leucócitos (LEU) e retenção corporal de Zn  
1300 (RTCZn) ( $1,09 \text{ mg ave dia}^{-1}$ ). Ou seja, as ingestões estimadas através da máxima resposta de  
1301 parâmetros bioquímicos sanguíneos ( $0,542; 0,041; 0,277; 0,072 \text{ mg ave dia}^{-1}$ ) ou mesmo pelas  
1302 variáveis ósseas ( $0,014; 0,104; 0,145; 0,157 \text{ mg ave dia}^{-1}$ ) não teriam sido suficientes para a  
1303 máxima deposição de Zn no corpo da ave.

1304 A estimativa de exigência nutricional da suplementação de Zn através de modelo não linear,  
1305 gerou um resultado para resposta máxima de LEU e de RTCZn ( $1,09 \text{ mg ave dia}^{-1}$ ) 6,95 vezes  
1306 maior do que a estimada para DOD ( $0,157 \text{ mg ave dia}^{-1}$ ). Enquanto a estimativa de ingestão de Zn-  
1307 complexado para máxima resposta da fosfatase alcalina (FA) ( $0,276 \text{ mg ave dia}^{-1}$ ) foi 3,95 menor  
1308 que para LEU e RTCZn. Apesar da distância em tempo de duas semanas desde a vacina de  
1309 Pneumovírus recebida pelas pintainhas (com 14 dias de vida), até a coleta de amostras para análise  
1310 dos parâmetros hematológicos (com 28 dias de vida), é possível que o organismo das pintainhas  
1311 ainda estivesse com a resposta imune ativa, quando coletaram-se amostras para análises de  
1312 parâmetros sanguíneos, que exigiu um nível mais alto de Zn para máxima resposta leucocitária  
1313 ( $\text{LEU}=17,48/\text{mm}^3$ ), que foi de  $1,09 \text{ mg ave dia}^{-1}$ , correspondendo ao nível de suplementação de  
1314  $48 \text{ mg de Zn kg}^{-1}$  na dieta, o que mesmo assim, é bem mais baixo do que o nível recomendado pelo  
1315 manual de genética de fontes tradicionais de Zn, de  $60 \text{ mg de Zn kg}^{-1}$  de ração.

1316 A fosfatase alcalina (FA) catalisa reações de hidrólise de grupos fosfato, por isso tem papel  
1317 importante no desenvolvimento e formação óssea. O Zn atua de forma catalítica e co-catalítica na

1318 metaloenzima FA, responsável por estimular através dos osteoblastos a transcrição e expressão de  
1319 genes de enzimas que participam na regulação da formação do cristal da matriz mineral no disco  
1320 epifisário durante o processo de crescimento (CHEN et al., 2018). Podem ser observadas variações  
1321 fisiológicas, apresentando níveis de atividade maiores nas aves jovens decorrentes do crescimento  
1322 ósseo. A função da FA está relacionada com o aporte de energia para o intercâmbio de íons através  
1323 das membranas celulares (HOCHLEITHNER, 1994). O que justifica que a estimativa da ingestão  
1324 suplementar de Zn-CAA neste estudo (0,277 mg ave dia<sup>-1</sup>), para máxima resposta de FA (6779,8  
1325 UI/L), tenha sido 1,87 vezes maior que o valor estimado para DOD (0,157 mg ave dia<sup>-1</sup>) das tíbias  
1326 de pintainhas. Pois, as aves estavam em pleno desenvolvimento de tecidos e órgãos.

1327 A deficiência de Zn em ratos influenciou negativamente a expressão do gene responsável  
1328 pela síntese de AST citosólico (DIECK et al., 2003). Em aves, a literatura mostra que, a atividade  
1329 normal da AST está abaixo de 275 UI/L (THRALL et al., 2004) ou que níveis considerados normais  
1330 estariam entre 174,80 e 350 UI/L (LUMEIJ, 2008; CAMPBELL, 2015). Estes são níveis próximos  
1331 ou muito superiores ao encontrado neste estudo (AST =175,80 UI/L) como resposta máxima. O  
1332 aumento de AST no sangue de aves pode estar associado a lesão hepática (HARR, 2002) ou  
1333 muscular o que é mais comum em aves criadas em situações de estresse de densidade, estresse  
1334 calórico ou qualquer outra enfermidade ligada a doença hepática ou pancreática. Porém, seria  
1335 necessário avaliar AST em associação a creatina quinase (CK) para diferenciar dano hepático de  
1336 dano muscular (SCHMIDT et al., 2007). Outras causas de elevações na atividade desta enzima são  
1337 deficiências de vitamina E, selênio ou metionina, intoxicação por pesticidas ou tetracloreto de  
1338 carbono e dano muscular (HOCHLEITHNER, 1994). Os níveis sanguíneos de AST encontrados  
1339 neste estudo mostram que pintainhas criadas em situação de conforto e com nutrição adequada têm  
1340 baixas exigências de Zn complexado a aminoácidos.

1341 De forma geral, os níveis séricos da ALB em galinhas apresentam uma faixa de normalidade  
1342 entre 16 e 20 g/L (LUMEIJ, 2008). As pintainhas de postura da nossa pesquisa apresentaram níveis  
1343 séricos da ALB de 16,60 g/L com ingestão suplementar de 0,072 mg ave dia<sup>-1</sup> de Zn-CAA. Diversos  
1344 nutrientes usam albumina como transportador no sangue, inclusive Zn em sua forma ionizada  
1345 (Zn<sup>++</sup>). Mas, de acordo com (ASHMEAD, 1993) Zn complexado a aminoácidos não usa albumina  
1346 como transportador após a absorção o Zn-CAA, a molécula seria armazenada intacta e a liberação  
1347 do Zn da molécula de Zn-CAA só ocorre em situações de necessidade orgânica (Ashmead, 1993).

1348           Abedini et al. (2017) verificaram uma elevação da concentração de proteínas totais e  
1349 albumina sérica (29,2 g/L) em galinhas poedeiras em produção, quando suplementaram suas dietas  
1350 com Zn (ZnO-nano ou Zn-met). Os autores justificaram que o aumento observado na concentração  
1351 de proteínas totais e de albumina, poderia estar associado ao papel do Zn na síntese de proteínas.  
1352 Conclusão óbvia, pois o tratamento controle naquele estudo era uma dieta sem Zn suplementar e  
1353 os tratamentos contendo Zn, como fontes suplementares, oferecia 80mg de Zn/kg de ração de cada  
1354 fonte. Uma inclusão de 80 mg/kg de Zn em dietas de poedeiras em produção é inclusive superior  
1355 recomendação constante no manual da genética. Não importando a fonte, a suplementação de Zn  
1356 em dietas de aves é imprescindível, o que se busca é uma maior eficiência nesta suplementação.

1357           O Zn é um metal presente em mais de 300 enzimas. A presença do Zn como cofator, das  
1358 metaloenzimas Zn-dependentes, confere ativação catalítica àquelas enzimas. Toda síntese proteica  
1359 de qualquer tecido no corpo de um animal é dependente de Zn. O elemento está presente  
1360 estruturalmente nos fatores de transcrição, além de regular hormônios, receptores hormonais e  
1361 expressão gênica (SUTTLE, 2010).

1362           Zinco está envolvido na síntese de hormônios, que influenciara no crescimento, formação,  
1363 mineralização e manutenção óssea ao longo da vida do animal (MUSZYŃSKI et al., 2018). Mas,  
1364 o desenvolvimento e crescimento ósseo ocorre ainda durante o desenvolvimento embrionário, na  
1365 incubação, quando a cartilagem hialina do esqueleto apendicular é estabelecida, então a ossificação  
1366 endocondral inicia-se transformando cartilagem em ossos primários por meio de uma cascata de  
1367 eventos, e se intensifica com a eclosão da ave (DIBNER et al., 2007).

1368           Consideramos que a resposta máxima da variável densidade óssea distal (DOD) seja o melhor  
1369 parâmetro para identificar o desenvolvimento ósseo das pintainhas em fase inicial, influenciado  
1370 pelo nível de Zn-CAA na dieta. Obtivemos a resposta máxima de DOD das aves quando  
1371 consumiram até 0,157 mg ave dia<sup>-1</sup> de Zn-CAA. A DOD é considerada uma das medidas mais  
1372 acuradas para avaliar a densidade mineral da tíbia de pintainhas em fase de cria. Pois, a parte distal  
1373 da tíbia, próxima a diáfise óssea, é a primeira a formar o osso cortical, a camada mais resistente e  
1374 menos lábil de tecido ósseo de uma futura poedeira, este parâmetro é uma confirmação direta da  
1375 deposição de CA e P na forma de hidroxiapatita sobre a matriz orgânica do osso (ONYANGO et  
1376 al., 2003).

1377           O paralelo estabelecido entre resultados de outras pesquisas com a nossa, exige cautela, pois  
1378 há a existência de diferenças entre as pesquisas (*e.g.*, dietas experimentais, níveis estudados, fontes

1379 minerais estudadas, diferenças interespecíficas). Ao que parece, ao utilizarem-se minerais  
1380 complexados a aminoácidos como fontes únicas de suplementação, ocorre otimização nos  
1381 processos de captação destes minerais pelos enterócitos, seja por redução dos antagonismos entre  
1382 minerais ionizados, seja por uma melhora na microbiota intestinal e/ou melhor desenvolvimento  
1383 do tecido endotelial do intestino. Um dos únicos trabalhos encontrados na literatura dentro deste  
1384 tema, é o de Medeiros-Ventura et al. (2020), que compararam uma dieta suplementada ou com  
1385 fontes inorgânicas de Zn, Mn e Cu com uma dieta contendo Zn, Mn e Cu inorgânicos associados  
1386 Zn, Mn e Cu-CAA para pintainhas de poedeiras semipesadas entre 1 dia e 5 semanas de idade. Os  
1387 autores observaram deposição superior dos microminerais na tíbia das pintainhas às 5 semanas.  
1388 Naquele estudo não foi analisada a variável DOD. Entretanto os melhores resultados foram obtidos  
1389 com a associação das duas fontes de minerais traço, em que se manteve o nível de Zn recomendado  
1390 pelo manual da linhagem ( $70\text{mg kg}^{-1}$ ) sendo 42% do total atendido pelos minerais complexados a  
1391 aminoácidos. Assim, as pintainhas daquele estudo tiveram um consumo médio de 2,17mg de Zn  
1392 por dia, considerando um consumo médio de 31g no período de 35 dias, pelo grupo que consumiu  
1393 a combinação das 2 fontes de Zn. É interessante observar que este consumo diário é muito superior  
1394 ao que obtivemos como estimativa de exigência de Zn para melhor ossificação ( $\text{DOD}=0,157\text{mg}$   
1395  $\text{ave dia}^{-1}$ ) neste estudo. Provavelmente os autores trabalharam com níveis mais altos de  
1396 suplementação do que seria necessário para gerar resposta, o que é compreensível, desde que não  
1397 existiam estudos anteriores que servissem como base.

1398 Atualmente a indústria de ovos de mesa adota como uso de rotina a enzima fitase nas rações,  
1399 esta estratégia reduz o custo das dietas e a contaminação com Fe não disponível, oriundo dos  
1400 fosfatos. Fitases têm como objetivo aumentar a disponibilidade do fósforo oriundo dos ingredientes  
1401 de origem vegetal (milho e farelo de soja), através da catálise da reação que transforma o ácido  
1402 fitico em mio-Inositol e fosfatos, liberando Ca, P e outros cátions que estejam atrelados à sua  
1403 estrutura, e o Zn é um deles. O Zn se complexa fortemente com o fitato, limitando sua  
1404 disponibilidade, digestão e absorção (LU et al., 2010). É importante mencionar que as estimativas  
1405 de exigência deste estudo foram realizadas em dietas contendo fitase, porque os níveis de Zn  
1406 oferecido com o Zn-CAA complementaram os níveis do elemento que, eventualmente, tenham sido  
1407 liberados pela fitase presente nas dietas. Vale ressaltar que os ingredientes (soja e milho) da dieta  
1408 basal, continham entre 0,12% e 0,11% de P fitico, respectivamente. Estudos têm demonstrado que  
1409 a fitase usada nas dietas das aves, tem auxiliado na melhoria da disponibilidade do Zn em dietas a

1410 base de soja e milho (ATTIA et al., 2019) e sem ou com suplementação de Zn de fonte “orgânica”  
 1411 (AO et al., 2007). Portanto, provavelmente a fitase influenciou a disponibilidade do Zn dos  
 1412 ingredientes no presente estudo, o que nos permitiu determinar uma estimativa da exigência do Zn-  
 1413 CAA de até 1,09 mg ave dia<sup>-1</sup> (48 mg/kg).

1414 Rostagno et al., (2017) recomendaram uma suplementação de Zn oriundo de “fontes  
 1415 orgânicas” para pintainhas poedeiras de 30,54 mg kg<sup>-1</sup>. A recomendação dos autores possui um  
 1416 equívoco básico, pois foi determinada em frangos de corte e não está baseada na máxima resposta  
 1417 de ossificação, que é um dos parâmetros mais importantes a se considerar para uma pintainha futura  
 1418 produtora de ovos de mesa, mas em peso corporal.

1419 Os resultados obtidos no presente estudo são pioneiros na estimativa do consumo ideal de  
 1420 Zn-CAA para pintainhas leves de postura nas primeiras 5 semanas de vida, em dietas contendo  
 1421 fitase (600FTU), em que os demais minerais traço (exceto Iodo) foram suplementados como metal-  
 1422 AA.

## 1423 5 CONCLUSÃO

1424 Em conclusão, a estimativa da ingestão suplementar do Zn-CAA de 1,09 mg ave dia<sup>-1</sup> de Zn-  
 1425 CAA garantirá desempenho produtivo com adequado desenvolvimento da estrutura óssea com  
 1426 garantia de um estado de saúde satisfatório para a fase inicial de linhagens de postura leve.

## 1427 6 AGRADECIMENTOS

1428 Agradecemos à Zinpro Corporation pelo apoio financeiro parcial da pesquisa, a Coordenação  
 1429 de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo; ao Laboratório  
 1430 de Caracterização de Propriedades Mecânicas do Departamento de Engenharia Mecânica da  
 1431 Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); Departamento de Medicina Veterinária, setor de  
 1432 Diagnóstico por Imagem da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Assim como, ao  
 1433 Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco do  
 1434 Departamento de Zootecnia.

## 1435 7 REFERÊNCIAS

- 1436 AAFCO - Association of American Feed Control Officials. Official Feed Terms, Common or Usual  
 1437 Ingredient Names and Ingredient Definitions: Mineral Products. **Official Publication**, Canada, p.  
 1438 408-425, 2021.
- 1439 AO, T. et al. Effects of organic zinc and phytase supplementation in a maize–soybean meal diet on  
 1440 the performance and tissue zinc content of broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 48, n. 6, p.  
 1441 690–695, 2007.
- 1442 ABEDINI, M. et al. Effects of a dietary supplementation with zinc oxide nanoparticles, compared  
 1443 to zinc oxide and zinc methionine, on performance, egg quality, and zinc status of laying hens.  
 1444 **Livestock Science**, v. 203, n. 1, p. 30–36, 2017.
- 1445 ASHMEAD, H. D.; ZUNINO, H. Factors which affect the intestinal absorption of minerals, *In*:

- 1446 *Ashmead HD, editor, The roles of amino acid chelates in animal nutrition*, Westwood: Noyes  
1447 Publications,1993.
- 1448 AYDEMIR, T. B.; SITREN, H. S.; COUSINS, R. J. The Zinc Transporter Zip14 Influences c-Met  
1449 Phosphorylation and Hepatocyte Proliferation During Liver Regeneration in Mice.  
1450 **Gastroenterology**, v. 142, n. 7, p. 1536- 1546.e5, 2012.
- 1451 Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. Official Methods of Analysis. 17ed. AOAC,  
1452 Arlington, VA, USA, 2001.
- 1453 CAMPBELL, T. W. Bioquímica clínica das aves, In: THRALL, M. A.; WEIXER, G.; ALISSON,  
1454 R, W.; CAMPBELL, T. W. (org.). **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo:  
1455 Roca, p. 1233-1257, 2015.
- 1456 CHEN, N. N. et al. Safety evaluation of zinc methionine in laying hens: Effects on laying  
1457 performance, clinical blood parameters, organ development, and histopathology. **Poultry Science**,  
1458 v. 97, n. 4, p. 1120–1126, 2018.
- 1459 CUFADAR, Y. et al. Effects of Dietary Different Levels of Nano, Organic and Inorganic Zinc  
1460 Sources on Performance, Eggshell Quality, Bone Mechanical Parameters and Mineral Contents of  
1461 the Tibia, Liver, Serum and Excreta in Laying Hens. **Biological Trace Element Research**, v. 193,  
1462 n. 1, p. 241–251, 2020.
- 1463 DIBNER, J. J. et al. Metabolic Challenges and Early Bone Development. **Journal of Applied**  
1464 **Poultry Research**, v. 16, n. 1, p. 126-137, 2007.
- 1465 DIECK, T. H. et al. Changes in Rat Hepatic Gene Expression in Response to Zinc deficiency as  
1466 assessed by DNA arrays. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 4, p.1004–1010, 2003.
- 1467 ESFAHANI, B. M. et al. Comparison the Zn-Threonine, Zn-Methionine, and Zn Oxide on  
1468 Performance, Egg Quality, Zn Bioavailability, and Zn Content in Egg and Excreta of Laying Hens.  
1469 **Biological Trace Element Research**, v.199, n. 1, p. 292–304, 2021.
- 1470 GAO et al. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life**  
1471 **Science**, v. 109, n. 1, p. 50-6, 2014.
- 1472 GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–  
1473 base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy**  
1474 **Science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.
- 1475 GRÜNGREIFF, K.; REINHOLD, D. Zinc: A complementary factor in the treatment of chronic  
1476 hepatitis C? (Review). **Molecular Medicine Reports**, v. 3, n. 3, p, 371 – 375, 2010.
- 1477 HAN, Q.; GUO, Y.; ZHANG, B.; NIE, W. Effects of Dietary Zinc on Performance, Zinc  
1478 Transporters Expression, and Immune Response of Aged Laying Hens.**Biological Trace Element**  
1479 **Research**, v.196, n. 1, p. 231-242, 2020a.
- 1480 HARR, K. E. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review, **From Florida**  
1481 **Veterinary Pathology**, v. 31, n. 2, p. 140 – 151, 2002.
- 1482 HOCHLEITHNER, M. Biochemistries In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L.  
1483 R. Avian medicine: principles and application. Lake Worth: Wingers Publishing, p. 176-198, 1994.
- 1484 IDOWU, O. M. O. et al. Effects of Zinc Supplementation on Laying Performance, Serum  
1485 Chemistry and Zn Residue in Tibia Bone, Liver, Excreta and Egg Shell of Laying Hens.

- 1486 **International Journal Poultry Science**, v.10, n. 3, p. 225–230, 2011.
- 1487 JAROSZ, Ł. et al. Effect of feed supplementation with zinc glycine chelate and zinc sulfate on  
1488 cytokine and immunoglobulin gene expression profiles in chicken intestinal tissue. **Poultry**  
1489 **Science**, v. 96, n. 12, p. 4224–4235, 2017.
- 1490 KORNOS, J. Official Feed Terms, Common of Usual Ingredient Names and Ingredient Definitons:  
1491 Mineral Products, In: AAFCO – Association of American Feed Control Officials (org.), **Official**  
1492 **Publication**, Canada, p. 408-425, 2021.
- 1493 KWIECIEŃ, M. et al. Effects of zinc glycine chelate on growth performance, carcass  
1494 characteristics, bone quality, and mineral content in bone of broiler chicken. **Livestock Science**,  
1495 v.191, n. 1, p. 43–50, 2016.
- 1496 LI, L. L. et al. Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg  
1497 quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. **Poultry Science**, v. 98, n. 2, p.  
1498 923–931, 2019.
- 1499 LUMEIJ, J. T. Avian clincial biochemistry, In: Kaneko, J.J., Harvey, J. W. and Bruss, M. L., 1324  
1500 Ed., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, San Diego: Academic Press, v. 872 p. 839–  
1501 1325, 2008.
- 1502 M'SADEQ, S. A.; WU, S. B.; CHOCT, M.; SWICK, R. A. Influence of trace mineral sources on  
1503 broiler performance, lymphoid organ weights, apparent digestibility, and bone mineralization.  
1504 **Poultry Science**, v. 97, n. 9, p. 3176–3182, 2018.
- 1505 MEDEIROS-VENTURA, W. R. L. et al. Zinc, manganese, and copper amino acid complexes  
1506 improve performance and bone characteristics of layer-type chicks under thermoneutral and cold  
1507 stress conditions. **Poultry Science**, v.99, n. 11, p. 5718-5727, 2020.
- 1508 MESSINA, J. P. et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes.  
1509 **Hepatology**, v. 61, n. 1, p. 77–87, 2015.
- 1510 MIN, Y. N. et al. Effects of methionine hydroxyl analog chelated zinc on laying performance,  
1511 eggshell quality, eggshell mineral deposition, and activities of Zn-containing enzymes in aged  
1512 laying hens. **Poultry Science**, v. 97, n. 10, p. 3587–3593, 2018.
- 1513 MUSZYŃSKI, S. et al. Subsequent somatic axis and bone tissue metabolism responses to a low-  
1514 zinc diet with or without phytase inclusion in broiler chickens. **PLOS ONE**, v. 13, n. 1, p.  
1515 e0191964, 2018.
- 1516 National research council. **Nutrient Requirements of Poultry**. 9. ed., Washington: Acad, Press,  
1517 1994.
- 1518 OLIVEIRA, J. F. DE et al. Densitometria da vértebra dorsal, osso pleural e osso neural em  
1519 tartarugas verdes híidas por tomografia computadorizada quantitativa. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8,  
1520 p. 1440–1445, 2012.
- 1521 OLGUN, O.; YILDIZ, A. Ö. Effects of dietary supplementation of inorganic, organic or nano zinc  
1522 forms on performance, eggshell quality, and bone characteristics in laying hens. **Annals of Animal**  
1523 **Science**, v.17, n. 2, p. 463–476, 2017.
- 1524 ROSTAGNO, H. S. et al. Suplementação de vitaminas e de microminerais para aves e suínos,  
1525 In: \_\_\_\_\_(org.), **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Viçosa, 2017.

- 1526 SAS, SAS/STAT 3,1, User's Guide, Version 3,1, Cary, NC: SAS, Institute Inc, 2004.
- 1527 SAUER, A. K. et al. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using  
1528 Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **BioMetals**, v.30, n. 5, p. 643–661, 2017.
- 1529 SEEDOR, J. G. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in  
1530 rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.6, n. 4, 265-270, 1993
- 1531 SCHMIDT, E. M. S.; DITTRICH, R.; SANTIN, E. Patologia clínica em aves de produção: Uma  
1532 ferramenta para monitorar a sanidade avícola-Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n.  
1533 3, p. 9-20, 2007.
- 1534 SUTTLE, N. F. Zinc, In: Suttle, N. F. (org.), **Mineral nutrition of livestock: Fourth edition.**  
1535 [S.l.]: p. 434 - 458, 2010.
- 1536 TOMASZEWSKA, E. et al. Effect of Zinc Level and Source (Zinc Oxide Vs, Zinc Glycine) on  
1537 Bone Mechanical and Geometric Parameters, and Histomorphology in Male Ross 308 Broiler  
1538 Chicken. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 19, n. 1, p. 159–170, 2017.
- 1539 THRALL M. A. et al. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. **Lippincott: Williams &**  
1540 **Wilkins**, p. 618, 2004.
- 1541 YENICE, E. et al. Effects of Organic and Inorganic Forms of Manganese, Zinc, Copper, and  
1542 Chromium on Bioavailability of These Minerals and Calcium in Late-Phase Laying Hens.  
1543 **Biological Trace Element Research**, v.167, n. 2, p. 300–307, 2015.
- 1544 YU, Q. et al. Effect of the level and source of supplementary dietary zinc on egg production,  
1545 quality, and zinc content and on serum antioxidant parameters and zinc concentration in laying  
1546 hens. **Poultry Science**, v.99, n. 11, p. 6233–6238, 2020.
- 1547 ZAFAR, M. H.; FATIMA, M. A. Review: Efficiency Comparison of Organic Minerals in Poultry  
1548 Nutrition. **Veterinary Research**, v. 70, n. 3, p. 53–59, 2018.
- 1549 ZHANG, Y. N. et al. Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic  
1550 anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v.96, n.  
1551 7, p. 2176–2183, 2017.
- 1552
- 1553
- 1554
- 1555
- 1556
- 1557
- 1558
- 1559
- 1560
- 1561
- 1562
- 1563
- 1564

1565

**CAPÍTULO II**

1566

1567

1568

1569

1570

---

**ESTIMATIVA DA EXIGÊNCIA SUPLEMENTAR DE ZINCO  
COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA FRANGAS POEDEIRAS  
LEVES**

**RESUMO**

1571

1572 Esta pesquisa teve como objetivo estimar o consumo ideal de zinco complexado a aminoácido  
1573 (Zn-CAA) em dietas contendo fitase para frangas de postura, com base no desempenho produtivo,  
1574 perfil bioquímico, biometria dos órgãos, avaliação óssea e retenção corporal de Zn. Um total de  
1575 360 frangas com seis semanas de idade da linhagem Dekalb White, foram distribuídas em  
1576 delineamento inteiramente casualizado em 6 tratamentos com 6 repetições de 10 aves cada. Os  
1577 tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas, variando  
1578 apenas os níveis de inclusão de Zn-CAA em: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg kg<sup>-1</sup>. O estudo  
1579 compreendo da 6<sup>o</sup> a 13<sup>o</sup> semana de vida. A ingestão de Zn foi calculada pelo modelo  $Y =$   
1580  $R_{max} * (1 - e^{(-b * x)})$ , onde  $R_{max}$  é a resposta máxima,  $e$  é o número de Euler,  $b$  é a taxa de  
1581 crescimento e  $x$  é a ingestão de Zn. A estimativa de Zn para cada variável foi calculada pela  
1582 inversão do modelo. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ( $P < 0,05$ ). Os parâmetros  
1583  $R_{max}$  e  $b$ , foram: 1086,9, 10,3489; 12,0191, 25,6703; 43.3056, 17.6338; 3.597, 19.0476; 115,3,  
1584 769,66; 819,4, 1211,8; 1080.36, 85.001 e 12,1113, 1,6135, para a fosfatase alcalina (FA), ganho  
1585 de peso médio (GPM), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), comprimento ósseo  
1586 (CO), densitometria proximal (DOP), densitometria distal (DOD) e retenção corporal de Zn  
1587 (RTCZn), respectivamente. Aplicando o modelo inverso para estimar o consumo de Zn,  
1588 encontrou-se 0,289, 0,117, 0,170, 0,158, 0,006, 0,004, 0,050 e 1,86 mg ave dia<sup>-1</sup>, para FA, GPM,  
1589 CR, CA, CO, DOP, DOD e RTCZn, respectivamente. Recomendamos até 1,86 mg ave dia<sup>-1</sup> de  
1590 Zn-CAA com inclusão de fitase (600 FTU) para garantir a atividade do Zn no metabolismo de  
1591 frangas poedeiras com base na retenção corporal de Zn-CAA.

1592

1593 **Palavras-chave:** Frangas poedeiras. Zinco aminoácido complexo. Exigência nutricional.  
1594 Retenção mineral. Densitometria óssea.

1595

**ABSTRACT**

1596 This experiment was designed to estimate the supplemental intake of zinc amino acid-complexed (Zn-  
1597 AAC). Three hundred and sixty Dekalb White laying pullets, aged 6 to 13 weeks, were randomly allocated  
1598 to 36 experimental cages with six treatments and six replicates. The treatments consisted of isonutritive and  
1599 isoenergetic experimental diets. The summit diet had a Zn content of 75 mg/kg, the low level was 5 mg/kg,  
1600 and the intermediate levels were 15, 25, 35, and 55 mg/kg, respectively, obtained by successive dilutions of  
1601 the summit diet with the low-level diet. One week before the end of the 13th week of life, blood was  
1602 collected for the serum biochemical profile. At the end of the 13th week of life, one poultry was selected  
1603 per replicate with a final average weight for analysis of body retention of Zn-AAC, and another poultry was  
1604 selected for the collection and weighing of tibias and organs. One bird was processed by autoclave and then  
1605 analyzed by ICP-OES at the beginning and end of the experimental period to quantify the Zn in the bird's  
1606 body, followed by the calculation of body Zn retention. The Zn-AAC requirement was calculated by the  
1607 equation  $Y = R_{max} * 1 - e(-bx)$ , where  $R_{max}$  is the maximum response,  $e$  is Euler's number,  $b$  is the growth  
1608 ratio, and  $x$  is the Zn-AAC intake. The estimate of Zn-AAC for each variable was calculated by the inversion  
1609 of the model. The data were adjusted by the Nlin procedure ( $P < 0.05$ ). The  $R_{max}$  and  $b$  parameters were:  
1610 1086.9, 10.3489; 12.0191, 25.6703; 43.3056, 17.6338; 3597, 190476; 115.3, 769.66; 819.4, 1211.8;  
1611 1080.36, 85.001 and 12.1113, 1.6135, for alkaline phosphatase (AP), mean weight gain (ADG), feed intake  
1612 (ADFI), feed conversion (FCR), bone length (BL), proximal bone densitometry (DBP), distal bone  
1613 densitometry (DBD) and body Zn retention (BRTZn), respectively. Applying the inverse model to estimate  
1614 Zn consumption, 0.289, 0.117, 0.170, 0.158, 0.006, 0.004, 0.050 and 1.86 mg bird day<sup>-1</sup> were found for AP,  
1615 ADG, ADFI, FCR, BL, DBP, DBD and BRTZn, respectively. We recommend up to 1.86 mg bird day<sup>-1</sup> of  
1616 Zn-AAC with phytase inclusion (600 FTU) to ensure Zn activity in the metabolism of laying hens based on  
1617 Zn-AAC body retention.

1618 **Keywords:** laying pullets; Phytase; Zinc Complex; Ideal requirement; mineral retention; Bone  
1619 densitometry.

## 1. INTRODUÇÃO

1620

1621 O Zn é componente essencial nas dietas das aves, participando em muitas vias metabólicas  
1622 essenciais para o crescimento e a vida dos animais, atuando como cofator enzimático e fator de  
1623 transcrição, participando de uma ampla variedade de processos bioquímicos e apresentando  
1624 papel essencial para as aves. Zinco complexado a aminoácidos apresenta maior absorção  
1625 intestinal pelos animais, pois é absorvido intacto pela mucosa intestinal (SAUER et al., 2017),  
1626 utilizando-se de carreadores intestinais de aminoácidos (GOFF, 2018). Isso evita que ocorra  
1627 dissociação e, conseqüentemente, a interações com outros nutrientes e fatores antinutricionais,  
1628 como o ácido fítico (GOFF, 2018).

1629

1630 As pesquisas atuais têm demonstrado que o Zn de fontes “orgânicas”, apresenta  
1631 influência no desempenho produtivo, na retenção de nutriente nos tecidos, na qualidade do ovo  
1632 e reduz o impacto ambiental causado pelo excesso de excreção desse metal (ESFAHANI et al.,  
1633 2021; ZHANG et al., 2017; MIN et al., 2018a; CUFADAR et al., 2020). O Zn atua no processo  
1634 antioxidante (LI et al., 2019) e aumenta a capacidade imunológica (HAN et al., 2020b). Fontes  
1635 de Zn de maior biodisponibilidade no organismo animal, justificam o investimento pela  
1636 indústria de ovos de mesa por evitar perdas relativas à mortalidade e morbidade das aves, além  
1637 de reduzir perdas de ovos por qualidade de casca. Contudo, embora muitos estudos com fontes  
1638 orgânicas de Zn já estejam documentados na literatura com galinhas poedeiras e frangos de  
1639 cortes, até o presente momento são inexistentes as pesquisas que determinem as estimativas das  
1640 exigências de Zn-CAA para frangas poedeiras leves consumindo dietas contendo fitase, nas  
1641 quais todos os outros minerais traço (exceto iodo) também foram suplementados como metais-  
1642 aminoácido.

1642

1643 As recomendações de Zn para frangas poedeiras de acordo com o NRC (1994) são de 35  
1644 mg/kg, não distingue fontes orgânicas e inorgânicas e são baseadas em estudos realizados com  
1645 frangos de corte. De acordo com Rostagno et al. (2017) a recomendação de Zn de fonte  
1646 “orgânica” para frangas poedeiras (24,09 mg/kg) representa uma redução de 55% da  
1647 recomendação do Zn oriundo de fontes inorgânicas (52,21 mg/kg). Deve-se avaliar tal  
1648 recomendação com a devida cautela. Por ser proveniente de pesquisas realizadas com frangos  
1649 de corte, avaliando a suplementação de diferentes fontes “orgânicas” de Zn, desconsiderando as  
particularidades de cada tipo de fonte.

1650 A ingestão suplementar do zinco para frangas poedeiras é fundamental, pois é nessa fase  
1651 que se encerra a formação do tecido ósseo cortical e inicia-se a mineralização, sendo necessário  
1652 maior retenção de minerais para apoiar a formação das cascas dos ovos no futuro, além de ser o  
1653 período que compreende a maior deposição de músculo e gordura, preparando a ave para o início  
1654 do período produtivo. Sendo assim, estabelecer uma exigência de Zn-CAA nessa fase de recria  
1655 é importante, pois o mesmo, atua na expressão de genes responsáveis pelo crescimento, controla  
1656 o apetite do animal, auxilia na absorção de gorduras influenciando na absorção de vitaminas  
1657 lipossolúveis A e E, além de atuar na defesa do organismo contra a auto oxidação (SUTTLE,  
1658 2010).

1659 Diante da importância do papel do Zn para frangas sobre o desempenho geral e na  
1660 formação óssea, hipotenzamos que a estimativa do consumo ideal de Zn como Zn-CAA, para  
1661 garantir crescimento, formação óssea e retenção corporal de Zn, bem como proporcionar saúde  
1662 adequada para frangas em crescimento gerará respostas ideais com menores níveis de inclusão  
1663 do que aqueles obtidos de pesquisas com minerais tradicionalmente oferecidos em dietas de  
1664 frangas poedeiras. Sendo assim, objetivamos estimar a ingestão suplementar de Zn-CAA para  
1665 frangas poedeiras, de acordo com a performance, avaliação óssea (crescimento, peso, resistência  
1666 e densitometria), bioquímica sérica e retenção corporal de Zn.

## 1667 2. MATERIAL E MÉTODOS

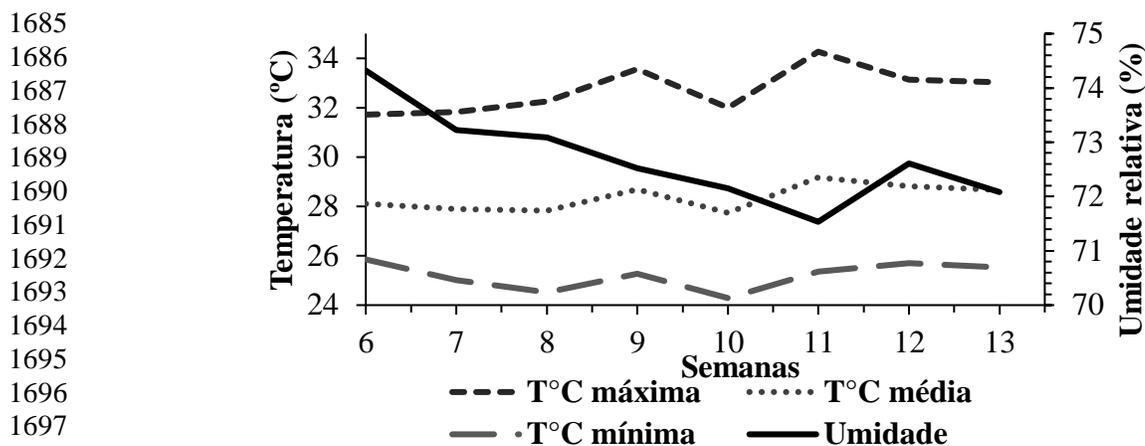
1668 Todos os procedimentos realizados nesse estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética  
1669 no uso dos Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) sob o  
1670 protocolo (n°6000110221).

### 1671 2.1 LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES

1672 O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisas com Aves (LAPAVE) do  
1673 Departamento de Zootecnia pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco (Latitude:  
1674 8°01'11.3"S e Longitude: 34°57'14.6"W).

1675 Foram utilizadas 360 frangas de postura da linhagem Dekalb White (6 a 13° semanas de  
1676 vida), alojadas em 36 gaiolas experimentais equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro  
1677 automático com copinho acoplado. As gaiolas experimentais foram previamente pintadas com  
1678 pinturas eletrostática, elas tinham dimensões de 50Lx80Ax50C cm, além de respeitar a  
1679 densidade de 140cm<sup>2</sup>/ave. Durante o experimento o fornecimento de água foi *ad libitum*,

1680 enquanto o de ração foi ajustado semanalmente conforme a necessidade nutricional. O programa  
 1681 de luz adotado foi o recomendado pelo manual da linhagem, em que, foram fornecidas 12 horas  
 1682 de luz natural. A temperatura e umidade relativa do ar foram registradas diariamente através de  
 1683 Datalogger (HOBO U12-012), localizado nas extremidades do galpão e termo-higrômetro  
 1684 digital (Incoterm, modelo 7663.02.0.00) localizado na região média do galpão (Figura 8).



**Figura 3** Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental

## 1700 2.2 DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

1701 As frangas de seis semanas de idade foram distribuídas em delineamento inteiramente ao  
 1702 acaso em 6 tratamentos com 6 repetições de 10 aves cada, de acordo com peso médio ( $432.94$   
 1703  $\pm 4.42$  g). O período experimental compreendeu da 6<sup>o</sup> a 13<sup>o</sup> semana de vida (sete semanas).

1704 Os tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas, variando  
 1705 apenas os níveis de inclusão de zinco complexado a aminoácidos em: 5, 15, 25, 35, 55 e 75  
 1706 mg/kg. A fonte orgânica utilizada apresentou os aminoácidos essenciais alanina, arginina, ácido  
 1707 aspártico, ácido glutâmico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina metionina, fenilalanina,  
 1708 prolina, serina, treonina, tirosina e valina em sua composição (Zinpro Corp., Eden Prairie, MN,  
 1709 Estados Unidos), todos ligados ao íon de zinco na proporção de 1:1.

1710 O premix micromineral utilizado foi composto pelos elementos zinco, cobre, manganês e  
 1711 ferro complexados a aminoácidos, o selênio na forma de Zinco-L-Selenometionina e o iodo na  
 1712 forma de iodato de cálcio. O premix forma formulados seguindo a exigências da linhagem  
 1713 (Dekalb White – Nutrition Guide, 2009). Exceto o zinco, que foi formulado em níveis crescentes  
 1714 de 5 a 75mg/kg de acordo com os tratamentos.

1715 As rações experimentais foram formuladas de acordo com o Rostagno et al. (2017) para

1716 atender às exigências nutricionais de acordo com a fase de criação das aves (Tabela 8).

1717 **Tabela 7** Composição calculada e analisada das dietas experimentais

<b>Ingredientes</b>	<b>%</b>	<b>Composição química e energética</b>	
<b>Milho</b>	68,185	<b>EMA<sup>4</sup>, kcal/kg</b>	2850
<b>Farelo de soja</b>	21,435	<b>Proteína Bruta, %</b>	15,141
<b>Calcário calcítico</b>	1,615	<b>Proteína Bruta<sup>5</sup>, %</b>	18,210
<b>Fosfato Bicálcico</b>	0,775	<b>Matéria Seca<sup>5</sup>, %</b>	89,310
<b>Bicarbonato de sódio</b>	0,150	<b>Matéria Mineral<sup>5</sup>, %</b>	14,042
<b>Sal Comum</b>	0,160	<b>Fósforo disponível%</b>	0,420
<b>DL-metionina 99</b>	0,085	<b>Cálcio %</b>	1,100
<b>Premix mineral <sup>1</sup></b>	0,200	<b>Sódio</b>	0,160
<b>Premix Vitamínico<sup>2</sup></b>	0,150	<b>Lisina digestível, %</b>	0,674
<b>Fitase<sup>3</sup></b>	0,006	<b>Metionina digestível, %</b>	0,310
<b>Inerte</b>	7,240	<b>Metionina + Cistina, %</b>	0,573
<b>Total</b>	100	<b>Na+K+Cl (Meq) mEq/kg</b>	178,540

1718 <sup>1</sup>Availa Zn: 120 g/kg de zinco, Availa Mn: 80 g/kg de manganês, Availa Cu: 100 g/kg de Cobre, Availa Fe:100  
 1719 g/kg de ferro, Availa Se: 1000 mg/kg de selênio, 628 g/kg de Iodato de cálcio; <sup>2</sup>Vitamina A (mín): 9.000.000,00  
 1720 UI/kg, Vitamina D3 (mín): 2.500.000,00 UI/kg, Vitamina E (mín): 20.000,00 UI/kg, Vitamina K3 (mín): 2.50 g/kg,  
 1721 Vitamina B1 (mín): 2.0 g/kg, Vitamina B2 (mín): 6.0 g/kg, Vitamina B6 (mín): 3.0 g/kg, Vitamina B12 (mín):  
 1722 15.000,00 mg/kg, Niacina (mín): 35.00 g/kg, Ac. Fólico (mín): 1.50 g/kg, Ac. Pantatênico (mín): 11.00 g/kg,  
 1723 Biotina (mín): 0.10 g/kg; <sup>3</sup>Fitase (mínimo) 10.000 FTU/g; <sup>4</sup>Energia metabolizável; <sup>5</sup>Valores analisados (AOAC  
 1724 2001).

1725

1726 Após a confecção das rações experimentais foi retirada uma alíquota de 500g de cada  
 1727 ração e congelada em freezer a -20°C, para posterior análise de matéria seca (MS), proteína  
 1728 bruta (PB) determinada pelo método de Micro - Kjeldahl (N × 6,25) (n° 954,01), Matéria  
 1729 Mineral (MM) em mufla (550°C; 18h) (n° 942,05) (AOAC, 2000).

1730 As dietas experimentais e a água utilizadas durante o estudo, também foram analisadas  
 1731 quanto à composição mineral descrita a seguir (Tabela 9).

1732 **Tabela 8** Concentração de Zn, Mn, Fe, Cu, Ca e P nas dietas e água experimentais

<b>Dietas*</b>	<b>Zn (mg/kg)</b>	<b>Mn (mg/kg)</b>	<b>Cu (mg/kg)</b>	<b>Fe (mg/kg)</b>	<b>Ca (g/kg)</b>	<b>P Total (g/kg)</b>
<b>Zn-CAA - 5</b>	35.04	67.25	8.46	257.39	7.72	5.19
<b>Zn-CAA - 15</b>	50.88	69.34	8.28	355.84	7.16	5.34
<b>Zn-CAA - 25</b>	60.30	68.11	9.94	221.79	7.86	5.81
<b>Zn-CAA - 35</b>	71.76	72.73	10.96	271.53	7.54	5.57
<b>Zn-CAA - 55</b>	82.13	64.08	9.84	232.79	7.20	5.79
<b>Zn-CAA - 75</b>	111.91	66.01	9.04	248.86	7.78	5.48
<b>Água*</b>	0,036	0,009	0,012	0,000	16,12	0,000

1733 \*Valores obtidos em ICP-OES

### 1734 2.3 DESEMPENHO PRODUTIVO

1735 O desempenho foi avaliado por meio do peso vivo (g), ganho de peso médio (g), consumo  
1736 de ração e conversão alimentar. O consumo de ração e a pesagem dos animais foram realizadas  
1737 semanalmente.

### 1738 2.4 PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

1739 Na 12<sup>a</sup> semana de idade coletou-se amostra de sangue da veia jugular de duas aves por  
1740 parcela, sendo coletado 5ml de sangue por ave. Uma amostra de 5 ml foi destinada a análise do  
1741 perfil hematológico. A contagem das hemácias, leucócitos e plaquetas foi realizada em câmara  
1742 de Neubauer, após diluição com reagente Natt-Herrick. O hematócrito foi obtido através do  
1743 método microcapilar. A segunda amostra de 5 ml foi destinada para análise do perfil bioquímico,  
1744 sendo identificadas e centrifugadas a 3500 - 4000 rpm durante 15 minutos; em seguida, com o  
1745 auxílio de uma pipeta, foram coletados 2 ml de soro, que foi congelado em freezer até o  
1746 momento das análises. Foram avaliados, ácido úrico, Aspartato Aminotransferase (AST),  
1747 fosfatase alcalina (FA), albumina, proteínas totais e globulina. As amostras foram  
1748 descongeladas à temperatura ambiente e preparadas de acordo com a metodologia descrita pelo  
1749 kit comercial (BIOCLIN®), sendo posteriormente submetidas à leitura em espectrofotômetro  
1750 (Bioclin, Biolisa Reader).

### 1751 2.5 AMOSTRAGEM PARA RETENÇÃO CORPORAL DE Zn E AVALIAÇÃO DE OSSOS

#### 1752 2.5.1 Retenção corporal

1753 Para avaliação da retenção corporal do mineral foram coletadas seis aves com seis  
1754 semanas de idade no início da pesquisa e uma ave por parcela experimental, totalizando 36 aves  
1755 na 13<sup>a</sup> semana de idade.

#### 1756 2.5.2 Coleta das tíbias

1757 As tíbias direita e esquerda foram coletadas e acondicionadas em tubos coletores  
1758 devidamente identificados e congelados em freezer a - 20°C. Inicialmente todas as tíbias foram  
1759 descongeladas em temperatura ambiente e descarnadas sem provocar injúrias na estrutura óssea.  
1760 As tíbias esquerdas foram destinadas à avaliação do peso, comprimento e índice de *Seedor* e as  
1761 tíbias direitas foram destinadas para a avaliação da densitometria e resistência óssea.

### 1762 2.6 AVALIAÇÃO ÓSSEA

#### 1763 2.6.1 Peso, comprimento e índice de *Seedor* das tíbias

1764 Para determinação do peso, comprimento e índice de *Seedor*, as tíbias foram  
1765 descongeladas em temperatura ambiente e pesadas em balança semi-analítica de precisão de

1766 0,01g (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália); para o comprimento, as tíbias foram  
 1767 postas sobre uma bancada plana e então medidas com o auxílio de um paquímetro digital (Model  
 1768 Absolute Digital AOS Mitutoyo, SP, BR - precisão de 0,01 mm). Posteriormente, as tíbias foram  
 1769 analisadas em mufla para obtenção da matéria mineral ou cinzas (550°C; 4h) (n° 942.05)  
 1770 (AOAC, 2000). Após a pesagem das cinzas dos ossos e medição das tíbias, foi calculado o  
 1771 Índice de *Seedor* (SEEDOR et al., 1993), dividindo-se o peso das cinzas do osso (mg) pelo seu  
 1772 comprimento (mm).

### 1773 2.6.2 Densitometria óssea

1774 A densitometria óssea foi avaliada por meio de tomografia computadorizada com o  
 1775 equipamento HiSpeed FXI CT scanner (General Electric, Fairfield, CT 06824, USA). O  
 1776 phantom de hidroxiapatita de cálcio foi usado para identificação da densidade óssea. Os ossos  
 1777 foram dispostos lado a lado na mesa de scanner para aquisição das imagens. Posteriormente, as  
 1778 imagens foram analisadas no Software Dicom (versão 1,1,7, Horos, Purview, Annapolis, MD  
 1779 21401, EUA) e então identificada a região da diáfise. Para a estimativa dos valores individuais  
 1780 da radiodensidade óssea da tíbia, primeiramente foram executados três níveis de corte da diáfise  
 1781 (proximal, medial e distal) e cada região dos cortes foram divididos em quadrantes e uma região  
 1782 circular de interesse (ROI) selecionada para avaliação da densitometria do osso cortical  
 1783 (OLIVEIRA et al., 2012). Os resultados foram obtidos em unidade Hounsfield (HU), os quais  
 1784 foram convertidos para  $\text{mg}/\text{cm}^3$  de hidroxiapatita de cálcio (BMD), com o auxílio da equação  
 1785 descrita por Park et al. (2015):

$$1786 \quad \text{BMD} = \frac{200 \text{ HU}_t}{(\text{HU}_b - \text{HU}_w)}$$

1787 Sendo  $\text{HU}_t$  a radiodensidade do osso mensurado;  $\text{HU}_b$  a radiodensidade do espectro de osso,  
 1788 que contém 200 mg de hidroxiapatita de cálcio/ $\text{cm}^3$ ; e  $\text{HU}_w$  a radiodensidade do espectro da  
 1789 água, sem hidroxiapatita de cálcio.

### 1790 2.6.3 Resistência óssea

1791 A análise de resistência óssea foi realizada utilizando um texturômetro universal (Modelo  
 1792 TA-XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido). A resistência óssea foi definida  
 1793 através da aplicação da força por meio de um ensaio de flexão, em que a força é aplicada em  
 1794 um ponto central, previamente definido através da média do comprimento da tíbia. A força é  
 1795 empregada até a deformação máxima do osso, sendo realizada em máquina de ensaios universais  
 1796 com capacidade de 100kN (EMIC, modelo DL-10000), com o auxílio do software Tesc EMIC,

1797 que registrou a força (kgf) necessária para ocorrer a quebra total do osso. A distância entre  
1798 apoios foi de 40 mm e a velocidade de deslocamento empregada pela célula de carga de 50 kg  
1799 a uma velocidade de 10 mm/min.

## 1800 2.7 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MINERAL

### 1801 2.7.1 Amostras de composição corporal

1802 Aves foram armazenadas em sacos plásticos selados a vácuo para o processamento. Em  
1803 seguida, passaram por cozimento na autoclave vertical (Phoenix Inc, São 530 Paulo, Brasil) a  
1804 127° C a 1 atm por 2:30h e em seguida houve a homogeneização em liquidificador industrial  
1805 (Skymesen Inc, Santa Catarina, Brasil) para obtenção de uma alíquota amostral representativa.  
1806 As amostras de composição corporal inicial (CCI) e composição corporal final (CCF) das  
1807 pintainhas passaram por secagem em liofilizador (n° 925,09) (AOAC, 2000) e foram  
1808 armazenadas para análise de mineral.

## 1809 2.8 QUANTIFICAÇÃO MINERAL

### 1810 2.8.1 Composição corporal de frangas e rações experimentais

1811 Depois da secagem, foram pesadas 0,5 g das amostras de composição corporal e ração  
1812 foram digeridas em 6 ml de HNO<sub>3</sub> (65%) em forno micro-ondas (*Mars Xpress: Thechnology*  
1813 *Inside, Cem Corporation*) e submetidas ao programa de aquecimento com três etapas, onde 1°  
1814 etapa: 1,300 potência (W), 10 minutos e temperatura de 120°C; 2° etapa: 1,500 potência (W),  
1815 15 minutos e temperatura de 170°C e 3° etapa: 1,500 potência (W), 35 minutos e temperatura  
1816 de 170°C. A solução obtida foi filtrada em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas com  
1817 água deionizada até atingirem o volume de 25ml.

1818 Os minerais cálcio, fósforo, zinco, manganês, cobre e ferro foram quantificados nas rações  
1819 e na água. Na amostra da composição corporal quantificamos apenas o zinco. A quantificação  
1820 dos minerais foi realizada pelo Laboratório de Química Ambiental de Solos da UFRPE através  
1821 do espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (*Optima*  
1822 *7000 DV ICP – OES, PerkinElmer*).

### 1823 2.9 RETENÇÃO CORPORAL DE ZINCO

1824 Para a retenção corporal de Zn (RTCZn), calculamos a retenção de Zn a partir da seguinte  
1825 fórmula:

$$1826 \quad \text{RTCZn} = (\text{peso final da carcaça} \times \text{conteúdo corporal final de Zn}_{\% \text{ matéria natural}}) - (\text{peso}$$
$$1827 \quad \text{inicial da carcaça} \times \text{conteúdo corporal inicial de Zn}_{\% \text{ matéria natural}})$$

## 1828 2.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

1829 Os dados foram submetidos previamente a homogeneidade das variâncias (Bartlett) e  
 1830 normalidade dos resíduos (Shapiro-wilk) para depois serem submetidos à análise de variância.  
 1831 Posteriormente, efetuou-se a análise de regressão não-linear pelo procedimento PROC NLIN no  
 1832 SAS (2004) com 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

1833 A relação entre cada variável estudada e a ingestão do Zn-CAA foi modelada pela função  
 1834 matemática de Mitscherlich e, a partir da inversão desse modelo matemático foi estimado a  
 1835 ingestão suplementar de Zn-CAA para cada variável.

1836 O modelo utilizado (Mitscherlich 1909) está relacionado com a interação entre a variável  
 1837 estudada e a ingestão do Zn-CAA por dois fatores: máxima resposta ( $R_{max}$ ) e qualidade da  
 1838 variável resposta ( $b$ ):

$$1839 \quad \text{Zn-CAA} = R_{max} * (1 - e^{(-b * x)})$$

1840 Onde:  $R_{max}$  é a resposta máxima, “e” é o número de Euler,  $b$  é a taxa de incremento e  $x$  é a ingestão de  
 1841 Zn. Sendo que, o número de Euler é o valor da suplementação a partir do qual a resposta se estabiliza.

1842 Invertendo esta equação, obtém-se a estimativa do consumo ideal de Zn-CAA para  
 1843 máxima resposta da variável resposta, tendo:

$$1844 \quad Y = -\ln \frac{(x - R_{max})}{\beta}$$

1846 E derivando o modelo de Mitscherlich, encontramos a eficiência marginal com base na  
 1847 resposta da ingestão e/ou consumo máximo de Zn-CAA:

$$1848 \quad \frac{\Delta x}{\Delta y} = R_{max} * (1 - e^{(-\beta * x)}) = R_{max} * \beta * \exp^{(-\beta * x)}$$

## 1849 3 RESULTADOS

### 1850 3.1 DESEMPENHO PRODUTIVO

1851 Observamos efeito significativo ( $P < 0.05$ ) sobre ganho de peso diário (GPD), consumo  
 1852 de ração (CR) e conversão alimentar (CA) das frangas poedeiras quando consumiram diferentes  
 1853 níveis de Zn-CAA (Tabela 10).

1854 **Tabela 9** Desempenho de frangas poedeiras (6 a 13 semanas de idade) suplementadas com  
 1855 diferentes níveis Zn-CAA nas dietas.

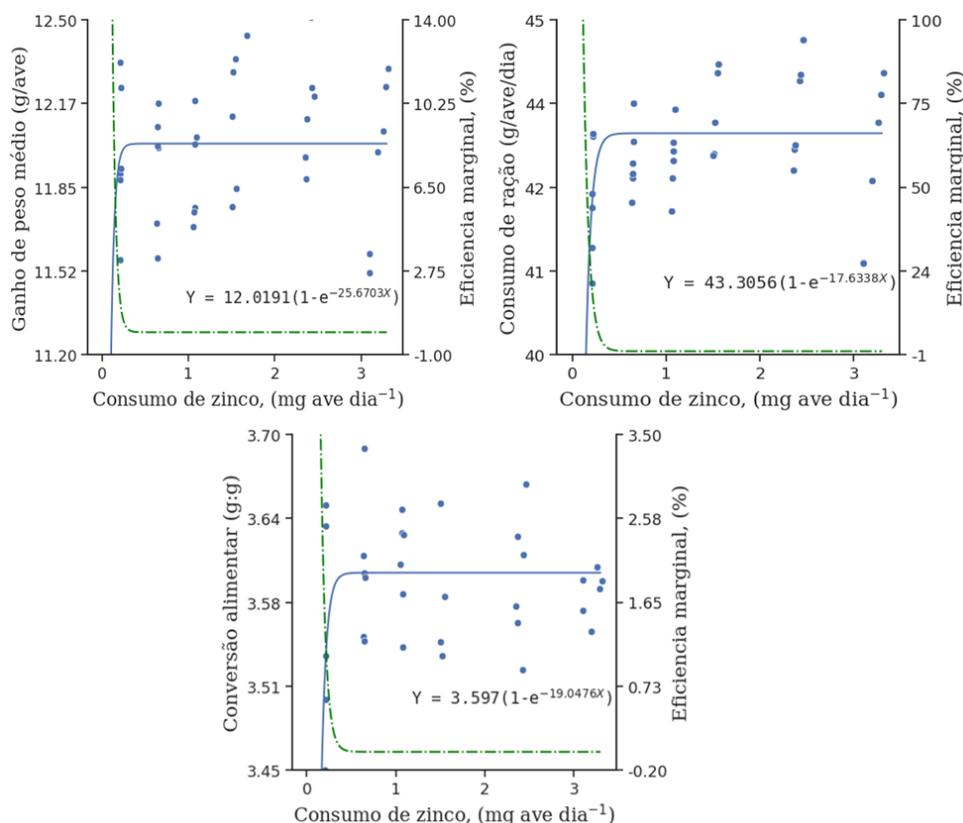
Zn-CAA <sup>1</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn-CAA <sup>2</sup> (mg ave dia <sup>-1</sup> )	GPM <sup>3</sup> (g/ave)	CR <sup>4</sup> (g ave dia <sup>-1</sup> )	CA <sup>5</sup> (g.g <sup>-1</sup> )
5	0,22	11,97	42,30	3,535
15	0,65	11,93	42,90	3,598
25	1,08	11,91	42,92	3,603
35	1,52	12,14	44,31	3,612
55	2,38	12,15	43,65	3,590
75	3,25	11,95	42,82	3,582
<b>Média</b>		12,01	43,15	3,586
<b>P-valor</b>		0,001	0,001	0,001
<b>EPM<sup>6</sup></b>		0,0689	0,4927	0,0031
<b>Rmax<sup>7</sup></b>		12,0191	43,3056	3,597
<b>b<sup>7</sup></b>		25,6703	17,6338	19,0476

1856 <sup>1</sup>Suplementação de Zn-CAA; <sup>2</sup>Consumo de Zn-CAA; <sup>3</sup>GPM – ganho de peso médio; <sup>4</sup>CR – consumo de ração;

1857 <sup>5</sup>CA – conversão alimentar; <sup>6</sup>Erro padrão da média; <sup>7</sup>Parâmetros do modelo matemático

1858

1859 Com essa resposta no desempenho, possibilitou estimar a ingestão suplementar de Zn-  
 1860 CAA de acordo com o modelo matemático não linear. Baseado na resposta máxima estimamos  
 1861 o consumo de Zn-CAA de 0,117, 0,170, 0,158 mg ave dia<sup>-1</sup> de acordo com o GPM, CR e CA  
 1862 respectivamente, conforme os parâmetros matemáticos (Rmax e b). Verificando que, ocorre  
 1863 uma estabilização depois da resposta máxima das variáveis resposta, além de redução da  
 1864 eficiência marginal com o aumento do consumo de Zn-CAA, conforme mostrado nos gráficos  
 1865 da Figura 9.



1866 **Figura 4** Nos gráficos são mostrados, a resposta máxima do GPM, CR e CA com base no consumo de  
 1867 Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia-  
 1868 1) com base no GPM, CR e CA de frangas poedeiras (Seia a 13<sup>o</sup> semana de idade) está representada pela  
 1869 linha tracejada em verde.

### 1870 3.2 PERFIL BIOQUÍMICO

1871 Conforme sumarizado na Tabela 11, a suplementação de Zn-CAA influenciou apenas na  
 1872 atividade da fosfatase alcalina (FA) das aves. As variáveis aspartato aminotransferase (AST),  
 1873 albumina (ALB) e globulina (GLOB) se mantiveram dentro das faixas de normalidade entre as  
 1874 diferentes suplementações de Zn como Zn-CAA.

1875 **Tabela 10** Bioquímica sérica de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com Zn-  
1876 CAA

Zn-CAA <sup>1</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn-CAA <sup>1</sup> (mg ave dia <sup>-1</sup> )	AST <sup>2</sup> (UI/L)	FA <sup>3</sup> (UI/L)	ALB <sup>4</sup> (g/L)	GLOB <sup>5</sup> (g/L)
5	0,22	188,94	965,36	20,70	20,48
15	0,65	200,44	1053,99	20,33	19,25
25	1,08	191,70	1157,98	20,25	19,87
35	1,52	199,98	978,69	20,90	22,00
55	2,38	197,98	979,08	20,62	20,53
75	3,25	197,98	1245,18	20,62	20,53
<b>Média</b>		196,17	1068,75	20,57	20,44
<b>P-valor</b>		0,26	0,001	0,16	0,23
<b>EPM<sup>6</sup></b>		0,04	0,06	0,06	0,04
<b>Rmax<sup>7</sup></b>		-	1086,9	-	-
<b>b<sup>7</sup></b>		-	103,489	-	-

1877 <sup>1</sup>Consumo de Zn-CAA; <sup>2</sup>Aspartato aminotransferase; <sup>3</sup>Fosfatase alcalina; <sup>4</sup>Albumina; <sup>5</sup>Globulina; <sup>6</sup>Erro padrão da  
1878 média; <sup>7</sup>Parâmetros do modelo matemático

1879

1880

1881

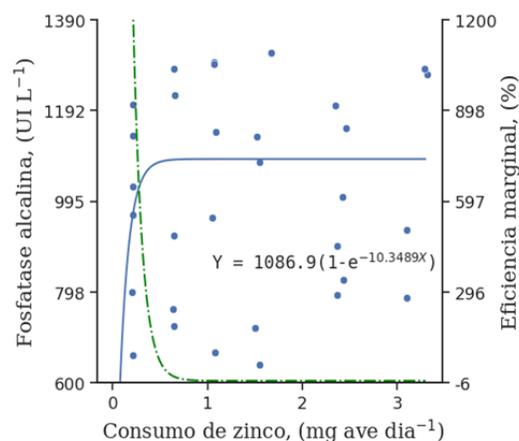
1882

1883

1884

1885

A curva obtida como resposta da atividade da FA possibilitou a estimativa da ingestão suplementar de Zn-CAA de acordo com o modelo matemático não linear. Baseado na resposta máxima da FA estimamos um consumo de Zn-CAA de 0,289 mg ave dia<sup>-1</sup>, conforme os parâmetros do modelo (Rmax e b), onde verificamos que, houve uma estabilização depois da resposta máxima das variáveis, além de redução da eficiência marginal com o aumento do consumo de Zn-CAA (Figura 10).



1886

1887

1888

1889

1890

**Figura 5** No gráfico é mostrado, a resposta máxima da FA com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) com base na FA no soro de frangas poedeiras (Seis a 13ª semana de idade) está representada pela linha tracejada em verde.

### 3.3 AVALIAÇÃO ÓSSEA

Os níveis de suplementação com Zn-CAA, nas dietas das frangas influenciaram ( $P < 0.5$ ) no

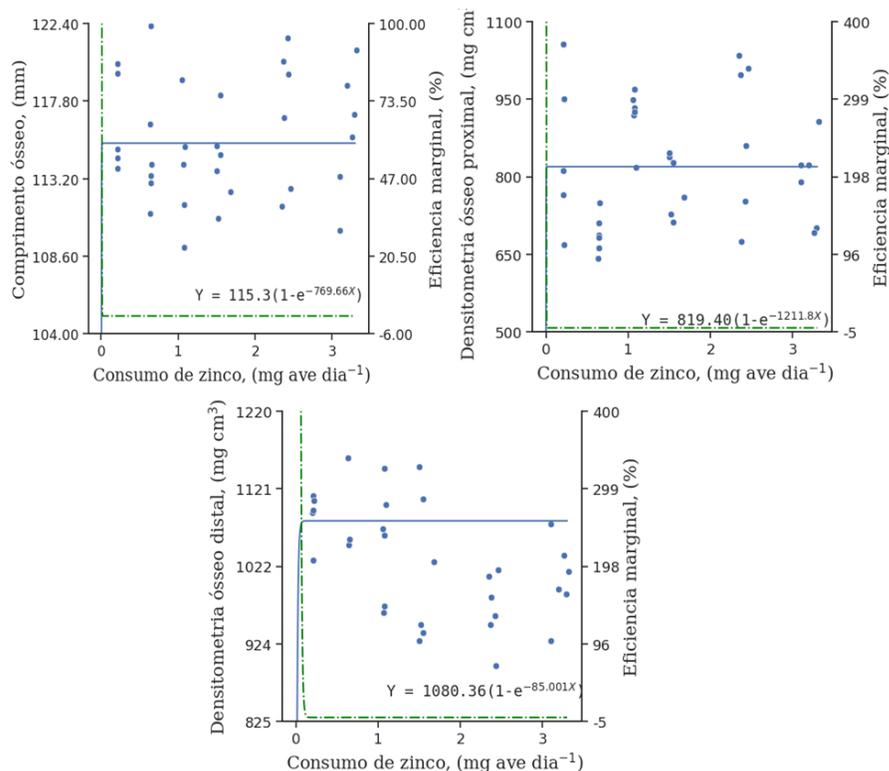
1891 comprimento da tíbia (CM) e densitometria óssea da diáfise proximal e distal (Tabela 12).

1892 **Tabela 11** Densitometria das tíbias das frangas de postura (13 semanas de vida) suplementadas  
1893 com Zn-CAA

Zn-CAA <sup>1</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn-CAA <sup>2</sup> (mg ave dia <sup>-1</sup> )	PO <sup>3</sup> (g)	CO <sup>4</sup> (mm)	DOP <sup>5</sup> (HU)	DOM <sup>6</sup> (mg cm <sup>3</sup> )	DOD <sup>7</sup> (mg cm <sup>3</sup> )
5	0,22	9,24	116,52	850,09	1094,40	1086,78
15	0,65	9,06	115,02	689,15	1051,69	1088,69
25	1,08	8,69	113,80	919,34	992,46	1052,66
35	1,52	8,71	114,13	785,06	1018,32	1016,57
55	2,38	9,09	117,00	888,24	964,02	969,02
75	3,25	9,1	115,94	789,24	1061,95	1006,05
<b>Média</b>		8,98	115,42	819,33	1031,82	1020,18
<b>P-valor</b>		0,989	0,001	0,001	0,98	0,001
<b>EPM<sup>8</sup></b>		0,02	0,055	0,03	0,26	0,27
<b>Rmax<sup>9</sup></b>		-	115,3	819,4		1080,36
<b>b<sup>9</sup></b>			769,66	1211,8		85,001

1894 <sup>1</sup>Suplementação de Zn-CAA; <sup>2</sup>Consumo de Zn-CAA; <sup>3</sup>Peso ósseo; <sup>4</sup>comprimento ósseo; <sup>5</sup>Densitometria óssea  
1895 proximal; <sup>6</sup>Densitometria óssea medial; <sup>7</sup>Densitometria óssea distal; <sup>8</sup>Erro padrão da média; <sup>9</sup>Parâmetros do modelo  
1896 matemático.

1897 A ingestão suplementar do Zn-CAA de 0,006, 0,004 e 0,05 mg ave dia<sup>-1</sup>, baseada na resposta  
1898 máxima, conforme os parâmetros do modelo matemático (Rmax e b) do CO, DOP e DOD das  
1899 tíbias de frangas poedeiras respectivamente. Verificando-se a estabilização das variáveis resposta  
1900 com o aumento da ingestão de Zn-CAA (Figura 11).



1901 **Figura 6** Nos gráficos são mostrados, a resposta máxima do CO, DOP e DOD com base no consumo de Zn-CAA, está  
 1902 representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia-1) com base no CO, DOP e  
 1903 DOD de frangas poedeiras (Seis a 13ª semana de idade) está representada pela linha tracejada em verde.

1904

### 1905 3.4 RETENÇÃO CORPORAL DE Zn

1906 A retenção corporal de frangas poedeiras foi influenciada pela ingestão suplementar de Zn-  
 1907 CAA (Tabela 13). O aumento do consumo de Zn-CAA pelas frangas elevou a RTCZn no corpo,  
 1908 promovendo uma estabilização da retenção com o consumo máximo de Zn-CAA.

1909 **Tabela 12** Retenção corporal de Zn das frangas poedeiras (6 a 13 semana de vida) suplementada  
 1910 com Zn-CAA

Zn-CAA <sup>1</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn-CAA <sup>2</sup> (mg ave dia <sup>-1</sup> )	PCMi <sup>3</sup> (g)	PCMf <sup>3</sup> (g)	[ZnCCI] <sup>4</sup> (g)	[ZnCCF] <sup>4</sup> (g)	RTCZn <sup>5</sup> (g)
5	0,22	433	977	0,013	0,0105	4,556
15	0,65	433	1024	0,013	0,0130	7,615
25	1,08	433	1000	0,013	0,0143	9,627
35	1,52	433	1047	0,013	0,0148	9,753
55	2,38	433	1011	0,013	0,0203	14,766
75	3,25	433	1004	0,013	0,0162	10,507
<b>Média</b>		-	-	-	-	9,466
<b>P-valor</b>		-	-	-	-	0,001
<b>EPM<sup>6</sup></b>		-	-	-	-	0,597
<b>Rmax<sup>7</sup></b>		-	-	-	-	12,1113
<b>b<sup>7</sup></b>		-	-	-	-	1,6135

1911 <sup>1</sup>Suplementação de Zn-CAA; <sup>2</sup>Consumo de Zn-CAA; <sup>3</sup>Peso médio da carcaça inicial e final; <sup>4</sup>Concentração corporal  
 1912 inicial e final de Zn; <sup>5</sup>Retenção corporal de Zn-CAA; <sup>6</sup>Erro padrão da média; <sup>7</sup>Parâmetros do modelo matemático

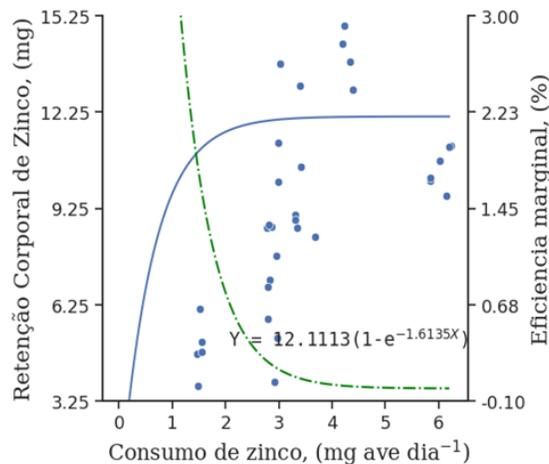
1913

1914

1915

1916

Estimamos o consumo ideal do Zn-CAA de 1,86 mg ave dia<sup>-1</sup>, com base nos parâmetros do modelo matemático (Rmax e b). Demonstrando estabilização da retenção corporal de Zn-CAA com o aumento da ingestão conforme mostra a Figura 12.



1917

1918

1919

**Figura 7** Nos gráficos são mostrados, a resposta máxima da RTCZn com base no consumo de Zn-CAA, está representada pela linha azul e a eficiência marginal do consumo de Zn-CAA (mg ave dia<sup>-1</sup>) de acordo com a RTCZn em frangas poedeiras (Seis a 13<sup>o</sup> semana de idade) está representada pela linha tracejada em verde

1920

#### 4 DISCUSSÃO

1921

1922

1923

As linhagens de poedeiras com alta produção são criadas em gaiolas, possibilitando um maior controle e otimização do espaço da criação. Contudo, este ambiente de criação, reduz a mobilidade e locomoção das aves, além de reprimir suas atividades naturais. A redução de movimentos reduz

1924 a hipertrofia muscular e a calcificação dos ossos. O sistema esquelético não apenas fornece suporte  
1925 estrutural para o animal, como é uma importante fonte mineral para a necessidade metabólica,  
1926 desempenhando um papel importante no crescimento e desenvolvimento do esqueleto. A  
1927 suplementação de dietas com microminerais tem mostrado ser uma boa estratégia para melhora da  
1928 formação esquelética e deposição óssea de frangas criadas e recriadas em gaiolas.

1929 A estimativa das exigências nutricionais requer uma certa cautela, principalmente no uso de  
1930 modelos matemáticos que sejam adequados para o objetivo da pesquisa. Neste estudo, o modelo  
1931 matemático que se ajustou aos dados para estimar a ingestão suplementar ideal de Zn-CAA foi o  
1932 modelo não linear. Os modelos não lineares são preconizados por melhor se adequarem às respostas  
1933 fisiológicas e metabólicas do animal. Na fase de recria, ocorre o desaceleramento do crescimento  
1934 ósseo e a prioridade do organismo é o metabolismo ósseo. A modulação do esqueleto cortical é a  
1935 chave para deposição de nutrientes necessários para todo o período produtivo. Os modelos não  
1936 lineares são mais sensíveis em relação as respostas fisiológicas e metabólicas do animal. A  
1937 funcionalidade da equação desse modelo matemático não é linear em relação aos parâmetros  
1938 desconhecidos (RATKOWSKI, 1983).

1939 O desempenho produtivo das frangas poedeiras deste estudo esteve de acordo com o  
1940 preconizado pela linhagem, porém o máximo desempenho foi obtido com a suplementação de Zn-  
1941 CAA entre 0,117 e 0,158 mg ave dia<sup>-1</sup>. Quando o Zn está deficiente ou não disponível para o  
1942 animal, o crescimento é comprometido, como o consumo alimentar e o desenvolvimento do animal.  
1943 A formação óssea pode apresentar anormalidades, alterações no crescimento das penas, dermatite,  
1944 redução na eclodibilidade dos ovos férteis e prejuízos na reprodução (BYRNE; MURPHY, 2022).  
1945 Além disso, a imunidade do animal é comprometida.

1946 Brito et al. (2006) avaliaram a utilização de diferentes níveis de microminerais na forma de  
1947 complexo orgânico em aves no período de recria (7 a 12 semanas) em comparação a dieta controle  
1948 com fontes tradicionais dos minerais. Os níveis aplicados no estudo dos citados autores de Zn-  
1949 complexado a moléculas orgânicas foram 30; 37,5; 45; 52,5 e 60 mg kg<sup>-1</sup> e o nível de Zn inorgânico  
1950 de 60 mg kg<sup>-1</sup>. A menor suplementação de Zn “orgânico” utilizada pelos autores foi de 30 mg kg<sup>-1</sup>  
1951 <sup>1</sup>, um nível já muito alto, em relação ao nível encontrado como ideal neste estudo que foi de até  
1952 3,66 mg kg<sup>-1</sup> de alimento (0,158 mg ave dia<sup>-1</sup>) de Zn-CAA para manter o desempenho produtivo  
1953 (GPM, CR e CA) de aves na mesma fase de criação. No entanto, os citados autores não declararam  
1954 que tipo de complexo mineral utilizaram no estudo, o que dificulta a comparação, além do que, a

1955 fonte “orgânica” não foi superior a fonte convencional. Demonstrando que apesar dos autores  
1956 usarem o termo “orgânico”, não foram demonstradas respostas diferentes da fonte inorgânica. Ao  
1957 suplementar dietas de animais com microminerais complexados, espera-se que a molécula seja  
1958 captada e absorvida pelos carreadores intestinais do ligando químico. Por exemplo, metais  
1959 complexados a aminoácidos utilizam os carreadores de aminoácidos para serem captados e  
1960 absorvidos de forma intacta no organismo animal, apresentando alta estabilidade à variação do pH  
1961 do trato gastrintestinal, e sendo mais eficiente na sua biodisponibilidade do que outras fontes  
1962 inorgânicas e “orgânicas” (GAO et al., 2014).

1963 A deficiência de Zn ocorre principalmente com alterações no metabolismo intermediário do  
1964 animal, por isso, muitas vezes os sintomas podem demorar a aparecer, o que torna difícil o  
1965 diagnóstico. Apenas a estimativa de exigência com base no desempenho produtivo não é suficiente  
1966 para apoiar a hipótese de que determinada suplementação de Zn manteve as atividades metabólicas  
1967 dentro dos parâmetros esperados para a linha genética estudada. Por este motivo, devemos  
1968 considerar, principalmente, o perfil bioquímico, formação óssea e retenção corporal do Zn.

1969 O estado de saúde do animal pode ser refletido nos níveis bioquímicos do sangue, com  
1970 impacto sobre respostas fisiológicas e metabólicas do animal. A bioquímica sérica permite analisar  
1971 a atividade enzimática e os metabólitos sanguíneos envolvidos na função hepática e status  
1972 imunológico da ave. As aves utilizadas neste estudo estiveram em conforto térmico e de densidade  
1973 populacional na gaiola, de maneira que os parâmetros bioquímicos não sofreram alterações  
1974 influenciadas pelo nível suplementar de Zn-CAA, suas atividades e concentrações avaliadas estão  
1975 próximos da faixa de normalidade estabelecida para galináceos (LUMEIJ, 2008; CAMPBELL,  
1976 2015), descrita como sendo de 174,80 até 350 UI L<sup>-1</sup> para AST; 16 até 20 g L<sup>-1</sup> e 23 até 33 g L<sup>-1</sup>  
1977 para a ABL e GLOB, respectivamente.

1978 Os resultados aqui encontrados apenas confirmam que a suplementação de Zn como Zn-  
1979 CAA, em dietas contendo fitase, é capaz de manter a estabilidade no metabolismo do fígado e o  
1980 status imunológico das aves inalterados. Importante sempre realçar que, como a indústria de ovos  
1981 de mesa usa fitase nas dietas como rotina, ao incluir minerais traço complexados nas dietas, deve-  
1982 se também levar em conta a liberação destes cátions do ácido fítico, que estarão em sua forma  
1983 ionizada participando dos processos de captação pelos enterócitos por proteínas transportadoras  
1984 específicas, como comentado anteriormente.

1985 A suplementação com Zn, tanto para animais de produção quanto para qualquer indivíduo

1986 que esteja passando por estresse fisiológico de qualquer ordem, é necessária e imprescindível. A  
1987 pesquisa com fontes mais biodisponíveis busca aumentar a eficiência das respostas com níveis mais  
1988 baixos de suplementação, ou busca uma resposta otimizada com níveis específicos, ou ainda busca  
1989 melhorar a sustentabilidade da indústria produtora de insumos de origem animal.

1990 Medeiros-Ventura et al. (2020) concluíram que o Zn-CAA presente contribuiu para a defesa  
1991 do organismo de aves, principalmente aquelas submetidas a temperaturas inadequadas (estresse  
1992 pro frio). Principalmente, porque o Zn tem papel importante na resistência imunológica dos  
1993 animais, uma vez que ele tem impacto nos principais mediadores da imunidade, como enzimas,  
1994 peptídeos do timo, citocinas e metabólitos sanguíneos, o que explica sua importância na regulação  
1995 da proliferação, ativação e apoptose de células linfóides (RICHARDS et al., 2010).

1996 A fase de recria é de muita importância para definir a qualidade de um lote de poedeiras.  
1997 Quando a indústria termina de recriar o lote, as respostas de suas características, em especial a  
1998 qualidade óssea, deve satisfazer as expectativas dos técnicos em relação ao período produtivo.  
1999 Ingestões suplementares muito baixas, entre 0,09 e 1,16 mg kg<sup>-1</sup> (0,004 a 0,05 mg ave dia<sup>-1</sup>) foram  
2000 estimadas pelo modelo não linear utilizado para garantir a eficiência de formação do esqueleto  
2001 cortical em frangas poedeiras. Sendo esses níveis suficientes para o máximo comprimento da tíbia  
2002 e máxima densitometria da diáfise proximal e distal do osso. Significa que a partir destes níveis,  
2003 inclusões superiores gerariam uma resposta estável, sem melhoras adicionais.

2004 Brito et al. (2006) ao suplementarem com diferentes níveis de Zn (30; 37,5; 45; 52,5 e 60 mg  
2005 kg<sup>-1</sup>) de fonte “orgânica” em dietas de frangas poedeiras não observaram influência nas variáveis  
2006 comprimento, peso e espessura da tíbia. Mas, os autores usaram como primeiro nível de  
2007 suplementação uma inclusão já muito alta de Zn, que provavelmente, sobrepassava a exigência,  
2008 nas condições daquele estudo. Os níveis muito baixos que encontramos no presente estudo, podem  
2009 estar relacionados com a suplementação dos outros minerais traço da dieta (Mn, Cu, Fe e Se)  
2010 também complexados a aminoácidos, o que promove uma sinergia entre eles, e como consequência,  
2011 processos fisiológicos mais eficientes.

2012 O Zn é importante para a qualidade dos ossos, pois está relacionado à síntese de hormônios  
2013 envolvidos no crescimento, formação e manutenção óssea (MUSZYŃSKI et al., 2018). Além do  
2014 que, o Zn está envolvido, juntamente com o Cobre e o Manganês na síntese de colágeno e queratina.  
2015 O Zn participa da ativação da Aminoacil-tRNA sintetase em células osteoblásticas e através da  
2016 ativação da síntese de proteínas celulares (GLIMCHER, 1998; WHITEHEAD, 2004; LONG;

2017 ORNITZ, 2013). O osso é um tecido que se forma e se deforma a cada instante. E esta flexibilidade  
2018 ainda é mais proeminente em galinhas produtoras de ovos. Formados por uma matriz orgânica  
2019 recoberta de cristais inorgânicos, os ossos da ave servem de reserva mineral para apoiar a produção  
2020 futura de boas cascas de ovos e garantir esta remodelação dos ossos ao longo da vida das poedeiras  
2021 (FLORENCIO-SILVA, et al., 2015).

2022 Dietas deficientes em Zn podem resultar na ineficiência do metabolismo de enzimas e  
2023 hormônios envolvidos no crescimento (MUSZYNSKI et al., 2018), sistema imunológico (JAROSZ  
2024 et al., 2017) e no desenvolvimento, formação e mineralização óssea (KWIECIEN et al., 2016;  
2025 CHEN et al., 2018). Quando as dietas das aves são suplementadas com fontes de microminerais  
2026 complexados com aminoácidos, e não há uso imediato pelo organismo, parte deste elemento fica  
2027 retido no organismo na reserva de aminoácidos, para ser usado quando necessário, ao invés de ser  
2028 excretado imediatamente, reduzindo, conseqüentemente, o impacto econômico e ambiental da  
2029 atividade.

2030 A análise de Zn retido no organismo das frangas poedeiras do nosso estudo, foi importante  
2031 para definir o nível de inclusão recomendado na dieta nesta fase, com o qual se mantenha a maior  
2032 reserva do elemento para as diversas funções. De acordo com a resposta máxima de RTCZn,  
2033 frangas poedeiras leves, consumindo dietas contendo fitase, precisaram ingerir até 43,10 mg kg<sup>-1</sup>  
2034 (1,86 mg ave dia<sup>-1</sup>) de Zn-CAA. Este nível é 72% do valor recomendado em manual pela linha  
2035 genética (60mg kg<sup>-1</sup>) de fontes inorgânicas. As fontes orgânicas são mais bem aproveitadas no  
2036 organismo das aves, e contribuem significativamente para a eficiência do metabolismo do animal.

2037 Além do que, a expressão das proteínas transportadoras de Zn necessárias para captação (Zip)  
2038 e exportação (ZnT) é modulada pela concentração de Zn dos tecidos (AYDEMIR et al., 2012;  
2039 GOFF, 2018). A expressão da proteína Zip, que capta o Zn ionizado da luz intestinal para dentro  
2040 do enterócito, aumenta em deficiência e diminui em excesso. A proteína ZnT, que transporta o Zn  
2041 do citosol para o vaso linfático através da membrana basolateral do enterócito, diminui em  
2042 deficiência e aumenta em excesso. Quando um determinado tecido (fígado, intestino, tibia e corpo  
2043 inteiro) atinge o pico de concentração de Zn, a absorção líquida de Zn diminui por meio desses  
2044 mecanismos (RICHARDS et al., 2015). Portanto, a estabilização de Zn-CAA no corpo das aves  
2045 acima da ingestão máxima (43,10 mg kg<sup>-1</sup>) de acordo com a retenção corporal de Zn-CAA,  
2046 provavelmente reflete uma regulação da importação líquida de Zn pelo corpo, que é um nível 66%  
2047 acima do estimado para máximas respostas de desempenho produtivo e desenvolvimento ósseo.

2048 A mineralização ou formação óssea, inicia-se na zona hipertrófica inferior, onde os  
2049 condroclastos reabsorvem a matriz cartilaginosa e os condrócitos hipertrofiados sofrem apoptose e  
2050 são reabsorvidos pelos osteoblastos que secretam fosfatase alcalina auxiliando na formação da  
2051 matriz óssea de fibrilas de colágeno tipo I e cristais de hidroxapatita (FLORENCIO-SILVA et al.,  
2052 2015). Neste estudo, observamos que a atividade da FA sérica das frangas poedeiras foi  
2053 influenciada pelo nível de suplementação de Zn-CAA. Porém, sua máxima atividade, foi observada  
2054 quando os animais ingeriram 0,289 mg ave dia<sup>-1</sup> de Zn-CAA, uma suplementação de 7mg kg<sup>-1</sup>. O  
2055 que confirma a exigência baixa de Zn-CAA para formação óssea em dietas de frangas recriadas em  
2056 conforto térmico, com dietas contendo fitase e contendo Mn, Cu, Fe e Se complexados a  
2057 aminoácidos como únicas fontes suplementares.

2058 Jondreville et al. (2007) relataram que a fitase melhora eficientemente a disponibilidade de  
2059 Zn em pintos de corte em crescimento (até 25 dias de idade) alimentados com dietas de milho e  
2060 soja, e estimou que 100 FTU de fitase microbiana pode liberar o equivalente a 1,0 mg de zinco. Ao  
2061 et al. (2007) observaram que frangos de corte consumindo dietas com ou sem fitase (500 FTU/kg),  
2062 suplementadas com Zinco-proteinato (0, 2, 4, 8, 16 e 32 mg kg<sup>-1</sup>), obtiveram um valor estimado  
2063 para máximo ganho de peso, com a suplementação de Zinco-proteinato, de 12,0 mg kg<sup>-1</sup> sem fitase  
2064 e 7,4 mg kg<sup>-1</sup> com fitase.

2065 Os referidos autores (AO et al., 2007) reportaram um valor estimado de Zn liberado pela  
2066 enzima fitase na inclusão de 500 FTU/kg utilizada no estudo, como sendo 4,6 mg de Zn. Em nosso  
2067 estudo utilizamos fitase em inclusão de 600FTU/kg, e é claro que não podemos comparar com  
2068 outros estudos publicados, principalmente os com pintos de corte por causa das diferenças na  
2069 composição das dietas e porque não foram analisados os níveis de fósforo fitico das dietas destes  
2070 e dos estudos revisados. Mas, se fôssemos considerar, hipoteticamente, os mesmos níveis de P  
2071 fitico nas dietas utilizadas pelos citados autores, poderíamos dizer que pelo menos 5,52 mg de Zn  
2072 seriam liberados pela inclusão de 600 FTU nas dietas de nosso estudo, favorecendo, junto com a  
2073 suplementação de Zn-CAA, as funções biológicas das pintainhas.

2074 Apesar de ter como base outras variáveis estudadas para estimativa da ingestão suplementar  
2075 ideal de Zn, a estimativa por retenção corporal do elemento, nos dá segurança para uma  
2076 recomendação, que possibilita o uso para funções metabólicas diversas, mesmo aquelas que não  
2077 consideramos medir neste estudo. Além de garantir o suporte ao desempenho produtivo, qualidade  
2078 óssea e resposta imunológica. Ainda que se aplique a recomendação em dietas de frangas em

2079 situações de desafio, é provável que ainda haja retenção de Zn no organismo suficiente para apoiar  
2080 as respostas orgânicas.

## 2081 5 CONCLUSÃO

2082 Em conclusão, a estimativa da suplementação ideal de Zn-CAA em dietas de frangas  
2083 poedeiras leves, contendo fitase (600FTU/kg) e suplementadas com Mn, Cu, Fe e Se complexados  
2084 a aminoácidos, é de 43,10 mg /kg (1,86 mg ave dia<sup>-1</sup>) tomando como base a retenção corporal de  
2085 Zn, para garantir o perfeito desempenho produtivo, desenvolvimento ósseo, suporte ao sistema  
2086 imune e aos processos metabólicos diversos.

## 2087 6 AGRADECIMENTOS

2088 Agradecemos à Zinpro Corporation pelo apoio financeiro para com esta pesquisa; a  
2089 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo; ao  
2090 Laboratório de Caracterização de Propriedades Mecânicas do Departamento de Engenharia  
2091 Mecânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); Departamento de Medicina  
2092 Veterinária, setor de Diagnóstico por Imagem da Universidade Federal Rural de Pernambuco.  
2093 Assim como, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de  
2094 Pernambuco do Departamento de Zootecnia.

## 2095 7 REFERÊNCIA

- 2096 AO, T. et al. Effects of organic zinc and phytase supplementation in a maize–soybean meal diet on  
2097 the performance and tissue zinc content of broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 48, n. 6, p.  
2098 690–695, 2007.
- 2099 AYDEMIR, T. B.; SITREN, H. S.; COUSINS, R. J. The Zinc Transporter Zip14 Influences c-Met  
2100 Phosphorylation and Hepatocyte Proliferation During Liver Regeneration in Mice.  
2101 **Gastroenterology**, v. 142, n. 7, p. 1536- 1546.e5, 2012.
- 2102 AAFCO – Association of American Feed Control Officials (org.). **Official Publication**, Canada,  
2103 p. 408-425, 2021.
- 2104 BRITO, J. Á. G. de et al. Uso de microminerais sob forma de complexo orgânico em rações para  
2105 frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**,  
2106 v.35, n. 4, p. 1342-1348, 2006.
- 2107 BYRNE, L.; MURPHY R. A. Relative Bioavailability of Trace Minerals in Production Animal  
2108 Nutrition: A Review. **Animals**, v.12, n. 15, p.19-81, 2022.
- 2109 CAMPBELL, T. W. Bioquímica clínica das aves. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALISSON,  
2110 R. W.; CAMPBELL, T. W. (org.). **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo:  
2111 Roca, p. 1233-1257, 2015.
- 2112 CHEN, N. N. et al. Safety evaluation of zinc methionine in laying hens: Effects on laying  
2113 performance, clinical blood parameters, organ development, and histopathology. **Poultry Science**,  
2114 v.97, n. 4, p. 1120–1126, 2018.
- 2115 CUFADAR, Y. et al. Effects of Dietary Different Levels of Nano, Organic and Inorganic Zinc  
2116 Sources on Performance, Eggshell Quality, Bone Mechanical Parameters and Mineral Contents of  
2117 the Tibia, Liver, Serum and Excreta in Laying Hens. **Biological Trace Element Research**, v.193,  
2118 n. 1, p. 241–251, 2020.

- 2119 ESFAHANI, B. M. et al. Comparison the Zn-Threonine, Zn-Methionine, and Zn Oxide on  
2120 Performance, Egg Quality, Zn Bioavailability, and Zn Content in Egg and Excreta of Laying Hens.  
2121 **Biological Trace Element Research**, v.199, n. 1, p. 292–304, 2021.
- 2122 FLORÊNCIO-SILVA, R. et al. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That  
2123 Influence Bone Cells. **BioMed Research International**, v. 2015, n. 1, p. 1–17, 2015.
- 2124 FRIEDMAN, M., Ed.; CRC. Press, Absorption and Utilization of Amino Acids: *Volume 1, reprint;*  
2125 *apud* Reichl, J. R. Absorption and metabolism of amino acids studied *in vitro*, *in vivo* and with  
2126 computer simulations (Online), 2019.
- 2127 GAO et al. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life**  
2128 **Science**, v. 109, n. 1, p. 50-6, 2014.
- 2129 GARDNER, B. M. L. G. Absorption from a mixture of seventeen free amino acids by the isolated small  
2130 intestine of the rat. **Journal Physiol**, v. 255, n. 2, p. 563 – 574, 1975.
- 2131 GLIMCHER, M. J. The Nature of the Mineral Phase in Bone: Biological and Clinical Implications.  
2132 Em: **Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders**. [s.l.] Elsevier, 1998. p. 23–52e.
- 2133 GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–  
2134 base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy**  
2135 **Science**, v.101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.
- 2136 HAN, Q. et al. Effects of Dietary Zinc on Performance, Zinc Transporters Expression, and Immune  
2137 Response of Aged Laying Hens. **Biological Trace Element Research**, v.196, n. 1, p. 231-242,  
2138 2020.
- 2139 JAROSZ, Ł. et al. Effect of feed supplementation with zinc glycine chelate and zinc sulfate on  
2140 cytokine and immunoglobulin gene expression profiles in chicken intestinal tissue. **Poultry**  
2141 **Science**, v.96, n. 12, p. 4224–4235, 2017.
- 2142 JONDREVILLE, C. et al. Sparing effect of microbial phytase on zinc supplementation in maize–  
2143 soya-bean meal diets for chickens. **Animals**. v. 1, n. 6, p. 804-811, 2007.
- 2144 KWIECIEŃ, M. et al. Effects of zinc glycine chelate on growth performance, carcass  
2145 characteristics, bone quality, and mineral content in bone of broiler chicken. **Livestock Science**,  
2146 v.191, n. 1, p. 43–50, 2016.
- 2147 LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W. and Bruss, M.L., 1324  
2148 Eds., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, v. 872 p. 839–  
2149 1325, 2008.
- 2150 LONG, F.; ORNITZ, D. M. Development of the Endochondral Skeleton. **Cold Spring Harbor**  
2151 **Perspectives in Biology**, v. 5, n. 1, p. a008334–a008334, 2013
- 2152 MEDEIROS-VENTURA, W. R. L. et al. Zinc, manganese, and copper amino acid complexes  
2153 improve performance and bone characteristics of layer-type chicks under thermoneutral and cold  
2154 stress conditions. **Poultry Science**, v.99, n. 11, p. 5718-5727, 2020.
- 2155 MIN, Y. N. et al. Effects of methionine hydroxy analog chelated zinc on laying performance,  
2156 eggshell quality, eggshell mineral deposition, and activities of Zn-containing enzymes in aged  
2157 laying hens. **Poultry Science**, v. 97, n. 10, p. 3587–3593, 2018.
- 2158 MUSZYŃSKI, S. et al. Subsequent somatic axis and bone tissue metabolism responses to a low-

- 2159 zinc diet with or without phytase inclusion in broiler chickens. **PLOS ONE**, v. 13, n. 1,  
2160 p.e0191964, 2018.
- 2161 NRC - National research council. **Nutrient Requirements of Poultry**. 9. ed. Washington: Acad.  
2162 Press, 1994.
- 2163 OLIVEIRA, J. F. DE et al. Densitometria da vértebra dorsal, osso pleural e osso neural em  
2164 tartarugas verdes híidas por tomografia computadorizada quantitativa. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8,  
2165 p. 1440–1445, 2012.
- 2166 RICHARDS, J. D. et al. Trace Mineral Nutrition in Poultry and Swine. **Asian-Australasian**  
2167 **Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 11, p. 1527–1534, 2010.
- 2168 RICHARDS, J. D. et al. Greater bioavailability of chelated compared with inorganic zinc in broiler  
2169 chicks in the presence or absence of elevated calcium and phosphorus. **Open Access Animal**  
2170 **Physiology**, v. 2015, n.7, p. 97–110, 2015.
- 2171 ROSTAGNO, H. S. et al. Suplementação de vitaminas e de microminerais para aves e suínos.  
2172 In: \_\_\_\_\_(org.). **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Viçosa, 2017.
- 2173 SAS. SAS/STAT 3.1. User’s Guide. Version 3.1. Cary, NC: SAS, Institute Inc. 2004.
- 2174 SAUER, A. K. et al. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using  
2175 Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **BioMetals**, v.30, n. 5, p. 643–661, 2017.
- 2176 SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock: Fourth edition**. [S.l.]: [s.n.], 2010.
- 2177 SEEDOR, J. G. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in  
2178 rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.4, p. 265-270, 1993.
- 2179 ZHANG, Y. N. et al. Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic  
2180 anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v.96, n.  
2181 7, p. 2176–2183, 2017.
- 2182 WHITEHEAD, C. C. Overview of Bone Biology in the Egg-Laying Hen. **Poultry Science**, v. 83,  
2183 n. 1, p. 193-199, 2004.