

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

WALESKA ROCHA LEITE DE MEDEIROS VENTURA

FONTES E NÍVEIS DE MICROMINERAIS COM E SEM FITASE EM
DIETAS DE POEDEIRAS

RECIFE-PE

2022

WALESKA ROCHA LEITE DE MEDEIROS VENTURA

**FONTES E NÍVEIS DE MICROMINERAIS COM E SEM FITASE EM
DIETAS DE POEDEIRAS**

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: Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello

Coorientadores: Prof.^a Dr.^a Mércia Rodrigues
Barros; Prof^a Maria do Carmo M. M Ludke

RECIFE

2022

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)

M488ff Medeiros-Ventura, Waleska Rocha Leite
FONTES E NÍVEIS DE MICROMINERAIS COM E SEM FITASE EM DIETAS DE POEDEIRAS / Waleska
Rocha Leite Medeiros-Ventura. - 2022.
133 f. : il.

Orientador: Carlos Boa-Viagem Rabello.
Inclui referências.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife,
2022.

1. Minerais orgânicos. 2. Galinhas poedeiras. 3. Nutrição mineral. 4. Desempenho animal. 5. Qualidade de ovos. I.
Rabello, Carlos Boa-Viagem, orient. II. Título

CDD 636



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

**FONTES E NÍVEIS DE MICROMINERAIS COM E SEM FITASE EM
DIETAS DE POEDEIRAS**

Tese elaborada por

WALESKA ROCHA LEITE DE MEDEIROS VENTURA

Aprovada em 28/03/2022

BANCA EXAMINADORA

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

Profa. Dra. Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke
(UFRPE)

Profa. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza
(UFRPE)

Prof. Dr. Alex Martins Varela de Arruda
(UFERSA)

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

Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Não importa quais sejam os obstáculos e as dificuldades. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.

(Dalai Lama)

Ao meu Pai, Raimundo Nonato (in memoriam)

Por ser minha maior força e inspiração na vida

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar sempre meus passos e me fortalecer, permitindo-me chegar ao fim desta caminhada.

Aos meus pais, Raimundo Nonato (em memória) e Linêlda Leite, pelo apoio em todos os momentos difíceis, por acreditar na minha capacidade e me incentivar a seguir sempre em frente. Eternas saudades meu velho. Amo Vocês!

Ao meu marido, Rogério Ventura, companheiro de todas as horas, por nunca ter saído do meu lado e sempre ter acreditado em mim. Amo você!

Ao meu filho Bernardo Medeiros, por ser a criança mais incrível do mundo, por ter o sorriso mais confortável e encantador. Por você me superar todos os dias, na tentativa de ser uma pessoa cada vez melhor. Te amo incondicionalmente!

Aos meus irmãos, Raile Rocha e Michelline Rocha, por terem me incentivado a continuar minha jornada e segurando minha mão quando mais precisei.

Ao meu amigo Heraldo Bezerra, pelas palavras confortantes, pela ajuda no experimento de campo e laboratorial e pela sua amizade, que foi tão importante em momentos tão difíceis de minha vida.

Aos amigos Apolônio e Dayane, por toda ajuda durante o experimento de campo e pelos momentos divertidos juntos.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização da minha Pós-Graduação.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

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

Ao Prof. Carlos Bôa-Viagem, pela orientação, incentivo e todo apoio fornecido durante minha vida acadêmica.

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

Ao pós-doutorando Marcos José, pela ajuda na realização das análises estatísticas.

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

RESUMO

Dois experimentos foram desenvolvidos de forma simultânea com objetivo de avaliar o efeito de diferentes fontes e níveis de minerais complexados com aminoácidos, com ou sem a enzima fitase, sobre o desempenho produtivo, qualidade dos ovos e perfil sanguíneo de poedeiras. Para isso foram utilizadas 560 galinhas poedeiras da linhagem Dekalb White, com 67 semanas de idade, distribuídas aleatoriamente em 112 gaiolas experimentais com arranjo fatorial ($2 \times 3 + 2$), com oito repetições de cinco aves por unidade experimental (UE). O 1º fator foi a suplementação com a enzima fitase, e o 2º foram os níveis de inclusão de minerais complexados a aminoácidos (AACM) ou minerais complexados ao ácido glutâmico e a lisina (LGCM) nos níveis de 100, 70 e 40% mais dois tratamentos-controle: MI (minerais inorgânicos) com e sem EZ (que foram comum aos dois experimentos). Nos últimos três dias de cada período foram coletados três ovos por UE para serem analisados. Na última semana do estudo, amostras de sangue foram coletadas de uma ave por UE e, em seguida, a ave foi eutanasiada para avaliação dos órgãos. Os dados foram submetidos à ANOVA, seguida dos testes de Dunnett e Tukey para comparação de médias ($P < 0,05$). O grupo de galinhas alimentadas com AACM-100 apresentou menor consumo de ração do que o grupo do tratamento MI. A dieta contendo AACM-EZ-70 proporcionou maior ($P < 0,05$) porcentagem de postura e melhor ($P < 0,05$) conversão alimentar (kg.kg^{-1}) do que as dietas MI e MI-EZ. As galinhas alimentadas com AACM-40 apresentaram melhor conversão alimentar (kg.kg^{-1} , kg.dúzia^{-1}) em relação aos demais grupos. Os grupos alimentados com AACM-EZ-40, AACM-EZ-100 e AACM-70 produziram gemas mais pesadas. A inclusão de fitase em dietas contendo AACM-100 e AACM-70 intensificaram a cor da gema. As galinhas alimentadas MI colocaram ovos com menores pesos de gema e albúmen. As poedeiras alimentadas com AACM-100 e AACM-70 produziram cascas mais resistentes e aquelas alimentadas com AACM-100 produziram as cascas mais espessas. Maiores porcentagens de produção e massa de ovos foram observadas para poedeiras alimentadas com dieta LGCM-100 do que aquelas alimentadas com dietas LGCM-70 e LGCM-40. Menor percentual foi observado para aqueles alimentados com dieta MI-EZ, enquanto os grupos MI e MI-EZ apresentaram pior massa de ovos e conversão alimentar (kg.kg^{-1}). Poedeiras alimentadas com dieta suplementada com MI e MI-EZ apresentaram espessura de casca reduzida em comparação com aquelas alimentadas com dieta LGCM-100, enquanto o grupo MI-EZ apresentou cascas menos resistentes. A suplementação da fitase associada aos AACM reduziu o peso do pâncreas e aumentou a concentração plasmática de hemácias, enquanto a fitase associada aos LGCM, além de reduzir o peso do pâncreas, também aumentou o peso do ovo e diminuiu a atividade pancreática e da FA. É possível substituir os MI por baixos níveis de AACM e LGCM, mantendo ou mesmo melhorando o desempenho e a qualidade dos ovos

Palavras-chave: Minerais. Qualidade de casca. Enzima. Desempenho.

ABSTRACT

Two experiments were carried out simultaneously with the objective of evaluating the effect of different sources and levels of minerals complexed with amino acids, with or without the enzyme phytase, on the productive performance, egg quality and blood profile of laying hens. For this, 560 laying hens of the Dekalb White strain, with 67 weeks of age, were randomly distributed in 112 experimental cages with a factorial arrangement (2×3+2) with eight replications of five birds per experimental unit (EU). The 1st factor was the supplementation with the phytase enzyme, and the 2nd was the inclusion levels of minerals complexed to amino acids (AACM) or minerals complexed to glutamic acid and lysine (LGCM) at levels of 100, 70 and 40% plus two Control treatments: IM (inorganic minerals) with and without EZ (which were common to both experiments). In the last three days of each period, three eggs were collected per EU to be analyzed. In the last week of the study, blood samples were collected from one bird per EU and then the bird was euthanized for organ evaluation. Data were submitted to ANOVA, followed by Dunnett and Tukey tests to compare means ($P < 0.05$). The group of hens fed with AACM-100 had lower feed intake than the IM treatment group. The diet containing AACM-EZ-70 provided higher ($P < 0.05$) laying percentage and better ($P < 0.05$) feed conversion (kg.kg^{-1}) than the MI and MI-EZ diets. The hens fed with AACM-40 showed better feed conversion (kg.kg^{-1} , kg.dozen^{-1}) in relation to the other groups. Groups fed AACM-EZ-40, AACM-EZ-100 and AACM-70 produced heavier buds. The inclusion of phytase in diets containing AACM-100 and AACM-70 intensified the yolk color. The IM-fed hens laid eggs with lower yolk and albumen weights. Layers fed AACM-100 and AACM-70 produced stronger shells and those fed AACM-100 produced thicker shells. Higher percentages of egg production and egg mass were observed for laying hens fed the LGCM-100 diet than those fed the LGCM-70 and LGCM-40 diets. Lower percentage was observed for those fed the MI-EZ diet, while the IM and IM-EZ groups presented worse egg mass and feed conversion (kg.kg^{-1}). Laying hens fed diets supplemented with MI and MI-EZ had reduced shell thickness compared to those fed diets LGCM-100, while the MI-EZ group had less resistant shells. Supplementation of phytase associated with AACM reduced pancreas weight and increased plasma concentration of red blood cells, while phytase associated with LGCM also reduced pancreas weight, but also increased egg weight and decreased pancreatic and AF activity. It is possible to replace IM with low levels of AACM and LGCM maintaining or even improving egg performance and quality

Keywords: Minerals. Shell quality. Enzyme. Performance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Absorção transcelular de Zinco pelo enterócito (Fonte: Adaptado de GOFF, 2017)	26
Figura 2. Variação média da temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) durante o período experimental.	59
Figura 2. Desempenho de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima.	67
Figura 3. Qualidade dos ovos de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase.	69
Figura 4. Peso dos órgãos e comprimento do intestino de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase.	70
Figura 5. Concentração hormonal e atividade da fosfatase alcalina em galinhas poedeiras com 89 semanas suplementadas com AACM associado ou não ao uso de fitase.	71
Figura 6. Perfil hematológico de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase.	73

CAPÍTULO II

Figura 1. Variação média da temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) durante o período experimental.	97
Figura 2. Desempenho de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima.	104
Figura 3. Qualidade dos ovos de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima fitase.	106
Figura 4. Peso dos órgãos e comprimento do intestino de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima fitase.	108
Figura 5. Perfil hematológico de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima fitase.	110
Figura 6. Concentração hormonal e atividade da fosfatase alcalina em galinhas poedeiras com 89 semanas suplementadas com LGCM associado ou não ao uso de fitase.	111

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Descrição dos tratamentos experimentais.....	60
Tabela 2. Composição calculada dos premixes inorgânicos (mg/kg) utilizados nas dietas	60
Tabela 3. Composição das dietas experimentais	61
Tabela 4. Concentração de Zn, Mn, Fe e Cu na água, dietas e premixes experimentais.....	62
Tabela 5. Desempenho de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da fitase (período total)	65
Tabela 6. Desdobramento da interação do percentual de postura, consumo de ração e conversão alimentar (kg kg^{-1} , kg dúzia^{-1}) de aves suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase	66
Tabela 7. Qualidade dos ovos de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase	68
Tabela 8. Desdobramento da interação do peso das gemas dos ovos de aves suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima.....	68
Tabela 9. Peso dos órgãos e comprimento de intestino de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima.....	70
Tabela 10. Concentração hormonal e atividade da fosfatase alcalina de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso de fitase	71
Tabela 11. Perfil hematológico de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso de fitase.....	72

CAPÍTULO II

Tabela 1. Descrição dos tratamentos experimentais.....	98
Tabela 2. Composição calculada dos premixes inorgânicos (mg/kg) utilizados nas dietas.....	98
Tabela 3. Composição das dietas experimentais.....	99
Tabela 4. Concentração de Zn, Mn, Fe e Cu na água, dietas e premixes experimentais.....	100
Tabela 5. Desempenho de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da fitase (período total).....	103
Tabela 6. Desdobramento da interação do percentual de postura, consumo de ração e conversão alimentar (kg kg^{-1} , kg dúzia^{-1}) de aves suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima fitase.....	105

Tabela 7. Qualidade dos ovos de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima fitase.....	107
Tabela 8. Desdobramento da interação do peso das gemas dos ovos de aves suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima.....	107
Tabela 9. Peso dos órgãos e comprimento de intestino de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima.....	109
Tabela 10. Concentração hormonal e atividade da fosfatase alcalina de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso de fitase.....	109
Tabela 11. Perfil hematológico de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso de fitase.....	111

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. PRINCIPAIS MICROMINERAIS PARA AVES E SUAS FUNÇÕES	15
2.1 ZINCO (Zn).....	16
2.2 MANGANÊS (Mn)	17
2.3 COBRE (Cu)	18
2.4 FERRO (Fe)	19
2.5 SELÊNIO (Se).....	20
2.6 IODO (I).....	221
3. CATEGORIZAÇÃO DOS MINERAIS ORGÂNICOS	22
4. DIGESTÃO E METABOLISMO DOS MINERAIS	24
4.1 ZINCO.....	24
4.2 MANGANÊS	26
4.3 COBRE.....	27
4.4 FERRO	28
4.5 SELÊNIO	29
4.6 IODO	30
5. IMPORTÂNCIA DOS MICROMINERAIS NA FORMAÇÃO DO OVO	30
5.1 FORMAÇÃO DA CASCA	31
5.2 IMPORTÂNCIA DOS MICROMINERAIS NA FORMAÇÃO DA CASCA DOS OVOS.	34
6. MINERAIS LIGADOS A MOLÉCULAS ORGÂNICAS NA NUTRIÇÃO DE POEDEIRAS	36
7. ENRIQUECIMENTO MINERAL	39
8. REFERÊNCIAS	42
CAPÍTULO I	54
Suplementação com minerais complexados a aminoácidos, com ou sem a inclusão de fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos e perfil sanguíneo de galinhas poedeiras.....	54
RESUMO	55
ABSTRACT	56
INTRODUÇÃO	57
MATERIAIS E MÉTODOS	58
Local do Experimento e Manejo dos Animais.....	58
Delineamento e Dietas Experimentais	59
Análises das Rações e Água	62

Medidas de Desempenho	63
Qualidade de ovos.....	63
Perfil sanguíneo	64
Peso dos órgãos.....	64
Análise estatística.....	65
RESULTADOS	65
DISCUSSÃO	74
AGRADECIMENTOS	80
REFERÊNCIAS	80
CAPÍTULO II	92
Suplementação com minerais complexados a lisina e ao ácido glutâmico, com ou sem a inclusão de fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos e perfil sanguíneo de galinhas poedeiras..	92
RESUMO	93
ABSTRACT	94
INTRODUÇÃO	95
MATERIAIS E MÉTODOS	96
Local do Experimento e Manejo dos Animais.....	96
Delineamento e Dietas Experimentais	97
Medidas de Desempenho	101
Qualidade de ovos.....	101
Perfil sanguíneo	102
Peso dos órgãos.....	102
Análise estatística.....	103
RESULTADOS	103
DISCUSSÃO	112
AGRADECIMENTOS	119
REFERÊNCIAS	119

1. INTRODUÇÃO

A evolução da avicultura mundial e o conseqüente aumento na produção de resíduos resultam na busca de novos conceitos relativos à nutrição animal. A nutrição adequada exerce grande influência sobre o desempenho produtivo das aves, com isso, a suplementação de microminerais vêm ganhando atenção especial, pois atua na melhoria dos índices produtivos, qualidade dos ovos, deposição mineral nos tecidos, metabolismo intermediário, hormonal e sistema imunológico (PESSOA *et al.*, 2012; CARVALHO *et al.*, 2016; OLIVEIRA, 2019).

A produção de ovos a nível industrial sempre busca melhorar a eficiência produtiva e econômica por meio da exploração do potencial genético encontrado nas poedeiras atuais (FASSANI *et al.*, 2000). No entanto, a qualidade do ovo torna-se uma preocupação constante, principalmente os problemas relacionados à qualidade da casca, que são responsáveis por cerca de 8 a 10% de todas as perdas na produção, impossibilitando sua comercialização para o processamento e/ou consumo (KETTA; TÚMOVÁ, 2016; MAZZUCO; BERTECHINI, 2014).

Tradicionalmente, a indústria avícola suplementa suas dietas a partir de sais inorgânicos, resultando em baixa biodisponibilidade para o animal, pois ao atingirem o trato gastrointestinal ocorre a liberação de íons devido a dissociação das moléculas, e desta forma ficam propícias a interagir com outros componentes dietéticos, formando complexos insolúveis e tornando-os indisponíveis para o animal. Além disso, esses íons podem não encontrar um agente ligante que o permitam fazer a passagem mediante a parede intestinal até a corrente sanguínea, os quais acabam competindo pelos mesmos sítios de absorção, acarretando antagonismos e prejudicando a disponibilidade dos nutrientes para o animal (JINTASATAPORN *et al.*, 2015).

Neste contexto, em busca de fontes que forneçam maior biodisponibilidade, objetivando otimizar o desempenho de galinhas poedeiras comerciais (ABDALLAH; EL-HUSSEINY; ABDEL-LATIF, 2009) e melhorar a qualidade interna e externa dos ovos (NUNES *et al.*, 2013), o uso de minerais ligados a moléculas orgânicas tem sido sugerido entre os nutricionistas, pois, quando complexados, os minerais tornam-se altamente estáveis e quimicamente inertes, não interagindo com íons metálicos livres, apresentando, desta forma, biodisponibilidade mais alta que os análogos de sais inorgânicos (MABE *et al.*, 2003).

Outro fator também responsável por promover maior capacidade de aproveitamento das fontes orgânicas é o fato de serem absorvidas pelos sítios de absorção das moléculas que encontram-se ligadas (peptídeos/aminoácidos); desse modo, diferente das fontes tradicionais, estas não precisam de carreadores específicos de minerais para que sejam absorvidas pelo enterócito (GAO *et al.*, 2014).

Dessa forma, a utilização dos minerais orgânicos é uma estratégia promissora para garantir um melhor desempenho, além de reduzir a poluição ambiental (NOLLET *et al.*, 2007). Entretanto, o mercado proporciona diferentes fontes de minerais “orgânicos” que podem variar quanto a sua capacidade de absorção e, conseqüentemente, apresentar diferentes efeitos na produtividade, retenção nos tecidos e excreção mineral (KHATUN *et al.*, 2019). Desse modo, a revisão a seguir teve como objetivo demonstrar a influência das diferentes fontes de microminerais no desempenho produtivo, formação e qualidade dos ovos de galinhas poedeiras.

2. PRINCIPAIS MICROMINERAIS PARA AVES E SUAS FUNÇÕES

Os minerais são compostos inorgânicos considerados essenciais na nutrição avícola, pois participam de diversos processos bioquímicos corporais, sendo fundamentais na reprodução, crescimento, sistema imune, metabolismo energético, entre outras funções fisiológicas vitais à manutenção animal e ao aumento da produtividade (BRITO *et al.*, 2006; SECHINATO; DE ALBUQUERQUE; NAKADA, 2006).

Normalmente em dietas de galinhas poedeiras, utilizam-se como principais matérias-primas o milho e o farelo de soja, que apresentam baixos níveis minerais, não sendo capazes de atender às exigências nutricionais da poedeira moderna (SECHINATO; DE ALBUQUERQUE; NAKADA, 2006). Além disso, o conteúdo mineral destas matérias-primas é variável por ser dependente de fatores como solo, adubação, clima, espécie explorada, maturidade fisiológica e genética (CARVALHO *et al.*, 2015).

Desse modo, pesquisas com foco na suplementação de microminerais em dietas de galinhas poedeiras têm sido desenvolvidas com objetivo de otimizar sua absorção no organismo animal. A maior parte dos estudos desenvolvidos com animais de produção concentram-se nos efeitos proporcionados pelos macrominerais, como o cálcio (Ca) e fósforo (P). Entretanto, atualmente alguns pesquisadores relataram os efeitos benéficos da suplementação dietética de microminerais na melhoria do desempenho e qualidade dos ovos (CUI *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2019; MEDEIROS-VENTURA *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2020). Apesar de serem requeridos em pequena quantidade, os microminerais desempenham funções específicas importantes na nutrição de galinhas poedeiras.

2.1 Zinco (Zn)

O Zn é um mineral essencial em humanos e animais e está envolvido em inúmeras vias metabólicas e de sinalização dentro do corpo (SAUER *et al.*, 2017). É o micromineral mais abundante no meio intracelular e participa de diversas funções catalíticas, reguladoras e estruturais (CONSOLO, 2008). Este elemento já foi encontrado em todos os tecidos, e apresenta uma tendência em acumular-se nos ossos, principal órgão de armazenamento mineral; no entanto, concentrações elevadas também já foram observadas na pele e pelo dos animais (MCDONALD *et al.*, 2010).

Múltiplas macromoléculas biológicas e eventos celulares fisiológicos envolvem o Zn como um componente estrutural ou como um regulador principal. Além disso, desempenha um importante papel na cicatrização da pele e na restauração da integridade dos tecidos danificados, pois, atua na síntese de colágeno e ácidos nucleicos na pele, além de apresentar um papel crucial na proteção das células contra os radicais de oxigênio. Desse modo, torna-se difícil descrever todas as ações biológicas deste mineral devido ao grande número de proteínas e enzimas que contém Zn, o que explica sua relevância em vários processos celulares (OTEIZA, 2012; SCOTTÁ *et al.*, 2014).

Como cofator de metaloenzimas responsáveis pela síntese de carbonatos e mucopolissacarídeos, o Zn desempenha um papel importante na formação da casca do ovo (SWIATKIEWICZ; KORELESKI, 2008). Em galinhas poedeiras, ele é um importante componente da anidrase carbônica (AC), enzima responsável por controlar a transferência de íons bicarbonato do sangue para a glândula da casca (NYS, 1999). A suplementação com Zn resulta no aumento da espessura da casca dos ovos, em consequência do aumento da atividade da AC no plasma e na glândula da casca (ZHANG *et al.*, 2017a). A anidrase também atua na calcificação dos ossos, além de ser essencial para a integridade do sistema imune (NUNES *et al.*, 2013; SCOTTÁ *et al.*, 2014).

Outras importantes metaloenzimas de Zn incluem carboxipeptidases e DNA polimerases, que são importantes nas respostas imunológicas, na cicatrização da pele e ferimentos, bem como na produção hormonal (FAVERO *et al.*, 2013). A deficiência de Zn em aves pode acarretar crescimento retardado, anormalidade ósseas nos pés e pernas, sendo sua deficiência mais comum de ocorrer em animais jovens e intensamente alojados (MCDONALD *et al.*, 2010).

A forma química e a concentração de Zn são essenciais para prevenir antagonismos entre os minerais. Tradicionalmente, o uso deste mineral em dietas avícolas é oriundo de fontes

inorgânicas, sulfatos e óxidos, que devido a sua baixa disponibilidade é utilizado em níveis excessivos, acarretando elevada excreção. Em dietas de codornas japonesas, a suplementação de Zn resulta na maior espessura da casca, bem como no aumento do peso dos ovos e das gemas (YILDIZ *et al.*, 2006).

Hudson *et al.* (2004), ao trabalharem com aves reprodutoras (macho e fêmea), demonstraram que há aumento na absorção intestinal de Zn complexado a aminoácidos em relação as fontes inorgânicas (ZnSO₄). Quando ligado a aminoácidos, o Zn apresenta maior biodisponibilidade, melhorando a qualidade interna e externa dos ovos, e aumentando o desempenho produtivo de galinhas poedeiras no período de postura tardia (YILMAZ DIKMEN *et al.*, 2015). No entanto, em excesso, este mineral tem efeito prejudicial na produção de ovos, afetando a absorção de nutrientes e causando lesões no pâncreas e moela de galinhas poedeiras (HUDSON; DOZIER; WILSON, 2005).

2.2 Manganês (Mn)

O manganês (Mn) é um mineral essencial para animais e humanos, pois é um componente crítico da superóxido dismutase (MnSOD). A necessidade de Mn na nutrição avícola está bem estabelecida, e os aditivos de Mn são rotineiramente suplementados em dietas para o crescimento e saúde ideais (WANG *et al.*, 2012). Por ser um micromineral vital, desempenha papel significativo na função cerebral, reprodução, digestão, função fisiológica, processos biossintéticos dentro do corpo, desenvolvimento ósseo e metabolismo de aminoácidos, lipídeos e carboidratos (THESIS, 2016).

Essencial para a formação da cartilagem óssea, desempenha um papel importante na formação do sulfato de condroitina. O Mn está envolvido na síntese da matriz orgânica da cartilagem epifiseal, ativando o grupo de enzimas glicosiltransferases, necessárias para a síntese do sulfato de condroitina, componente da molécula de proteoglicana que, por sua vez, é um constituinte extracelular da cartilagem e que contribui para que as zonas de crescimento resistam a cargas compressivas (FAVERO *et al.*, 2013).

A quantidade de Mn presente no corpo do animal é extremamente pequena, em torno de 4%, sendo questionável o quanto do Mn presente nos alimentos está disponível para a ave (SCOTTÁ *et al.*, 2014). Em poedeiras comerciais, ovos rachados ou danificados têm demonstrado um grande problema, resultando em perda econômica substancial para a indústria. Galinhas alimentadas com dietas deficientes em Mn produzem ovos com cascas mais finas, com áreas translúcidas e anormalidades na ultraestrutura da casca do ovo, principalmente na camada mamilar (GHEISARI *et al.*, 2010).

O Mn atua como ativador da enzima glicosiltransferase, envolvida na síntese de glicosaminoglicanos (GAGs) e glicoproteínas, que contribuem para o desenvolvimento da matriz orgânica da casca do ovo, mediante a formação de sítios de nucleação e regulando o crescimento e orientação dos cristais de calcita durante a formação da casca (XIAO *et al.*, 2014). Desse modo, a suplementação de Mn na dieta proporciona aumento na espessura e resistência da casca dos ovos, melhorando a ultraestrutura da casca, resultante do aumento do conteúdo de GAGs sulfatados nas membranas (ZHANG *et al.*, 2017b).

2.3 Cobre (Cu)

O Cu tem participação na respiração celular, função cardíaca, desenvolvimento do tecido conectivo, mielinização da medula espinhal, queratinização e pigmentos de tecidos (SCOTTÁ *et al.*, 2014). Também apresenta propriedades antimicrobianas e melhora a saúde intestinal, influenciando significativamente a microbiologia intestinal e o crescimento de bactérias patogênicas (NOLLET *et al.*, 2007). Este mineral está relacionado à síntese de hemoglobina, eritrocupreína e outras proteínas plasmáticas envolvidas no metabolismo lipídico, atividades de enzimas lipogênicas hepáticas e maturação de células hematopoiéticas. O Cu é componente essencial da enzima antioxidante superóxido dismutase, conferindo-a atividade catalítica, portanto, níveis reduzidos deste elemento na dieta podem aumentar a suscetibilidade dos tecidos ao estresse oxidativo, causando fraqueza na proteção do sistema antioxidante (AKSU *et al.*, 2010).

Além disso, o Cu pode afetar a taxa de biossíntese do colesterol e as concentrações de glutatona hepática (THESIS, 2016). Importante para o metabolismo ósseo, o Cu torna-se fundamental na formação normal do osso e em particular na formação das cartilagens. Assim, distúrbios ósseos podem ser observados em dietas deficientes em Cu, com ossos frágeis e que apresentam facilidade em quebra, pois a cartilagem epifisária torna-se mais espessa e com isso a penetração vascular da cartilagem espessada é acentuadamente reduzida. Essas lesões se assemelham a patologia óssea das aves que sofrem com deficiência de vitamina A (LEESON, 2009).

Este micromineral é componente da ceruloplasmina ferroxidase, sintetizada no fígado, onde encontra-se a maior concentração de Cu no organismo animal. Sendo assim, este elemento apresenta importante papel na absorção e mobilização do ferro, pois permite a união do Fe com a transferrina, sua proteína transportadora (SCOTTÁ *et al.*, 2014). A ceruloplasmina é a principal proteína transportadora de Cu na circulação sistêmica, no qual 90% do Cu está na forma desta metaloproteína (MCDOWELL, 1992).

As fontes “orgânicas” de Cu são facilmente assimiladas pelas aves e outras espécies animais exercendo efeito benéfico sobre a saúde. Na forma de complexo-metal-aminoácido o Cu tem sua absorção aumentada pelos enterócitos e sua excreção limitada para o meio ambiente (JEGEDE *et al.*, 2015). Por ser componente da enzima lisil oxidase, envolvida na conversão de lisina em desmosina reticulada e isodesmosina, níveis dietéticos de Cu inadequados em dietas de poedeiras resultam em má formação da casca dos ovos, caracterizada por uma distribuição anormal das fibras da membrana da casca devido a alterações nas ligações cruzadas derivadas da lisina (CHOWDHURY, 1990).

2.4 Ferro (Fe)

O ferro é um mineral fundamental para a homeostase celular e desempenha um importante papel em diversos processos metabólicos vitais aos seres vivos. É essencial no transporte de oxigênio, síntese de DNA e metabolismo energético. Devido a sua capacidade de se interconverter, entre a forma férrica (Fe^{3+}) e a ferrosa (Fe^{2+}), é um componente útil na estrutura molecular de várias proteínas e enzimas. O Fe é utilizado principalmente para a síntese da hemoglobina nos eritroblastos, da mioglobina nos músculos e nos citocromos no fígado (LEVENSON; TASSABEHJI, 2004; CRICHTON *et al.*, 2002).

A hemoglobina contém um átomo de Fe^{2+} e está no centro do grupo heme. O Fe^{2+} é oxidado para Fe^{3+} , transformando-se em metahemoglobina e perdendo sua habilidade em transportar oxigênio. Enzimas no eritrócito podem reduzir a metahemoglobina voltando a sua forma Fe^{2+} ativa. A maior parte do Fe contido nos alimentos ocorre na forma férrica Fe^{3+} , tendo baixa eficiência de absorção no trato intestinal (GOFF, 2017). De acordo com Underwood e Suttle (1999), a absorção deste mineral nos animais não-ruminantes pode ser afetada pela idade; condições do trato gastrointestinal, principalmente do duodeno, que é o principal sítio de absorção; quantidade e forma química do ferro ingerido; e a quantidade e proporção de outros minerais e compostos dietéticos, devido a possibilidade de interação. Os minerais que afetam sua absorção são: cobre, manganês, cobalto e cádmio, pois competem pelo mesmo sítio de absorção.

Na homeostase do ferro, os mecanismos de excreção são menos desenvolvidos e eficazes quando comparados aos que regulam a absorção e distribuição, e nesses processos várias células, hormônios e proteínas transportadoras estão envolvidas. A lactoferrina e a transferrina são proteínas transportadoras de Fe, enquanto a ferritina é uma proteína armazenadora (GROTTO, 2010). Os inibidores da absorção de ferro mais relevantes são os taninos, fitatos e cálcio. Os taninos diminuem a biodisponibilidade de Fe devido a formação do complexo ferro-

fenólico no trato gastrointestinal. O cálcio atua como inibidor em grandes quantidades devido à competição pelo mesmo sítio de absorção, enquanto os fitatos inibem a absorção do ferro não-heme (DELGADINHO, 2014).

Cao *et al.* (1996) afirmam que galinhas poedeiras apresentam elevada necessidade de ferro dietético, visto que cada ovo possui aproximadamente 1,5 mg de Fe, o que representa 25% das reservas disponíveis no fígado. Ao ser fornecido complexado à aminoácidos, observou-se que o Fe proporcionou melhoria na morfometria intestinal de galinhas poedeiras (OLIVEIRA, 2019).

2.5 Selênio (Se)

Até 1957, o Se foi considerado um elemento de alta toxicidade para os animais; sendo assim, os estudos apenas se concentravam neste aspecto. A partir daí, ficou evidenciada sua participação na enzima glutatona peroxidase e assim sua importância nutricional foi definida (GOMES, 2010). A enzima glutatona está envolvida em processos antioxidantes e no metabolismo da tireoide. Esta enzima tem como função a remoção dos peróxidos, prevenindo um ataque aos ácidos graxos poliinsaturados presentes nas membranas lipídicas. A glutatona interage com a vitamina E na prevenção dos danos causados por peróxidos e outros compostos reativos formados em processos metabólicos da membrana celular. A vitamina E atua como antioxidante dentro da membrana celular e se combina com radicais livres e outros compostos, prevenindo processos oxidativos. Já o Se ajuda a proteger contra a auto-oxidação das membranas celulares, reduzindo os peróxidos pelo fornecimento de hidrogênio (LEESON; SUMMERS, 2001).

O Se também participa ativamente das atividades endócrinas tireoideanas. Em sua forma de Selenocisteína é componente principal das enzimas desidases, responsáveis pela conversão de T4 em T3. Este mineral também tem importante papel na proteção da glândula tireoide, por ser cofator da glutatona peroxidase, evitando danos oxidativos aos tireócitos (ESTEVES; NEVES; CARVALHO, 2012).

O Se comumente utilizado na nutrição animal é oriundo da dieta basal associada à suplementação com a fonte inorgânica (selenito ou selenato) via premix. Com objetivo de aumentar a biodisponibilidade deste mineral, fontes “orgânicas” vêm sendo utilizadas. O Se orgânico é biossintetizado, produzido a partir da adição de selênio ao meio durante o crescimento de uma cepa selecionada de levedura de *Saccharomyces cerevisiae*, com 97% de selênio orgânico, sendo 50% na forma de selenometionina e o restante por outros aminoácidos. As semelhanças químicas entre o selênio e o enxofre levam a levedura a utilizar o Se no lugar

do enxofre durante a formação de seus compostos celulares, inclusive de proteínas (PAN *et al.*, 2010).

A suplementação de Se nas rações de poedeiras não previne apenas os sintomas de deficiências, mas também permite aumentar a concentração deste mineral nos ovos, o que favorece uma maior ingestão de selênio pelos consumidores (ATTIA *et al.*, 2010b). A nutrição animal encontra-se em um estado avançado de conhecimentos, facilitando a obtenção de uma grande produtividade, principalmente na avicultura. Ainda segundo Attia *et al.* (2010) a suplementação de Se melhora o desempenho produtivo e reprodutivo de galinhas poedeiras, reduz a concentração de colesterol, melhora a mineralização da tibia e na forma orgânica apresenta menor toxidez quando a histopatologia do fígado, baço e intestino é considerada. Resultados positivos também foram encontrados por Pan *et al.* (2010), ao utilizarem selênio orgânico na dieta de poedeiras semipesadas, obtendo aumento na produção e no peso dos ovos, melhora na conversão alimentar, melhora na qualidade interna dos ovos, prolongando o tempo de prateleira e intensificando a coloração das gemas.

2.6 Iodo (I)

O I é um micromineral necessário em pequenas quantidades no organismo, mas de importância fundamental para o funcionamento da glândula tireóide. Dessa forma, sua principal função é a produção de dois hormônios tireoidianos (HTs), triiodotironina (T3) e tiroxina (T4). As principais funções destes hormônios são o controle da taxa de metabolismo energético, desenvolvimento físico e mental, maturação e diferenciação dos tecidos, funcionamento neuromuscular, taxa de empenamento e metabolismo dos nutrientes incluindo água e minerais (LEESON; SUMMERS, 2001).

A integração dos efeitos mediados pelos HTs possibilita as alterações metabólicas necessárias para acompanhar as mudanças de desenvolvimento tecidual, apresentando efeitos específicos para células, tecidos e órgãos. Os HTs são ativos na maioria dos tecidos e, por meio da natureza integradora de seus efeitos, desempenham papel importante em combinar atividade celular com os requisitos bioquímicos e de energia necessários. Assim, permitem que a homeostase metabólica seja mantida durante as mudanças no desenvolvimento e função celular (SMITH, 2002).

A maioria das ações dos HTs parece ser dependente da ligação a um receptor nuclear do hormônio tireoideano (TR). O principal produto secretor da glândula tireoide é o hormônio tiroxina, considerado um pró-hormônio relativamente inativo devido sua baixa afinidade de ligação aos TRs. Conseqüentemente, o metabolismo periférico de T4 pelas vias de ativação e

inativação é muito importante na regulação da disponibilidade de T3 ativo no receptor, e, portanto, da atividade tireoideana. A via metabólica mais importante para os HTs é a mono desiodação, em que um I é removido do anel externo ou interno de uma molécula de iodotironina. A desiodação é um processo irreversível que pode levar tanto à ativação quanto à inativação dos HTs. A desiodação do anel externo de T4 é a única maneira de produzir T3 ativo. Já a desiodação do anel interno de T4 ou T3 só pode levar a iodotironinas inativas, sendo uma via exclusiva de inativação (DARRAS; GEYTEN; KUHN, 2000).

Assim como outros elementos aniônicos, o I é bem absorvido pelo trato gastrointestinal. Após absorção, ele é transportado pela corrente sanguínea ligado a proteínas plasmáticas; no entanto, 90% do I que passa pela glândula tireoide é retido neste órgão (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

3. CATEGORIZAÇÃO DOS MINERAIS ORGÂNICOS

Diversas fontes minerais podem ser utilizadas na indústria avícola com o objetivo de garantir o correto funcionamento do metabolismo animal. No entanto, no final dos anos 60, uma nova classe de minerais começou a ser pesquisada e utilizada para a suplementação dos animais de produção. Observou-se um melhor aproveitamento quando o mineral estava ligado a uma molécula orgânica, denominando-se “minerais orgânicos”. Do ponto de vista químico, este termo não é correto, pois o mineral que está presente na molécula “inorgânica” é o mesmo que está presente na “orgânica”, diferindo apenas a parte ligada ao mineral. No entanto, esse termo é corriqueiramente utilizado nas indústrias, passando a ideia de igualdade entre as diferentes fontes minerais (TOMASI, 2013).

Assim, com o objetivo de esclarecer as diferenças existentes, a Associação Americana dos Produtores de Alimentos para Animais – AAFCO (2000) criou uma definição para os minerais orgânicos, classificando-os em grupos:

a) Complexo metal polissacarídeo: produto resultante da complexação de um sal solúvel com um polissacarídeo. Neste caso há formação de uma fraca ligação química entre os metais e o carboidrato. Porém, os minerais ficam envolvidos pela matriz de polissacarídeo, promovendo proteção física contra degradação intestinal. Ex: complexo zinco-polissacarídeo.

b) Proteinatos: produto resultante da quelação de um sal solúvel com uma proteína parcialmente hidrolisada, formando estrutura em anel aberta. O produto final pode apresentar dipeptídeos, tripeptídeos ou outros derivados proteicos. Possuem ligação fraca, muitas vezes

incapazes de resistir ao ambiente do trato gastrointestinal. Ex: proteinato de zinco, proteinato de manganês, proteinato de cobre.

c) Quelatos: mineral ligado a duas ou três moléculas de aminoácidos, formando ligações covalentes coordenadas, estando o mineral no centro da cadeia. O peso médio de um hidrolisado de aminoácidos deve ser de aproximadamente 150 daltons e o peso molecular não pode ultrapassar 800 daltons. Quando o tamanho do ligante aumenta, diminui a força de ligação entre as moléculas, podendo reduzir a absorção. Ex: quelato de zinco.

d) Quelato metal-MHA: ligação de duas moléculas do hidroximetionina análogo de metionina com um mineral.

e) Complexo metal aminoácido: ligação de um mineral com apenas um único aminoácido, podendo este ser específico (complexo zinco-metionina, por exemplo) ou inespecífico (complexo zinco-aminoácido).

No entanto, essa classificação adotada pela AAFCO leva em consideração apenas a classificação química dos produtos, não considerando as diferenças práticas, como a biodisponibilidade e o desempenho animal, que, se considerados, geram resultados completamente diferentes.

O objetivo da utilização de minerais ligados a moléculas orgânicas é que o mineral seja absorvido intacto (mineral+ligante). No entanto, caso haja separação em qualquer porção do trato gastrointestinal antes da absorção, o mineral passa a ser inorgânico, e assim terá que encontrar outro transportador e ser absorvido da mesma forma que uma fonte convencional. Durante muitos anos, a indústria, juntamente com a ciência, recomendou o uso conjunto das fontes convencionais e “orgânicas”, levando em consideração o ponto de vista técnico e econômico, pois o produto final ficaria mais viável financeiramente e também por serem absorvidos de formas diferentes, eles se complementariam. Além disso, a presença de minerais convencionais é importante para a nutrição da microbiota e células do trato digestivo. Por outro lado, uma nova corrente de suplementação tem sido avaliada, que é a substituição total dos minerais inorgânicos por concentrações menores de minerais ligados a moléculas orgânicas (TOMASI, 2013).

Devido às perspectivas de apresentar maior biodisponibilidade, os minerais ligados a moléculas orgânicas surgem como uma boa opção para adequar cada vez mais as necessidades das aves, principalmente por poder ser fornecido em níveis reduzidos, de forma a praticar corretamente o conceito da nutrição. Sendo assim, várias empresas que produzem minerais inorgânicos tradicionais, de custo relativamente mais baixo, hoje, também, passaram a

comercializar minerais de fontes orgânicas devido a maior demanda, motivada pela publicação de resultados positivos na literatura científica, bem como pelo marketing em torno desses produtos (BRITO *et al.*, 2006).

4. DIGESTÃO E METABOLISMO DOS MINERAIS

Ao atingirem o trato gastrointestinal, os microminerais são dissociados das suas formas químicas, devido ao pH extremamente ácido do estômago, resultando na liberação de íons metálicos livres, para que assim possam ser absorvidos (BAO *et al.*, 2007; FAVERO *et al.*, 2013). Ao se dissociar como cátions ativos, esses metais podem também interagir com outros componentes dietéticos, tais como fitato, ácido fólico e taninos, formando complexos insolúveis tornando-os indisponíveis para o animal (JINTASATAPORN *et al.*, 2015). Os minerais dietéticos devem ser absorvidos por células epiteliais que revestem o trato gastrointestinal para entrar no sangue e serem utilizados pelos tecidos (GOFF, 2017).

No intestino delgado, o transporte de íons para o interior dos enterócitos ocorre por difusão passiva ou transporte ativo, pois estas moléculas precisam estar atreladas a agentes ligantes ou moléculas transportadoras que permitam sua passagem por meio da parede intestinal, sendo assim absorvidas. No entanto, estes íons podem não encontrar seus agentes ligantes e serem excretados. O processo de absorção dos minerais envolve três etapas: captação pela membrana apical, transporte mediante membrana do enterócito, e saída pela membrana basolateral (LI *et al.*, 2013). Quando os minerais estão presentes em altas concentrações é possível que utilizem um processo conhecido como absorção paracelular, no qual o mineral difunde-se pela junção entre as células para entrar na corrente sanguínea. Este processo não é saturável, ou seja, apresenta capacidade ilimitada para transportar minerais para o sangue, sendo limitado apenas pelo gradiente eletroquímico desenvolvido pela concentração mineral ionizada em solução no lado luminal das junções estreitas. Por outro lado, em baixas concentrações, os minerais são dependentes de mecanismos de transporte pela via transcelular, utilizando proteínas transportadoras específicas (GOFF, 2017). Existe especificidade nos mecanismos de transporte para cada mineral e, portanto, a seguir será descrito o processo de absorção dos microminerais e seus destinos metabólicos após o processo absorptivo.

4.1 Zinco

Os íons de zinco são hidrofílicos e não atravessam as membranas celulares por difusão passiva. Mecanismos para contornar essa situação evoluíram. As características do transporte da membrana foram estudadas com vários sistemas celulares isolados, com a maioria dos

estudos focados na captação intestinal. Em geral, o transporte foi descrito como tendo componentes saturáveis e não saturáveis, dependendo das concentrações de Zn envolvidas. (COUSINS; MCMAHON, 2000).

A absorção intestinal de Zn ocorre principalmente no intestino delgado por um processo de transporte transcelular. Os transportadores necessários para esta absorção também estão presentes no cólon (GOPALSAMY *et al.*, 2015). Existem duas famílias principais de transportadores de zinco: ZIP e ZnT. A família ZIP de transportadores regula o influxo de zinco no citosol, seja do lúmen, soro ou compartimentos intracelulares. A família de transportadores ZnT mobiliza zinco na direção oposta, ou seja, eles facilitam o efluxo de zinco do citosol para o ambiente extracelular ou para organelas intracelulares (COUSINS; LIUZZI; LICHTEN, 2006). A ZIP4 é uma proteína transportadora de Zn responsável por transportar os íons da membrana apical até a célula do enterócito. A quantidade de ZIP4 na membrana apical é regulada positivamente quando o animal precisa de Zn e apresenta níveis reduzidos quando o nível de Zn dietético está elevado, resultando em uma diminuição da abundância da proteína na membrana plasmática (MAO *et al.*, 2007). O Zn também pode usar a DMT1 para atravessar a membrana apical, embora ele deva competir por sítios de ligação neste transportador com o Fe e o Mn.

Quando o Zn é necessário, o Zn^{2+} é movido por meio da membrana apical pela proteína transportadora ZIP4. Uma proteína chaperona Zn, a ZnT7, captura o Zn^{2+} que cruzou a membrana apical e o carrega para a membrana basolateral, onde entrega o Zn^{2+} ao transportador intestinal ZnT1, que o move no líquido intersticial até a corrente sanguínea. Na circulação portal, a albumina e a transferrina são as proteínas responsáveis por carrear o Zn^{2+} para o fígado, onde é liberado na circulação sistêmica e redistribuído para outros tecidos. Quando o corpo tem Zn suficiente, os enterócitos começam a produzir grandes quantidades de metalotioneína (MT), que se ligará à maior parte de Zn^{2+} que atravesse a membrana apical. A MT pode ceder o Zn^{2+} para a chaperona ZnT7 para exportação, mas faz isso muito lentamente, reduzindo a taxa de absorção. Quando ocorre a descamação do epitélio intestinal, o Zn ligado a MT acaba sendo eliminado nas fezes, devido ao turnover celular. Este processo de absorção transcelular pode ser observado na Figura 1 (GOFF, 2017).

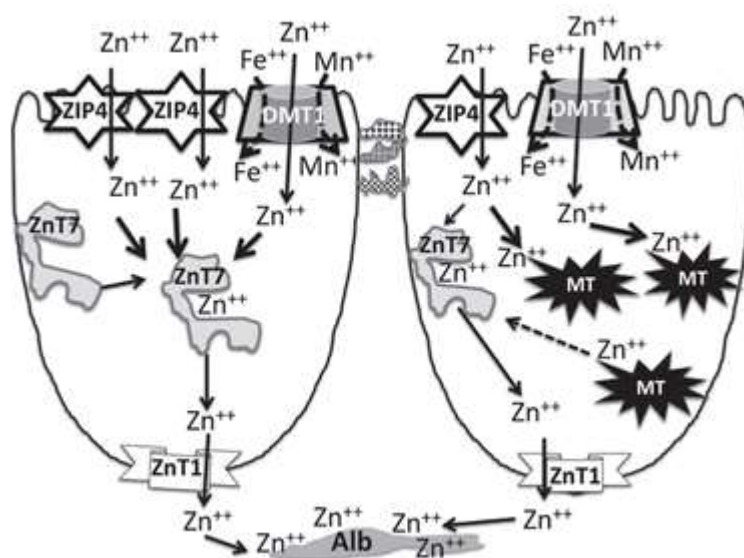


Figura 1. Absorção transcelular de Zinco pelo enterócito (Fonte: Adaptado de GOFF, 2017)

A absorção paracelular de Zn também pode ocorrer, mas como toda absorção paracelular, torna-se necessário que o Zn esteja presente em altas concentrações dietéticas, para atingir a maior concentração de Zn solúvel no lúmen, necessária para conduzir a absorção paracelular (CONDOMINA *et al.*, 2002).

4.2 Manganês

O processo de absorção do Mn pode ocorrer por via transcelular, por meio da proteína transportadora DMT1 localizada na membrana apical. O ZIP14, membro da família dos transportadores de Zn, também pode transportar Mn^{2+} pela membrana apical. Os mecanismos de transporte da membrana apical até a membrana basolateral no interior celular ainda são desconhecidos, porém, sabe-se que existem chaperonas responsáveis por esse transporte. Assim como o Zn, o Mn também pode ser absorvido por difusão paracelular quando seus níveis no lúmen intestinal estiverem altos (GOFF, 2017).

Um mecanismo para aumentar especificamente a eficiência da absorção de Mn durante a deficiência de Mn parece não existir (GIBBONS *et al.*, 1976). O Mn absorvido pode permanecer em pequenas quantidades como íon livre no plasma; no entanto, a maior parte está

ligada a albumina. Grande parte do Mn que entra no sangue portal é removido pelos hepatócitos. Algum Mn absorvido é oxidado a Mn^{3+} , que então se liga à transferrina e permanece na circulação (BERTINCHAMPS; MILLER; COTZIAS, 1966). O principal controle homeostático para o Mn parece ser a regulação da excreção biliar, e, em menor extensão, da excreção pancreática de Mn absorvido em excesso das necessidades do tecido (BRANDT; SCHRAMM, 1986).

4.3 Cobre

Na membrana da borda em escova, a enzima metaloredutase reduz o Cu^{2+} na sua forma cuprosa (Cu^+), pois somente nesta forma ele é passível de ser absorvido. Fortes evidências indicam que a absorção dietética de Cu é absolutamente dependente de pelo menos duas proteínas de transporte a CTR1 e ATP7A. Além disso, a chaperona de Cu, ATOX1, também é essencial para a absorção do Cu dietético. A CTR1 promove o transporte deste mineral pela membrana apical. As chaperonas de Cu podem mover o Cu dentro do enterócito para permitir a produção de várias enzimas que contêm este elemento, como a Cu, Zn-superóxido dismutase e a citocromo c oxidase necessárias aos hepatócitos. No interior do enterócito, o Cu^+ liga-se a proteína transportadora ATOX1, que o conduz até o aparelho de Golgi. A partir daí, o Cu^+ é transferido para a vesícula ATP7A, que além de armazenar íons de Cu^+ , promove seu transporte até a membrana basolateral, onde ocorre a fusão e liberação dos íons no líquido extracelular por exocitose. A ATP7A possui uma redutase que oxida o Cu antes de liberá-lo para a corrente sanguínea, para só então ligar-se à albumina e ser transportado para os tecidos de utilização e armazenamento e assim como o Zn, sua absorção parece ser regulada pela MT (GOFF, 2017; VAN DEN BERGHE; KLOMP, 2009). Na Figura 2 podemos observar a absorção transcelular do Cu.

O fígado pode armazenar grandes quantidades de Cu, sendo o principal órgão responsável pela homeostase deste mineral. Alguns estão ligados a metalochaperonas e metalotioneína que retêm o cobre para uso posterior. Uma vez que os estoques de cobre do fígado excedem uma certa concentração, qualquer cobre adicional que consiga entrar no hepatócito é movido para o lado canalicular do hepatócito pelo ATP7B e excretado na bile. É excretado de uma forma complexada que não pode ser reabsorvida pelo epitélio intestinal e termina nas fezes. A regulação da excreção de Cu na bile representa o principal fator de proteção do animal contra a toxicidade do cobre (LÖNNERDAL, 2008).

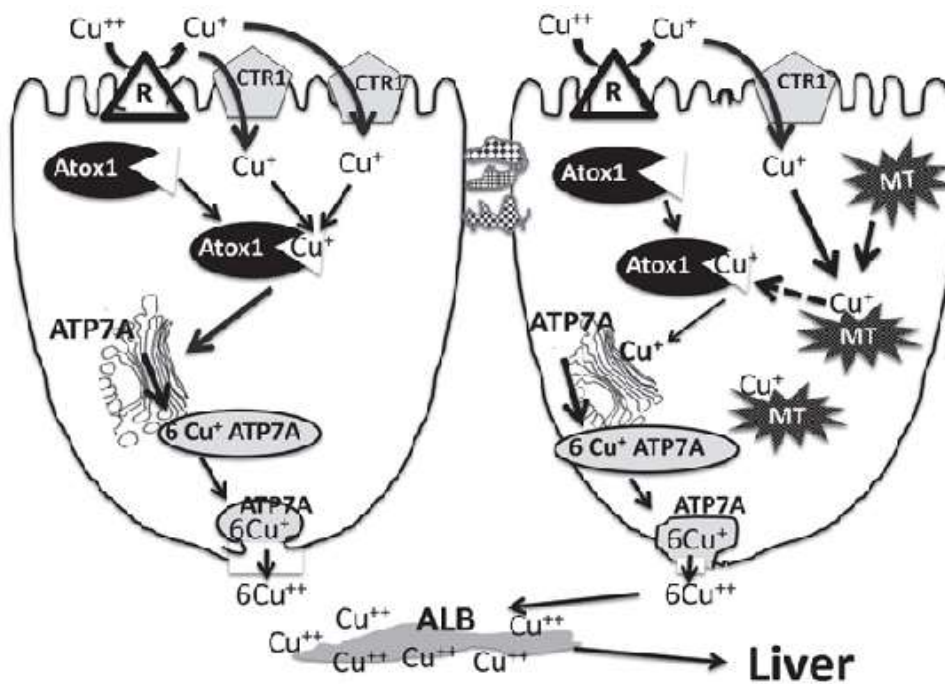


Figura 2. Absorção transcelular do Cu nos enterócitos (Fonte: GOFF, 2017)

4.4 Ferro

A absorção de Fe ocorre principalmente no duodeno e jejuno proximal, mas a absorção pelos enterócitos também depende de vários fatores, incluindo a forma química do Fe dietético, ácidos orgânicos e secreção de ácido gástrico. O papel desempenhado pela secreção do ácido gástrico na absorção do Fe é quase certamente para promover a solubilidade de complexos de Fe. O ácido fítico é um dos seus principais inibidores devido à baixa solubilidade do quelato de ferro em qualquer pH (MACKENZIE; GARRICK, 2005). O Fe na forma férrica (Fe^{3+}) é pouco absorvido pelo trato intestinal, e uma grande parte deste mineral nos alimentos encontra-se nesta forma (WOLLENBERG; RUMMEL, 1987). Durante a digestão, o Fe ferroso normalmente se liga a algum agente quelante, como histidina, mucina ou frutose, com objetivo de aumentar sua absorção pela solubilização do íon, protegendo-o no estado ferroso. Em monogástricos, uma enzima localizada na borda em escova duodenal, a ferriredutase, reduz a maior parte do Fe^{3+} que será absorvido como Fe^{2+} (MACKENZIE; GARRICK, 2005).

Quando o Fe é necessário, a quantidade de proteína transportadora de metal divalente 1 (DMT1) é regulada positivamente na membrana apical (Figura 3). Isso poderá mover o Fe^{2+} por meio da membrana. A ferriredutase na membrana apical pode converter o Fe^{3+} da dieta em Fe^{2+} para absorção. Assim que o Fe^{2+} atravessa a membrana apical é capturado por uma chaperona, a proteína de ligação rc, para transporte para a membrana basolateral. A

ferroportina, então bombeia o Fe^{2+} por esta membrana. Antes do Fe^{2+} entrar no fluido intersticial, ele é convertido em Fe^{3+} por meio da Cu-hephaestina. Quando o estoque de Fe está adequado, a quantidade de DMT1 é reduzida. Os enterócitos começam a produzir ferritina, que se liga e sequestra a maior parte do Fe^{2+} que atravessa a membrana apical. Hepsidina é um hormônio produzido pelo fígado carregado de Fe, que se liga ao transportador da Cu-hephaestina, bloqueando sua capacidade de transportar Fe para fora da célula e assim pouco Fe será absorvido. Uma vez ligado a ferritina, o Fe é excretado juntamente às fezes e quando o enterócito morre, ele é descartado (GOFF, 2017).

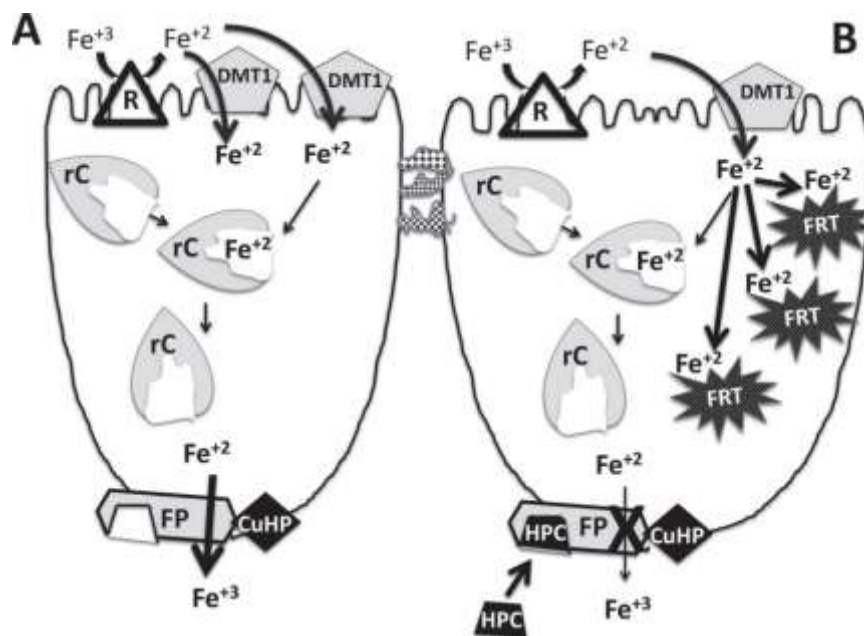


Figura 3. Absorção transcelular do Fe nos enterócitos (Fonte: GOFF, 2017)

4.5 Selênio

A absorção intestinal de compostos inorgânicos e orgânicos de selênio ocorre por diferentes vias e por diferentes mecanismos. O selenato compartilha um sistema de transporte dependente de sódio com os sulfatos. Os íons selenato são absorvidos de maneira muito eficiente por uma via paracelular no intestino delgado inferior. Uma vez absorvido, algum selenato é reduzido a selenito nos fluidos extracelulares por uma ATP sulfurilase. Já o selenito é absorvido principalmente por difusão passiva. A absorção do íon selenito na dieta é mais complexa e muito pouco é absorvido como o íon selenito. A Se glutaciona reduzida é secretada na borda em escova da membrana apical pelas células epiteliais, e o selenito pode reagir com ela e formar a selenoglutationa. Uma parte da selenoglutationa é absorvida transcelularmente por processos que não são bem definidos. A glutaciona redutase converte a selenoglutationa em seleneto de hidrogênio no fígado e outros tecidos. O seleneto pode ser usado para fazer tRNA

de selenocisteína. O selenato de sangue e o selenito podem ser absorvidos pelo fígado, músculos e outros tecidos e reduzidos para formar seleneto. Isso também permite a síntese do tRNA da selenocisteína necessária para produzir selenoproteínas nesses tecidos (GOFF, 2017).

4.6 Iodo

O iodo é necessário para a síntese dos hormônios tireoidianos tiroxina e triiodotironina, que regulam o metabolismo energético. O I normalmente é ingerido na forma de iodeto e cerca de 70 a 90% do I da dieta é absorvido. Um simportador Na^+/I^- localizado na superfície apical do epitélio intestinal conduz o iodeto da dieta por meio da membrana apical. Níveis crescentes de I intracelular são capazes de diminuir a expressão pós-tradução do simportador, oferecendo um pequeno controle da absorção de I no nível intestinal (NICOLA; CARRASCO; MASINI-REPISO, 2015). O destino do iodeto no enterócito e seu transporte pela membrana basolateral não estão bem descritos. Parece não haver grandes interferências na absorção intestinal de iodeto que resultem na deficiência de I (GOFF, 2017).

5. IMPORTÂNCIA DOS MICROMINERAIS NA FORMAÇÃO DO OVO

Os componentes do ovo são produzidos por duas estruturas anatômicas diferentes, o fígado e o oviduto. O fígado produz os componentes da gema do ovo que são transportados por meio da corrente sanguínea e depositados no ovário. Durante a ovulação, o maior folículo ovariano libera uma gema que segue pelo oviduto onde serão secretados os constituintes da camada externa, a membrana vitelina, o albúmen, as membranas da casca, e a casca, que são sequencialmente depositados em torno da gema do ovo. O ovário, em interação com a glândula pituitária, controla todas as etapas da formação do ovo pela secreção de hormônios esteróides e hipofisários. Os minerais, após serem absorvidos, se ligarão à albumina para serem transportados até o fígado pela corrente sanguínea. No fígado serão sintetizados os precursores da gema, que em seguida serão encaminhados para o oócito pelo sangue. A estimulação de proteína e a síntese de lipídios no fígado depende de estrogênios, que são produzidos por células da Teca de pequenos folículos ovarianos que não se acumulam na gema (NYS; GUYOT, 2011).

O desempenho reprodutivo de galinhas poedeiras pode ser influenciado de algumas maneiras, entre elas pelo Mn dietético. Este mineral atua regulando a síntese do colesterol (como cofator da mevalonato quinase e da farnesil pirofosfato sintase), que por sua vez atua como precursor de hormônios esteróides, tais como estrogênios e progesterona (XIE *et al.*, 2014a). Estes hormônios ovarianos são essenciais para o desenvolvimento e funcionamento do

sistema reprodutivo das aves, pois agem estimulando a síntese das proteínas da gema do ovo (SARTORI *et al.*, 2009). Em resposta aos estrógenos ovarianos, a proteína vitelogenina é sintetizada e transportada por via sanguínea ao ovário onde é endocitada e fragmentada em duas proteínas vitelínicas: fosfovítina e lipovítelina (MATSUBARA; SAWANO, 1995; ROBIN, 1981). Dessa forma, sob regulação complexa dos hormônios ovarianos, a formação e deposição da gema torna-se dependente da junção do eixo fígado-sangue-ovário (COHEN; SMITH, 2014; YILMAZ *et al.*, 2015) e, conseqüentemente, pode ser influenciada pelo Mn dietético.

Ainda neste contexto, os hormônios esteroides gonadais também estão envolvidos na indução da síntese de albumina pelas glândulas tubulares e células epiteliais do magno (MACARI; FURLAN, 2002). Além disto, a suplementação mineral (Zn, Mn e Se) também pode influenciar as variáveis morfométricas do trato reprodutor, especialmente do magno, pela redução da oxidação e aumento da integridade celular, melhorando a morfologia do oviduto e aumentando o número de células secretoras de albúmen (MEDEIROS *et al.*, 2013). Neste caso, o Zn se torna de grande importância, visto que sua deficiência afeta a qualidade do epitélio devido ao seu papel na síntese de proteínas. Ele também afeta indiretamente as secreções epiteliais, prejudicando a estrutura do epitélio e diretamente durante a síntese das membranas da casca dos ovos. No oviduto, ele desempenha papel importante no magno durante a deposição de albumina no istmo durante a produção das membranas da casca e no útero para a formação da casca dos ovos (TABATABAIE *et al.*, 2007).

A presença do mineral Se também é importante nos ovos de galinhas poedeiras, isso porque ele atua como substância estabilizadora e potencializadora de pigmentação. Os carotenoides livres são absorvidos juntamente com ácidos graxos dissolvidos nas micelas e transportados por lipoproteínas no sangue (SILVA; ALBINO; GODÓI, 2000). Devido a presença de duplas ligações conjugadas existentes em suas moléculas eles se oxidam com facilidade e por esse motivo, exigem acréscimo de substâncias que mantenham a estabilidade da coloração (SCHWEIGGERT *et al.*, 2007). O efeito positivo do selênio sobre as substâncias lipossolúveis (carotenoides) pode ocorrer tanto a nível de absorção intestinal quanto no transporte no fluido extracelular até o fígado ou até o folículo (PAN *et al.*, 2010).

5.1 Formação da casca

A casca do ovo mineralizada é composta por cerca de 96% de carbonato de cálcio e os componentes restantes incluem a matriz orgânica, bem como o magnésio, fósforo e uma variedade de microminerais (STAPLEY *et al.*, 2008). Cerca de cinco horas após a ovulação, o ovo entra no istmo e útero, onde ocorrerá o processo de calcificação com duração de 18-19

horas. De dentro para fora, a casca compreende de membranas da casca e casca verdadeira, que inclui a camada mamilar, camada paliçada e cutícula (KETTA; TÚMOVÁ, 2016).

A deposição da casca do ovo ocorre em três estágios. O primeiro estágio compreende cerca de 5h e corresponde ao início da mineralização. Os primeiros cristais de calcita são nucleados nos locais dos agregados presentes na superfície das membranas da camada externa. A distribuição desses sítios de nucleação está sob controle genético e varia entre as espécies. O tamanho dos cones mamilares, o diâmetro cilíndrico da camada paliçada da casca e a resistência da casca dos ovos são determinados pelo espaçamento desses locais. Os locais de nucleação tornam-se as origens dos cones mamilares. À medida que eles crescem, gradualmente se unem para formar a base da camada paliçada (NYS *et al.*, 2004).

O segundo estágio é o rápido crescimento de calcita policristalina para formar a camada paliçada. A formação das paliçadas ocorre no espaço livre disponível, produzindo cristais que crescem perpendiculares à superfície da casca em formação, e há uma deposição linear de cerca de 0,33g de carbonato de cálcio durante cerca de 10 horas (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2008). A última etapa corresponde ao término da calcificação e dura cerca de 1,5 horas (NYS *et al.*, 2004). O impedimento da mineralização ocorre em fluido uterino, que permanece supersaturado em íons de cálcio e bicarbonato, mas os detalhes não são bem compreendidos, no entanto, as proteínas estão provavelmente envolvidas, uma vez que a precipitação de CaCO_3 é inibida por componentes de alto peso molecular do fluido uterino. O fósforo é detectado nas camadas superficiais da casca e agregados esféricos de cristais finos de hidroxiapatita semelhantes a agulhas são encontrados na camada calcificada mais externa da casca do ovo da galinha. A ovocalixina-32, uma importante fosfoproteína da matriz da casca do ovo, está concentrada na casca externa e na cutícula, portanto, é uma importante candidata para inibir o crescimento de cristal proteico (GAUTRON *et al.*, 2001).

Os cones mamilares, formados na primeira etapa, são compostos por cristais de calcita de pequenos tamanhos que são depositados em orientação privilegiada. Já a camada paliçada da casca do ovo tem cerca de 200 micrômetros de espessura e é composta por colunas justapostas irregulares. Nesta camada, os cristais aumentam de tamanho progressivamente e se alongam ao longo do eixo c da calcita em direção a superfície da casca do ovo. Devido as importantes implicações sobre a resistência da casca dos ovos na segurança alimentar, este aspecto está sendo bem investigado. Além de defeitos ou arranhões que atuam como locais de nucleação para a formação de trincas, cascas de ovos mais fracas são formadas por cristais de tamanhos e formatos anormais (geralmente maiores), que afetam negativamente seu desempenho mecânico. Cascas compostas por cristais de calcita menores e menos alinhados

mutuamente são mais fortes do que aquelas formadas por cristais maiores e altamente orientados (RODRIGUEZ-NAVARRO *et al.*, 2002). Nas figuras abaixo podemos observar os sítios de nucleação da membrana da casca (Figura 4) e as camadas que formam a casca do ovo (Figura 5).

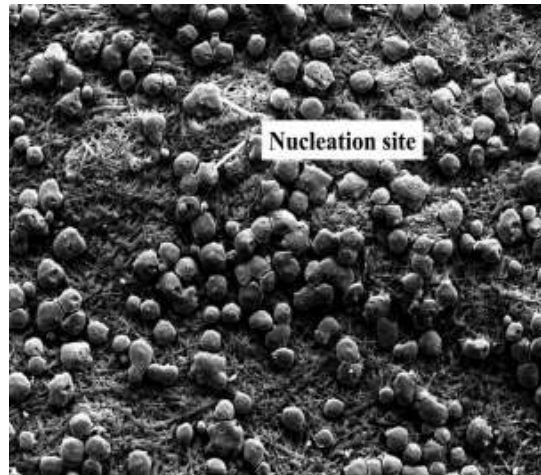


Figura 4. Sítios de nucleação na membrana no estágio de nucleação (Fonte: ZHANG *et al.*, 2017d)



Figura 5. Membrana da casca (SM), camada mamilar (ML) e camada paliçada ou camada efetiva na fase de deposição linear (EL), Fonte: ZHANG *et al.* (2017d).

Os constituintes proteicos do fluido uterino diferem entre os três estágios do processo de calcificação da casca e se tornam progressivamente incorporados na casca do ovo mineralizante, resultando em sua distribuição diferencial ao longo das zonas da casca. Assim, uma complexa matriz composta por distintas proteínas é liberada pela desmineralização da casca do ovo. Estas proteínas da matriz da casca compreendem uma matriz orgânica de proteínas solúveis e insolúveis, glico e fosfoproteínas, além de proteoglicanos que representam 2% do peso da casca calcificada (GAUTRON *et al.*, 1996; HINCKE *et al.*, 1992).

A última camada da casca do ovo compreende a cutícula, uma camada orgânica desigual, que cobre a superfície externa da casca dos ovos. A cutícula é composta de calcificado interno e não calcificado externo e camadas insolúveis em água que são depositadas diretamente sobre a camada de cristal vertical da casca dos ovos. Infelizmente, nem todos os ovos têm uma camada de cutícula e a distribuição é bastante irregular; Figura 6 (KETTA; TŮMOVÁ, 2016).

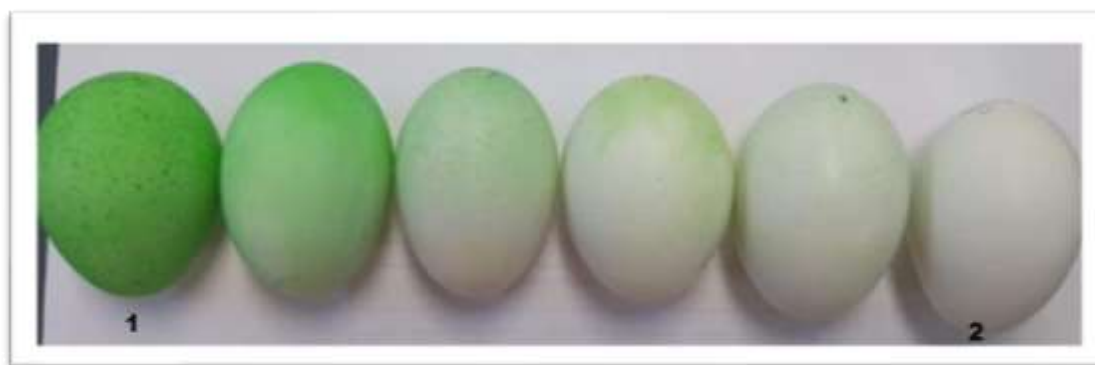


Figura 6. Diferentes distribuições da cutícula de cobertura dos ovos de galinhas poedeiras (1) Ovo totalmente coberto pela cutícula. (2) Ovo sem nenhuma cobertura de cutícula.

A deposição da cutícula é importante para prevenção da penetração de microrganismos. Este fato é possível mediante presença de substâncias antimicrobianas, como lisozima e ovotransferrina depositadas na cutícula da casca dos ovos (BAIN *et al.*, 2013; ROSE-MARTEL; DU; HINCKE, 2012). Além disso, a cutícula também cria uma barreira que inibe o movimento da água pela casca e evita a desidratação dos componentes internos do ovo.

5.2 Importância dos microminerais na formação da casca dos ovos

A composição da casca do ovo inclui componentes orgânicos e inorgânicos. Entre os componentes orgânicos destacam-se a matriz, a membrana da casca do ovo, o botão mamilar e a cutícula (SOLOMON, 2010), enquanto os inorgânicos são principalmente cristais de carbonato de cálcio (ROBERTS, 2004).

Os microminerais, principalmente Mn, Zn e Cu podem influenciar diretamente a qualidade da casca dos ovos devido às suas propriedades catalíticas como enzimas-chave envolvidas no processo de formação das membranas ou através de um efeito modificador nos mecanismos de crescimento do cristal de calcita durante a formação da casca (MABE *et al.*, 2003). Estudos relevantes mostram que a relação entre a camada paliçada e mamilar, a densidade e largura dos botões mamilares e a organização dos cristais de calcita afetam a espessura e resistência da casca do ovo, que, por sua vez, são influenciados pelos níveis dietéticos de minerais (CUI *et al.*, 2019; RADWAN, 2010; STEFANELLO *et al.*, 2014a; XIAO *et al.*, 2014).

O Mn atua como ativador da enzima glicosiltransferase, envolvida na síntese de glicosaminoglicanos (GAGs) e glicoproteínas, que contribuem para o desenvolvimento da matriz orgânica, por meio da formação de sítios de nucleação e regulando o crescimento e orientação dos cristais de calcita durante a formação da casca (XIAO *et al.*, 2014). Por influenciar a síntese dos GAGs, este mineral promove melhoria na ultraestrutura da casca, diminuindo o tamanho e a espessura dos botões mamilares e aumentando a espessura da camada paliçada (ZHANG *et al.*, 2017b). Estudos demonstram que a suplementação de Mn aumentou o conteúdo de GAG nas membranas da casca (ZHANG *et al.*, 2017c), bem como a deposição deste mineral na casca dos ovos (XIAO *et al.*, 2015), favorecendo a obtenção de cascas mais espessas e resistentes.

O Zn também influencia a qualidade da casca, pois é componente de uma série de metaloenzimas, como a anidrase carbônica (AC), que contribui para a conversão de dióxido de carbono em bicarbonato e, conseqüentemente, controla a transferência dos íons de bicarbonato do sangue para a glândula da casca durante a formação do ovo (NYS, 1999). A importância do Zn para a manutenção da atividade da AC já foi relatada, juntamente ao fato deste mineral ser mais eficaz quando suplementado ligado à molécula orgânica para galinhas poedeiras, proporcionando a formação de cascas mais espessas (ZHANG *et al.*, 2017d).

Enquanto o Cu é componente da enzima lisil oxidase envolvida na conversão de lisina em desmosina reticulada e isodesmosina. Desse modo, níveis dietéticos de Cu inadequados resultam em má formação da casca do ovo, caracterizada por uma distribuição anormal das fibras da membrana da casca devido a alterações nas ligações cruzadas derivadas da lisina (CHOWDHURY, 1990).

A resistência da casca é uma característica dependente do aumento da camada paliçada e da organização dos cristais de calcita (STEFANELLO *et al.*, 2014a), sendo assim a organização das colunas da camada paliçada é um dos principais fatores determinantes da

resistência da casca. Cada coluna cresce a partir de um botão mamilar e como o mecanismo de calcificação por meio dos cristais de calcita prossegue adjacente as colunas, proporcionam maior resistência (SOLOMON, 2010), demonstrando a importância desses elementos na formação e conseqüentemente na qualidade da casca.

6. MINERAIS LIGADOS A MOLÉCULAS ORGÂNICAS NA NUTRIÇÃO DE POEDEIRAS

A fase inicial de pintainhas de postura comercial é o período de maior desenvolvimento da ave, no qual ocorre intenso metabolismo celular e enzimático, seguido de maiores necessidades nutricionais e, conseqüentemente, são necessários mais nutrientes que atuem como cofatores enzimáticos, como os minerais, principalmente porque essas aves necessitam de uma boa estrutura óssea para maior persistência na postura e manutenção da alta qualidade da casca dos ovos. Sendo assim, Medeiros-Ventura *et al.* (2020) suplementaram dietas de pintainhas de postura comercial com Zn, Mn e Cu complexados a aminoácidos, e verificaram aumento no peso do fígado e pâncreas e melhoria no desempenho, qualidade óssea e no sistema imunológico dessas aves na fase inicial.

O intenso metabolismo de reabsorção óssea, principalmente no início da postura, é responsável por uma mortalidade significativa, e a má formação óssea na fase de recria parece ser um fator que está intimamente ligado a essas perdas. Fontes e níveis de minerais são os principais fatores nutricionais relacionados a essa má formação (WHITEHEAD, 2004). Brito *et al.* (2006), ao trabalharem com frangas da linhagem Lohmann LSL com 42 dias de idade verificaram que a redução nos níveis de suplementação da fonte orgânica (minerais complexados a aminoácidos) conferiu-lhe vantagem comparativa em detrimento à fonte inorgânica, pois não afetou o desempenho e as características ósseas das aves, recomendando, portanto, ser utilizada como fonte de suplementação para frangas de reposição, e conseqüentemente, proporcionando melhor formação óssea, preparando de maneira eficiente a futura poedeira.

No setor de postura comercial, o aumento da espessura e resistência da casca é uma característica desejável (ZHANG *et al.*, 2017c). Muitas abordagens nutricionais buscando melhorar a qualidade da casca dos ovos já foram exploradas. No entanto, a maior parte dos estudos concentram-se nos efeitos proporcionados pelos macrominerais, como o cálcio (Ca) e fósforo (P). Alguns pesquisadores relataram os efeitos benéficos da suplementação dietética de

Mn, Zn e Cu na melhoria da qualidade da casca dos ovos (MABE *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2012; VENGLOVSKÁ *et al.*, 2014; XIAO *et al.*, 2014).

Esses microminerais são capazes de influenciar a qualidade da casca por serem componentes essenciais de enzimas (glicosiltransferase, anidrase carbônica e lisil oxidase), que possuem propriedades catalíticas envolvidas na síntese das membranas da casca do ovo (SUN *et al.*, 2012; XIAO *et al.*, 2014). Os oligoelementos também podem afetar diretamente a estrutura da casca dos ovos mediante um efeito modificador nos mecanismos de crescimento do cristal de calcita, influenciando a qualidade da casca (MABE *et al.*, 2003).

Bai *et al.* (2017) avaliaram o efeito da substituição do sulfato de Zn, Mn e Cu por níveis reduzidos do ácido hidroximetil-4-tio-butanóico (HMTBa), que traz duas moléculas de HMTBa complexadas a um átomo do mineral traço, em galinhas poedeiras de 39 a 51 semanas. Os autores não observaram efeito significativo no desempenho das poedeiras, mas verificaram melhora na qualidade da casca dos ovos. No entanto, ao utilizar apenas 25% da exigência de minerais houve redução na retenção de Mn na tíbia. Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho *et al.* (2016) ao avaliarem o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com dietas contendo Zn, Mn, Cu e Fe orgânicos em diferentes níveis de substituição aos sulfatos. Dessa forma, foi possível reduzir em até 70% da suplementação da dieta sem alterar o desempenho zootécnico das poedeiras e proporcionando melhorias na qualidade da casca.

Gheisari *et al.* (2010) desenvolveram um estudo com objetivo de avaliar o efeito da suplementação de Zn, Mn e Cu de diferentes fontes (óxidos, sulfatos e minerais complexados à aminoácidos) na dieta de galinhas poedeiras, bem como investigar o impacto dos diferentes níveis de suplementação. Concluíram que os níveis mais elevados de sulfato (65,75, e 7 mg/kg de Zn, Mn e Cu, respectivamente) e os níveis mais baixos da fonte orgânica (20,20 e 3,5 mg/kg de Zn, Mn e Cu, respectivamente) mantiveram o desempenho produtivo e qualidade dos ovos, além de reduzir o percentual de ovos quebrados, em comparação a suas formas de óxido. Entretanto, ao suplementar a dieta basal com 40-40-7 mg/kg de Zn, Mn e Cu, respectivamente, melhorou significativamente a taxa de conversão alimentar, o percentual de ovos quebrados, a espessura da casca e a unidade Haugh, sugerindo que a suplementação de níveis mais baixos de minerais complexados a aminoácidos pode melhorar o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de galinhas poedeiras.

Favero *et al.* (2013), em um estudo com Zn, Mn e Cu, avaliaram a substituição destes minerais de fontes tradicionais (sulfatos) pelas fontes orgânicas (minerais complexados a aminoácidos) sobre o desempenho reprodutivo de matrizes da linhagem Cobb 500. Os autores

não verificaram alteração nas características de fertilidade, produtividade e eclodibilidade; no entanto, observaram melhoria no peso dos ovos e na espessura da casca. Estes efeitos podem ser justificados devido ao aumento da biodisponibilidade mineral no lúmen intestinal, refletindo no melhor aproveitamento animal.

Desempenho produtivo e qualidade de ovos são variáveis normalmente utilizadas para estimar as necessidades dietéticas de microminerais. No entanto, além dessas características, as concentrações nos tecidos também vêm sendo consideradas. Qin *et al.* (2017) desenvolveram um estudo com objetivo de investigar o efeito do nível de Zn da dieta no desempenho, qualidade dos ovos, concentração de Zn nos tecidos e atividade da fosfatase alcalina e superóxido dismutase de cobre-Zn em galinhas poedeiras de 20 a 40 semanas de idade. Seus resultados indicaram claramente que o conteúdo de Zn nas tíbias e a atividade da fosfatase alcalina no soro foram critérios adequados para avaliar as necessidades dietéticas deste mineral em galinhas poedeiras, sendo mais adequada e confiável a concentração de Zn nas tíbias. Outro estudo desenvolvido recentemente por Min *et al.* (2019) teve como objetivo investigar os efeitos do MHA-Zn em comparação ao Zn inorgânico nas concentrações deste mineral na tíbia e no tecido hepático de galinhas poedeiras com idade avançada (57 a 72 semanas). Verificaram que a suplementação orgânica influenciou os níveis de Zn e Ca na tíbia e no fígado, melhorando a qualidade óssea e a digestibilidade dos nutrientes. Este resultado está associado à melhora na atividade da anidrase carbônica, aumentando a hidrólise do ácido carbônico, promovendo maior deposição de carbonato de cálcio. O fígado é o centro do metabolismo dos nutrientes e a concentração de Zn no fígado pode ser usada como indicador do nível deste elemento no organismo (JAHANIAN; RASOULI, 2015).

Os microminerais também podem afetar os níveis dos hormônios reprodutivos, interferindo na produtividade da ave de postura. O Mn é um mineral que atua como cofator, regulando a síntese do colesterol (ROLLIN, 2002), que, por sua vez, atua como precursor de hormônios esteroides, tais como estrógenos e progesterona (PEREIRA *et al.*, 2017). Dessa forma, estudos demonstram que o Mn é capaz de estimular a liberação de LH (PINE *et al.*, 2005), hormônio responsável por induzir a ovulação, e, portanto, proporcionar efeito significativo no desempenho produtivo de galinhas poedeiras (ATTIA *et al.*, 2010a; CUI *et al.*, 2019; YILMAZ DIKMEN *et al.*, 2015).

Em um estudo realizado por Pereira *et al.* (2020) observou-se que a maior biodisponibilidade proporcionada pelos minerais complexados a aminoácidos no organismo de poedeiras promoveu maior secreção hormonal e maior desenvolvimento do oviduto na fase de pico de produção. Devido a esse melhor desenvolvimento fisiológico, as galinhas iniciaram a

postura dois dias antes das aves alimentadas com minerais de fontes tradicionais, levando-as a uma maior precocidade. Outra característica também influenciada neste estudo foi o peso das tíbias. Alta mineralização óssea foi observada nessas aves alimentadas com minerais orgânicos, podendo significar que aves com melhor mineralização durante o início da fase de postura produzirão cascas com melhor qualidade por um período mais longo de sua vida produtiva.

Dessa forma, pode-se observar que diferentes resultados sobre o efeito da suplementação de minerais de fontes orgânicas são encontrados na literatura, poucos relatam efeito no desempenho produtivo, e a maior parte concentram-se nos estudos relacionados à qualidade dos ovos, principalmente da casca. No entanto, é possível observar que a utilização de minerais ligados a moléculas orgânicas, principalmente na forma de complexo mineral, de forma geral, mostra efeitos melhores quando comparados às fontes tradicionais e permitem a suplementação em níveis reduzidos, proporcionando redução na excreção mineral.

7. ENRIQUECIMENTO MINERAL

Nos últimos anos, a relação entre a dieta e a saúde humana tem recebido atenção especial, pois foi percebido que a ingestão de dietas desbalanceadas podem causar sérios problemas relacionados à saúde (YAROSHENKO; DVORSKA, 2003). Os antioxidantes naturais passaram a ser considerados particularmente importantes, pois tanto previnem quanto reduzem substancialmente os danos causados por radicais livres e os produtos do seu metabolismo. Neste contexto, é possível proporcionar aos consumidores produtos de origem animal com composição nutricionalmente modificada, de forma que estes produtos forneçam quantidades significativas de nutrientes, melhorando a dieta e auxiliando na manutenção da saúde (LYONS; PAPAZYAN; SURAI, 2007).

De forma geral, a maioria dos microminerais são depositados na gema, enquanto suas concentrações no albúmen são limitadas. Muitos fatores influenciam a transferência de Se para o ovo, um deles é a forma utilizada na dieta. Os ovos podem ser enriquecidos com minerais tanto na forma inorgânica como orgânica; no entanto, as fontes orgânicas são as mais utilizadas por apresentarem maior biodisponibilidade devido ao seu mecanismo de absorção diferenciado e a melhor proteção aos constituintes da dieta. Dentre os microminerais, o selênio, o iodo e o ferro são os mais estudados.

Um ovo de galinha médio contém cerca de 5 mg de Se, com uma ampla variação, dependendo do conteúdo dietético da ração, que, por sua vez, está relacionado à sua disponibilidade no solo. A participação do selênio na defesa antioxidante e na regulação do

estado redox da célula poderia explicar sua importância em várias funções fisiológicas, e a buscar por aumentar seu conteúdo nos ovos. As evidências sugerem que o Se está diminuindo na cadeia alimentar em algumas regiões, e isso pode levar a efeitos adversos sobre a saúde humana (FISININ; PAPAZYAN; SURAI, 2009).

Payne *et al.* (2005) estudaram a deposição de Se em ovos de galinhas poedeiras comparando aves alimentadas com fonte orgânica ou inorgânica, suplementadas com níveis de 0,15; 0,30; 0,60 e 3,0 ppm. Os autores observaram que os níveis de Se transferidos aos ovos aumentaram linearmente com o aumento da suplementação mineral na dieta, independente da fonte. Porém, na suplementação com o mineral orgânico, ocorreu deposição de maior quantidade de Se nos ovos.

Gajčević *et al.* (2009) desenvolveram um estudo com objetivo de avaliar os efeitos da suplementação de Se orgânico em diferentes concentrações (0,2 e 0,4 ppm) na dieta de galinhas poedeiras. Os autores verificaram aumento na atividade da glutathione peroxidase no sangue das aves e aumento significativo do conteúdo de Se na gema e albúmen. Deve-se também salientar que ovos com maior quantidade de Se permaneceram frescos por um período maior de armazenamento.

Bennett e Cheng (2010) avaliaram a resposta de altos níveis dietéticos de Se orgânico para determinar a necessidade alimentar deste mineral, com o objetivo de produzir ovos enriquecidos utilizando os seguintes níveis: 1,0; 2,4 ou 5,1 µg de Se/g de dieta. Observaram que dentro da faixa de níveis de Se que foram empregados na dieta, o teor deste mineral no ovo aumentou linearmente conforme houve aumento na suplementação dietética, sem prejudicar a produção e o bem-estar da galinha. Neste estudo também não encontraram qualquer evidência de toxicidade do Se orgânico para as aves.

A deficiência de iodo em humanos é um dos quatro tipos mais graves de desnutrição em todo o mundo. Sendo assim, pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de enriquecer a dieta humana com I. Como os ovos são um alimento completo de origem animal, que pode ser enriquecido de forma controlada, Kaufmann *et al.* (1998) desenvolveram uma pesquisa com objetivo de suplementar níveis de I em dietas de galinhas poedeiras e verificar o enriquecimento em seus ovos. O resultado foi um aumento significativo das concentrações de I na gema e na clara dos ovos após suplementação de 1 mg/kg de I.

Yalçın *et al.* (2004) estudaram o efeito de dietas suplementadas com 0, 3, 6, 12 e 24 mg de I por quilo da dieta em galinhas poedeiras e observaram concentrações crescentes na gema e no albúmen do ovo. No entanto, efeitos adversos foram observados no consumo de ração e na

produção de ovos de aves suplementadas com 12 e 24 mg de iodo/kg. Sendo assim, um nível de até 6 mg/kg é recomendado para obter ovos enriquecidos com até 26 mg/ovo de I.

Durante a postura, uma grande quantidade de vitelogenina é sintetizada no fígado sob regulação de estrogênio. A vitelogenina fornece ferro para o desenvolvimento dos óvulos, no qual ela se divide em fosfovítina e lipovítelina. O Fe transportado para os óvulos representa 30% do ferro plasmático, e, portanto, é um processo quantitativamente importante na produção de ovos. O Fe encontrado na gema do ovo está em associação com a fosfovítina. Pouco Fe é encontrado no albúmen, onde forma complexos com a ovotransferrina, a fim de proteger o ovo de infecções bacterianas (SCHIAVONE; BARROETA, 2011).

O enriquecimento de ovos de galinha com ferro adicional pode fornecer um novo nicho de mercado, melhorando o estado nutricional de grupos específicos de pessoas em risco de anemia por deficiência deste mineral. Isto porque outros alimentos que são ricos em Fe, como carne, podem não estar disponíveis para toda a população, sendo em muitos casos uma opção mais viável de suplementar esse grupo.

Park *et al.* (2004) descobriram que o teor de Fe dos ovos pode ser aumentado em 5-18% mediante suplementação dietética de Fe orgânico ou inorgânico. A suplementação foi realizada nos seguintes níveis: 100, 200 e 300 mg/kg na forma de sulfato, quelato de metionina e complexo aminoácido. O conteúdo de Fe aumentou significativamente em todos os tratamentos; no entanto, o enriquecimento com as fontes orgânicas foram mais eficazes. Aumentar a suplementação de Fe em níveis acima de 100 mg/kg na forma de quelato e complexo não foi eficaz, enquanto a fonte orgânica apresentou seu teor máximo de Fe no ovo com os maiores níveis de suplementação.

Paik *et al.* (2009) compararam a dieta de ferro-proteinato (100 e 200mg/kg de Fe) e Fe-Metionina (100mg/kg de Fe) suplementados em uma dieta basal contendo 120 mg/kg de ferro. O teor de ferro da gema de ovo foi maximizado cinco semanas após a alimentação com dietas suplementadas e nenhuma diferença significativa foi encontrada no teor de ferro da gema do ovo entre as dietas suplementadas com Fe-proteinato e Fe-Metionina. No entanto, 100mg/kg de Fe-proteinato produziu o melhor resultado (267,1mg/kg de ferro) sendo 16,6% maior que o controle.

8. REFERÊNCIAS

- AAFCO. **Association of American Food Control Officials**. Ed. P.M. Bachman; 2002.
- ABDALLAH, A. G.; EL-HUSSEINY, O. M.; ABDEL-LATIF, K. O. Influence of some dietary organic mineral supplementations on broiler performance. **Int. J. Poult. Sci.**, v. 8 (3): 291, n. 1682–8356, p. 291–298, 2009.
- ADDADI, L.; WEINER, S. Interactions between acidic proteins and crystals: stereochemical requirements in biomineralization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 12, p. 4110–4114, 1 jun. 1985.
- AKSU, D. S. *et al.* The Effects of replacing inorganic with a lower level of organically complexed minerals (Cu, Zn and Mn) in broiler diets on lipid peroxidation and antioxidant defense systems. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 8, p. 1066–1072, 2010.
- ANDERSON, H. C. Mechanism of mineral formation in bone. **Laboratory Investigation**, v. 60, n. 3, p. 320–330, 1989.
- ANNUNZIATA, M.; IORIO, M. The levels of glutathione and hemoglobin in sheep erythrocytes as a function of age. **Italian Journal of Animal Science**, v. 3, n. 3, p. 283–286, 2004.
- ATTIA, Y. A. *et al.* Effect of amount and source of manganese and/or phytase supplementation on productive and reproductive performance and some physiological traits of dual purpose cross-bred hens in the tropics. **British Poultry Science**, v. 51, n. 2, p. 235–245, 2010a.
- ATTIA, Y. A. *et al.* Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n. No. 1, p. 505–519, 25 jan. 2010b.
- BAI, S. *et al.* Dietary organic trace minerals level influences eggshell quality and minerals retention in hens. **Annals of Animal Science**, v. 17, n. 2, p. 503–515, 2017.
- BAI, S. P. *et al.* Manganese source affects manganese transport and gene expression of divalent metal transporter 1 in the small intestine of broilers. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 2, p. 267–276, 2012.
- BAIN, M. M. *et al.* Enhancing the egg's natural defence against bacterial penetration by increasing cuticle deposition. **Animal Genetics**, v. 44, n. 6, p. 661–668, dez. 2013.
- BAO, Y. M. *et al.* Effect of organically – complexed Cu , Fe , Mn and Zn on broiler performance and excretion of minerals. **Poultry Science Association**, v. 16, p. 448–455, 2007.
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010.
- BENNETT, D. C.; CHENG, K. M. Selenium enrichment of table eggs. **Poultry Science**, v. 89, n. 10, p. 2166–2172, out. 2010.
- BERTINCHAMPS, A.; MILLER, S.; COTZIAS, G. Interdependence of routes excreting

manganese. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 211, n. 1, p. 217–224, 1 jul. 1966.

BOZKURT, M. *et al.* Comparative evaluation of dietary supplementation with mannan oligosaccharide and oregano essential oil in forced molted and fully fed laying hens between 82 and 106 weeks of age. **Poultry Science**, v. 95, n. 11, p. 2576–2591, nov. 2016.

BRANDT, M.; SCHRAMM, V. L. Mammalian manganese metabolism and manganese uptake and distribution in rat hepatocytes. In: **Manganese in Metabolism and Enzyme Function**. [s.l.] Elsevier, 1986. p. 3–16.

BRASILICA, A. V.; LIMA, M. R. DE. Efeito Da Relação Lisina: Arginina Digestível Sobre O Desempenho De Poedeiras Comerciais No Período De Postura. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 1, n. 4, p. 118–124, 2008.

BRITO, J. Á. G. DE *et al.* Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1342–1348, ago. 2006.

BRUNELLI, S. R. *et al.* Efeito de diferentes níveis de farelo de gérmen de milho desengordurado em dietas suplementadas com fitase para poedeiras comerciais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1991–2000, 30 out. 2012.

BURRELL, A. L. *et al.* Responses of broilers to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. **British Poultry Science**, v. 45, n. 2, p. 225–263, 2004.

CALDWELL, R. A. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 1, p. 43–46, jan. 1992.

CAO, J. *et al.* Effect of Dietary Iron Concentration, Age, and Length of Iron Feeding on Feed Intake and Tissue Iron Concentration of Broiler Chicks for Use as a Bioassay of Supplemental Iron Sources. **Poultry Science**, v. 75, n. 4, p. 495–504, abr. 1996.

CARD, L.E.; NESHEIM, M. . **Poultry production**. Lea & Febi ed. Philadelphia: 1966.

CARVALHO, L. S. S. *et al.* Effect of the inclusion of organic copper, manganese, and zinc in the diet of layers on mineral excretion, egg production, and eggshell quality. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola**, v. 17, p. 87–92, 2015.

CARVALHO, L. S. S. *et al.* Qualidade de ovos e desempenho produtivo de poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com microminerais quelatados a aminoácidos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 491–500, dez. 2016.

CHERYAN, M.; RACKIS, J. J. Phytic acid interactions in food systems. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, n. 4, p. 297–335, 29 dez. 1980.

CHOWDHURY, S. D. Shell membrane protein system in relation to lathrogen toxicity and copper deficiency. **World's Poultry Science Journal**, v. 46, n. 2, p. 153–169, 1 jul. 1990.

COHEN, A.; SMITH, Y. Estrogen Regulation of microRNAs, Target Genes, and microRNA Expression Associated with Vitellogenesis in the Zebrafish. **Zebrafish**, v. 11, n. 5, p. 462–478,

out. 2014.

CONDOMINA, J. *et al.* Kinetics of zinc transport in vitro in rat small intestine and colon: interaction with copper. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 4–5, p. 289–295, set. 2002.

CONSOLO, Lourdes Zélia Zanoni. **Alterações plasmáticas do cobre e do zinco em crianças submetidas a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea**. 2008. 116 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)-Programa Multiinstitucional e Inter-regional de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília / UFG / UFMS, Campo Grande, 2008.

COUSINS, R. J.; LIUZZI, J. P.; LICHTEN, L. A. Mammalian Zinc Transport, Trafficking, and Signals. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 34, p. 24085–24089, ago. 2006.

COUSINS, R. J.; MCMAHON, R. J. Zinc and Health: Current Status and Future Directions. Integrative aspects of zinc transporters. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 5S Suppl, p. 1341S-1519S, maio 2000.

CUI, Y. M. *et al.* Effects of long-term supplementation with amino acid-complexed manganese on performance, egg quality, blood biochemistry and organ histopathology in laying hens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 254, n. June, p. 114203, 2019.

DARRAS, V. M.; GEYTEN, S. V.; KUHN, E. R. Thyroid hormone metabolism in poultry. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ**, v. 4, n. S2, p. 13–20, 24 jun. 2000.

DE FARIAS, M. R. S. *et al.* Organic minerals with different chemical characteristics in diets for Hy-Line White laying hens: Performance, biometry of digestive organs, and bone quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, n. 1, 2019.

DELGADINHO, M. J. C. **Distúrbios do metabolismo do cobre, ferro e zinco**. 2014. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa - Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2014.

DHABHAR, F. S. A hassle a day may keep the pathogens away: The fight-or-flight stress response and the augmentation of immune function. **Integrative and Comparative Biology**, v. 49, n. 3, p. 215–236, 1 set. 2009.

DOZIER, W. A. *et al.* Early growth and environmental implications of dietary zinc and copper concentrations and sources of broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 44, n. 5, p. 726–731, 2003.

EBEID, T. A. *et al.* Effects of catecholamines on ovary morphology, blood concentrations of estradiol-17 β , progesterone, zinc, triglycerides and rate of ovulation in domestic hens. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 870–876, abr. 2008.

ESTEVEES, C.; NEVES, C.; CARVALHO, D. O selênio e a tiróide. **Arquivos de Medicina**, v. 26, n. 4, p. 149–153, 2012.

FASSANI, É. J. *et al.* Manganese in Nutrition of the Leghorn Hens in the. **Ciênc. Agrotec.**, v. 24, n. 2, p. 468–478, 2000.

FAVERO, A. *et al.* Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 1, p. 80–91, 2013.

FISININ, V. I.; PAPAZYAN, T. T.; SURAI, P. F. Producing selenium-enriched eggs and meat to improve the selenium status of the general population. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 18–28, mar. 2009.

FRANCESCH, M.; BROZ, J.; BRUFAU, J. Effects of an experimental phytase on performance, egg quality, tibia ash content and phosphorus bioavailability in laying hens fed on maize- or barley-based diets. **British Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 340–348, 2005.

GAJČEVIĆ, Z. *et al.* Effects of organic selenium supplemented to layer diet on table egg freshness and selenium content. **Italian Journal of Animal Science**, v. 8, n. 2, p. 189–199, jan. 2009.

GAO, S. *et al.* Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life Sciences**, v. 109, n. 1, p. 50–56, 2014.

GAUTRON, J. *et al.* Soluble matrix of hen's eggshell extracts changes in vitro the rate of calcium carbonate precipitation and crystal morphology. **British Poultry Science**, v. 37, n. 4, p. 853–866, set. 1996.

GAUTRON, J. *et al.* Ovocalyxin-32, a Novel Chicken Eggshell Matrix Protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 42, p. 39243–39252, out. 2001.

GHEISARI, A. A. *et al.* Effects of organic chelates of zinc, manganese and copper in comparison to their inorganic sources on performance of broiler chickens. **Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 6, n. 2, p. 630–636, 2010.

GIBBONS, R. A. *et al.* Manganese metabolism in cows and goats. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 444, n. 1, p. 1–10, ago. 1976.

GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2017.

GOPALSAMY, G. *et al.* The Relevance of the Colon to Zinc Nutrition. **Nutrients**, v. 7, n. 1, p. 572–583, 14 jan. 2015.

GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. SUPPL. 2, p. 08–17, jun. 2010.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, A. *et al.* Influence of eggshell matrix proteins on the precipitation of calcium carbonate (CaCO₃). **Journal of Crystal Growth**, v. 310, n. 7–9, p. 1754–1759, abr. 2008.

HINCKE, M. T. *et al.* Soluble protein constituents of the domestic fowl's eggshell. **British Poultry Science**, v. 33, n. 3, p. 505–516, jul. 1992.

HUDSON, B. P. *et al.* Reproductive Performance and Immune Status of Caged Broiler Breeder Hens Provided Diets Supplemented with Either Inorganic or Organic Sources of Zinc from

Hatching to 65 wk of Age. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 13, n. 2, p. 349–359, jul. 2004.

HUDSON, B. P.; DOZIER, W. A.; WILSON, J. L. Broiler live performance response to dietary zinc source and the influence of zinc supplementation in broiler breeder diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 118, n. 3–4, p. 329–335, fev. 2005.

HUFF, W. E. *et al.* Effect of Dietary Phytase and High Available Phosphorus Corn on Broiler Chicken Performance. **Poultry Science**, v. 77, n. 12, p. 1899–1904, 1998.

JAHANIAN, R.; RASOULI, E. Effects of dietary substitution of zinc-methionine for inorganic zinc sources on growth performance, tissue zinc accumulation and some blood parameters in broiler chicks. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 50–58, fev. 2015.

JEGEDE, A. V *et al.* **Effect of Dietary Copper on Performance, Serum and Egg Yolk Cholesterol and Copper Residues in Yolk of Laying Chickens**. v. 2015, n. 1, p. 29–36, 2015.

Jl, F. *et al.* Effect of Manganese Source on Manganese Absorption by the Intestine of Broilers. **Poultry Science**, v. 85, p. 1947–1952, out. 2006.

JINTASATAPORN, O. *et al.* The Efficacy of Mineral-Amino Acid Complex (Zn, Mn, Cu, Fe and Se) on White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Diets. **Aquacultura Indonesiana**, v. 16, n. 1, 15 out. 2015.

KAUFMANN, S. *et al.* Iodine supplementation of laying hen feed: A supplementary measure to eliminate iodine deficiency in humans? **Physiologische Chemie und Tierernahrung Veterinarstr**, v. 293, p. 288–293, 1998.

KETTA, M.; TŮMOVÁ, E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. **Czech Journal of Animal Science**, v. 61, n. 07, p. 299–309, 24 jul. 2016.

KHATUN, A. *et al.* Comparative Effects of Inorganic and Three Forms of Organic Trace Minerals on Growth Performance, Carcass Traits, Immunity and Profitability of Broilers. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 6, n. 1, p. 1, 2019.

LEESON, S. Copper metabolism and dietary needs. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n. 3, p. 353–366, 1 set. 2009.

LESLIE, M. A.; MORAN, E. T.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2350–2357, 2007.

LI, L. L. *et al.* Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. **Poultry Science**, v. 98, n. 2, p. 923–931, 2019.

LI, X. *et al.* Kinetics of manganese transport and gene expressions of manganese transport carriers in Caco-2 cell monolayers. **BioMetals**, v. 26, n. 6, p. 941–953, 31 dez. 2013.

LIM, H. S.; NAMKUNG, H.; PAIK, I. K. Effects of phytase supplementation on the

performance, egg quality, and phosphorous excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorous. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 92–99, 2003.

LÖNNERDAL, B. Intestinal regulation of copper homeostasis: a developmental perspective. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 3, p. 846S-850S, 1 set. 2008.

LYONS, M. P.; PAPAZYAN, T. T.; SURAI, P. F. Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature -Review-. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1135–1155, 27 jun. 2007.

MABE, I. *et al.* Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v. 82, n. 12, p. 1903–1913, 2003.

MACARI M, FURLAN R L, G. E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2ª Edição ed. Jaboticabal: [s.n.].

MACIEL, M. P. *et al.* Effect of using organic microminerals on performance and external quality of eggs of commercial laying hens at the end of laying. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n. 1997, p. 344–348, 2010.

MACKENZIE, B.; GARRICK, M. D. Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 289, n. 6, p. G981–G986, dez. 2005.

MAGNAGO, J. G. P. *et al.* Níveis de fitase sobre o desempenho, parâmetros ósseos e bioquímicos de suínos alimentados com ração de origem vegetal sem inclusão de fosfato bicálcico. **Ciência Rural**, v. 45, n. 7, p. 1286–1291, 22 maio 2015.

MAO, X. *et al.* A Histidine-rich Cluster Mediates the Ubiquitination and Degradation of the Human Zinc Transporter , hZIP4 , and Protects against Zinc Cytotoxicity *. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 10, p. 6992–7000, 2007.

MATSUBARA, T.; SAWANO, K. Proteolytic cleavage of vitellogenin and yolk proteins during vitellogenin uptake and oocyte maturation in barfin flounder (*Verasper moseri*). **Journal of Experimental Zoology**, v. 272, n. 1, p. 34–45, 1 maio 1995.

MAZZUCO, H.; BERTECHINI, A. G. Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 1, p. 07–14, 2014.

McDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. **Animal Nutrition**. 7th., 2010. 692p.

MEDEIROS, J. *et al.* Morphology of the oviduct of commercial egg-laying hens supplemented with organic minerals. **Analytical and quantitative cytopathology and histopathology**, v. 35, n. 5, p. 278–82, out. 2013.

MEDEIROS-VENTURA, W. R. L. *et al.* Zinc, manganese, and copper amino acid complexes improve performance and bone characteristics of layer-type chicks under thermoneutral and cold stress conditions. **Poultry Science**, v. 99, n. 11, p. 5718–5727, nov. 2020.

MEZZOMO, T. R.; NADAL, J. Efeito Dos Nutrientes E Substâncias Alimentares Na Função Tireoidiana E No Hipotireoidismo. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 11, n. 2, p. 427–444, 2016.

MIN, Y. N. *et al.* Effects of organic zinc on tibia quality, mineral deposit, and metallothionein expression level of aged hens. **Poultry Science**, v. 98, n. 1, p. 366–372, 1 jan. 2019.

NICOLA, J. P.; CARRASCO, N.; MASINI-REPISO, A. M. Dietary I⁻ Absorption. In: **Vitamins and Hormones**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2015. v. 98p. 1–31.

NISHIYAMA, S. *et al.* Zinc supplementation alters thyroid hormone metabolism in disabled patients with zinc deficiency. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 62–67, fev. 1994.

NOLLET, L. *et al.* The Effect of Replacing Inorganic With Organic Trace Minerals in Broiler Diets on Productive Performance and Mineral Excretion. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 4, p. 592–597, dez. 2007.

NUNES, J. K. *et al.* Qualidade de ovos e resistência óssea de poedeiras alimentadas com minerais orgânicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 2, p. 610–618, 2013.

NYS, Y. *et al.* Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. **Comptes Rendus Palevol**, v. 3, n. 6–7, p. 549–562, out. 2004.

NYS, Y. *et al.* Avian Eggshell Mineralization. **Poultry and Avian Biology Reviews**, v. 3, p. 143–166, 1999.

NYS, Y.; GUYOT, N. Egg formation and chemistry. In: **Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products**. [s.l.] Elsevier, 2011. p. 83–132.

ODIHAMBO MUMMA, J. *et al.* Physiological Stress in Laying Hens. **Poultry Science**, v. 85, n. 4, p. 761–769, abr. 2006.

OLIVEIRA, H. B. **Utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras semipesadas na fase de produção**. Recife: [s.n.].

OPSAHL, W. *et al.* Role of copper in collagen cross-linking and its influence on selected mechanical properties of chick bone and tendon. **Journal of Nutrition**, v. 112, n. 4, p. 708–716, 1982.

OTEIZA, P. I. Zinc and the modulation of redox homeostasis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 9, p. 1748–1759, nov. 2012.

PAIK, I.; LEE, H.; PARK, S. Effects of Organic Iron Supplementation on the Performance and Iron Content in the Egg Yolk of Laying Hens. **The Journal of Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 198–202, 2009.

PAN, E. A. *et al.* Performance of Brown-Egg Laying Hens Fed Organic Selenium. **R. Bras. Agrocência, Pelotas**, v.16, n.1-4, p. 83–89, 2010.

PARK, S. W. *et al.* Production of Iron Enriched Eggs of Laying Hens. **Asian-Australasian**

Journal of Animal Sciences, v. 17, n. 12, p. 1725–1728, 1 jan. 2004.

PAYNE, R. L.; LAVERGNE, T. K.; SOUTHERN, L. L. Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. **Poultry Science**, v. 84, n. 2, p. 232–237, fev. 2005.

PEREIRA, C. G. *et al.* Zinc, manganese and copper amino acid complexed in laying hens' diets affect performance, blood parameters and reproductive organs development. **PLOS ONE**, v. 15, n. 11, p. e0239229, 4 nov. 2020.

PEREIRA, E. L. *et al.* Produção industrial de hormônios esteroides. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 15, p. 411–435, 2017.

PESSOA, G. *et al.* Novos conceitos em nutrição de aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 755–774, 2012.

PINE, M. *et al.* Manganese acts centrally to stimulate luteinizing hormone secretion: A potential influence on female pubertal development. **Toxicological Sciences**, v. 85, n. 2, p. 880–885, 2005.

QIN, S. *et al.* An Optimal Dietary Zinc Level of Brown-Egg Laying Hens Fed a Corn-Soybean Meal Diet. **Biological trace element research**, v. 177, n. 2, p. 376–383, 19 jun. 2017.

QIU, J. L. *et al.* Organic trace minerals improve eggshell quality by improving the eggshell ultrastructure of laying hens during the late laying period. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1483–1490, 2020a.

QIU, J. L. *et al.* Organic trace minerals improve eggshell quality by improving the eggshell ultrastructure of laying hens during the late laying period. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1483–1490, mar. 2020b.

RADWAN, L. M. M. M. F. A. G. AND A. Z. E.-D. Mechanical and Ultrastructural Properties of Eggshell in Two Egyptian Breeds of Chicken. **International Journal of Poultry Science**, v. 1, p. 77–81, 2010.

ROBERTS, J. R. Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality in Laying Hens. **The Journal of Poultry Science**, v. 41, n. 3, p. 161–177, 2004.

ROBIN, A. W. K. S. **Oocyte Growth in Teleosts** 1. v. 343, p. 325–343, 1981.

RODRIGUEZ-NAVARRO, A. *et al.* Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. **British Poultry Science**, v. 43, n. 3, p. 395–403, 28 jul. 2002.

ROLLIN, F. Mise en évidence des carences en oligo-éléments dans les exploitations bovines. **Proceedings of the Veterinary Sciences Congress**, p. 95–106, 2002.

ROSE-MARTEL, M.; DU, J.; HINCKE, M. T. Proteomic analysis provides new insight into the chicken eggshell cuticle. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 9, p. 2697–2706, mai. 2012.

ROVER JÚNIOR, L. *et al.* Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Stress The**

International Journal on the Biology of Stress, v. 24, n. 1, p. 112–119, 2001.

SARTORI, É. V. *et al.* Concentração de proteínas em gemas de ovos de poedeiras (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 481–487, set. 2009.

SAUER, A. K. *et al.* Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **BioMetals**, v. 30, n. 5, p. 643–661, 2017.

SCHIAVONE, A.; BARROETA, A. C. Egg enrichment with vitamins and trace minerals. In: **Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products**. [s.l.] Elsevier, 2011. v. 2p. 289–320.

SCHWEIGGERT, U. *et al.* Effects of processing and storage on the stability of free and esterified carotenoids of red peppers (*Capsicum annuum* L.) and hot chilli peppers (*Capsicum frutescens* L.). **European Food Research and Technology**, v. 225, n. 2, p. 261–270, 2 maio 2007.

SCOTT, T. A.; KAMPEN, R.; SILVERSIDES, F. G. The effect of adding exogenous phytase to nutrient-reduced corn- and wheat-based diets on performance and egg quality of two strains of laying hens. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, n. 3, p. 393–401, 2001.

SCOTTÁ, B. A. *et al.* Influência dos minerais quelatados e inorgânicos no metabolismo, desempenho, qualidade da carcaça e da carne de frangos de corte. **Pubvet**, v. 8, n. 9, maio 2014.

SECHINATO, A. DA S.; DE ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com micro minerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 2, p. 159–166, 2006.

SELLE, P. H. *et al.* Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. **Nutrition Research Reviews**, v. 13, n. 2, p. 255–278, 2000.

SETIAN, N. Hypothyroidism in children: diagnosis and treatment. **Jornal de Pediatria**, v. 0, n. 0, p. 209–216, 12 nov. 2007.

SHAO, Y. *et al.* Effect of zinc on growth performance, gut morphometry, and cecal microbial community in broilers challenged with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 12, p. 1002–1011, 29 dez. 2014.

SILVA, J. H. V. DA; ALBINO, L. F. T.; GODÓI, M. J. DE S. Efeito do extrato de urucum na pigmentação da gema dos ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1435–1439, out. 2000.

SINGH, M.; KRIKORIAN, A. D. Inhibition of Trypsin Activity in Vitro by Phytate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 4, p. 799–800, 1982.

SMITH, J. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 1, p. 45–60, jan. 2002.

SOLOMON, S. E. The eggshell: strength, structure and function. **British Poultry Science**, v. 51, n. sup1, p. 52–59, 12 ago. 2010.

STAPLEY, J. *et al.* A Linkage Map of the Zebra Finch *Taeniopygia guttata* Provides New Insights Into Avian Genome Evolution. **Genetics**, v. 179, n. 1, p. 651–667, maio 2008.

STEFANELLO, C. *et al.* Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v. 93, n. 1, p. 104–113, 2014a.

STEFANELLO, C. *et al.* Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v. 93, n. 1, p. 104–113, 2014b.

SUN, Q. *et al.* Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens. **Journal of Poultry Science**, v. 49, n. 1, p. 20–25, 2012.

SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. **Veterinarni Medicina**, v. 53, n. 10, p. 555–563, 2008.

TABATABAIE, M. *et al.* Effect of different sources and levels of zinc on egg quality and laying hen performance. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, p. 3476–6478, 2007.

THESIS, A. Effect of Increasing Levels of Dietary Zinc (Zn), Manganese (Mn), and Copper (Cu) From Organic and Inorganic Sources on Egg Quality and Egg Zn, Mn, and Cu Content in Laying Hens. n. August, 2016.

TOMASI, P. Diferenças entre os minerais orgânicos. **Revista da Nutrição Animal**, p. 53–57, 2013.

TRHALL, M. A. *et al.* **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2ª Edição ed., 2015.

TSE, M. L. P. *et al.* Leitões recém-desmamados alimentados com dietas contendo proteína láctea e zinco suplementar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 2006–2016, set. 2010.

TSOKOVA, L. T. Influence of the Enzyme Phytase on the Clinical Status , Some Plasma Macroelements and the Histostructure of Femur and Tibia in Chickens. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 9, p. 201–209, 2006.

UMAR YAQOUB, M. *et al.* Effects of inorganic trace minerals replaced by complexed glycinate on reproductive performance, blood profiles, and antioxidant status in broiler breeders. **Poultry Science**, v. 99, n. 5, p. 2718–2726, mai. 2020.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **Mineral nutrition of livestock**. New York: CAB International, 1999.

VAN DEN BERGHE, P. V.; KLOMP, L. W. J. New developments in the regulation of intestinal copper absorption. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 11, p. 658–672, nov. 2009.

VENGLOVSKÁ, K. *et al.* Effects of feed supplementation with manganese from its different sources on performance and egg parameters of laying hens. **Czech Journal of Animal Science**, v. 59, n. 4, p. 147–155, 2014.

VIVEROS, A. *et al.* Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1172–1183, 2002.

WANG, F. *et al.* Relative Bioavailability of Manganese Proteinate for Broilers Fed a Conventional Corn–Soybean Meal Diet. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 2, p. 181–186, 12 mai. 2012.

WANG, G. *et al.* Effects of replacing inorganic trace minerals with organic trace minerals on the production performance, blood profiles, and antioxidant status of broiler breeders. **Poultry Science**, v. 98, n. 7, p. 2888–2895, 2019.

WHITEHEAD, C. C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science**, v. 83, n. 2, p. 193–199, fev. 2004.

WOLLENBERG, P.; RUMMEL, W. Dependence of intestinal iron absorption on the valency state of iron. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 336, n. 5, p. 578–582, nov. 1987.

XIAO, J. F. *et al.* Manganese supplementation enhances the synthesis of glycosaminoglycan in eggshell membrane: A strategy to improve eggshell quality in laying hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 2, p. 380–388, 2014.

XIAO, J. F. *et al.* Bioefficacy comparison of organic manganese with inorganic manganese for eggshell quality in Hy-Line Brown laying hens. **Poultry Science**, v. 94, n. 8, p. 1871–1878, 2015.

XIE, J. *et al.* Physiology, endocrinology, and reproduction: effects of inorganic and organic manganese supplementation on gonadotropin-releasing hormone-i and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 4, p. 959–969, 2014a.

XIE, J. *et al.* Physiology, endocrinology, and reproduction: effects of inorganic and organic manganese supplementation on gonadotropin-releasing hormone-i and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 4, p. 959–969, 2014b.

YALÇIN, S. *et al.* Effects of supplementary iodine on the performance and egg traits of laying hens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 4, p. 499–503, 19 ago. 2004.

YAROSHENKO, F.; DVORSKA, J. Selenium-enriched eggs as a source of selenium for human consumption. **Applied Biotechnology, Food ...**, v. 1, n. 1, p. 13–23, 2003.

YILDIZ, N.; ERISIR, Z.; SASHIN, K. *et al.* Effect of zinc picolinate on the quality of japanese quail eggs. **Journal of Animal and Veterinary Advances**. 5: 1181-1184, 2006.

YILMAZ DIKMEN, B. *et al.* Effects of Supplementary Mineral Amino Acid Chelate (ZnAA - MnAA) on the Laying Performance, Egg Quality and Some Blood Parameters of Late Laying Period Layer Hens. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 21, n. 2, p. 155–162, 2015.

YILMAZ, O. *et al.* Estrogen-induced yolk precursors in European sea bass, *Dicentrarchus*

labrax: Status and perspectives on multiplicity and functioning of vitellogenins. **General and Comparative Endocrinology**, v. 221, n. January, p. 16–22, set. 2015.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2176–2183, 2017a.

ZHANG, Y. N. *et al.* Dietary manganese supplementation modulated mechanical and ultrastructural changes during eggshell formation in laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 8, p. 2699–2707, 2017b.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic manganese on eggshell quality, ultrastructure, and components in laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2184–2193, 2017c.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2176–2183, jul. 2017d.

ZINNUROGLU, M. *et al.* Prospective evaluation of free radicals and antioxidant activity following 6-month risedronate treatment in patients with postmenopausal osteoporosis. **Rheumatology International**, v. 32, n. 4, p. 875–880, 2012.

CAPÍTULO I

Suplementação com minerais complexados a aminoácidos, com ou sem a inclusão de fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos e perfil sanguíneo de galinhas poedeiras

RESUMO

Foi desenvolvido um estudo para avaliar o efeito de diferentes fontes e níveis de minerais complexados com aminoácidos (**AACM**), com ou sem a enzima fitase (**EZ**), sobre o desempenho produtivo, qualidade dos ovos e perfil sanguíneo de poedeiras. Um total de 320 galinhas poedeiras da linhagem Dekalb White, com 67 semanas de idade, foram distribuídas aleatoriamente em 64 gaiolas experimentais com arranjo fatorial ($2 \times 3 + 2$) com oito repetições de cinco aves por unidade experimental (**UE**). O 1º fator foi a suplementação com a enzima Fitase, e o 2º foram os níveis de inclusão de **AACM** (100, 70 e 40%) mais dois tratamentos controle: **MI** (minerais inorgânicos) com e sem **EZ**. Nos últimos três dias de cada período foram coletados três ovos por **UE** para serem analisados. Na última semana do estudo amostras de sangue foram coletadas de uma ave por **UE** e, em seguida, a ave foi eutanasiada para avaliação dos órgãos. Os dados foram submetidos à ANOVA, seguida dos testes de Dunnett e Tukey para comparação de médias ($P < 0,05$). O grupo de galinhas alimentadas com **AACM-100** apresentou menor consumo de ração do que o grupo do tratamento **MI**. A dieta contendo **AACM-EZ-70** proporcionou maior ($P < 0,05$) porcentagem de postura e melhor ($P < 0,05$) conversão alimentar (kg.kg^{-1}) do que as dietas **MI** e **MI-EZ**. As galinhas alimentadas com **AACM-40** apresentaram melhor conversão alimentar (kg.kg^{-1} , kg.dúzia^{-1}) em relação aos demais grupos. Os grupos alimentados com **AACM-EZ-40**, **AACM-EZ-100** e **AACM-70** produziram gemas mais pesadas. Inclusão de fitase em dietas contendo **AACM-100** e **AACM-70** intensificaram a cor da gema. As galinhas alimentadas com **MI** colocaram ovos com menores pesos de gema e albúmen. As poedeiras alimentadas com **AACM-100** e **AACM-70** produziram cascas mais resistentes e aquelas alimentadas com **AACM-100**, produziram as cascas mais espessas. A suplementação de fitase na dieta das galinhas reduziu o peso do pâncreas e aumentou a concentração plasmática de hemácias. É possível substituir os **MI** por baixos níveis de **AACM** mantendo ou mesmo melhorando o desempenho e a qualidade dos ovos.

Palavras-chave: Produção de ovos. Enzima. Resistência da casca. Microminerais.

ABSTRACT

A study was developed to evaluate the effect of different sources and levels of amino acid-complexed minerals (**AACM**), with or without the enzyme phytase (**EZ**), on the productive performance, egg quality and blood profile of laying hens. A total of 320 Dekalb white laying hens, 67 weeks of age were randomly distributed into 64 experimental cages with a (2×3+2) factorial arrangement with eight replications of five birds per experimental unit (**EU**). The 1st factor was Phytase enzyme supplementation, and the 2nd was the **AACM** inclusion levels (100, 70, and 40%) plus two control treatments: **IM** (inorganic minerals) with and without **EZ**. On the last three days of each period, three eggs were collected per **EU** to be analyzed. In the last week of the study, blood samples were collected from one bird per **EU** and then the bird was euthanized to evaluate organ parameters. Data were subjected to **ANOVA**, followed by Dunnett's and Tukey's tests for mean comparison ($P<0.05$). The group of hens fed **AACM-100** showed a lower feed intake than the **IM** treatment group. The diet containing **AACM-EZ-70** provided a higher ($P<0.05$) laying percentage and better ($P<0.05$) feed conversion ratio (kg.kg^{-1}) than both the **IM** and **IM-EZ** diets. Hens fed **AACM-40** exhibited better feed conversion ratio (kg.kg^{-1} , kg.dozen^{-1}) as related to the other groups. The groups fed **AACM-EZ-40**, **AACM-EZ-100** and **AACM-70** produced heavier yolks. Phytase inclusion in diets containing **AACM-100** and **AACM-70** intensified yolk color. Hens fed **IM** laid eggs with the lowest yolk and albumen weights. Layers fed **AACM-100** and **AACM-70** produced the most resistant eggshells and those fed **AACM-100**, produced the thickest shells. Phytase supplementation in the hens' diets reduced pancreas weight and increased the plasma concentration of red blood cells. It is possible to replace **IM** by low levels of **AACM** sustaining or even improving performance and egg quality.

Keywords: Egg production. Enzyme. Shell resistance. Trace minerals.

INTRODUÇÃO

O aumento da idade das galinhas poedeiras é acompanhado de mudanças extremas na qualidade dos ovos, principalmente quando se trata de características externas. À medida que a poedeira envelhece, a espessura da casca diminui e simultaneamente ocorre piora na resistência em consequência do aumento no tamanho dos ovos (YILMAZ DIKMEN *et al.*, 2015).

Com isso, estudos foram desenvolvidos buscando alternativas para manter a qualidade da casca dos ovos, principalmente em poedeiras com idade avançada. No entanto, a maior parte das pesquisas concentram-se nos efeitos proporcionados pelos macrominerais, como cálcio (Ca) e fósforo (P). Nesse contexto, surge a necessidade de estudos com a suplementação de microminerais, tais como zinco (Zn), Manganês (Mn), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Selênio (Se) e Iodo (I), pois desempenham papéis importantes como cofatores enzimáticos no metabolismo animal (BAI *et al.*, 2017; CUI *et al.*, 2019).

Normalmente, a indústria associa o uso das fontes inorgânicas de microminerais (MI) com o uso da enzima fitase em dietas de galinhas poedeiras. No entanto, os MI, apesar de serem relativamente mais baratos, apresentam baixa biodisponibilidade, pois ao atingirem o trato gastrointestinal precisam-se dissociar como cátions ativos para serem absorvidos, e desta forma interagem com outros componentes dietéticos como o ácido fítico, ácido fólico e taninos formando complexos insolúveis e tornando-os indisponíveis para o animal (JINTASATAPORN *et al.*, 2015). Desse modo, o uso da fitase associado a essas fontes inorgânicas intensifica a competição pelos locais de absorção no lúmen intestinal, visto que seu uso promove não só a liberação do P fítico, mas também de vários microminerais (HUFF *et al.*, 1998; LIM; NAMKUNG; PAIK, 2003; VIVEROS *et al.*, 2002).

Assim, o conceito de minerais ligados a moléculas orgânicas (MMO) é utilizado como alternativa para minimizar esses problemas, pois são absorvidos por carreadores intestinais de aminoácidos e não por transportadores específicos de minerais, evitando, dessa forma, a competição iônica (GOFF, 2017). Por outro lado, existem diferentes MMOs, como proteínatos, glicínatos, quelatos de metal-aminoácido, complexo aminoácido específico e minerais complexados a aminoácidos (AACM), cada um com diferentes capacidades de absorção (BURRELL *et al.*, 2004; DOZIER *et al.*, 2003).

No trato digestivo, os AACM tornam-se altamente estáveis e quimicamente inertes, não interagindo com íons metálicos livres. Ao serem absorvidos, passam diretamente ao plasma através das células da mucosa intestinal, permanecendo com sua ligação inalterada (JINTASATAPORN *et al.*, 2015). Devido a este complexo, o deslocamento dos minerais passa

a ser mediado pelos transportadores dos aminoácidos (SAUER *et al.*, 2017). Portanto, não apenas a forma química, mas também o nível de suplementação na dieta necessita ser estudado.

Stefanello *et al.* (2014), relataram que a suplementação de Mn, Zn e Cu na forma de proteinato não afetou as variáveis de desempenho, porém melhorou as características de qualidade da casca dos ovos, obtendo como melhor nível a suplementação com 65-60-10 mg/kg de Mn, Zn e Cu, respectivamente. Por outro lado, Li *et al.* (2019), ao trabalharem com sulfato de Zn e Zn-Metionina, verificaram que os níveis de 60 e 80 mg/kg de Zn-Met promoveu efeito positivo no desempenho bem como na qualidade dos ovos. Enquanto Sun *et al.* (2012), ao avaliar o uso da metionina hidróxi-análogo de Cu, Mn e Zn observaram maior peso dos ovos e cascas mais espessas não alterando as demais características produtivas.

Embora alguns estudos tenham avaliado os efeitos dos microminerais no desempenho e qualidade de ovos, nenhum considerou a suplementação simultânea de Zn, Cu, Mn, Fe, I e Se na forma de AACM em galinhas poedeiras. Desse modo, considerando a diversidade de resultados encontrados na literatura, bem como a escassez de pesquisas na utilização simultânea dos microminerais, torna-se necessário que mais estudos sejam desenvolvidos para avaliar o uso de forma conjunta de microminerais em níveis reduzidos, associados ou não ao uso da fitase.

Com isso, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de diferentes fontes e níveis de microminerais, com ou sem a adição da enzima fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos e perfil sanguíneo de galinhas poedeiras, na hipótese de que o uso de AACM em níveis reduzidos pode melhorar o desempenho e qualidade dos ovos, sem comprometer as variáveis hematológicas e hormonais das aves.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA nº 95/2018).

Local do Experimento e Manejo dos Animais

Um experimento de desempenho foi conduzido na Estação experimental de pequenos animais de Carpina (EPAC), pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco e localizada no município de Carpina, Pernambuco, Brasil. Foram utilizadas 320 galinhas poedeiras da linhagem Dekalb White com 67 semanas de idade, as quais foram distribuídas em 64 gaiolas experimentais revestidas com pintura eletrostática, equipadas com comedouros tipo calha e bebedouros automáticos com copinho acoplado. O período experimental adotado

compreendeu de 14 dias de adaptação mais cinco ciclos de 28 dias cada, totalizando 154 dias. Durante este período, o fornecimento de água para os animais foi *ad libitum*, enquanto o de ração ajustado conforme recomendação do manual da linhagem e necessidade nutricional da ave. O programa de luz adotado foi o fornecimento de 17 horas de luz diária (12h de luz natural e 5h de luz artificial).

Durante todo período experimental, a temperatura e umidade relativa do ar no interior do galpão foram registradas diariamente por meio de datalogger (HOBO U12-013), instalado no centro do galpão e termohigrômetros digitais (Incoterm, modelo 7663.02.0.00) fixados em pontos distintos (Figura 1).

Na Figura 1 podem-se observar as temperaturas e umidades médias diárias durante todo o experimento.

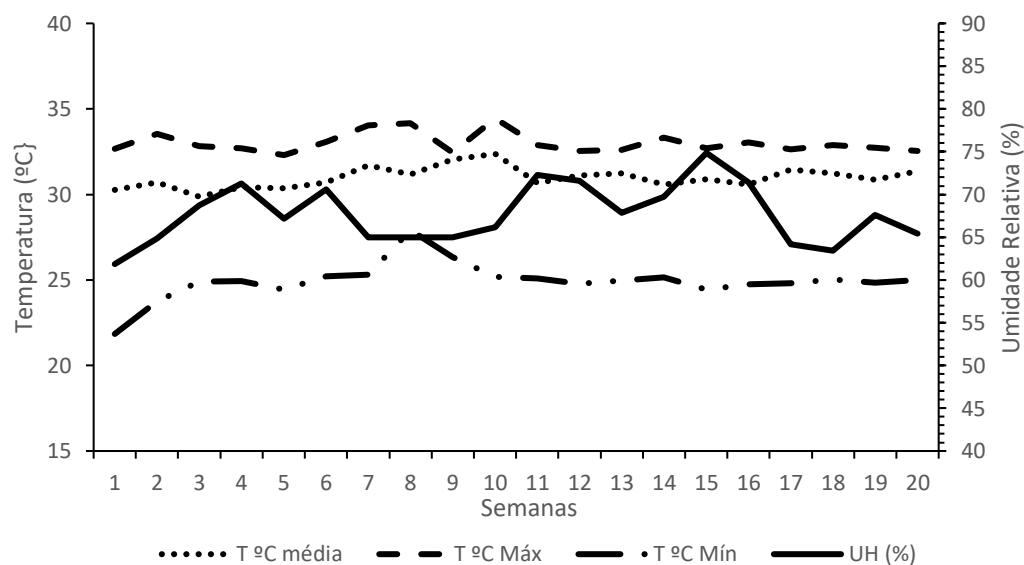


Figura 1. Variação média da temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%), durante o período experimental

Delineamento, tratamentos e dietas experimentais

As aves foram distribuídas por peso e produção em um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x3+2) com oito tratamentos e oito repetições de cinco aves por unidade experimental. O 1º fator referiu-se às dietas com minerais (Zn, Mn, Cu, Fe, I e Se) complexados a aminoácidos sem (AACM) ou com (AACM-EZ) à adição da enzima fitase. O 2º foram três níveis de inclusão de AACM (100, 70, 40%) e mais dois tratamentos-controle com minerais inorgânicos sem fitase (MI) ou com fitase (MI-EZ). Dessa forma, os tratamentos consistiram em dois grupos, um sem adição da enzima fitase e outro com

adição desta enzima, no qual cada grupo era composto por: 100% de MI, 100% de AACM, 70% de AACM e 40% de AACM (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos experimentais

	Nível/Fonte Mineral	Descrição
Sem Fitase	MI	100% de minerais inorgânicos
	AACM-100	100% de minerais complexados a aminoácidos
	AACM-70	70% de minerais complexados a aminoácidos
	AACM-40	40% de minerais complexados a aminoácidos
Com Fitase	MI-EZ	100% de minerais inorgânicos + Fitase
	AACM-EZ-100	100% de minerais complexados aminoácidos + Fitase
	AACM-EZ-70	70% de minerais complexados a aminoácidos + Fitase
	AACM-EZ-40	40% de minerais complexados a aminoácidos + Fitase

Os premixes minerais utilizados nas dietas experimentais foram formulados de acordo com as exigências nutricionais de minerais inorgânicos sugeridos para linhagem Dekalb White. As concentrações utilizadas encontram-se descritas na Tabela 2. Os minerais complexados utilizados foram da Zinpro Performance Minerals®. Os microminerais Zn, Mn, Cu e Fe foram complexados com um ligante de aminoácidos. O iodo foi suplementado associado à molécula de Zn, enquanto o selênio foi fornecido na forma de Zn-L-Se-Metionina.

Tabela 2. Composição calculada dos premixes inorgânicos (mg/kg) utilizados nas dietas

Microminerais	MI ¹ (Premix 1)	AACM-100 (Premix 2)	AACM-70 (Premix 3)	AACM-40 (Premix 4)
Zinco	60	60	42	24
Manganês	70	70	49	28
Cobre	8	8	5,6	3,2
Ferro	40	40	28	16
Selênio	0,25	0,25	0,175	0,1
Iodo	1,0	1,0	0,70	0,40

¹Suplementação por quilo de produto: Óxido de Zinco 799g/kg (Mín.), Óxido de manganês (60-62% de MnO), Sulfato de cobre, CuSO₄.5H₂O, 250g de Cu, Sulfato de Ferro, FeSO₄H₂O, 300g / kg (Mín.); Iodato de Cálcio (62%) e Selenito de sódio (45%); AACM: minerais complexados a aminoácidos

As dietas utilizadas na pesquisa encontram-se descritas na Tabela 3. Os tratamentos experimentais dispuseram de duas dietas basais (com e sem adição da enzima fitase), modificando dentro de cada grupo apenas o premix mineral utilizado. As dietas e os premixes utilizados durante o experimento foram analisados quanto a composição mineral e estão descritos na Tabela 4.

Tabela 3. Composição das dietas experimentais

Ingredientes, %	Sem fitase	Com fitase
Milho moído	58,756	58,756
Farelo soja	23,809	23,809
Óleo soja	2,763	2,763
Calcário calcítico	10,538	10,654
Fosfato bicálcico	1,054	0,000
Carne e ossos Far. 44%	1,580	1,580
Bicarbonato de sódio	0,050	0,050
Sal comum	0,345	0,345
DL-metionina 99%	0,234	0,234
L-lisina	0,140	0,140
L-Treonina	0,068	0,068
Adsorvente ¹	0,100	0,100
Probiótico ²	0,050	0,050
Fitase ³	0,000	0,006
Premix Vitaminico ⁴	0,100	0,100
Premix Mineral ⁵	0,285	0,285
Inerte ⁶	0,121	1,054
Total	100,00	100,00
Composição química		
Energia metabolizável, kcal/kg	2820	2820
Matéria Seca ⁷ , %	90,02	90,05
Proteína bruta, %	16,40	16,40
Proteína bruta ⁷ , %	16,25	16,21
Matéria Mineral ⁷ , %	15,44	15,05
Metionina digestível, %	0,45	0,45
Metionina + Cistina digestível, %	0,68	0,68
Lisina digestível, %	0,86	0,86
Treonina Dig, %	0,61	0,61
Triptofano Dig, %	0,17	0,17
Cálcio, %	4,50	4,50
Cálcio ⁷ , %	4,57	4,49
Fósforo total ⁷ , %	0,65	0,48
Fosforo disponível, %	0,37	0,37
Sódio, %	0,18	0,18
Cloro, %	0,27	0,27
Potássio, %	0,60	0,60
Gordura, %	5,49	5,49

Garantia por quilo de produto: ¹Níveis de garantia: Bentonita 666 g/kg; Beta Glucanos 54 g/kg; Mananoligossacarídeos 59,4 g/kg; Bioativos fitogênicos 16,5 g/kg; ² Níveis de garantia: Bacillus licheniformis (mín) > 16x10¹⁰UFC/g; ³ Níveis de garantia: Fitase (min) 10.000 FTU/g; ⁴ Níveis de garantia: (kg/kg de produto): Vitamina A 8.000 UI; Vitamina D3 2.000 UI; Vitamina E 10.000 UI; Vitamina K3 2.000 mg; Vitamina B1 1.000 mg; Vitamina B2 4.000 mg; Vitamina B6 2.500 mg; Vitamina B12 11.000 mg; Niacina 25 g; Pantotenato de cálcio 10 g; Ácido fólico: 550 mg; Biotina: 50 mg; ⁵A composição é apresentada na Tabela 2; ⁶ Areia; ⁷ Valores analisados

Tabela 4. Concentração de Zn, Mn, Fe e Cu na água, dietas e premixes experimentais

DIETAS*	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Se (mg/kg)
MI	71,575	73,275	288,900	11,100	0,320
AACM-100	73,425	76,275	265,000	10,600	0,313
AACM-70	58,275	53,300	249,450	7,950	0,286
AACM-40	39,275	36,425	218,360	4,650	0,220
MI-EZ	72,975	71,730	289,450	9,820	0,318
AACM-EZ-100	77,325	77,450	306,950	11,450	0,329
AACM-EZ-70	52,600	54,200	267,850	7,150	0,282
AACM-EZ-40	39,750	39,175	239,270	5,200	0,240
PREMIX*					
MI	61,767	67,970	46,562	7,361	0,265
AACM-100	62,047	71,078	44,400	7,588	0,255
AACM-70	42,267	48,235	33,619	5,488	0,180
AACM-40	26,816	27,366	26,644	3,027	0,080
ÁGUA*	0,175	1,000	0	0,025	0,085

*Valores obtidos em ICP-OES

Análises das rações e Água

Durante o experimento foram coletadas amostras das rações consumidas pelas aves e enviadas ao laboratório de nutrição animal do departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, para a determinação dos teores de matéria seca, proteína bruta e matéria mineral, segundo a metodologia descrita por Detmann *et al.* (2012).

As amostras de rações também foram analisadas quanto à composição mineral. Para isso foram pesadas amostras (0,5 g) e digeridas em 6 mL de 6 ml de HNO₃ (65%) em forno micro-ondas (*Mars Xpress: Thechnology Inside, CEM Corporation*), por 30 minutos a 160 °C. A solução obtida foi filtrada em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas com água deionizada até atingirem o volume referente a 25ml.

As quantificações dos minerais (Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P) nas amostras foram realizadas no Laboratório de Química Ambiental de Solos da UFRPE pelo espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (*Optima 7000 DV ICP-OES, PerkinElmer*).

Durante o período experimental, amostras de água foram coletadas em recipientes plásticos e congeladas em freezer. A quantificação de minerais na água também foi realizada pelo ICP-OES.

Medidas de Desempenho

Foram avaliados no ensaio de desempenho o peso do ovo (g), produção de ovos (%), massa de ovos (g/ave/dia), consumo de ração (g/ave/dia) e conversão alimentar (kg de ração/dúzia de ovos e kg de ração/kg de ovos). A coleta dos ovos foi realizada duas vezes ao dia, no qual foram contabilizados e pesados.

A produção de ovos foi calculada como a razão entre o número de ovos produzidos e o número de aves alojadas. A massa de ovos (g/ave/dia) foi calculada multiplicando a produção de ovos pelo peso do ovo. O consumo de ração foi calculado considerando a quantidade de ração fornecida no período de sete dias, subtraindo as sobras e dividindo-se pelo número de aves alojadas por unidade experimental. Para o cálculo da conversão alimentar (g/ave/dia), considerou-se o consumo médio da ave dividido pela massa de ovos obtida no mesmo período. Já a conversão alimentar por kg de ração/dúzia de ovos foi obtida dividindo-se o consumo médio da ração da parcela pela dúzia de ovos produzida.

Qualidade de ovos

Nos últimos três dias de cada período experimental, foram selecionados três ovos por parcela com base no peso médio, totalizando 24 ovos por tratamento, para avaliação do peso do ovo (g), peso de albúmen (g), peso da gema (g), peso da casca (g), altura do albúmen (mm), espessura da casca (mm), resistência da casca (mm), cor de gema e unidade Haugh.

Os ovos foram identificados e pesados individualmente em balança semi-analítica com precisão de 0,01 g (Bel, modelo L 3102iH). Para determinar a altura do albúmen, os ovos foram quebrados e seu conteúdo (albúmen + gema) colocado em uma superfície plana e nivelada. Em seguida, a altura do albúmen (mm) foi mensurada pela leitura do valor indicado no paquímetro digital (Modelo Absolute Digital AOS, Mitutoyo, SP, BR - precisão 0,01 mm). A unidade Haugh (UH) foi calculada utilizando as variáveis peso do ovo (g) e altura do albúmen (mm) através da seguinte equação: $UH = 100 \log (h + 7,57 - 1,7w^{0,37})$ (CARD; NESHEIM, 1966).

Posteriormente, as gemas foram separadas do albúmen e pesadas em balança semi-analítica de precisão de 0,01 g. As cascas dos ovos foram lavadas em água corrente logo após a quebra para remover todo o resíduo de albúmen e secas ao ar por 48h antes de serem pesadas. Após pesadas, utilizou-se um micrômetro de precisão (iGaging, San Clemente, CA, EUA) para a mensuração da espessura das três regiões da casca dos ovos (basal, equatorial e apical), a partir das quais obteve-se a espessura média por ovo. O peso do albúmen foi determinado pela

diferença entre o peso do ovo, peso da casca e peso da gema. Para a análise colorimétrica da gema, foi utilizado um leque de cores com escala de 1 a 15 (DSM).

Para a determinação da resistência da casca foram selecionados na última semana de cada período experimental três ovos por parcela, de forma aleatória, totalizando 24 ovos por tratamento. Os ovos foram encaminhados para a Universidade Federal da Paraíba (Centro de ciências agrárias) e analisados em um texturômetro (Texture Analyser - TA XT Plus Texture Analyzer). Os ovos foram posicionados de forma idêntica sobre um cadinho enquanto um programa computacional registrou a força (gf) necessária para que ocorresse a quebra da casca.

Perfil sanguíneo

Para análise do perfil hematológico foram selecionadas aleatoriamente quatro aves por tratamento na última semana experimental e coletado por punção da veia jugular 4 ml de sangue em tubo contendo heparina. As amostras de sangue devidamente identificadas foram encaminhadas ao laboratório veterinário (LaborVet). A contagem das hemácias, leucócitos e plaquetas foram realizadas em câmara de Neubauer após diluição com o reagente Natt-Herrick. A contagem foi feita em microscópio. A determinação do hematócrito foi realizada pelo método do microcapilar e a mensuração da proteína plasmática total por refratometria. A contagem de leucócitos diferenciais foi realizada pela leitura da lâmina, em microscópio ótico, após terem sido coradas pelo método do panótico rápido.

Para a análise hormonal e bioquímica, também foram coletadas na última semana amostras de sangue em uma ave por unidade experimental. As amostras foram identificadas e centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos, em seguida, com auxílio de uma pipeta coletaram-se 2 ml de soro que foi armazenado em Eppendorfs e congelados em freezer até o momento das análises. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Produção Animal (BIOPA/DZ/UFRPE), no qual foram analisadas com relação às concentrações hormonais de corticosterona ($\mu\text{g/ml}$), triiodotironina (T3) ($\mu\text{g/ml}$) e fosfatase alcalina (U/L). No momento da análise as amostras foram descongeladas a temperatura ambiente, diluídas e preparadas de acordo com a metodologia descrita pelo kit comercial (BIOCLIN[®]) e em seguida submetidas à leitura em espectrofotômetro (Bioclin, Biolisa Reader).

Peso dos órgãos

No último dia do período experimental, uma ave por parcela foi selecionada de acordo com o peso médio de cada unidade experimental, a fim de serem submetidas à eutanásia para coleta dos órgãos. Após a eutanásia por deslocamento cervical, realizou-se a coleta e pesagem

em balança semi-analítica ($\pm 0,01\text{g}$) dos seguintes órgãos: baço, fígado, pâncreas, intestino e oviduto. Também foi realizada a mensuração do comprimento do intestino.

Análise estatística

As hipóteses de normalidade e homocedasticidade foram testadas para a análise de variância. Os dados foram analisados pelo procedimento PROC GLM do software Statistical Analysis System versão 9.2 (SAS Institute, Inc). No caso de diferenças estatísticas entre as dietas AACM, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Com a finalidade de comparar os tratamentos inorgânicos (MI e MI-EZ) com a fonte AACM foi utilizado o teste de Dunnett ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Não houve efeito das suplementações sobre as variáveis de peso e massa de ovos (Tabela 5). A partir da análise fatorial e desdobramento das interações (Tabela 6) observou-se menor consumo de ração no tratamento AACM-100, enquanto a suplementação com AACM-EZ-70 proporcionou aumento no percentual de postura e melhor conversão alimentar (kg.kg^{-1} , kg.dúzia^{-1}). Melhor conversão (kg.dúzia^{-1}) também foi observada no grupo AACM-40.

Tabela 5. Desempenho de galinhas poedeiras suplementadas com AACM associados ou não ao uso da fitase (período total)

Tratamentos	PO	PR	MO	CR	CA	CDZ
	(g)	(%)	(g/ave)		(kg.kg^{-1})	(kg.dúzia^{-1})
Enzima						
AACM	64,950	92,526	60,085	103,207	1,717	1,373
AACM+Fitase	64,732	92,830	59,977	103,430	1,715	1,353
Nível						
100	64,680	92,160	59,610	103,021	1,730	1,360
70	64,876	92,971	60,409	103,645	1,711	1,369
40	64,966	92,902	60,101	103,267	1,706	1,360
P-valor						
Enzima	0,581	0,583	0,887	0,367	0,828	0,188
Nível	0,832	0,416	0,297	0,107	0,134	0,985
Enzima x Nível	0,363	0,023	0,101	0,040	0,030	0,005
SEM	0,192	0,290	0,222	0,120	0,007	0,009

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

Tabela 6. Desdobramento da interação do percentual de postura, consumo de ração e conversão alimentar (kg kg⁻¹, kg dúzia⁻¹) de aves suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase

Variáveis	Níveis		
	100	70	40
Percentual de postura			
AACM	92,064 ^{Aa}	91,830 ^{Ba}	93,683 ^{Aa}
AACM + Fitase	92,257 ^{Aa}	94,112 ^{Aa}	92,120 ^{Aa}
Consumo de ração			
AACM	102,64 ^{Bb}	103,89 ^{Aa}	103,16 ^{Aab}
AACM + Fitase	103,52 ^{Aa}	103,40 ^{Aa}	103,37 ^{Aa}
Conversão por dúzia			
AACM	1,366 ^{Aab}	1,415 ^{Aa}	1,339 ^{Ab}
AACM + Fitase	1,355 ^{Aa}	1,323 ^{Ba}	1,381 ^{Aa}
Conversão por massa			
AACM	1,715 ^{Aa}	1,730 ^{Aa}	1,703 ^{Aa}
AACM + Fitase	1,759 ^{Aa}	1,688 ^{Ab}	1,710 ^{Aab}

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

Pelo teste de Dunnett (Figura 2), observou-se efeito para PR ($P < 0,01$), CR ($P = 0,03$) e CA ($P = 0,01$). Verificou-se que a suplementação com AACM-EZ-70 promoveu maior percentual de postura e melhor conversão alimentar (kg.kg⁻¹) em relação às dietas MI (MI e MI-EZ). A dieta AACM-40 também apresentou melhor conversão alimentar (kg.kg⁻¹) em relação ao tratamento MI-EZ. As aves suplementadas com AACM-100 apresentaram menor consumo de ração em relação as do grupo MI-EZ.

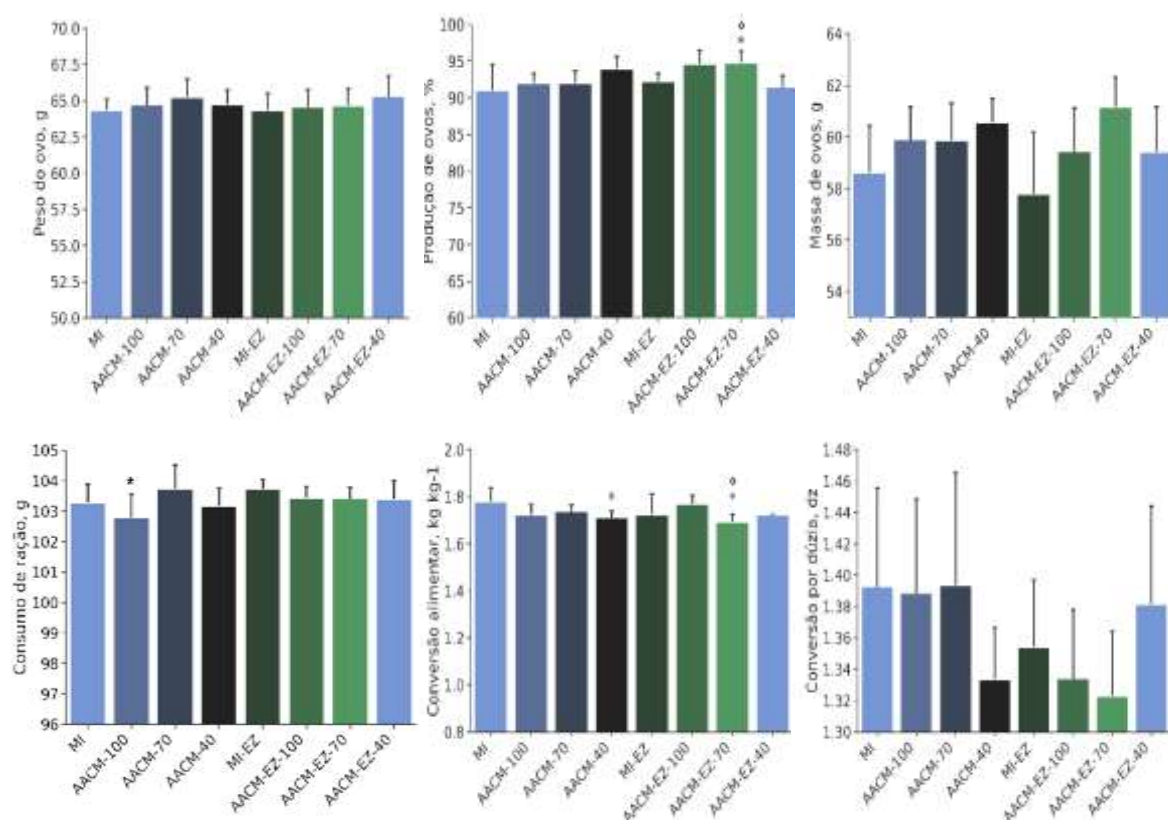


Figura 2. Desempenho de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$); [◊]Difere do tratamento MI; *Difere do tratamento MI-EZ

Os dados de qualidade dos ovos estão descritos na Tabela 7. Não foram observadas diferenças para as variáveis de peso de ovo, peso de casca, altura de albúmen e unidade Haugh. No entanto, houve efeito de interação para peso de gema (Tabela 8), no qual observou-se gemas mais pesadas nos grupos AACM-EZ-40, AACM-EZ-100 e AACM-70. Avaliando de forma isolada, verificou-se que a suplementação com AACM-100 e AACM-70 intensificaram a coloração da gema, bem como a adição da enzima fitase às dietas.

Pelo teste de Dunnett (Figura 3), observou-se efeito para PG ($P < 0,01$), PA ($P = 0,02$), CG ($P < 0,01$), RC ($P = 0,04$) e EC ($P = 0,03$). O tratamento MI apresentou gemas menos pesadas quando comparadas aos tratamentos AACM-EZ-100, AACM-EZ-40 e AACM-70 e com menor intensidade de coloração em relação aos grupos AACM-EZ-100 e AACM-EZ-70. O tratamento MI também apresentou menor peso de albúmen em relação aos demais grupos. Ovos com cascas mais resistentes foram encontrados nos grupos AACM-100 e AACM-70 em relação ao tratamento MI-EZ, enquanto as aves suplementadas com AACM-100 tiveram cascas mais espessas em relação aos grupos MI e MI-EZ.

Tabela 7. Qualidade dos ovos de galinhas poedeiras suplementadas com AACM associados ou não ao uso da enzima fitase

Tratamentos	PO	PG	PC	PA	AA	EC	RC	CG	UH
		(g)			(mm)		(gf)	(escore)	
Enzima									
AACM	64,271	17,020 ^b	5,777	41,959	7,192	0,441	4022,99	6,160 ^b	82,978
AACM+Fitase	64,265	17,195 ^a	5,742	41,925	7,200	0,435	3923,65	6,369 ^a	83,265
Nível									
100	63,987	17,051	5,733	41,561	7,136	0,441	3916,93	6,361 ^a	82,720
70	64,308	17,127	5,738	41,993	7,252	0,435	4028,67	6,300 ^{ab}	83,567
40	64,481	17,140	5,789	41,856	7,122	0,438	3866,78	6,158 ^b	83,077
P-valor									
Enzima	0,987	0,010	0,497	0,880	0,814	0,111	0,154	< 0,01	0,504
Níveis	0,631	0,559	0,718	0,899	0,148	0,453	0,123	0,054	0,274
Enzima x Nível	0,678	0,001	0,155	0,679	0,576	0,136	0,843	0,336	0,601
SEM	0,168	0,034	0,023	0,132	0,026	0,002	33,583	0,034	0,211

^{a,b} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P<0,05); PO= peso do ovo; PG= peso da gema; PC= peso da casca; PA= peso do albúmen; AA= altura do albúmen; EC= espessura da casca; RC= resistência da casca; CG= Cor da gema; UH= unidade Haugh; SEM= erro padrão da média

Tabela 8. Desdobramento da interação do peso das gemas dos ovos de aves suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima

Variáveis	Níveis		
	100	70	40
Peso da gema, g			
AACM	16,908 ^{Bb}	17,229 ^{Aa}	16,945 ^{Bb}
AACM+Fitase	17,177 ^{Aab}	17,051 ^{Ab}	17,311 ^{Aa}

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

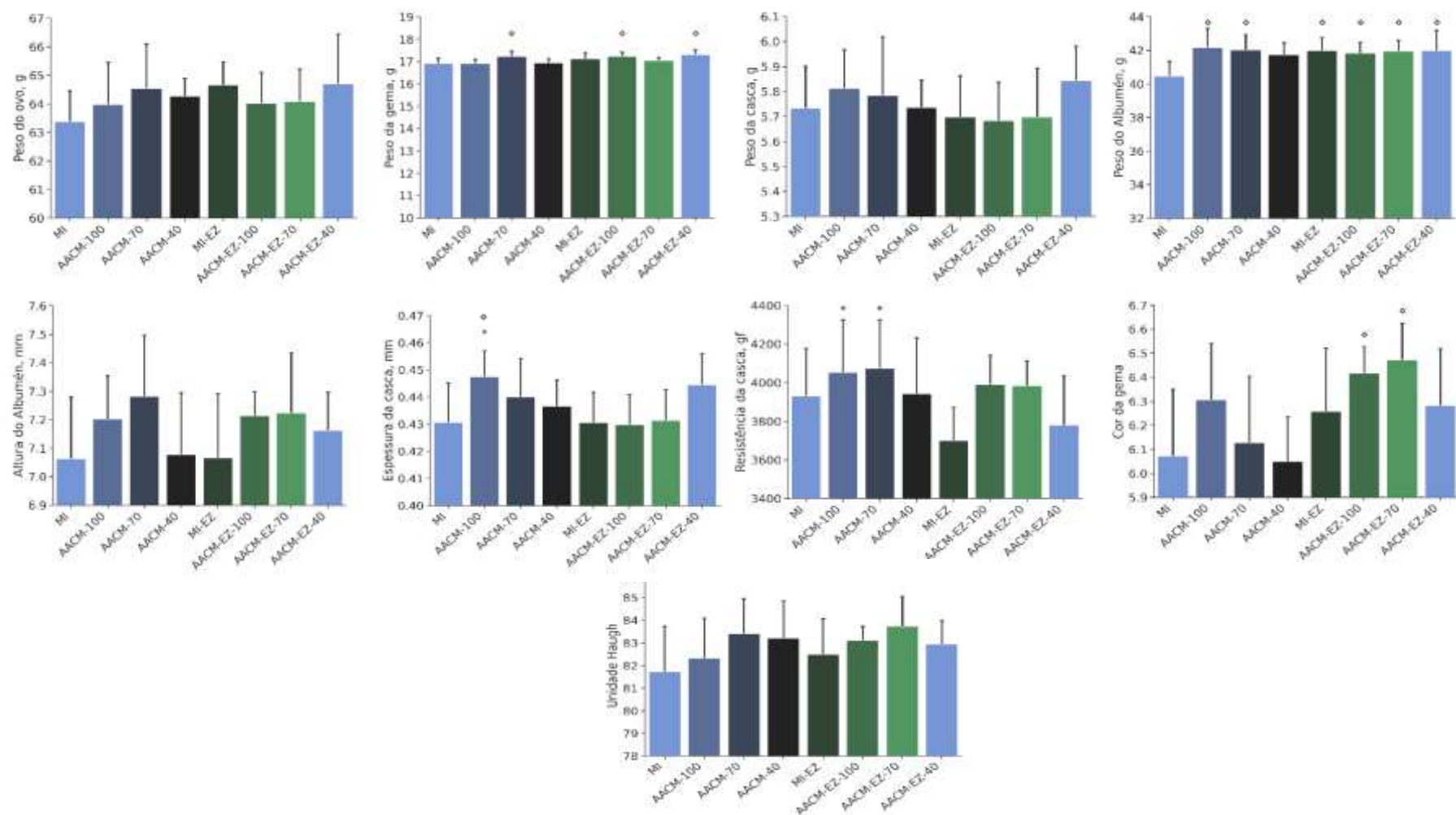


Figura 3. Qualidade dos ovos de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$); °Difere do tratamento MI; *Difere do tratamento MI-EZ

Não foi verificado efeito de interação para as variáveis de peso de órgãos das aves com 89 semanas de idade. Ao avaliar de forma isolada, observou-se que o fornecimento de fitase para o grupo AACM proporcionou redução no peso do pâncreas (Tabela 9). Não foi observada diferença significativa pelo teste de Dunnett ($P>0,05$) nas variáveis de peso de órgãos (Figura 4).

Tabela 9. Peso dos órgãos e comprimento de intestino de galinhas poedeiras suplementadas com AACM associados ou não ao uso da enzima

Tratamentos	Fígado	Baço	Pâncreas (g)	Intestino	Oviduto	Intestino (m)
Enzima						
AACM	41,049	1,376	3,515 ^a	63,661	69,113	1,373
AACM+Fitase	41,020	1,366	3,139 ^b	64,615	65,878	1,372
Nível						
100	40,009	1,333	3,237	61,859	66,704	1,305
70	42,984	1,479	3,583	65,305	68,641	1,409
40	39,981	1,301	3,171	65,249	66,452	1,358
P-valor						
Enzima	0,979	0,991	0,024	0,746	0,064	0,989
Nível	0,225	0,269	0,098	0,405	0,452	0,234
Enzima x Nível	0,990	0,465	0,533	0,400	0,575	0,723
SEM	0,793	0,047	0,083	1,184	0,889	0,015

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

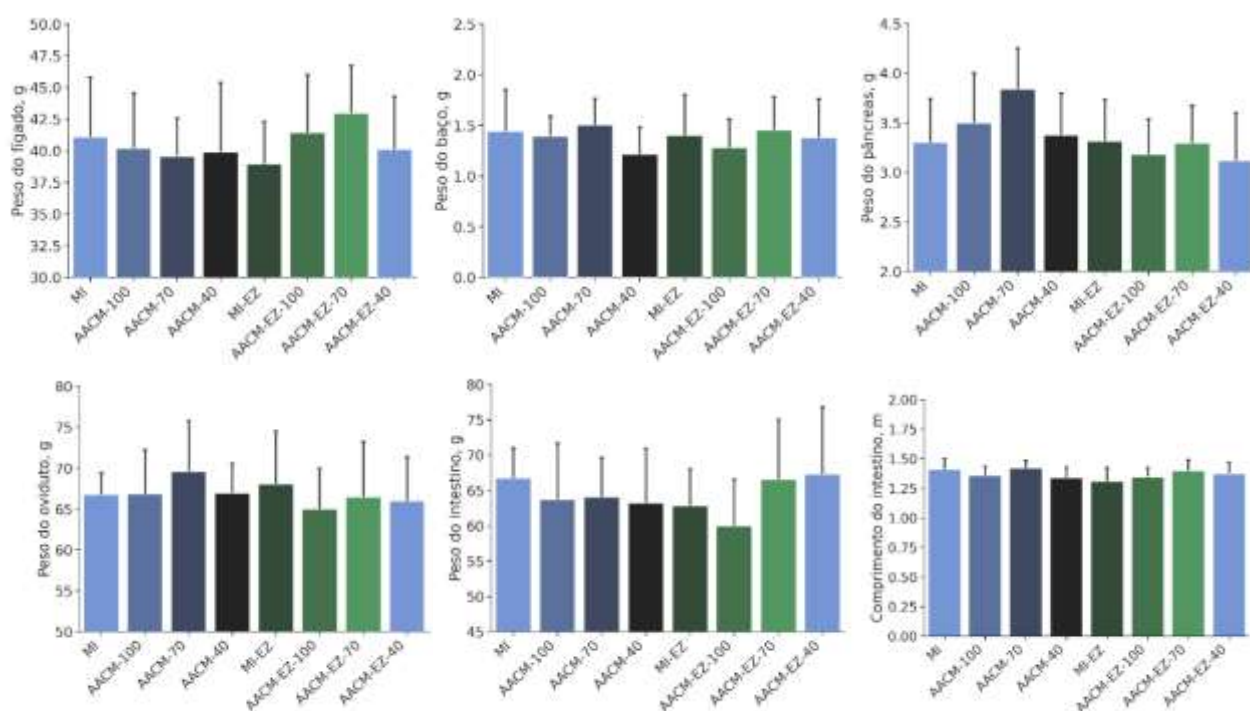


Figura 4. Peso dos órgãos e comprimento do intestino de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P<0,05$)

Na Tabela 10 observamos que a suplementação com minerais complexados a aminoácidos não proporcionou diferença ($P>0,05$) nas concentrações hormonais de triiodotironina (T3) ($\mu\text{g/ml}$), corticosterona ($\mu\text{g/ml}$), e FA (U/L). Pelo teste de Dunnett também não houve efeito para essas variáveis (Figura 5).

Tabela 10. Concentração hormonal e atividade da fosfatase alcalina de galinhas poedeiras suplementadas com AACM associados ou não ao uso de fitase

Tratamentos	T3	Corticosterona	FA
		$\mu\text{g/ml}$	U/L
Enzima			
AACM	0,950	1,009	1512,73
AACM+Fitase	0,923	0,757	1280,97
Níveis			
100	1,011	0,591	2762,24
70	0,926	1,200	3074,62
40	0,873	0,801	3045,78
P-valor			
Enzima	0,836	0,569	0,575
Níveis	0,519	0,120	0,787
Enzima x Nível	0,414	0,084	0,225
SEM	0,051	0,116	200,845

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

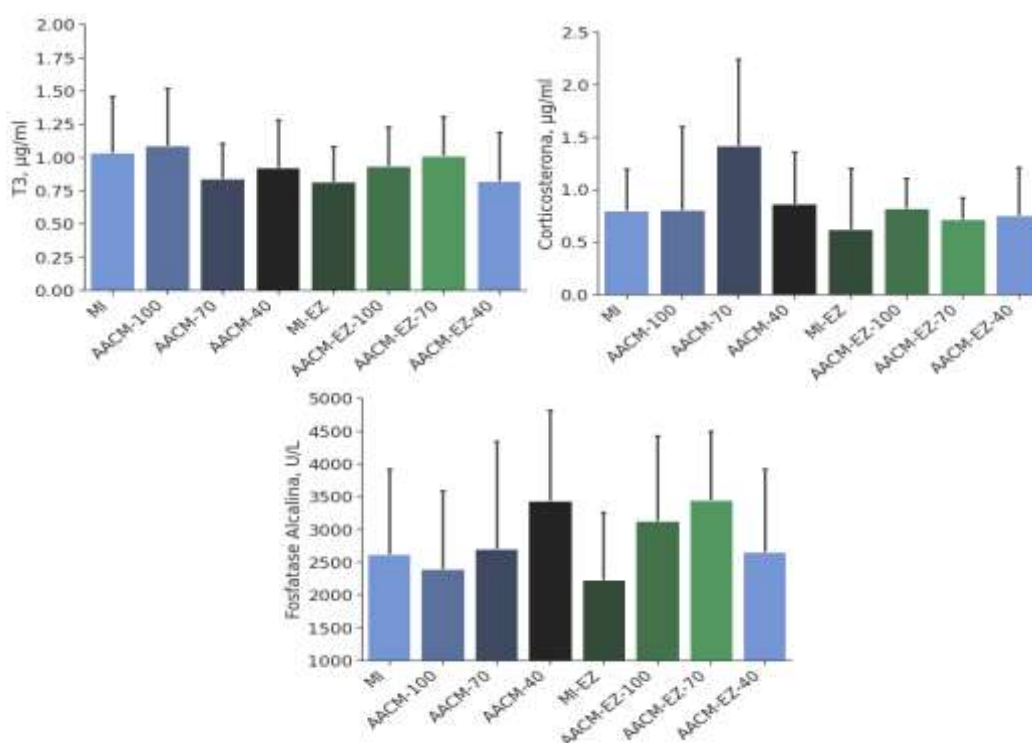


Figura 5. Concentração hormonal e atividade da fosfatase alcalina em galinhas poedeiras com 89 semanas suplementadas com AACM associado ou não ao uso de fitase. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P<0,05$)

De acordo com a Tabela 11, verificamos que a redução nos níveis de microminerais complexados a aminoácidos não influenciou o perfil sanguíneo das galinhas poedeiras; no entanto, a suplementação com a enzima fitase aumentou a concentração de hemácias no sangue das aves. Já pelo teste de Dunnett não verificamos efeito nas variáveis sanguíneas (Figura 6).

Tabela 11. Perfil hematológico de galinhas poedeiras suplementadas com AACM associados ou não ao uso de fitase

Tratamentos	Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	Hemat (%)	Hemo (g/dl)	PT	Plaquetas	Leucócitos	Heterofilos (/mm ³)	Linfócitos	Monócitos
Enzima									
AACM	2,06 ^b	32,66	11,00	8,17	70,00	16.979	7.394	8.699	5.116
AACM+ Fitase	2,48 ^a	31,58	10,59	8,70	53,33	19.312	8.494	8.836	8.489
Nível									
100	2,26	32,00	10,76	8,45	61,25	18.906	8.095	9.686	6.825
70	2,06	31,00	10,42	8,55	66,25	17.843	8.694	8.115	6.012
40	2,43	33,37	11,21	8,25	57,50	17.687	6.836	8.502	7.571
P-valor									
Enzima	0,010	0,485	0,419	0,547	0,163	0,210	0,390	0,684	0,190
Nível	0,162	0,457	0,456	0,943	0,824	0,835	0,342	0,479	0,947
Enzima x Nível	0,845	0,491	0,389	0,905	0,202	0,696	0,447	0,558	0,446
SEM	0,096	0,736	0,248	0,282	5,856	733,07	497,211	505,287	797,284

^{a,b} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05). Hemo = hemoglobina; Hemat = hematócrito; PT = proteínas totais; SEM = erro padrão da média

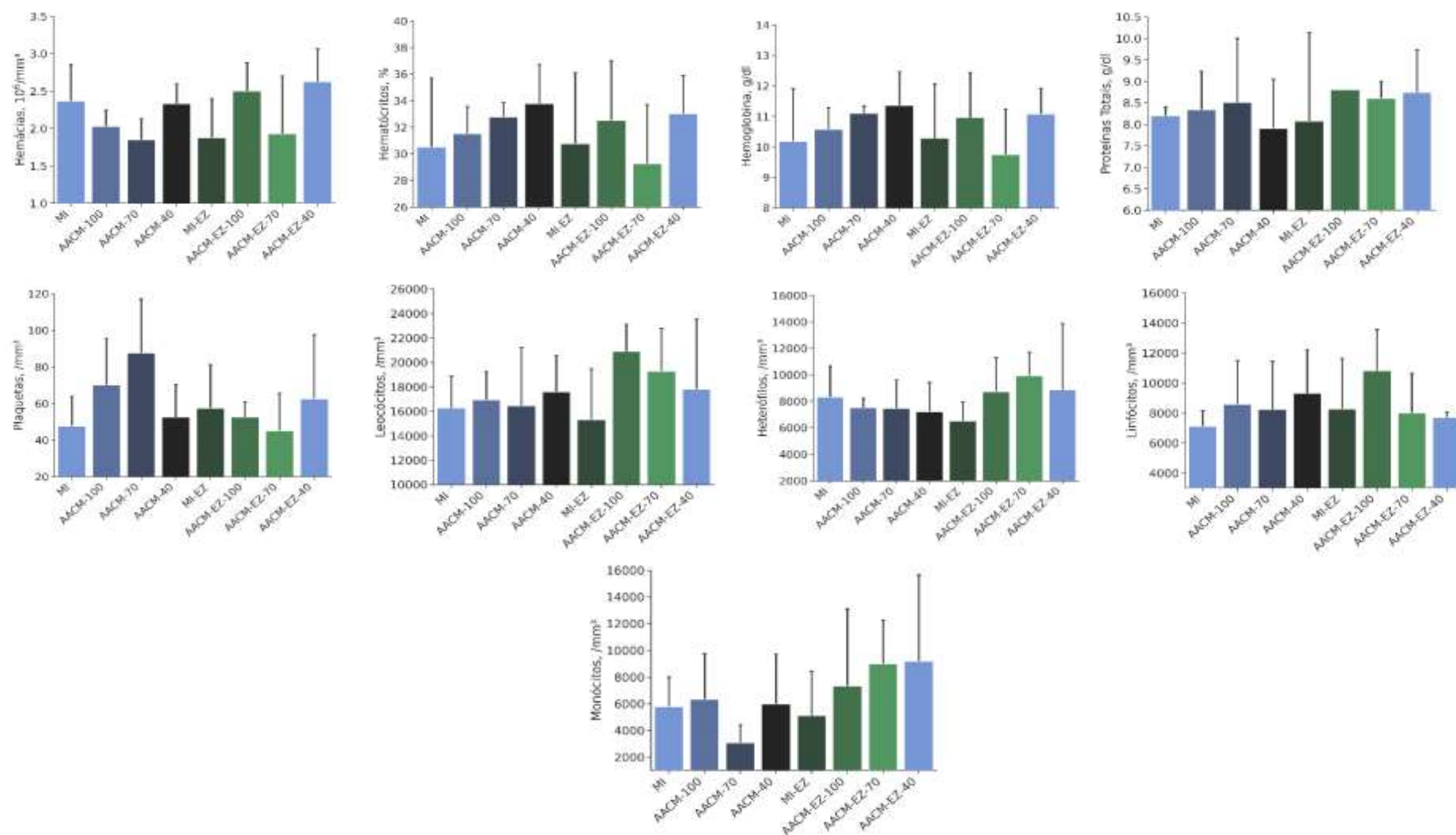


Figura 6. Perfil hematológico de galinhas poedeiras suplementadas com AACM, associados ou não ao uso da enzima fitase. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$); \diamond Difere do tratamento MI; *Difere do tratamento MI-EZ

DISCUSSÃO

A suplementação com AACM proporcionou melhoria no desempenho produtivo e na qualidade interna e externa dos ovos, enquanto a adição da enzima fitase reduziu o peso do pâncreas e aumentou a concentração de hemácias de galinhas poedeiras.

Alguns autores demonstraram não haver influência significativa da suplementação de microminerais no desempenho de galinhas poedeiras (MACIEL *et al.*, 2010; STEFANELLO *et al.*, 2014b; BAI *et al.*, 2017; FARIAS *et al.*, 2019). No entanto, verificamos no presente estudo que o fornecimento de AACM proporcionou efeito positivo nessas variáveis. Resultados semelhantes também foram observados por Santos *et al.* (2018) ao trabalharem com AACM, no qual obtiveram maior produção, peso e massa de ovos e melhor conversão alimentar ao reduzir 60% da suplementação mineral. A maior produtividade encontrada nas aves suplementadas com AACM pode estar relacionada à ação do Mn sobre os hormônios esteroides. O Mn atua como cofator regulando a síntese do colesterol (ROLLIN, 2002), que por sua vez atua como precursor de hormônios esteroides, tais como estrógenos e progesterona (PEREIRA *et al.*, 2017), sendo capaz de estimular a liberação de LH (PINE *et al.*, 2005), hormônio responsável por induzir a ovulação, e, portanto, proporcionar efeito no desempenho produtivo de galinhas poedeiras (ATTIA *et al.*, 2010a; CUI *et al.*, 2019; YILMAZ *et al.*, 2015). Além do Mn, o Zn também pode ter contribuído para esse resultado. Ebeid *et al.* (2008) relataram que a concentração plasmática de Zn pode ser usada como um indicador de vitelogenina, precursor da gema dos ovos de galinhas poedeiras, podendo assim influenciar na produção de ovos.

O Zn também pode ter contribuído para o resultado observado no consumo de ração e conversão alimentar (kg kg^{-1} , kg dúzia^{-1}), visto que possui atuação direta na morfologia intestinal dos animais (TSE *et al.*, 2010). O Zn age aumentando a proliferação celular e reduzindo a apoptose resultando em melhoria da capacidade digestiva e função absorptiva do trato gastrointestinal, permitindo melhor aproveitamento dos nutrientes e, conseqüentemente, melhor desempenho produtivo (SHAO *et al.*, 2014).

Piores resultados foram observados para aves suplementadas com MI, isto porque os MI são ionizados no estômago e são captados pelas células intestinais por meio de difusão passiva ou transporte ativo; porém, nesse processo podem ocorrer perdas em reações com compostos insolúveis ou por meio de competições com diferentes minerais para se ligarem aos transportadores. Por outro lado, quando complexados a moléculas orgânicas eles são menos influenciados por outros minerais bem como componentes dietéticos, devido a estabilidade da

molécula complexada no trato gastrointestinal, evitando perdas e competições com antagonistas (JINTASATAPORN *et al.*, 2015).

Medeiros-Ventura *et al.* (2020), demonstraram que a substituição parcial dos minerais inorgânicos por AACM (Zn, Mn e Cu) promoveu melhoria no desempenho de pintainhas de postura comercial durante a fase de cria, com maior ganho de peso e melhor conversão alimentar, enquanto Pereira *et al.* (2020) verificaram que aves suplementadas parcialmente com AACM (Zn, Mn e Cu) desde a fase inicial atingiram 35% da produção dois dias antes dos animais alimentados com MI, sendo esse resultado justificado pelo maior desenvolvimento do oviduto, proporcionando melhor desenvolvimento fisiológico e levando a uma maior precocidade dessas aves. Resultados semelhantes também foram encontrados por Li *et al.* (2019), que relataram que a suplementação com 80 e 60 mg/kg de Zn-Metionina aumentou a produção de ovos. No entanto, em nosso estudo, os melhores resultados produtivos foram encontrados ao reduzir 30% da suplementação de AACM (42 mg/kg de Zn) sugerindo que esta redução proporciona maior eficiência de utilização.

Atualmente, observa-se um interesse contínuo pela produção de ovos de alta qualidade; sendo assim, os minerais utilizados na nutrição de poedeiras comerciais tornaram-se o foco de pesquisas. Em nosso estudo, tanto o peso da gema quanto o peso de albúmen foram influenciados pela suplementação com AACM, apresentando gemas e albúmens significativamente mais pesados.

Os hormônios ovarianos são essenciais para o desenvolvimento e funcionamento do sistema reprodutivo das aves, pois agem estimulando a síntese das proteínas da gema do ovo (SARTORI *et al.*, 2009), e são influenciados pelo Mn dietético (XIE *et al.*, 2014a). Em resposta aos estrógenos ovarianos, a proteína vitelogenina é sintetizada e transportada por via sanguínea ao ovário onde é endocitada e fragmentada em duas proteínas vitelínicas: fosfovítina e lipovítina (MATSUBARA; SAWANO, 1995; ROBIN, 1981). Dessa forma, sob regulação complexa dos hormônios ovarianos, a formação e deposição da gema torna-se dependente da junção do eixo fígado-sangue-ovário (COHEN; SMITH, 2014; YILMAZ *et al.*, 2015) e, conseqüentemente, pode ser influenciada pelo Mn.

Ainda neste contexto, os hormônios esteroides gonadais estão envolvidos na indução da síntese de albumina pelas glândulas tubulares e células epiteliais do magno (MACARI, 2005). Além disto, a suplementação com minerais orgânicos pode influenciar as variáveis morfométricas do trato reprodutor, especialmente do magno, por meio da redução da oxidação e aumento da integridade celular, melhorando a morfologia do oviduto e aumentando o número de células secretoras de albúmen (MEDEIROS *et al.*, 2013).

A coloração da gema é uma característica importante para valorização e aceitação dos ovos pelos consumidores, que normalmente possuem preferência por gemas mais pigmentadas (SILVA; ALBINO; GODÓI, 2000). Em nosso estudo, a coloração da gema foi influenciada tanto pela presença da fitase nas dietas quanto pelos níveis de suplementação com AACM. Sendo assim, a teoria que poderia explicar esse resultado estaria embasada no fato de que o ácido fítico seria capaz de formar complexos insolúveis com moléculas pigmentantes. Deste modo, ao utilizar fitase em dietas de galinhas poedeiras estaríamos proporcionando a hidrólise do ácido fítico, promovendo aumento na absorção de pigmentos, e conseqüentemente, intensificando a coloração das gemas (BRUNELLI *et al.*, 2012).

Os carotenoides livres são absorvidos juntamente com ácidos graxos dissolvidos nas micelas e transportados por lipoproteínas no sangue (SILVA; ALBINO; GODÓI, 2000). Devido a presença de duplas ligações conjugadas existentes em suas moléculas eles se oxidam com facilidade e por esse motivo exigem acréscimo de substâncias que mantenham a estabilidade da coloração (SCHWEIGGERT *et al.*, 2007). Entre as substâncias estabilizadoras e potencializadoras de pigmentação, o selênio ligado a moléculas orgânicas é um dos mais utilizados. O efeito positivo do selênio sobre as substâncias lipossolúveis (carotenoides) pode ocorrer tanto a nível de absorção intestinal quanto no transporte no fluído extracelular até o fígado ou até o folículo (PAN *et al.*, 2010). Embora a cor da gema tenha sido significativamente influenciada pela adição de fitase e pelos teores de minerais, vale ressaltar que essa diferença não é perceptível.

Além das características internas, a qualidade da casca dos ovos desempenha um papel importante na economia do setor avícola, isto porque as perdas econômicas proporcionadas pela quebra são responsáveis por 8 a 10% da produção total (KETTA; TÚMOVÁ, 2016). Sendo assim, os pesquisadores buscam constantemente novas técnicas nutricionais eficazes para melhorar a espessura e resistência da casca dos ovos.

A suplementação com AACM proporcionou aumento na espessura e melhora na resistência da casca, quando comparada às dietas inorgânicas. Antagonismos entre MI da dieta resultam em absorção intestinal diminuída em conseqüência da maior competição no sítio de absorção do enterócito ocasionando desbalanço mineral (AKSU *et al.*, 2010). Por outro lado, os íons metálicos quando complexados a moléculas orgânicas são estáveis e não ionizados antes da absorção. Após entrar no trato digestório podem evitar a precipitação ou adsorção por agentes precipitantes, demonstrando ser mais biodisponíveis, pois são absorvidos por carreadores intestinais de aminoácidos e não por transportadores específicos de minerais, evitando a competição pelos mesmos mecanismos de absorção (SAUER *et al.*, 2017).

A composição da casca do ovo inclui componentes orgânicos e inorgânicos. Entre os componentes orgânicos destacam-se a matriz, a membrana da casca do ovo, o botão mamilar e a cutícula (SOLOMON, 2010), enquanto os inorgânicos são principalmente cristais de carbonato de cálcio (ROBERTS, 2004). Sendo assim, os fatores que influenciam a resistência e espessura da casca dos ovos são complexos e refletem a interação entre esses componentes (QIU *et al.*, 2020a).

No setor de postura comercial o aumento da espessura e resistência casca é uma característica desejável (ZHANG *et al.*, 2017d). A utilização dos microminerais, principalmente Mn, Zn e Cu podem influenciar diretamente a qualidade da casca dos ovos devido suas propriedades catalíticas como enzimas-chave envolvidas no processo de formação das membranas ou mediante um efeito modificador nos mecanismos de crescimento do cristal de calcita durante a formação da casca (MABE *et al.*, 2003). Estudos relevantes mostram que a relação entre a camada paliçada e mamilar, a densidade e largura dos botões mamilares e a organização dos cristais de calcita afetam a espessura e resistência da casca do ovo, que, por sua vez, são influenciados pelos níveis dietéticos de minerais (CUI *et al.*, 2019; RADWAN, 2010; STEFANELLO *et al.*, 2014a; XIAO *et al.*, 2014).

O Mn atua como ativador da enzima glicosiltransferase, envolvida na síntese de glicosaminoglicanos e glicoproteínas, que contribuem para o desenvolvimento da matriz orgânica, através da formação de sítios de nucleação e regulando o crescimento e orientação dos cristais de calcita durante a formação da casca (XIAO *et al.*, 2014). Assim, os componentes proteoglicanos da matriz orgânica influenciam a estrutura e resistência a quebra da casca do ovo (ADDADI; WEINER, 1985). O Zn influencia a qualidade da casca, pois, é componente de uma série de metaloenzimas como a anidrase carbônica que contribui para a conversão de dióxido de carbono em bicarbonato e, conseqüentemente, controla a transferência dos íons de bicarbonato do sangue para a glândula da casca durante a formação do ovo (NYS, 1999). Enquanto o Cu é componente da enzima lisil oxidase envolvida na conversão de lisina em desmosina reticulada e isodesmosina. Quando os níveis dietéticos de Cu estão inadequados resultam em má formação da casca do ovo, caracterizada por uma distribuição anormal das fibras da membrana da casca devido a alterações nas ligações cruzadas derivadas da lisina (CHOWDHURY, 1990).

Em nosso estudo, a inclusão da enzima fitase nas dietas AACM reduziu o peso do pâncreas, o que possivelmente está associado à interação entre o ácido fítico e enzimas digestivas. Na nutrição, o interesse pelo ácido fítico está centrado em seu efeito na utilização do fósforo (P). Isto porque a capacidade do fitato de se ligar a minerais reduz a digestão e

absorção de macro e microminerais por animais não ruminantes. No entanto, uma influência negativa na disponibilidade da proteína também pode ser encontrada, sendo esta propriedade antinutritiva melhorada pelo uso da fitase (SELLE *et al.*, 2000).

O fitato é capaz de se ligar às proteases endógenas, tais como tripsina e quimiotripsina bem como a seus precursores durante sua passagem pelo trato digestivo (SELLE *et al.*, 2000). Sob certas concentrações de fitato, além da interação existente com as proteínas, também pode ocorrer a formação de um complexo ternário proteína-metal-fitato, visto que tanto as enzimas como seus precursores possuem afinidade com o Ca reduzindo ainda mais a biodisponibilidade das proteínas e minerais (SINGH; KRIKORIAN, 1982).

Devido à formação desses complexos com as enzimas digestivas, o pâncreas, na tentativa de compensar os baixos níveis enzimáticos, aumentará a secreção de proteases digestivas no intestino em resposta aos mecanismos de feedback negativo (LESLIE; MORAN; BEDFORD, 2007). Isso ocorre porque a colecistocinina liberada atua sobre o pâncreas exócrino resultando na liberação das enzimas pancreáticas na luz duodenal. Essas, por sua vez, inibem a liberação de colecistocinina, exercendo o feedback negativo (CALDWELL, 1992). Na nutrição animal, dietas sem inclusão de fitase favorecem a formação de complexos com as enzimas proteolíticas prejudicando a regulação da secreção pancreática. Por outro lado, seu uso inibe a formações desses complexos, possibilitando melhoria no aproveitamento dos aminoácidos, promovendo redução na atividade pancreática e, conseqüentemente, interferindo no peso do pâncreas (CALDWELL, 1992; LESLIE; MORAN; BEDFORD, 2007).

O uso da fitase proporcionou aumento na concentração de hemácias sanguíneas. Nos alimentos, sob condições naturais, o ácido fítico encontra-se carregado negativamente, o que lhe confere alto potencial para complexação com moléculas carregadas positivamente, como os cátions (Fe^{+++} e Cu^{++}), que na forma iônica podem formar complexos insolúveis com o fitato (CHERYAN; RACKIS, 1980). Alguns minerais são fundamentais na formação e manutenção da integridade destas moléculas, dentre eles podemos citar o Fe e o Cu. O Fe está presente na molécula da hemoglobina e é um mineral essencial para o transporte de oxigênio no sangue (GROTTO, 2010). Enquanto o Cu, embora não seja constituinte da hemoglobina, está presente em certas proteínas plasmáticas envolvidas no transporte do Fe, além de ser componente de outras proteínas sanguíneas, como a eritrocupreína, encontrada nas hemácias e envolvida no metabolismo do oxigênio (LEESON, 2009).

Desse modo, o uso da fitase na dieta de poedeiras proporcionou a liberação do Fe e Cu que se encontravam aprisionados a molécula do fitato e, conseqüentemente, contribuiu para o aumento na concentração das hemácias sanguíneas.

Neste estudo, os níveis de T3, FA e corticosterona não foram influenciados. Resultados semelhantes aos nossos foram observados por Pereira *et al.* (2020), que ao trabalhar com substituição parcial de minerais provenientes de fontes tradicionais pelos AACM não verificaram diferença significativa nos níveis de T3. O T3 é um dos hormônios tireoidianos (HTs) que atua participando no controle dos processos metabólicos (SMITH, 2002), e sua síntese é dependente dos microminerais Zn, Se e I (MEZZOMO; NADAL, 2016).

Minerais traços estão envolvidos em reações bioquímicas no organismo animal. Portanto, indicadores bioquímicos e atividades enzimáticas no sangue pode refletir a sua utilização. A FA é uma enzima que contém Zn e que é ativada pelo Mn (LI *et al.*, 2019). Ela possui capacidade de retirar de várias moléculas grupos de fosfato, que por sua vez juntamente com o Ca leva a formação dos cristais de hidroxiapatita nas fibras de colágeno da matriz óssea (ANDERSON, 1989). Portanto, baixa absorção mineral pode deprimir a formação óssea e da casca dos ovos (QIU *et al.*, 2020b).

Os microminerais apresentam importante papel na atenuação dos efeitos causados pelo estresse. O estresse pode aumentar a concentração sanguínea de hormônios glicocorticoides, em especial a corticosterona em aves. O aumento plasmático desses hormônios demanda mecanismos adaptativos, preparando o organismo animal para responder às mudanças impostas. Há influência sobre o número de leucócitos sanguíneos e consequente comprometimento do sistema imunológico das aves (DHABHAR, 2009), além de interferir na regulação do metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras, alterar o comportamento animal, reduzir o desempenho zootécnico (ODIHAMBO MUMMA *et al.*, 2006) e induzir a processos de estresse oxidativo (BOZKURT *et al.*, 2016).

A ausência de respostas significativas em algumas variáveis neste estudo confirma e corrobora a substituição de IM por níveis mais baixos de AACM, considerando que diferentes níveis de reposição foram avaliados sem prejudicar o desempenho de poedeiras com idade avançada.

Com base nos resultados observados neste estudo, a suplementação com AACM foi mais eficiente que as fontes inorgânicas, melhorando o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos, evidenciado pelas cascas mais espessas e resistentes. A adição da enzima fitase reduziu a atividade pancreática e aumentou a concentração de hemácias em galinhas poedeiras. Portanto, é possível utilizar apenas 40% dos níveis de MI na forma de AACM sem comprometer o desempenho ou as características de qualidade dos ovos de galinhas mais velhas. No entanto, os melhores resultados são alcançados ao usar 70% dos níveis de MI na forma de AACM.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Zinpro Corporation pelo apoio financeiro para este estudo; bem como ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa e investimentos no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRPE.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, A. G.; EL-HUSSEINY, O. M.; ABDEL-LATIF, K. O. Influence of some dietary organic mineral supplementations on broiler performance. **Int. J. Poult. Sci.**, v. 8 (3): 291, n. 1682–8356, p. 291–298, 2009.
- ADDADI, L.; WEINER, S. Interactions between acidic proteins and crystals: stereochemical requirements in biomineralization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 12, p. 4110–4114, 1 jun. 1985.
- AKSU, D. S. *et al.* The Effects of replacing inorganic with a lower level of organically complexed minerals (Cu, Zn and Mn) in broiler diets on lipid peroxidation and antioxidant defense systems. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 8, p. 1066–1072, 2010.
- ANDERSON, H. C. Mechanism of mineral formation in bone. **Laboratory Investigation**, v. 60, n. 3, p. 320–330, 1989.
- ANNUNZIATA, M.; IORIO, M. The levels of glutathione and hemoglobin in sheep erythrocytes as a function of age. **Italian Journal of Animal Science**, v. 3, n. 3, p. 283–286, 2004.
- ATTIA, Y. A. *et al.* Effect of amount and source of manganese and/or phytase supplementation on productive and reproductive performance and some physiological traits of dual purpose cross-bred hens in the tropics. **British Poultry Science**, v. 51, n. 2, p. 235–245, 2010a.
- ATTIA, Y. A. *et al.* Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n. No. 1, p. 505–519, 25 jan. 2010b.
- BAI, S. *et al.* Dietary organic trace minerals level influences eggshell quality and minerals retention in hens. **Annals of Animal Science**, v. 17, n. 2, p. 503–515, 2017.
- BAI, S. P. *et al.* Manganese source affects manganese transport and gene expression of divalent metal transporter 1 in the small intestine of broilers. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 2, p. 267–276, 2012.
- BAIN, M. M. *et al.* Enhancing the egg's natural defence against bacterial penetration by increasing cuticle deposition. **Animal Genetics**, v. 44, n. 6, p. 661–668, dez. 2013.
- BAO, Y. M. *et al.* Effect of organically – complexed Cu , Fe , Mn and Zn on broiler performance and excretion of minerals. **Poultry Science Association**, v. 16, p. 448–455, 2007.

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010.

BENNETT, D. C.; CHENG, K. M. Selenium enrichment of table eggs. **Poultry Science**, v. 89, n. 10, p. 2166–2172, out. 2010.

BERTINCHAMPS, A.; MILLER, S.; COTZIAS, G. Interdependence of routes excreting manganese. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 211, n. 1, p. 217–224, 1 jul. 1966.

BOZKURT, M. *et al.* Comparative evaluation of dietary supplementation with mannan oligosaccharide and oregano essential oil in forced molted and fully fed laying hens between 82 and 106 weeks of age. **Poultry Science**, v. 95, n. 11, p. 2576–2591, nov. 2016.

BRANDT, M.; SCHRAMM, V. L. Mammalian manganese metabolism and manganese uptake and distribution in rat hepatocytes. In: **Manganese in Metabolism and Enzyme Function**. [s.l.] Elsevier, 1986. p. 3–16.

BRASILICA, A. V.; LIMA, M. R. DE. Efeito Da Relação Lisina: Arginina Digestível Sobre O Desempenho De Poedeiras Comerciais No Período De Postura. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 1, n. 4, p. 118–124, 2008.

BRITO, J. Á. G. DE *et al.* Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1342–1348, ago. 2006.

BRUNELLI, S. R. *et al.* Efeito de diferentes níveis de farelo de gérmen de milho desengordurado em dietas suplementadas com fitase para poedeiras comerciais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1991–2000, 30 out. 2012.

BURRELL, A. L. *et al.* Responses of broilers to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. **British Poultry Science**, v. 45, n. 2, p. 225–263, 2004.

CALDWELL, R. A. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 1, p. 43–46, jan. 1992.

CAO, J. *et al.* Effect of Dietary Iron Concentration, Age, and Length of Iron Feeding on Feed Intake and Tissue Iron Concentration of Broiler Chicks for Use as a Bioassay of Supplemental Iron Sources. **Poultry Science**, v. 75, n. 4, p. 495–504, abr. 1996.

CARD, L.E.; NESHEIM, M. **Poultry production**. Lea & Febi ed. Philadelphia: 1966.

CARVALHO, L. S. S. *et al.* Effect of the inclusion of organic copper, manganese, and zinc in the diet of layers on mineral excretion, egg production, and eggshell quality. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 17, p. 87–92, 2015.

CARVALHO, L. S. S. *et al.* Qualidade de ovos e desempenho produtivo de poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com microminerais quelatados a aminoácidos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 491–500, dez. 2016.

CHERYAN, M.; RACKIS, J. J. Phytic acid interactions in food systems. **C R C Critical**

Reviews in Food Science and Nutrition, v. 13, n. 4, p. 297–335, 29 dez. 1980.

CHOWDHURY, S. D. Shell membrane protein system in relation to lathrogen toxicity and copper deficiency. **World's Poultry Science Journal**, v. 46, n. 2, p. 153–169, 1 jul. 1990.

COHEN, A.; SMITH, Y. Estrogen Regulation of microRNAs, Target Genes, and microRNA Expression Associated with Vitellogenesis in the Zebrafish. **Zebrafish**, v. 11, n. 5, p. 462–478, out. 2014.

CONDOMINA, J. *et al.* Kinetics of zinc transport in vitro in rat small intestine and colon: interaction with copper. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 4–5, p. 289–295, set. 2002.

CONSOLO, Lourdes Zélia Zanoni. **Alterações plasmáticas do cobre e do zinco em crianças submetidas a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea**. 2008. 116 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)-Programa Multiinstitucional e Inter-regional de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília / UFG / UFMS, Campo Grande, 2008.

COUSINS, R. J.; LIUZZI, J. P.; LICHTEN, L. A. Mammalian Zinc Transport, Trafficking, and Signals. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 34, p. 24085–24089, ago. 2006.

COUSINS, R. J.; MCMAHON, R. J. Zinc and Health: Current Status and Future Directions. Integrative aspects of zinc transporters. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 5S Suppl, p. 1341S-1519S, maio 2000.

CUI, Y. M. *et al.* Effects of long-term supplementation with amino acid-complexed manganese on performance, egg quality, blood biochemistry and organ histopathology in laying hens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 254, n. June, p. 114203, 2019.

DARRAS, V. M.; GEYTEN, S. V.; KUHN, E. R. Thyroid hormone metabolism in poultry. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ**, v. 4, n. S2, p. 13–20, 24 jun. 2000.

DE FARIAS, M. R. S. *et al.* Organic minerals with different chemical characteristics in diets for Hy-Line White laying hens: Performance, biometry of digestive organs, and bone quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, n. 1, 2019.

DHABHAR, F. S. A hassle a day may keep the pathogens away: The fight-or-flight stress response and the augmentation of immune function. **Integrative and Comparative Biology**, v. 49, n. 3, p. 215–236, 1 set. 2009.

DOZIER, W. A. *et al.* Early growth and environmental implications of dietary zinc and copper concentrations and sources of broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 44, n. 5, p. 726–731, 2003.

EBEID, T. A. *et al.* Effects of catecholamines on ovary morphology, blood concentrations of estradiol-17 β , progesterone, zinc, triglycerides and rate of ovulation in domestic hens. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 870–876, abr. 2008.

ESTEVEZ, C.; NEVES, C.; CARVALHO, D. O selênio e a tiróide. **Arquivos de Medicina**, v. 26, n. 4, p. 149–153, 2012.

FASSANI, É. J. *et al.* Manganese in Nutrition of the Leghorn Hens in the. **Ciênc. Agrotec.**, v. 24, n. 2, p. 468–478, 2000.

FAVERO, A. *et al.* Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 1, p. 80–91, 2013.

FISININ, V. I.; PAPAZYAN, T. T.; SURAI, P. F. Producing selenium-enriched eggs and meat to improve the selenium status of the general population. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 18–28, mar. 2009.

FRANCESCH, M.; BROZ, J.; BRUFAU, J. Effects of an experimental phytase on performance, egg quality, tibia ash content and phosphorus bioavailability in laying hens fed on maize- or barley-based diets. **British Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 340–348, 2005.

GAJČEVIĆ, Z. *et al.* Effects of organic selenium supplemented to layer diet on table egg freshness and selenium content. **Italian Journal of Animal Science**, v. 8, n. 2, p. 189–199, jan. 2009.

GAO, S. *et al.* Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life Sciences**, v. 109, n. 1, p. 50–56, 2014.

GAUTRON, J. *et al.* Soluble matrix of hen's eggshell extracts changes in vitro the rate of calcium carbonate precipitation and crystal morphology. **British Poultry Science**, v. 37, n. 4, p. 853–866, set. 1996.

GAUTRON, J. *et al.* Ovocalyxin-32, a Novel Chicken Eggshell Matrix Protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 42, p. 39243–39252, out. 2001.

GHEISARI, A. A. *et al.* Effects of organic chelates of zinc, manganese and copper in comparison to their inorganic sources on performance of broiler chickens. **Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 6, n. 2, p. 630–636, 2010.

GIBBONS, R. A. *et al.* Manganese metabolism in cows and goats. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 444, n. 1, p. 1–10, ago. 1976.

GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2017.

GOPALSAMY, G. *et al.* The Relevance of the Colon to Zinc Nutrition. **Nutrients**, v. 7, n. 1, p. 572–583, 14 jan. 2015.

GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. SUPPL. 2, p. 08–17, jun. 2010.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, A. *et al.* Influence of eggshell matrix proteins on the precipitation of calcium carbonate (CaCO₃). **Journal of Crystal Growth**, v. 310, n. 7–9, p. 1754–1759, abr. 2008.

HINCKE, M. T. *et al.* Soluble protein constituents of the domestic fowl's eggshell. **British Poultry Science**, v. 33, n. 3, p. 505–516, jul. 1992.

HUDSON, B. P. *et al.* Reproductive Performance and Immune Status of Caged Broiler Breeder Hens Provided Diets Supplemented with Either Inorganic or Organic Sources of Zinc from Hatching to 65 wk of Age. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 13, n. 2, p. 349–359, jul. 2004.

HUDSON, B. P.; DOZIER, W. A.; WILSON, J. L. Broiler live performance response to dietary zinc source and the influence of zinc supplementation in broiler breeder diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 118, n. 3–4, p. 329–335, fev. 2005.

HUFF, W. E. *et al.* Effect of Dietary Phytase and High Available Phosphorus Corn on Broiler Chicken Performance. **Poultry Science**, v. 77, n. 12, p. 1899–1904, 1998.

JAHANIAN, R.; RASOULI, E. Effects of dietary substitution of zinc-methionine for inorganic zinc sources on growth performance, tissue zinc accumulation and some blood parameters in broiler chicks. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 50–58, fev. 2015.

JEGEDE, A. V. *et al.* Effect of Dietary Copper on Performance , Serum and Egg Yolk Cholesterol and Copper Residues in Yolk of Laying Chickens. v. 2015, n. 1, p. 29–36, 2015.

Jl, F. *et al.* Effect of Manganese Source on Manganese Absorption by the Intestine of Broilers. **Poultry Science**, v. 85, p. 1947–1952, out. 2006.

JINTASATAPORN, O. *et al.* The Efficacy of Mineral-Amino Acid Complex (Zn, Mn, Cu, Fe and Se) on White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Diets. **Aquacultura Indonesiana**, v. 16, n. 1, 15 out. 2015.

KAUFMANN, S. *et al.* Iodine supplementation of laying hen feed : A supplementary measure to eliminate iodine deficiency in humans? **Physiologische Chemie und Tierernahrung Veterinarstr**, v. 293, p. 288–293, 1998.

KETTA, M.; TŮMOVÁ, E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. **Czech Journal of Animal Science**, v. 61, n. 07, p. 299–309, 24 jul. 2016.

KHATUN, A. *et al.* Comparative Effects of Inorganic and Three Forms of Organic Trace Minerals on Growth Performance, Carcass Traits, Immunity and Profitability of Broilers. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 6, n. 1, p. 1, 2019.

LEESON, S. Copper metabolism and dietary needs. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n. 3, p. 353–366, 1 set. 2009.

LESLIE, M. A.; MORAN, E. T.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2350–2357, 2007.

Ll, L. L. *et al.* Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. **Poultry Science**, v. 98, n. 2, p. 923–931, 2019.

Ll, X. *et al.* Kinetics of manganese transport and gene expressions of manganese transport carriers in Caco-2 cell monolayers. **BioMetals**, v. 26, n. 6, p. 941–953, 31 dez. 2013.

LIM, H. S.; NAMKUNG, H.; PAIK, I. K. Effects of phytase supplementation on the performance, egg quality, and phosphorous excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorous. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 92–99, 2003.

LÖNNERDAL, B. Intestinal regulation of copper homeostasis: a developmental perspective. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 3, p. 846S-850S, 1 set. 2008.

LYONS, M. P.; PAPAZYAN, T. T.; SURAI, P. F. Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature -Review-. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1135–1155, 27 jun. 2007.

MABE, I. *et al.* Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v. 82, n. 12, p. 1903–1913, 2003.

MACARI M, FURLAN R L, G. E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2ª Edição ed. Jaboticabal: [s.n.].

MACIEL, M. P. *et al.* Revista Brasileira de Zootecnia Effect of using organic microminerals on performance and external quality of eggs of commercial laying hens at the end of laying 1 Efeito da utilização de microminerais orgânicos sobre o desempenho e a qualidade externa dos. n. 1997, p. 344–348, 2010.

MACKENZIE, B.; GARRICK, M. D. Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 289, n. 6, p. G981–G986, dez. 2005.

MAGNAGO, J. G. P. *et al.* Níveis de fitase sobre o desempenho, parâmetros ósseos e bioquímicos de suínos alimentados com ração de origem vegetal sem inclusão de fosfato bicálcico. **Ciência Rural**, v. 45, n. 7, p. 1286–1291, 22 maio 2015.

MAO, X. *et al.* A Histidine-rich Cluster Mediates the Ubiquitination and Degradation of the Human Zinc Transporter , hZIP4 , and Protects against Zinc Cytotoxicity *. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 10, p. 6992–7000, 2007.

MATSUBARA, T.; SAWANO, K. Proteolytic cleavage of vitellogenin and yolk proteins during vitellogenin uptake and oocyte maturation in barfin flounder (*Verasper moseri*). **Journal of Experimental Zoology**, v. 272, n. 1, p. 34–45, 1 maio 1995.

MAZZUCO, H.; BERTECHINI, A. G. Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 1, p. 07–14, 2014.

MEDEIROS, J. *et al.* Morphology of the oviduct of commercial egg-laying hens supplemented with organic minerals. **Analytical and quantitative cytopathology and histopathology**, v. 35, n. 5, p. 278–82, out. 2013.

MEDEIROS-VENTURA, W. R. L. *et al.* Zinc, manganese, and copper amino acid complexes improve performance and bone characteristics of layer-type chicks under thermoneutral and cold stress conditions. **Poultry Science**, v. 99, n. 11, p. 5718–5727, nov. 2020.

MEZZOMO, T. R.; NADAL, J. Efeito Dos Nutrientes E Substâncias Alimentares Na Função

Tireoidiana E No Hipotireoidismo. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 11, n. 2, p. 427–444, 2016.

MIN, Y. N. *et al.* Effects of organic zinc on tibia quality, mineral deposit, and metallothionein expression level of aged hens. **Poultry Science**, v. 98, n. 1, p. 366–372, 1 jan. 2019.

NICOLA, J. P.; CARRASCO, N.; MASINI-REPISO, A. M. Dietary I– Absorption. In: **Vitamins and Hormones**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2015. v. 98p. 1–31.

NISHIYAMA, S. *et al.* Zinc supplementation alters thyroid hormone metabolism in disabled patients with zinc deficiency. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 62–67, fev. 1994.

NOLLET, L. *et al.* The Effect of Replacing Inorganic With Organic Trace Minerals in Broiler Diets on Productive Performance and Mineral Excretion. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 4, p. 592–597, dez. 2007.

NUNES, J. K. *et al.* Qualidade de ovos e resistência óssea de poedeiras alimentadas com minerais orgânicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 2, p. 610–618, 2013.

NYS, Y. *et al.* Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. **Comptes Rendus Palevol**, v. 3, n. 6–7, p. 549–562, out. 2004.

NYS, Y. . M. T. H. J. L. A. J. . G.-R. S. E. S. Avian Eggshell Mineralization. **Poultry and Avian Biology Reviews**, v. 3, p. 143–166, 1999.

NYS, Y.; GUYOT, N. Egg formation and chemistry. In: **Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products**. [s.l.] Elsevier, 2011. p. 83–132.

ODIHAMBO MUMMA, J. *et al.* Physiological Stress in Laying Hens. **Poultry Science**, v. 85, n. 4, p. 761–769, abr. 2006.

OLIVEIRA, H. B. **Utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras semipesadas na fase de produção**. Recife: [s.n.].

OPSAHL, W. *et al.* Role of copper in collagen cross-linking and its influence on selected mechanical properties of chick bone and tendon. **Journal of Nutrition**, v. 112, n. 4, p. 708–716, 1982.

OTEIZA, P. I. Zinc and the modulation of redox homeostasis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 9, p. 1748–1759, nov. 2012.

PAIK, I.; LEE, H.; PARK, S. Effects of Organic Iron Supplementation on the Performance and Iron Content in the Egg Yolk of Laying Hens. **The Journal of Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 198–202, 2009.

PAN, E. A. *et al.* Performance of Brown-Egg Laying Hens Fed Organic Selenium. **R. Bras. Agrocência, Pelotas**, v.16, n.1-4, p. 83–89, 2010.

PARK, S. W. *et al.* Production of Iron Enriched Eggs of Laying Hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 17, n. 12, p. 1725–1728, 1 jan. 2004.

PAYNE, R. L.; LAVERGNE, T. K.; SOUTHERN, L. L. Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. **Poultry Science**, v. 84, n. 2, p. 232–237, fev. 2005.

PEREIRA, C. G. *et al.* Zinc, manganese and copper amino acid complexed in laying hens' diets affect performance, blood parameters and reproductive organs development. **PLOS ONE**, v. 15, n. 11, p. e0239229, 4 nov. 2020.

PEREIRA, E. L. *et al.* Produção industrial de hormônios esteroides. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 15, p. 411–435, 2017.

PESSOA, G. B. S. *et al.* Novos conceitos em nutrição de aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 755–774, 2012.

PINE, M. *et al.* Manganese acts centrally to stimulate luteinizing hormone secretion: A potential influence on female pubertal development. **Toxicological Sciences**, v. 85, n. 2, p. 880–885, 2005.

QIN, S. *et al.* An Optimal Dietary Zinc Level of Brown-Egg Laying Hens Fed a Corn-Soybean Meal Diet. **Biological trace element research**, v. 177, n. 2, p. 376–383, 19 jun. 2017.

QIU, J. L. *et al.* Organic trace minerals improve eggshell quality by improving the eggshell ultrastructure of laying hens during the late laying period. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1483–1490, 2020a.

QIU, J. L. *et al.* Organic trace minerals improve eggshell quality by improving the eggshell ultrastructure of laying hens during the late laying period. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1483–1490, mar. 2020b.

RADWAN, L. M. *et al.* Mechanical and Ultrastructural Properties of Eggshell in Two Egyptian Breeds of Chicken. **International Journal of Poultry Science**, v. 1, p. 77–81, 2010.

ROBERTS, J. R. Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality in Laying Hens. **The Journal of Poultry Science**, v. 41, n. 3, p. 161–177, 2004.

ROBIN, A. W. K. S. **Oocyte Growth in Teleosts** 1. v. 343, p. 325–343, 1981.

RODRIGUEZ-NAVARRO, A. *et al.* Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. **British Poultry Science**, v. 43, n. 3, p. 395–403, 28 jul. 2002.

ROLLIN, F. Mise en évidence des carences en oligo-éléments dans les exploitations bovines. **Proceedings of the Veterinary Sciences Congress**, p. 95–106, 2002.

ROSE-MARTEL, M.; DU, J.; HINCKE, M. T. Proteomic analysis provides new insight into the chicken eggshell cuticle. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 9, p. 2697–2706, maio 2012.

ROVER JÚNIOR, L. *et al.* Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Stress The International Journal on the Biology of Stress**, v. 24, n. 1, p. 112–119, 2001.

SARTORI, É. V. *et al.* Concentração de proteínas em gemas de ovos de poedeiras (*Gallus*

gallus) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 481–487, set. 2009.

SAUER, A. K. *et al.* Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **BioMetals**, v. 30, n. 5, p. 643–661, 2017.

SCHIAVONE, A.; BARROETA, A. C. Egg enrichment with vitamins and trace minerals. In: **Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products**. [s.l.] Elsevier, 2011. v. 2p. 289–320.

SCHWEIGGERT, U. *et al.* Effects of processing and storage on the stability of free and esterified carotenoids of red peppers (*Capsicum annuum* L.) and hot chilli peppers (*Capsicum frutescens* L.). **European Food Research and Technology**, v. 225, n. 2, p. 261–270, 2 maio 2007.

SCOTT, T. A.; KAMPEN, R.; SILVERSIDES, F. G. The effect of adding exogenous phytase to nutrient-reduced corn- and wheat-based diets on performance and egg quality of two strains of laying hens. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, n. 3, p. 393–401, 2001.

SCOTTÁ, B. A. *et al.* Influência dos minerais quelatados e inorgânicos no metabolismo, desempenho, qualidade da carcaça e da carne de frangos de corte. **Pubvet**, v. 8, n. 9, maio 2014.

SECHINATO, A. DA S.; DE ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com micro minerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 2, p. 159–166, 2006.

SELLE, P. H. *et al.* Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. **Nutrition Research Reviews**, v. 13, n. 2, p. 255–278, 2000.

SETIAN, N. Hypothyroidism in children: diagnosis and treatment. **Jornal de Pediatria**, v. 0, n. 0, p. 209–216, 12 nov. 2007.

SHAO, Y. *et al.* Effect of zinc on growth performance, gut morphometry, and cecal microbial community in broilers challenged with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 12, p. 1002–1011, 29 dez. 2014.

SILVA, J. H. V. DA; ALBINO, L. F. T.; GODÓI, M. J. DE S. Efeito do extrato de urucum na pigmentação da gema dos ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1435–1439, out. 2000.

SINGH, M.; KRIKORIAN, A. D. Inhibition of Trypsin Activity in Vitro by Phytate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 4, p. 799–800, 1982.

SMITH, J. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 1, p. 45–60, jan. 2002.

SOLOMON, S. E. The eggshell: strength, structure and function. **British Poultry Science**, v. 51, n. sup1, p. 52–59, 12 ago. 2010.

STAPLEY, J. *et al.* A Linkage Map of the Zebra Finch *Taeniopygia guttata* Provides New Insights Into Avian Genome Evolution. **Genetics**, v. 179, n. 1, p. 651–667, maio 2008.

STEFANELLO, C. *et al.* Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v. 93, n. 1, p. 104–113, 2014a.

STEFANELLO, C. *et al.* Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v. 93, n. 1, p. 104–113, 2014b.

SUN, Q. *et al.* Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens. **Journal of Poultry Science**, v. 49, n. 1, p. 20–25, 2012.

SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. **Veterinarni Medicina**, v. 53, n. 10, p. 555–563, 2008.

TABATABAIE, M. *et al.* Effect of different sources and levels of zinc on egg quality and laying hen performance. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, p. 3476–6478, 2007.

THESIS, A. Effect of Increasing Levels of Dietary Zinc (Zn), Manganese (Mn), and Copper (Cu) From Organic and Inorganic Sources on Egg Quality and Egg Zn, Mn, and Cu Content in Laying Hens. n. August, 2016.

TOMASI, P. . Diferenças entre os minerais orgânicos. **Revista da Nutrição Animal**, p. 53–57, 2013.

TRHALL, M. A. *et al.* **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2ª Edição ed., 2015.

TSE, M. L. P. *et al.* Leitões recém-desmamados alimentados com dietas contendo proteína láctea e zinco suplementar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 2006–2016, set. 2010.

TSOKOVA, L. T. Influence of the Enzyme Phytase on the Clinical Status, Some Plasma Macroelements and the Histostructure of Femur and Tibia in Chickens. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 9, p. 201–209, 2006.

UMAR YAQOUB, M. *et al.* Effects of inorganic trace minerals replaced by complexed glycinate on reproductive performance, blood profiles, and antioxidant status in broiler breeders. **Poultry Science**, v. 99, n. 5, p. 2718–2726, mai. 2020.

VAN DEN BERGHE, P. V.; KLOMP, L. W. J. New developments in the regulation of intestinal copper absorption. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 11, p. 658–672, nov. 2009.

VENGLOVSKÁ, K. *et al.* Effects of feed supplementation with manganese from its different sources on performance and egg parameters of laying hens. **Czech Journal of Animal Science**, v. 59, n. 4, p. 147–155, 2014.

VIVEROS, A. *et al.* Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1172–1183, 2002.

WANG, F. *et al.* Relative Bioavailability of Manganese Proteinate for Broilers Fed a

Conventional Corn–Soybean Meal Diet. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 2, p. 181–186, 12 mai. 2012.

WANG, G. *et al.* Effects of replacing inorganic trace minerals with organic trace minerals on the production performance, blood profiles, and antioxidant status of broiler breeders. **Poultry Science**, v. 98, n. 7, p. 2888–2895, 2019.

WHITEHEAD, C. C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science**, v. 83, n. 2, p. 193–199, fev. 2004.

WOLLENBERG, P.; RUMMEL, W. Dependence of intestinal iron absorption on the valency state of iron. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 336, n. 5, p. 578–582, nov. 1987.

XIAO, J. F. *et al.* Manganese supplementation enhances the synthesis of glycosaminoglycan in eggshell membrane: A strategy to improve eggshell quality in laying hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 2, p. 380–388, 2014.

XIAO, J. F. *et al.* Bioefficacy comparison of organic manganese with inorganic manganese for eggshell quality in Hy-Line Brown laying hens. **Poultry Science**, v. 94, n. 8, p. 1871–1878, 2015.

XIE, J. *et al.* Physiology, endocrinology, and reproduction: effects of inorganic and organic manganese supplementation on gonadotropin-releasing hormone-i and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 4, p. 959–969, 2014a.

XIE, J. *et al.* Physiology, endocrinology, and reproduction: effects of inorganic and organic manganese supplementation on gonadotropin-releasing hormone-i and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 4, p. 959–969, 2014b.

YALÇIN, S. *et al.* Effects of supplementary iodine on the performance and egg traits of laying hens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 4, p. 499–503, 19 ago. 2004.

YAROSHENKO, F.; DVORSKA, J. Selenium-enriched eggs as a source of selenium for human consumption. **Applied Biotechnology, Food ...**, v. 1, n. 1, p. 13–23, 2003.

YILMAZ DIKMEN, B. *et al.* Effects of Supplementary Mineral Amino Acid Chelate (ZnAA - MnAA) on the Laying Performance, Egg Quality and Some Blood Parameters of Late Laying Period Layer Hens. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 21, n. 2, p. 155–162, 2015.

YILMAZ, O. *et al.* Estrogen-induced yolk precursors in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*: Status and perspectives on multiplicity and functioning of vitellogenins. **General and Comparative Endocrinology**, v. 221, n. January, p. 16–22, set. 2015.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2176–2183, 2017a.

ZHANG, Y. N. *et al.* Dietary manganese supplementation modulated mechanical and

ultrastructural changes during eggshell formation in laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 8, p. 2699–2707, 2017b.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic manganese on eggshell quality, ultrastructure, and components in laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2184–2193, 2017c.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2176–2183, jul. 2017d.

ZINNUROGLU, M. *et al.* Prospective evaluation of free radicals and antioxidant activity following 6-month risedronate treatment in patients with postmenopausal osteoporosis. **Rheumatology International**, v. 32, n. 4, p. 875–880, 2012.

CAPÍTULO II

Suplementação com minerais complexados a lisina e ao ácido glutâmico, com ou sem a inclusão de fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos e perfil sanguíneo de galinhas poedeiras

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de fontes e níveis de lisina e minerais complexados com ácido glutâmico (**LGCM**), com ou sem enzima fitase (**EZ**) sobre o desempenho produtivo, qualidade de ovos e perfil sanguíneo de galinhas poedeiras. Um total de 320 galinhas poedeiras foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x3+2) com oito repetições de cinco aves por unidade experimental (**UE**). O 1º fator foram dietas suplementadas com **LGCM** com ou sem **EZ**; o 2º foi três níveis de inclusão de **LGCM** (100, 70 e 40%) e mais dois tratamentos controle, minerais inorgânicos com (**MI-EZ**) e sem enzima (**MI**). Nos últimos três dias de cada período foram coletados três ovos por **UE** para serem analisados. Na última semana foi coletado sangue de uma ave por **UE**. Na 89ª semana, uma ave por **UE** foi eutanasiada para avaliação dos órgãos da galinha. Os dados foram submetidos à **ANOVA**, após a realização do teste de Dunnett e Tukey ($P < 0,05$). Maiores porcentagens de produção e massa de ovos foram observadas para poedeiras alimentadas com dieta **LGCM-100** do que aquelas alimentadas com dietas **LGCM-70** e **LGCM-40**. Menor percentual foi observado para aqueles alimentados com dieta **MI-EZ**, enquanto os grupos **MI** e **MI-EZ** apresentaram pior massa de ovos e conversão alimentar (kg.kg^{-1}). A fitase aumentou o peso do ovo, enquanto a dieta **LGCM** melhorou a espessura da casca. Poedeiras alimentadas com dieta suplementada com **MI** e **MI-EZ** apresentaram espessura de casca reduzida em comparação com aquelas alimentadas com dieta **LGCM-100**, enquanto o grupo **MI-EZ** apresentou menor resistência à casca do ovo. A suplementação com fitase reduziu o peso do pâncreas, aumentou o peso do ovo e diminuiu o peso do pâncreas e da **FA**. A suplementação com **LGCM** melhorou o desempenho das aves e a qualidade da casca influenciando o perfil sanguíneo e a concentração hormonal.

Palavras-chave: Produção de ovos. Enzima. Resistência de casca. Microminerais

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of sources and levels of lysine and glutamic acid complexed minerals (**LGCM**), with or without phytase enzyme (**EZ**) about productive performance, quality of eggs and blood profile laying hens. A total of 320 laying hens were distributed in a completely randomized design in factorial scheme (2x3+2) with eight replications of five birds per experimental unit (**EU**). The 1st factor was **LGCM** supplemented diets with or without **EZ**; the 2nd was three levels of **LGCM** inclusion (100, 70 and 40%) and plus two control treatments, inorganic minerals with (**IM-EZ**) and without enzyme (**IM**). In the last three days of each period, it was collected three eggs per **EU** to be analyzed. On the last week it was collected blood of one bird per **EU**. On the 89th week one bird per **EU** was euthanized to evaluate the chicken's organs. Data were subjected to **ANOVA**, after that Dunnett and Tukey's test was performed ($P < 0.05$). Higher percentage of egg output and egg mass were observed for laying hens fed **LGCM-100** diet than those fed **LGCM-70** and **LGCM-40** diets. A lowest percentage was observed for those fed **IM-EZ** diet, while the **IM** and **IM-EZ** groups had worse egg mass and feed conversion ratio (kg.kg^{-1}). Phytase increased egg weight, while **LGCM** diet improved shell thickness. Layer fed **IM** and **IM-EZ** supplemented diet had reduced shell thickness compared to those fed **LGCM-100** diet, while the **IM-EZ** group showed lowest eggshell resistance. Phytase supplementation reduced the pancreas' weight, increased egg weight and decreased pancreatic and **AF** activity. **LGCM** supplementation improved poultry performance and shell quality influencing the blood profile and hormonal concentration.

Keywords: Egg production. Enzyme. Shell resistance. Trace minerals.

INTRODUÇÃO

A qualidade da casca dos ovos é uma preocupação contínua na avicultura de postura. Aproximadamente 8 a 10% de todas as perdas na produção são causadas diretamente pela qualidade da casca, gerando um impacto significativo na indústria comercial de ovos (KETTA; TŮMOVÁ, 2016). Tendo em vista esse cenário, os produtores buscam alternativas para atingir o máximo do potencial genético das poedeiras por meio de manejos nutricionais apropriados, objetivando o aumento da lucratividade por meio da melhoria do desempenho animal e redução das perdas durante o processo produtivo mediante a melhoria da qualidade dos ovos.

Dessa forma, torna-se necessário o fornecimento balanceado de nutrientes; dentre eles destacam-se os minerais traços, como: zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu), ferro (Fe), selênio (Se) e iodo (I), os quais desempenham funções diversas no metabolismo animal (MABE *et al.*, 2003; STEFANELLO *et al.*, 2014a). Normalmente, os microminerais são suplementados na dieta de aves na forma de sais inorgânicos e apesar de serem relativamente mais baratos, apresentam baixa biodisponibilidade, pois, ao atingirem o trato gastrointestinal, precisam-se dissociar como cátions ativos para serem absorvidos, podendo dessa forma interagir com outros componentes dietéticos, tais como, ácido fítico, ácido fólico e taninos formando complexos insolúveis e tornando-os indisponíveis para o animal (JINTASATAPORN *et al.*, 2015). A redução desta disponibilidade acarreta em um aporte inadequado de microminerais que pode comprometer o desempenho das aves e prejudicar a qualidade da casca dos ovos (SECHINATO; DE ALBUQUERQUE; NAKADA, 2006). Devido a essas características os minerais traços costumam ser fornecidos acima da exigência, elevando os custos de produção e potencializando sua excreção (BAO *et al.*, 2007; BRITO *et al.*, 2006; DOZIER *et al.*, 2003; NOLLET *et al.*, 2007).

Associado ao uso de fontes inorgânicas, a indústria comumente utiliza a enzima fitase em dietas de galinhas poedeiras com objetivo de reduzir custos, aumentar o aproveitamento dos nutrientes da dieta e, conseqüentemente, reduzir os efeitos ambientais provocados pelo excesso de fósforo (P) nas excretas. A utilização desta enzima promove não só a liberação do P fítico, mas também de vários nutrientes como: minerais, e aminoácidos, proporcionando maior competição pelos locais de absorção no lúmen intestinal (HUFF *et al.*, 1998; LIM; NAMKUNG; PAIK, 2003; VIVEROS *et al.*, 2002).

Dessa forma, objetivando otimizar o desempenho de poedeiras comerciais (ABDALLAH; EL-HUSSEINY; ABDEL-LATIF, 2009) e melhorar a qualidade interna e externa dos ovos (NUNES *et al.*, 2013), o uso de minerais complexados a moléculas orgânicas

foi sugerido com base na hipótese de que os complexos minerais apresentam biodisponibilidade mais alta que os análogos de sais inorgânicos (MABE *et al.*, 2003). Os minerais quando complexados à aminoácidos tornam-se altamente estáveis e quimicamente inertes, não interagindo com íons metálicos livres. Ao serem absorvidos, passam diretamente ao plasma através das células da mucosa intestinal, permanecendo com sua ligação inalterada (JINTASATAPORN *et al.*, 2015). Devido a este complexo, o deslocamento dos minerais passa a ser mediado pelos transportadores dos aminoácidos e não mais pelos dos minerais, sendo assim absorvido mais rápido e em maiores concentrações (SAUER *et al.*, 2017).

Neste contexto, a lisina e o ácido glutâmico surgem como importantes aminoácidos a serem utilizados na formação de uma nova molécula. Isto porque, o uso destes aminoácidos possibilita aumento na velocidade de absorção de íons minerais por meio de diferentes mecanismos, aumentando a absorção no lado apical e o efluxo no lado basolateral da célula (GAO *et al.*, 2014), possibilitando, dessa forma, melhorar o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos de galinhas poedeiras.

Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de níveis reduzidos de microminerais complexados a lisina e ao ácido glutâmico, com ou sem a adição da enzima fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos e perfil sanguíneo de galinhas poedeiras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todas as práticas de manejo, bem como o abate e procedimentos de amostragem realizados neste estudo foram previamente aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA nº 95/2018).

Local do Experimento e Manejo dos Animais

Um experimento de desempenho foi conduzido na Estação experimental de pequenos animais de carpina (EPAC), pertencente à Universidade Federal Rural de Pernambuco e localizada no município de Carpina, Pernambuco, Brasil. Foram utilizadas 320 galinhas poedeiras da linhagem Dekalb White com 67 semanas de vida, as quais foram distribuídas em 64 gaiolas experimentais, medindo 50 x 40 x 50 cm (5 aves/gaiola), equipadas com comedouros tipo calha e bebedouros automáticos com copinho acoplado. O período experimental adotado compreendeu de 14 dias de adaptação mais cinco ciclos de 28 dias cada, totalizando 154 dias. Durante este período, o fornecimento de água para os animais foi *ad libitum*, enquanto o de ração ajustado conforme recomendação do manual da linhagem e necessidade nutricional da ave. O programa de luz adotado foi o fornecimento de 17 horas de luz diária (12h de luz natural

e 5h de luz artificial). A luz artificial utilizada foi do tipo fluorescente, com intensidade média de 5 lux.

Durante todo período experimental, a temperatura e umidade relativa do ar no interior do galpão foram registradas diariamente através de Datalogger (HOBO U12-013), instalado no centro do galpão e termohigrômetros digitais (Incoterm, modelo 7663.02.0.00) fixados em pontos distintos (Figura 1).

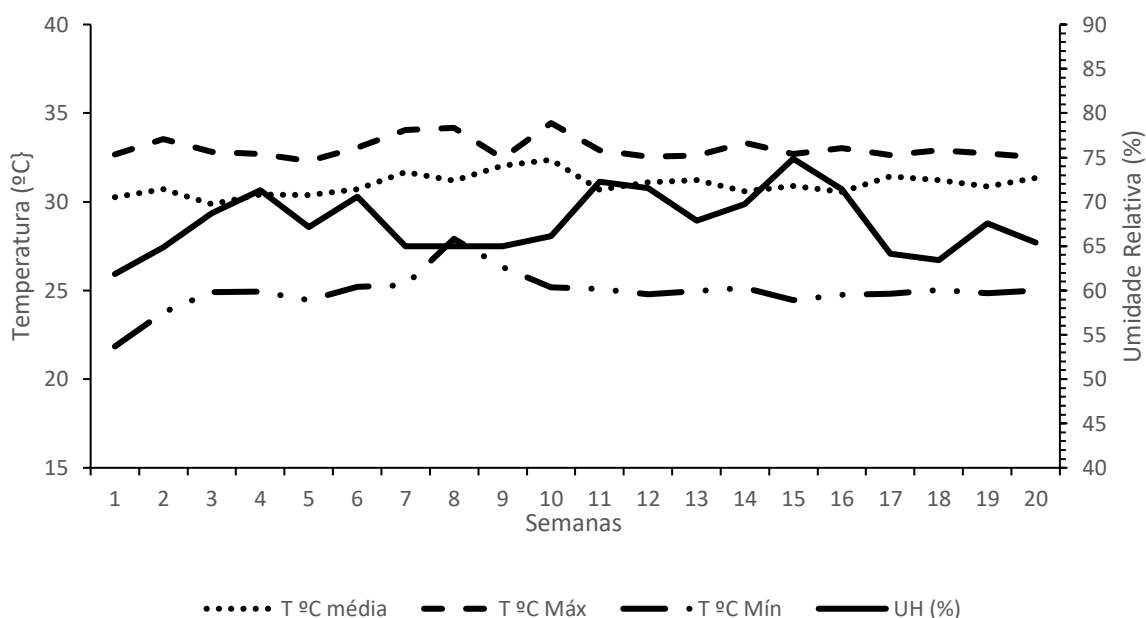


Figura 1. Variação média da temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%), durante o período experimental.

Delineamento e Dietas Experimentais

As aves foram distribuídas por peso e produção em um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x3+2) com oito tratamentos e oito repetições de cinco aves por unidade experimental. O 1º fator referiu-se às dietas com minerais (Zn, Mn, Cu, Fe, I e Se) complexados à lisina e ao ácido glutâmico sem (LGCM) ou com (LGCM-EZ), a adição da enzima fitase. O 2º foram três níveis de inclusão de LGCM (100, 70, 40%) e mais dois tratamentos controles com minerais inorgânicos sem fitase (MI) ou com fitase (MI-EZ).

Dessa forma, os tratamentos consistiram em dois grupos, um sem adição da enzima fitase e outro com adição desta enzima, no qual cada grupo era composto por: 100% de minerais inorgânicos, 100% de LGCM, 70% de LGCM e 40% de LGCM (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos experimentais

Enzima	Nível/Fonte Mineral	Descrição
Sem Fitase	MI	100% de minerais inorgânicos
	LGCM-100	100% de minerais complexados a lisina e ao ác. Glutâmico
	LGCM-70	70% de minerais complexados a lisina e ao ác. Glutâmico
	LGCM-40	40% de minerais complexados a lisina e ao ác. Glutâmico
Com Fitase	MI-EZ	100% de minerais inorgânicos
	LGCM-EZ-100	100% de minerais complexados a lisina e ao ác. Glutâmico
	LGCM-EZ-70	70% de minerais complexados a lisina e ao ác. Glutâmico
	LGCM-EZ-40	40% de minerais complexados a lisina e ao ác. Glutâmico

Os premixes minerais utilizados nas dietas experimentais foram formulados de acordo com as exigências nutricionais de minerais inorgânicos para galinhas poedeiras encontradas no manual da linhagem Dekalb White. As concentrações utilizadas encontram-se descritas na Tabela 2. Para a elaboração do premix inorgânico foram usadas as seguintes fontes: óxido de zinco, óxido de manganês, sulfato de cobre, sulfato ferroso, selenito de sódio e iodato de potássio.

Tabela 2. Composição calculada dos premixes inorgânicos (mg/kg) utilizados nas dietas

Microminerais	MI ¹ (Premix 1)	LGCM-100 (Premix 2)	LGCM-70 (Premix 3)	LGCM-40 (Premix 4)
Zinco	60	60	42	24
Manganês	70	70	49	28
Cobre	8	8	5,6	3,2
Ferro	40	40	28	16
Selênio	0,25	0,25	0,175	0,1
Iodo	1,0	1,0	0,70	0,40

¹Suplementação por kg de produto: Óxido de Zinco 799g/kg (Mín.), Óxido de manganês, 60-62% de MnO, 600g/Kg (Mín.), Sulfato de cobre, CuSO₄.5H₂O, 250g de Cu, Sulfato de Ferro, FeSO₄H₂O, 300g / kg (Mín.); LGCM: minerais complexados a lisina e ao ácido glutâmico.

Já para as fontes orgânicas foram utilizados os minerais da Zinpro Performance Minerals[®], complexados aos aminoácidos lisina e ácido glutâmico, com exceção do Se que foi fornecido na forma Zn-L-Se-Metionina. As dietas utilizadas na pesquisa encontram-se descritas na Tabela 3.

Tabela 3. Composição das dietas experimentais

Ingredientes, %	Sem fitase	Com fitase
Milho moído	58,756	58,756
Farelo soja	23,809	23,809
Óleo soja	2,763	2,763
Calcário calcítico	10,538	10,654
Fosfato bicálcico	1,054	0,000
Carne e ossos Far. 44%	1,580	1,580
Bicarbonato de sódio	0,050	0,050
Sal comum	0,345	0,345
DL-metionina 99%	0,234	0,234
L-lisina	0,140	0,140
L-Treonina	0,068	0,068
Adsorvente ¹	0,100	0,100
Probiótico ²	0,050	0,050
Fitase ³	0,000	0,006
Premix Vitaminico ⁴	0,100	0,100
Premix Mineral ⁵	0,285	0,285
Inerte ⁶	0,121	1,054
Total	100,00	100,00
Composição química		
Energia metabolizável, kcal/kg	2820	2820
Matéria Seca ⁷ , %	90,02	90,05
Proteína bruta, %	16,40	16,40
Proteína bruta ⁷ , %	16,25	16,21
Matéria Mineral ⁷ , %	15,44	15,05
Metionina digestível, %	0,45	0,45
Metionina + Cistina digestível, %	0,68	0,68
Lisina digestível, %	0,86	0,86
Treonina Dig, %	0,61	0,61
Triptofano Dig, %	0,17	0,17
Cálcio, %	4,50	4,50
Cálcio ⁷ , %	4,39	4,47
Fósforo disponível, %	0,37	0,37
Fosforo total, %	0,69	0,50
Sódio, %	0,18	0,18
Cloro, %	0,27	0,27
Potássio, %	0,60	0,60
Gordura, %	5,49	5,49

Fornecido por quilo do produto: ¹Níveis de Garantia: Bentonite 666 g/kg; Beta Glucans 54 g/kg; Mananoligossacarides 59.4 g/kg; Bio-ativos fitogenics 16.5 g/kg; ²Guarantee levels: *Bacillus licheniformis* (mín) > 16x10¹⁰UFC/g; ³Guarantee levels: Phytase (min) 10,000 FTU/g; ⁴Guarantee levels: (kg/kg of product): Vitamin A 8,000 IU; Vitamin D3 2,000 IU; Vitamin E 10,000 IU; Vitamin K3 2,000 mg; Vitamin B1 1,000 mg; Vitamin B2 4,000 mg; Vitamin B6 2,500 mg; Vitamin B12 11,000 mg; Niacin 25 g; Calcium Pantotenat 10 g; Folic acid: 550 mg; Biotin: 50 mg; ⁵A composição está presente na Tabela 2; ⁶Areia; ⁷Valores analisados

Os tratamentos experimentais dispuseram de duas dietas basais (com e sem adição da enzima fitase) modificando dentro de cada grupo apenas o premix mineral utilizado. As dietas e os mixes utilizados durante o experimento foram analisados quanto a composição mineral e estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Concentração de Zn, Mn, Fe e Cu na água, dietas e mixes experimentais

DIETAS*	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Se (mg/kg)
MI	71,575	73,275	288,900	11,100	0,320
LGCM-100	78,950	73,375	275,500	10,550	0,318
LGCM-70	52,900	49,550	235,025	6,770	0,284
LGCM-40	38,050	38,850	201,230	4,700	0,268
MI-EZ	72,975	71,730	289,450	9,820	0,318
LGCM-EZ-100	74,225	72,700	296,235	9,830	0,317
LGCM-EZ-70	53,875	53,325	268,325	7,570	0,259
LGCM-EZ-40	41,125	32,975	215,675	4,900	0,220
PREMIX*					
MI	61,767	67,970	46,562	7,361	0,265
LGCM-100	68,060	69,463	44,542	7,946	0,260
LGCM-70	47,055	48,026	31,151	5,851	0,190
LGCM-40	28,961	25,449	20,789	3,700	0,090
ÁGUA*	0,175	1,000	0	0,025	0,085

*Amostras analisadas no ICP-OES

Análises das rações e Água

Durante o experimento foram coletadas amostras das rações consumidas pelas aves e enviadas ao laboratório de nutrição animal do departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, para a determinação dos teores de matéria seca, proteína bruta e matéria mineral, segundo a metodologia descrita por Detmann *et al.* (2012).

As amostras de rações também foram analisadas quanto a composição mineral. Para isso foram pesadas amostras (0,5 g) e digeridas em 6 mL de 6 ml de HNO₃ (65%) em forno micro-ondas (*Mars Xpress: Thechnology Inside, CEM Corporation*), por 30 minutos a 160 °C. A solução obtida foi filtrada em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas com água deionizada até atingirem o volume referente a 25ml. As quantificações dos minerais (Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P) nas amostras foram realizadas no Laboratório de Química Ambiental de Solos da UFRPE através do espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (*Optima 7000 DV ICP-OES, PerkinElmer*). Durante o período experimental, amostras de água foram coletadas em recipientes plásticos e congeladas em freezer. A quantificação de minerais na água também foi realizada pelo ICP-OES.

Medidas de Desempenho

Foram avaliados no ensaio de desempenho o peso do ovo (g), produção de ovos (%), massa de ovos (g/ave/dia), consumo de ração (g/ave/dia) e conversão alimentar (kg de ração/dúzia de ovos e kg de ração/kg de ovos). A coleta dos ovos foi realizada duas vezes ao dia, no qual foram contabilizados e pesados.

A produção de ovos foi calculada como a razão entre o número de ovos produzidos e o número de aves alojadas. A massa de ovos expressa em gramas de ovo por ave por dia (g/ave/dia) foi calculada multiplicando-se a produção de ovos pelo peso médio dos ovos, e o resultado dividido por 100. O consumo de ração foi calculado considerando a quantidade de ração fornecida no período de sete dias, subtraindo as sobras e dividindo-se pelo número de aves alojadas por unidade experimental. Para o cálculo da conversão alimentar (g/ave/dia), considerou-se o consumo médio da ave dividido pela massa de ovos obtida no mesmo período. Já a conversão alimentar por kg de ração/dúzia de ovos foi obtida dividindo-se o consumo médio da ração da parcela pela dúzia de ovos produzida.

Qualidade de ovos

Nos últimos três dias de cada período experimental foram selecionados três ovos por parcela com base no peso médio, totalizando 24 ovos por tratamento, para avaliação do peso do ovo (g), peso de albúmen (g), peso da gema (g), peso da casca (g), altura do albúmen (mm), espessura da casca (mm), resistência da casca (mm), cor de gema e unidade Haugh.

Os ovos foram identificados e pesados individualmente em balança semi-analítica com precisão de 0,01 g (Bel, modelo L 3102iH). Para determinar a altura do albúmen, os ovos foram quebrados e seu conteúdo (albúmen + gema) colocado em uma superfície plana e nivelada. Em seguida, a altura do albúmen (mm) foi mensurada pela leitura do valor indicado no paquímetro digital (Modelo Absolute Digital AOS, Mitutoyo, SP, BR - precisão 0,01 mm). A unidade Haugh (UH) foi calculada utilizando as variáveis peso do ovo (g) e altura do albúmen (mm) através da seguinte equação: $UH=100 \log (h + 7,57 - 1,7w^{0,37})$ (CARD; NESHEIM, 1966).

Posteriormente, as gemas foram separadas do albúmen e pesadas em balança semi-analítica de precisão de 0,01 g. As cascas dos ovos foram lavadas em água corrente logo após a quebra para remover todo o resíduo de albúmen e secas ao ar por 48 h antes de serem pesadas. Após pesadas, utilizou-se um micrômetro de precisão (iGaging, San Clemente, CA, EUA) para a mensuração da espessura das três regiões da casca dos ovos (basal, equatorial e apical), a partir das quais obteve-se a espessura média por ovo. O peso do albúmen foi determinado pela

diferença entre o peso do ovo, peso da casca e da gema. Para a análise colorimétrica da gema, foi utilizado um leque de cores com escala de 1 a 15 (DSM).

Para a determinação da resistência da casca foram selecionados na última semana de cada período experimental três ovos por parcela, de forma aleatória, totalizando 24 ovos por tratamento. Os ovos foram encaminhados para a Universidade Federal da Paraíba (Centro de ciências agrárias) e analisados em um texturômetro (Texture Analyser - TA XT Plus Texture Analyzer). Os ovos foram posicionados de forma idêntica sobre um cadinho enquanto um programa computacional registrou a força (gf) necessária para que ocorresse a quebra da casca.

Perfil sanguíneo

Para análise do perfil hematológico foram selecionadas aleatoriamente quatro aves por tratamento na última semana experimental e coletado mediante punção da veia jugular 4 ml de sangue em tubo contendo heparina. As amostras de sangue devidamente identificadas foram encaminhadas ao laboratório veterinário (LaborVet). A contagem das hemácias, leucócitos e plaquetas foram realizadas em câmara de Neubauer após diluição com o reagente Natt-Herrick. A contagem foi feita em microscópio. A determinação do hematócrito foi realizada pelo método do microcapilar e a mensuração da proteína plasmática total por refratometria. A contagem de leucócitos diferenciais foi realizada pela leitura da lâmina, em microscópio ótico, após terem sido coradas pelo método do panótico rápido.

Para a análise hormonal e bioquímica foram coletadas na última semana experimental amostras de sangue em uma ave por unidade experimental. As amostras foram identificadas e centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos; em seguida, com auxílio de uma pipeta coletaram-se 2 ml de soro que foi armazenado em Eppendorfs e congelados em freezer até o momento das análises. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Produção Animal (BIOPA/DZ/UFRPE), no qual foram analisadas com relação às concentrações hormonais de corticosterona ($\mu\text{g/ml}$), triiodotironina (T3) ($\mu\text{g/ml}$) e fosfatase alcalina (U/L). No momento da análise, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente, diluídas e preparadas de acordo com a metodologia descrita pelo kit comercial (BIOCLIN[®]) e em seguida submetidas à leitura em espectrofotômetro (Bioclin, Biolisa Reader).

Peso dos órgãos

No último dia do período experimental, uma ave por parcela foi selecionada de acordo com o peso médio de cada unidade experimental, a fim de serem submetidas à eutanásia para coleta dos órgãos. Após a eutanásia por deslocamento cervical, realizou-se a coleta e pesagem

em balança semi-analítica ($\pm 0,01\text{g}$) dos seguintes órgãos: baço, fígado, pâncreas, intestino e oviduto. Também foi realizada a mensuração do comprimento do intestino.

Análise estatística

As hipóteses de normalidade e homocedasticidade foram testadas para a análise de variância. Os dados foram analisados pelo procedimento PROC GLM do software Statistical Analysis System versão 9.2 (SAS Institute, Inc). No caso de diferenças estatísticas entre as dietas LGCM, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Com a finalidade de comparar os tratamentos inorgânicos (IM e IM-EZ) com a fonte LGCM foi utilizado o teste de Dunnett ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) das suplementações sobre as variáveis de peso do ovo, consumo de ração e conversão alimentar (kg.kg^{-1} , kg.dúzia^{-1}). A suplementação com LGCM-100 e LGCM-70 proporcionaram aumento no percentual de postura, refletindo diretamente na massa dos ovos produzida ($P < 0,01$); no entanto, ao fornecer a dieta LGCM-40 houve uma queda desses valores (Tabela 5). Pelo teste de Dunnett (Figura 2), verificou-se que a adição da enzima fitase na dieta IM ocasionou uma queda no percentual de postura ($P < 0,01$) e massa dos ovos ($P < 0,01$). Contudo, essa redução não foi suficiente para proporcionar diferenças significativas entre os tratamentos IM. Por outro lado, a suplementação com LGCM promoveu maior percentual de postura, maior massa dos ovos e, conseqüentemente, melhor conversão alimentar por massa de ovos ($P < 0,01$).

Tabela 5. Desempenho de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM associados ou não ao uso de fitase

Tratamentos	PO (g)	PR (%)	MO	CR (g/ave)	CA (kg kg^{-1})	CDZ (kg dúzia^{-1})
Enzima						
LGCM	64,777	93,132	60,256	102,788	1,705	1,359
LGCM+Fitase	65,231	92,187	60,172	103,182	1,713	1,366
Nível						
100	64,842	93,683 ^a	60,614 ^a	102,871	1,696	1,342
70	65,393	92,608 ^{ab}	60,575 ^a	103,537	1,711	1,363
40	64,820	91,428 ^b	59,327 ^b	102,509	1,725	1,382
P-valor						
Enzima	0,146	0,068	0,713	0,305	0,304	0,644
Nível	0,293	0,003	0,005	0,071	0,103	0,128
Enzima x Nível	0,198	0,651	0,181	0,698	0,120	0,234
SEM	0,161	0,278	0,183	0,172	0,006	0,008

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

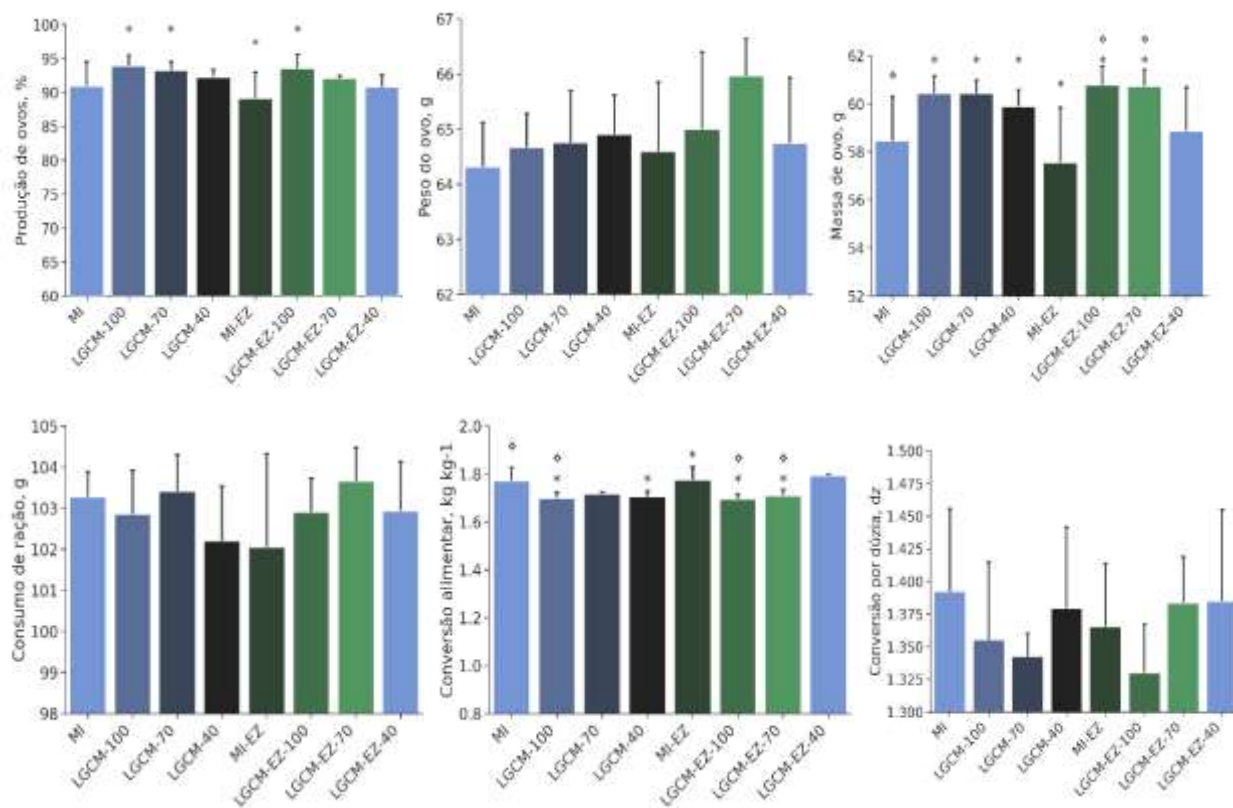


Figura 2. Desempenho de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$); °Difere do tratamento MI; *Difere do tratamento MI-EZ

Os dados de qualidade dos ovos estão descritos na Tabela 6. Não foram observadas diferenças significativas para as variáveis de peso de casca, peso de gema e peso de albúmen, altura de albúmen, cor da gema e unidade Haugh. No entanto, o desdobramento da interação (Tabela 7) mostra que a suplementação com LGCM-100 melhora a espessura da casca; entretanto, ao adicionar fitase a esta dieta, as cascas ficaram menos espessas. Menores médias para espessura, também, foram encontradas para o grupo LGCM-40. Já ao avaliar os fatores de forma isolada, verificou-se um aumento no peso dos ovos ao adicionar a enzima fitase nas dietas das aves suplementadas com LGCM.

Tabela 6. Qualidade dos ovos de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM associados ou não ao uso da enzima fitase

Tratamentos	PO	PG	PC	PA	AA	EC	RC	CG	UH
	(g)			(mm)			(gf)	(escore)	
Enzima									
LGCM	63,680 ^b	17,057	5,727	42,048	7,305	0,443	4008,124	6,142	82,479
LGCM+Fitase	64,529 ^a	17,163	5,755	41,727	7,264	0,440	4080,263	6,234	82,239
Nível									
100	64,288	17,012	5,712	42,103	7,313	0,443	4009,440	6,174	82,675
70	63,986	16,886	5,754	42,029	7,261	0,443	4060,423	6,182	82,183
40	64,016	17,107	5,759	41,532	7,286	0,438	4062,717	6,208	82,220
P-valor									
Enzima	0,003	0,198	0,672	0,335	0,551	0,079	0,307	0,127	0,717
Níveis	0,550	0,176	0,810	0,338	0,811	0,170	0,781	0,886	0,697
Enzima x Nível	0,105	0,873	0,983	0,747	0,937	0,002	0,356	0,886	0,697
SEM	0,155	0,040	0,026	0,167	0,029	0,002	34,548	0,028	0,264

^{a,b} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); PO= peso do ovo; PG= peso da gema; PC= peso da casca; PA= peso do albúmen; AA= altura do albúmen; EC= espessura da casca; RC= resistência da casca; CG= Cor da gema; UH= unidade Haugh; SEM= erro padrão da média

Pelo teste de Dunnet (Figura 3), o tratamento IM-EZ apresentou menor espessura da casca ($P < 0,05$) quando comparado aos grupos IM, LGCM-70 e LGCM-100. As aves pertencentes aos grupos LGCM-EZ-70 e LGCM-EZ-40 apresentaram ovos com cascas mais resistentes ($P < 0,05$) em relação ao grupo IM-EZ (11,33 e 12,02%).

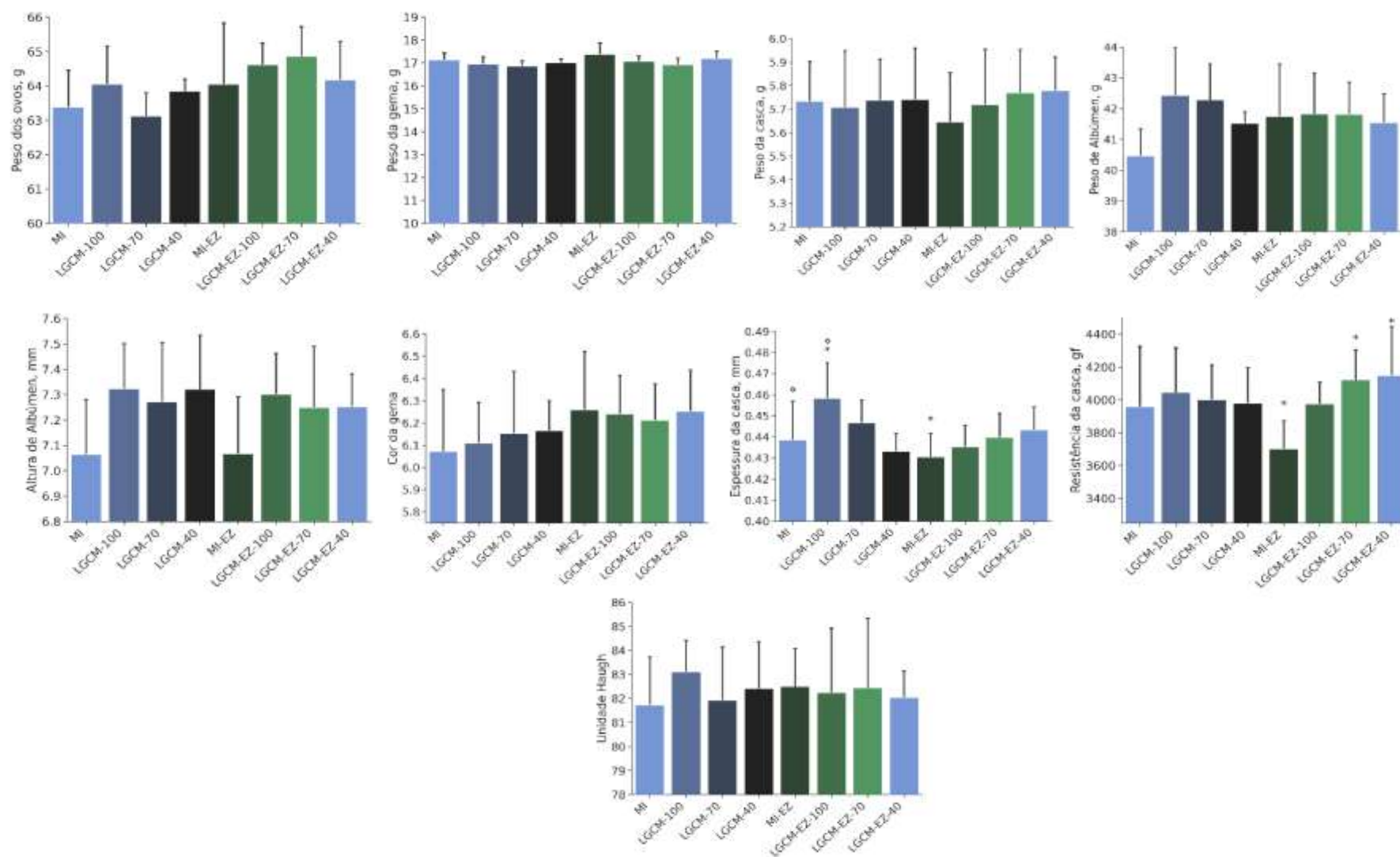


Figura 3. Qualidade dos ovos de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima fitase. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$); [°]Difere do tratamento MI; ^{*}Difere do tratamento MI-EZ

Tabela 7. Desdobramento da interação da espessura da casca dos ovos de aves suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima

Variáveis	Níveis		
	100	70	40
Espeçura da casca, mm			
LGCM	0,450 ^{Aa}	0,447 ^{Aab}	0,433 ^{Ab}
LGCM+Fitase	0,437 ^{Ba}	0,440 ^{Aa}	0,442 ^{Aa}

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

Não foi verificado efeito de interação para as variáveis de peso de órgãos das aves com 89 semanas de idade. Avaliando de forma isolada, observou-se que o fornecimento de fitase para o grupo LGCM proporcionou uma redução no peso do pâncreas (Tabela 8). Não foi observada diferença significativa pelo teste de Dunnett ($P > 0,05$) nas variáveis de peso de órgãos (Figura 4).

Tabela 8. Peso dos órgãos e comprimento de intestino de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM associados ou não ao uso da enzima

Tratamentos	Fígado	Baço	Pâncreas	Intestino	Oviduto	Intestino
			g			m
Enzima						
LGCM	39,876	1,376	3,577 ^a	4,147	67,865	1,375
LGCM+Fitase	41,506	1,366	3,195 ^b	4,159	65,878	1,372
Nível						
100	40,754	1,333	3,315	4,117	65,820	1,350
70	41,502	1,479	3,583	4,173	67,901	1,409
40	39,981	1,301	3,235	4,169	66,452	1,359
P-valor						
Enzima	0,263	0,991	0,010	0,758	0,315	0,983
Nível	0,754	0,269	0,166	0,403	0,646	0,150
Enzima x Nível	0,643	0,465	0,675	0,406	0,888	0,652
SEM	0,697	0,047	0,075	0,018	0,915	0,013

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

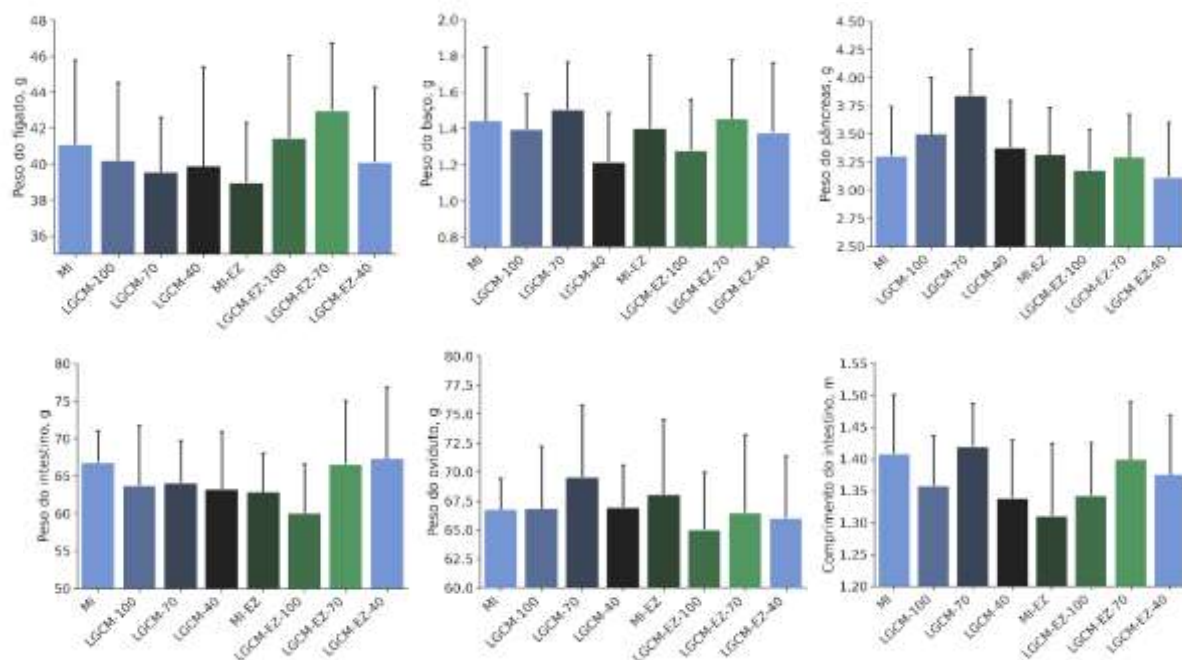


Figura 4. Peso dos órgãos e comprimento de intestino de poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso de fitase. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P>0,05$).

De acordo com a Tabela 9, verificamos que a suplementação com minerais complexados, associados ou não ao uso da fitase, não afetou significativamente os valores de hemoglobina, hematócrito, plaquetas, proteínas totais e monócitos. Entretanto, o desdobramento da interação entre as dietas revelou que quando as aves foram alimentadas com a dieta LGCM-EZ-40 houve uma redução no número de hemácias e um aumento no número de heterófilos. Também foi possível observar uma redução na concentração de heterófilos ao fornecer a dieta LGCM-EZ-70. Em relação ao número de linfócitos, observou-se um aumento significativo nas aves que receberam a dieta LGCM-EZ-70 (Tabela 10).

Ao avaliar os fatores de forma isolada, observamos que aves alimentadas com a dieta LGCM-40 apresentaram maiores concentrações de leucócitos em relação ao grupo LGCM-100.

Pelo teste de Dunnett também verificamos efeito significativo nas variáveis sanguíneas. De acordo com a Figura 5, é possível observar que o tratamento LGCM-EZ-40 apresentou menor concentração de hemácias ($P<0,01$) e maior concentração de leucócitos ($P=0,02$) e heterófilos ($P<0,01$) quando comparado ao tratamento IM. Ainda sobre os níveis de heterófilos, o tratamento LGCM-EZ-40 apresentou maiores concentrações em relação ao tratamento IM-EZ.

Tabela 9. Perfil hematológico de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM associados ou não ao uso de fitase

Tratamentos	Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	Hemat (%)	Hemo (g/dl)	PT	Plaquetas	Leucócitos	Heterofilos (/mm ³)	Linfócitos	Monócitos
Enzima									
LGCM	2,41	32,83	11,08	8,21	84,54	18.025	9.179	8.940	5.904
LGCM+ Fitase	2,12	33,16	11,05	8,60	66,66	19.318	9.138	9.530	6.066
Nível									
100	2,49	33,75	11,27	7,97	68,75	16.535 ^b	8.451	8.636	3.621
70	2,50	32,62	10,91	8,40	88,57	18.000 ^{ab}	7.310	9.944	7.346
40	1,78	32,62	10,90	8,80	70,00	21.571 ^a	11.712	9.125	6.703
P-valor									
Enzima	0,032	0,845	0,941	0,537	0,109	0,135	0,21	0,668	0,737
Nível	0,010	0,822	0,823	0,415	0,257	0,007	< 0.01	0,732	0,076
Enzima x Nível	0,026	0,887	0,879	0,607	0,272	0,104	< 0.01	0,057	0,244
SEM	0,101	0,762	0,252	0,230	5,407	707,49	534,853	592,033	608,110

^{ab} Valores com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P<0,05). Hemo= hemoglobina; Hemat= hematócrito; PT= proteínas totais; SEM= erro padrão da média.

Tabela 10. Desdobramento da interação das hemácias, heterófilos e linfócitos de aves suplementadas com LGCM associados ou não ao uso da enzima

Variáveis	Níveis		
	100	70	40
Hemácias			
LGCM	2,43 ^{Aa}	2,58 ^{Aa}	2,22 ^{Aa}
LGCM+Fitase	2,53 ^{Aa}	2,42 ^{Aa}	1,18 ^{Bb}
Heterofilos			
LGCM	9482 ^{Aa}	9234 ^{Aa}	8719 ^{Ba}
LGCM+Fitase	8250 ^{Ab}	5866 ^{Bb}	14686 ^{Aa}
Linfócitos			
LGCM	10313 ^{Aa}	7355 ^{Ba}	9151 ^{Aa}
LGCM+Fitase	6959 ^{Aa}	12532 ^{Aa}	9099 ^{Aa}

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

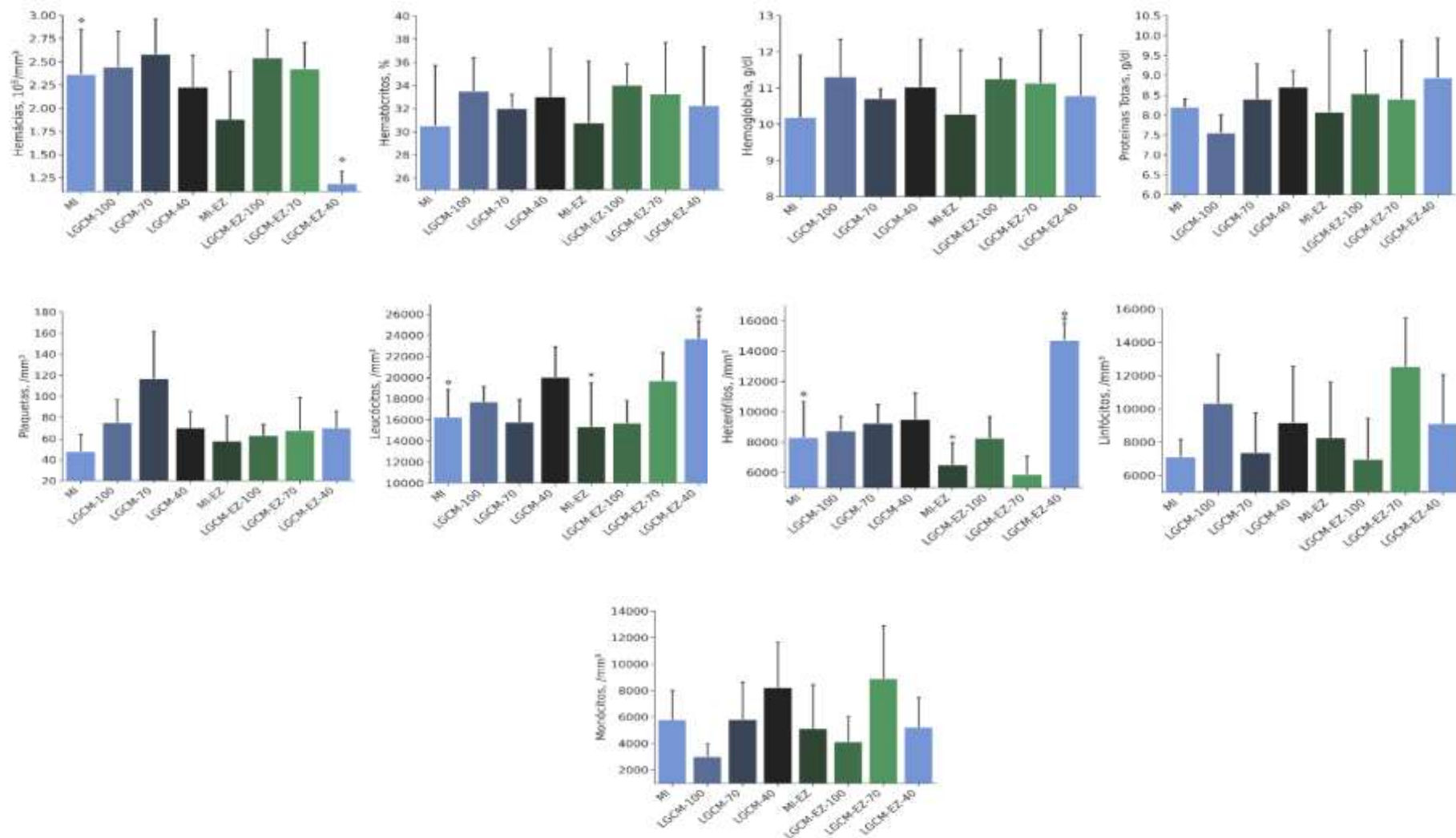


Figura 5. Perfil hematológico de galinhas poedeiras suplementadas com LCGM, associados ou não ao uso da enzima fitase. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$); [◊]Difere do tratamento MI; *Difere do tratamento MI-EZ

A suplementação com minerais complexados a aminoácidos proporcionou diferença significativa ($P<0,01$) nas concentrações hormonais de triiodotironina (T3) ($\mu\text{g/ml}$), no qual o grupo alimentado com a dieta LGCM-70 apresentou maiores médias. Também houve efeito ($P=0,03$) dos tratamentos sobre o resultado bioquímico da fosfatase alcalina, que reduziu sua atividade com a inclusão da enzima fitase (Tabela 11). Pelo teste de Dunnett não houve diferença significativa nas variáveis hormonais (Figura 6).

Tabela 11. Concentração hormonal e atividade da fosfatase alcalina de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM associados ou não ao uso de fitase

Tratamentos	T3	Corticosterona $\mu\text{g/ml}$	FA U/L
Enzima			
LGCM	0,964	0,895	3.426 ^a
LGCM+Fitase	0,886	0,921	2.657 ^b
Níveis			
100	0,844 ^{ab}	1,186	3.202
70	1,127 ^a	0,870	3.008
40	0,799 ^b	0,770	2.889
P-valor			
Enzima	0,340	0,734	0,032
Níveis	0,005	0,127	0,672
Enzima x Nível	0,838	0,411	0,431
SEM			
	0,046	0,085	180,965

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

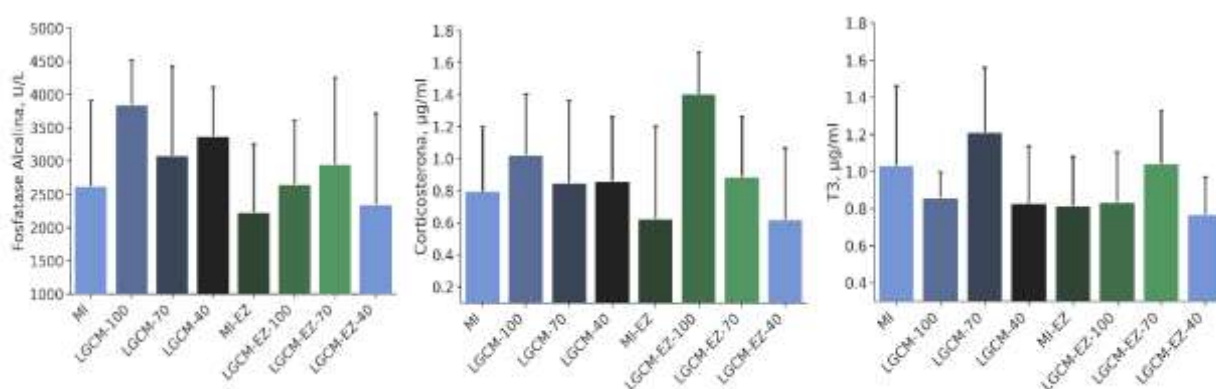


Figura 6. Concentração hormonal e atividade da fosfatase alcalina de galinhas poedeiras suplementadas com LGCM, associados ou não ao uso da enzima. Dados analisados pelo teste de Dunnett ($P>0,05$).

DISCUSSÃO

Neste estudo, a suplementação com LGCM promoveu melhora no desempenho produtivo e na qualidade da casca dos ovos, além de favorecer aumento no metabolismo das aves, enquanto a enzima fitase proporcionou ovos mais pesados, redução da atividade pancreática e da atividade sérica da fosfatase alcalina.

Os benefícios da suplementação dietética de minerais ligados a moléculas orgânicas no desempenho produtivo de galinhas poedeiras já foram evidenciados em alguns estudos (ATTIA *et al.*, 2010a; CUI *et al.*, 2019; YILMAZ DIKMEN *et al.*, 2015). No entanto, embora tais estudos tenham demonstrado respostas significativas na utilização dos complexos minerais no metabolismo animal, as pesquisas sobre seus efeitos no desempenho de poedeiras ainda são limitadas e os resultados encontrados controversos (BAI *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2019; STEFANELLO *et al.*, 2014a; SUN *et al.*, 2012; XIAO *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2017b, 2017d).

No presente estudo, a suplementação com minerais complexados proporcionou aumento no percentual de postura e, conseqüentemente, na massa de ovos produzida. No atual modelo de criação intensiva, este resultado é bem promissor, principalmente por se tratar de galinhas poedeiras no final de seu ciclo produtivo. Este resultado possivelmente sofreu influência das ações dos minerais suplementados, em especial o Mn, por ser um micromineral que desempenha importante papel na regulação da função reprodutiva, juntamente ao fato deste mineral ter sido fornecido complexado a aminoácidos aumentando assim sua biodisponibilidade (BAI *et al.*, 2012; JI *et al.*, 2006)

O Mn atua como cofator, regulando a síntese do colesterol (ROLLIN, 2002). Enquanto o colesterol atua como precursor de hormônios esteroides, tais como estrógenos e progesterona (PEREIRA *et al.*, 2017). Nas aves, a esteroidogênese nos folículos é regulada principalmente pelo LH, enquanto o FSH estimula a maturação das células da granulosa (XIE *et al.*, 2014b). Dessa forma, estudos demonstram que o Mn é capaz de estimular a liberação de LH (PINE *et al.*, 2005), hormônio responsável por induzir a ovulação, e, portanto, proporcionar efeito significativo no desempenho produtivo de galinhas poedeiras (ATTIA *et al.*, 2010a; CUI *et al.*, 2019; YILMAZ DIKMEN *et al.*, 2015).

Verificou-se que a adição da enzima fitase na dieta IM promoveu menores taxas de postura e menor massa de ovos ($P < 0,01$) refletindo negativamente sobre a CA; entretanto, essa redução não foi suficiente para proporcionar diferença significativa entre os tratamentos IM e IM-EZ. Os IM, ao atingirem o trato gastrointestinal, precisam-se dissociar como cátions ativos

para serem absorvidos; assim, a liberação de íons pode ocasionar um desbalanço mineral provocando maior competição no sítio de absorção do enterócito. Conseqüentemente, houve uma queda no percentual de postura devido a menor disponibilidade dos microminerais que atuam na formação do ovo. Por outro lado, a suplementação com LGCM não proporciona a liberação de íons, pois os minerais encontram-se ligados de forma estável com as moléculas orgânicas diminuindo a competição pelos minerais oriundos do ácido fítico e possibilitando a obtenção de melhores índices produtivos, conforme observados neste estudo.

No setor de postura comercial, o aumento da espessura e resistência casca é uma característica desejável (ZHANG *et al.*, 2017d). A utilização de fitase nas dietas contendo IM proporcionou a liberação de microminerais que estavam ligados à molécula do fitato, acarretando, dessa forma, maior competição e, conseqüentemente, menor absorção mineral, refletindo na má formação da casca dos ovos, o que possivelmente não ocorreu nas dietas LGCM-EZ-70 e LGCM-EZ-40 por conter microminerais complexados a aminoácidos.

Muitas abordagens nutricionais buscando melhorar a qualidade da casca dos ovos já foram exploradas. No entanto, a maior parte dos estudos concentram-se nos efeitos proporcionados pelos macrominerais, como o cálcio (Ca) e fósforo (P). Atualmente, alguns pesquisadores relataram os efeitos benéficos da suplementação dietética de Mn, Zn e Cu na melhoria da qualidade da casca dos ovos (MABE *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2012; VENGLOVSKÁ *et al.*, 2014; XIAO *et al.*, 2014). Esses microminerais são capazes de influenciar a qualidade da casca por serem componentes essenciais de enzimas (glicosiltransferase, anidrase carbônica e lisil oxidase) que possuem propriedades catalíticas envolvidas na síntese das membranas da casca do ovo (SUN *et al.*, 2012; XIAO *et al.*, 2014).

O Mn atua como ativador da enzima glicosiltransferase, que, por sua vez, age na formação de sítios de nucleação, regulando o crescimento e orientação dos cristais de calcita durante a formação da casca dos ovos. Esta enzima possui um papel importante na síntese dos glicosaminoglicanos (GAGs) que, conseqüentemente, proporcionam melhoria na ultraestrutura da casca, diminuindo o tamanho e a espessura dos botões mamilares e aumentando a espessura da camada paliçada (ZHANG *et al.*, 2017b). Estudos demonstram que a suplementação de Mn, independente da fonte, aumentou o conteúdo de GAG nas membranas da casca (ZHANG *et al.*, 2017c), bem como a deposição deste mineral na casca dos ovos (XIAO *et al.*, 2015), favorecendo a obtenção de cascas mais espessas e resistentes.

Além do Mn, o Zn influencia a qualidade da casca por ser componente da enzima anidrase carbônica (AC), que contribui para a conversão de dióxido de carbono em bicarbonato e, conseqüentemente, auxilia na deposição de carbonato de cálcio durante a formação da casca

do ovo. A importância do Zn para a manutenção da atividade da AC já foi comprovada em pesquisa, juntamente ao fato deste mineral ser mais eficaz quando suplementado ligado à molécula orgânica para galinhas poedeiras, proporcionando a formação de cascas mais espessas (ZHANG *et al.*, 2017d). Outro mineral que está diretamente relacionado a essas características, mas principalmente a resistência da casca é o Cu, por meio da ação da enzima lisil oxidase, importante na formação do colágeno presente na membrana da casca do ovo. A atividade desta enzima está altamente correlacionada com a concentração de Cu dietético (OPSAHL *et al.*, 1982).

A resistência da casca é uma característica dependente do aumento da camada paliçada e da organização dos cristais de calcita (STEFANELLO *et al.*, 2014a), sendo assim, a organização das colunas da camada paliçada é um dos principais fatores determinantes da resistência da casca. Cada coluna cresce a partir de um botão mamilar e como o mecanismo de calcificação por meio dos cristais de calcita prossegue adjacente as colunas, proporcionam maior resistência (SOLOMON, 2010), demonstrando a importância desses elementos na formação e, conseqüentemente, na qualidade da casca.

Dessa forma, a suplementação de 70 mg/kg de Mn, 60 mg/kg de Zn e 8 mg/kg de Cu complexados à lisina e ao ácido glutâmico pode ser utilizada com a finalidade de melhorar a espessura da casca dos ovos em dietas de galinhas poedeiras, principalmente no final de seu ciclo produtivo, pois nesta fase a ocorrência de problemas com qualidade de casca é maior, agravando os prejuízos. Por outro lado, a redução de 60% dos minerais complexados afetou negativamente a espessura da casca dos ovos. As aves deste grupo foram suplementadas com 28 mg/kg de Mn, 24 mg/kg de Zn e 3,2 mg/kg de Cu, sendo insuficiente para promover uma resposta positiva a qualidade da casca dos ovos.

As aves que consumiram a dieta LGCM-EZ-100 tiveram a casca dos ovos menos espessa quando comparadas as da dieta LGCM-100. Sabe-se que a fitase, ao quebrar a molécula de ácido fítico, disponibiliza o P que se encontrava complexado e, conseqüentemente, indisponível para o animal. Entretanto, observa-se que os efeitos dessa enzima vão além desses benefícios, liberando outros nutrientes como peptídeos, AA livres, macro e microminerais. Dessa forma, a liberação desses AA pode ter proporcionado um desequilíbrio. Existem três tipos de desequilíbrio de AA: toxidez, desequilíbrio e/ou antagonismo; entretanto, as formas mais comuns são os dois últimos tipos devido à complexidade do perfeito relacionamento entre os AA (BRASILICA; LIMA, 2008).

Sendo assim, a hipótese que poderia explicar esse resultado seria que a liberação dos AA livres provenientes da utilização da fitase teria causado um antagonismo, provocando uma

competição pelo mesmo sítio de absorção na borda em escova com os aminoácidos que foram utilizados (lisina e ácido glutâmico) para suplementar os minerais do estudo. Os AA utilizados nesta suplementação mineral são conhecidos por apresentarem uma maior permeabilidade (GAO *et al.*, 2014). No entanto, o fato deste complexo ser formado por apenas dois AA, qualquer fração mínima não absorvida pode gerar prejuízo ao metabolismo da ave.

Por outro lado, quando se trata de produção de aves e suínos em escala industrial, a fitase é utilizada praticamente de forma unânime, tendo em vista os benefícios que ela proporciona. Sendo assim, ao analisarmos as respostas obtidas na espessura da casca verificamos que as dietas LGCM-EZ não diferiram entre os níveis avaliados, revelando que qualquer nível utilizado neste estudo pode ser usado em dietas suplementadas com fitase, sem afetar a qualidade da casca.

Outra variável influenciada pela adição da fitase foi o peso dos ovos avaliados durante a análise de qualidade. Observou-se que, ao fornecer esta enzima ao grupo LGCM, as aves produziram ovos mais pesados. Alguns pesquisadores já relataram a influência exercida pela fitase sobre o aumento no peso dos ovos (FRANCESCH; BROZ; BRUFAU, 2005; SCOTT; KAMPEN; SILVERSIDES, 2001). Essa resposta pode ser justificada pelo fato da adição da fitase ter proporcionado a liberação de minerais incluindo Ca, Fe, Cu, Zn e Mn (LIM; NAMKUNG; PAIK, 2003), nos quais sua atuação conjunta proporcionaram a obtenção de ovos mais pesados. Essa resposta não foi encontrada para as aves que consumiram IM, provavelmente devido ao menor aproveitamento mineral decorrente da interação de íons metálicos (JINTASATAPORN *et al.*, 2015).

No nosso estudo foi observado que a adição da fitase nas dietas LGCM reduziu o peso do pâncreas. O fitato se liga às proteases endógenas, tais como tripsina e quimiotripsina durante sua passagem pelo trato digestivo (SELLE *et al.*, 2000). Devido à formação desses complexos com as enzimas digestivas, o pâncreas na tentativa de compensar os baixos níveis enzimáticos aumenta a secreção de proteases digestivas no intestino em resposta aos mecanismos de feedback negativo. Isso ocorre porque a colecistocinina liberada atua sobre o pâncreas exócrino, resultando na liberação das enzimas pancreáticas na luz duodenal. Essas, por sua vez, inibem a liberação de colecistocinina, exercendo o feedback negativo (CALDWELL, 1992).

Alguns autores já relataram a influência do fitato sobre a atividade das enzimas pancreáticas. Leslie *et al.* (2007) observaram que a presença do fitato no lúmen intestinal reduziu a atividade enzimática coincidindo com o aumento da atividade pancreática para compensar esse déficit. Caldwell (1992) investigou os efeitos *in vitro* do fitato na ativação do tripsinogênio e estabilidade da tripsina, no qual verificou que o fitato reduziu em

aproximadamente 90% a ativação do tripsinogênio, bem como o conteúdo ativo de tripsina. Singh e Krikorian (1982), avaliando o efeito do ácido fítico na inibição da enzima proteolítica tripsina, verificou que o fitato reduziu em 46% a atividade desta enzima e relata que esse efeito inibitório pode ser devido à ligação entre tripsina e Ca em virtude da afinidade existente entre eles.

Dessa forma, dietas sem fitase favorecem a formação de complexos com as enzimas proteolíticas prejudicando o funcionamento do *feedback* negativo existente para a regulação da secreção pancreática. Portanto, a utilização da fitase proporciona a inibição da formação dos complexos proteína-fitato, possibilitando uma melhoria no aproveitamento dos AA e promovendo redução no peso do pâncreas, o que possivelmente contribuiu para o menor peso deste órgão.

Neste estudo houve redução na concentração de hemácias sanguíneas das aves do grupo LGCM-EZ-40. Os baixos níveis de Fe, Cu e Se associados à presença de um possível desequilíbrio entre AA causado pelo uso da dieta LGCM com fitase pode ter contribuído para esta resposta. Assim, ao reduzir o nível de suplementação em 60% da exigência de minerais, esse grupo foi alimentado com 16 mg/kg de Fe, 3,2 mg/kg de Cu e 0,10 mg/kg de Se. Dessa forma, qualquer redução que ocorra, em consequência do desequilíbrio, na absorção dos AA utilizados para a formação deste complexo, prejudicará a absorção destes minerais traços (Fe, Cu e Se) para a produção das hemácias.

Sabe-se que o Fe e o Cu são elementos fundamentais na formação das hemácias. O Fe está presente na molécula da hemoglobina e é um mineral fundamental para o transporte de oxigênio no sangue (GROTTO, 2010). Enquanto o Cu, embora não seja constituinte da hemoglobina, está presente em proteínas plasmáticas envolvidas no transporte do Fe, além de ser componente de outras proteínas sanguíneas, como a eritrocupreína, encontrada nas hemácias e envolvida no metabolismo do oxigênio (LEESON, 2009). Além do Fe e Cu, o Se também influencia a eritropoiese, visto que esse mineral é componente essencial da glutatona peroxidase (ROVER JÚNIOR *et al.*, 2001), cuja ação é a eliminação dos peróxidos que podem comprometer a integridade estrutural das moléculas dos glóbulos vermelhos (ANNUNZIATA; IORIO, 2004).

Analisando nossos resultados observamos que a concentração de leucócitos totais, bem como a contagem diferencial de leucócitos foram influenciados pelos tratamentos. Devido à escassez de estudos torna-se difícil a interpretação da contagem diferencial de leucócitos em aves, visto que a função exata de algumas dessas células nesses animais ainda não é bem conhecida. De modo geral, as causas do aumento de leucócitos em aves incluem inflamação,

que pode estar associada a infecções causadas por um grande espectro de agentes (bactérias, fungos, vírus e parasitas) e por causas não infecciosas (lesões traumáticas, corpos estranhos e intoxicações) (TRHALL *et al.*, 2015).

Normalmente, pelo fato da leucocitose ser causada por inflamações, a heterofilia está frequentemente presente (TRHALL *et al.*, 2015). Em nosso estudo pudemos observar essa resposta, apesar dos valores obtidos encontrar-se dentro dos limites fisiológicos normais, visto que, o número de leucócitos no sangue das aves varia de 12.000 a 30.000, podendo mudar em função do sexo, idade, condições de estresse e doenças (MACARI; FURLAN, 2002).

O estresse oxidativo é provocado pelo desequilíbrio entre a liberação de espécies reativas de oxigênio e a capacidade de ação dos sistemas de defesa antioxidante, que tem como principal função inibir ou reduzir os danos causados pelas espécies reativas e/ou pela ação deletéria dos radicais livres (BARBOSA *et al.*, 2010). Os radicais reativos ao oxigênio são os ativadores fisiológicos dos fatores de transcrição das citocinas inflamatórias; desse modo, o estresse oxidativo pode, portanto, desencadear atividade inflamatória ou agir para aumentar a atividade de uma determinada doença (ZINNUROGLU *et al.*, 2012).

Os minerais utilizados nesta pesquisa atuam como antioxidantes mediante diferentes mecanismos. O Zn, Mn, Cu e Se são cofatores das enzimas glutatona peroxidase e superóxido dismutase, principais enzimas que eliminam os produtos da peroxidação (WANG *et al.*, 2019). Alguns estudos observaram que o fornecimento de microminerais ligados a moléculas orgânicas proporcionou maior atividade das enzimas antioxidantes por aumentar a disponibilidade dos minerais, os quais desempenham importante papel contra os danos oxidativos, indicando que a atividade dessas enzimas está intimamente relacionada aos níveis suplementares das aves (SUN *et al.*, 2012; UMAR YAQOOB *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2019).

Sendo assim, uma das possíveis causas que explica o aumento de leucócitos seria a importância desses minerais sobre o estresse oxidativo. A redução nos níveis de LGCM pode ter provocado um aumento no estresse oxidativo levando a uma queda na defesa do organismo, deixando as aves vulneráveis a presença de agentes patogênicos. Em nosso estudo, as aves que consumiram a dieta LGCM-EZ-40 apresentaram maiores níveis de leucócitos e heterófilos ao comparar com àquelas que consumiram fontes de minerais inorgânicos (IM e IM-EZ), isso ocorreu porque mesmo consumindo uma fonte de baixa disponibilidade, os minerais foram suplementados com níveis mais elevados em relação a dieta LGCM-EZ-40, não influenciando a resposta imunológica das aves.

Em relação às variáveis hormonais, a suplementação com LGCM-100 e LGCM-70 proporcionou aumento nos níveis séricos de T3. O T3 é um dos hormônios tireoidianos (HTs)

que atua participando no controle dos processos metabólicos; deste modo, o aumento da concentração circulante deste hormônio é um indicativo de maior participação no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídeos o que resulta em melhoria no desempenho animal (SMITH, 2002).

Entretanto, a síntese de HTs é dependente de Zn, Se e I (MEZZOMO; NADAL, 2016). Os HTs são as únicas substâncias do organismo que contêm I na sua configuração. Após absorvido pelo trato gastrointestinal, o I será captado pela glândula tireoide, onde serão formados os hormônios monoiodotirosina e diiodotirosina que originarão os dois principais HTs: triiodotironina e tetraiodotironina (SETIAN, 2007). O Se participa ativamente das atividades endócrinas tireoideanas. Em sua forma de Selenocisteína é componente principal das enzimas desidases, responsáveis pela conversão de T4 em T3. Este elemento tem importante papel na proteção da glândula tireoide, por ser cofator da glutathione peroxidase, evitando danos oxidativos aos tireócitos (ESTEVEZ; NEVES; CARVALHO, 2012). Enquanto o Zn atua como cofator das desidases tipo 2, contribuindo também para a conversão de T4 em T3 (NISHIYAMA *et al.*, 1994).

Associado a isto, observamos que a suplementação com LGCM-100 e LGCM-70 promoveram maiores percentuais de postura (93,68% e 92,60%, respectivamente), podendo essa resposta estar relacionada à elevação nos níveis séricos encontrados para o hormônio T3, contribuindo diretamente para o aumento da taxa metabólica desses animais suplementados com LGCM.

A atividade sérica da FA foi reduzida em 22,43% com a suplementação da enzima fitase. Resultados semelhantes foram relatados por Viveros *et al.* (2002) que trabalhando com a suplementação de fitase para frangos de corte da linhagem Cobb observou uma redução de 19,5% na atividade da FA. A FA é definida como uma hidrolase, ou seja, uma enzima com capacidade de retirar de várias moléculas grupos de fosfato, que por sua vez juntamente com o Ca leva a formação dos cristais de hidroxiapatita nas fibras de colágeno da matriz óssea (ANDERSON, 1989). Dessa forma, a adição da enzima fitase nas dietas proporcionam um aumento na disponibilidade de Ca e P fítico e, conseqüentemente, reduzem a necessidade de atuação da FA no metabolismo ósseo (HUFF *et al.*, 1998; MAGNAGO *et al.*, 2015; TSOKOVA, 2006).

Em conclusão, a suplementação com LGCM foi mais eficiente que as fontes inorgânicas, proporcionando melhora no desempenho produtivo e na qualidade da casca dos ovos, além de favorecer o aumento no metabolismo de galinhas poedeiras. Enquanto a adição da enzima fitase promove aumento no peso dos ovos, reduziu o peso do pâncreas e a atividade

sérica da fosfatase alcalina. A redução de até 30% dos níveis aplicados utilizando a fonte complexada aos aminoácidos lisina e ácido glutâmico pode ser utilizada sem comprometer as variáveis hematológicas e o desempenho produtivo das aves.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Zinpro Corporation pelo apoio financeiro para este estudo; bem como ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa e investimentos no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRPE.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, A. G.; EL-HUSSEINY, O. M.; ABDEL-LATIF, K. O. Influence of some dietary organic mineral supplementations on broiler performance. **Int. J. Poult. Sci.**, v. 8 (3): 291, n. 1682–8356, p. 291–298, 2009.
- ADDADI, L.; WEINER, S. Interactions between acidic proteins and crystals: stereochemical requirements in biomineralization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, n. 12, p. 4110–4114, 1 jun. 1985.
- AKSU, D. S. *et al.* The Effects of replacing inorganic with a lower level of organically complexed minerals (Cu, Zn and Mn) in broiler diets on lipid peroxidation and antioxidant defense systems. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 8, p. 1066–1072, 2010.
- ANDERSON, H. C. Mechanism of mineral formation in bone. **Laboratory Investigation**, v. 60, n. 3, p. 320–330, 1989.
- ANNUNZIATA, M.; IORIO, M. The levels of glutathione and hemoglobin in sheep erythrocytes as a function of age. **Italian Journal of Animal Science**, v. 3, n. 3, p. 283–286, 2004.
- ATTIA, Y. A. *et al.* Effect of amount and source of manganese and/or phytase supplementation on productive and reproductive performance and some physiological traits of dual purpose cross-bred hens in the tropics. **British Poultry Science**, v. 51, n. 2, p. 235–245, 2010a.
- ATTIA, Y. A. *et al.* Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n. No. 1, p. 505–519, 25 jan. 2010b.
- BAI, S. *et al.* Dietary organic trace minerals level influences eggshell quality and minerals retention in hens. **Annals of Animal Science**, v. 17, n. 2, p. 503–515, 2017.
- BAI, S. P. *et al.* Manganese source affects manganese transport and gene expression of divalent metal transporter 1 in the small intestine of broilers. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 2, p. 267–276, 2012.

BAIN, M. M. *et al.* Enhancing the egg's natural defence against bacterial penetration by increasing cuticle deposition. **Animal Genetics**, v. 44, n. 6, p. 661–668, dez. 2013.

BAO, Y. M. *et al.* Effect of organically – complexed Cu , Fe , Mn and Zn on broiler performance and excretion of minerals. **Poultry Science Association**, v. 16, p. 448–455, 2007.

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010.

BENNETT, D. C.; CHENG, K. M. Selenium enrichment of table eggs. **Poultry Science**, v. 89, n. 10, p. 2166–2172, out. 2010.

BERTINCHAMPS, A.; MILLER, S.; COTZIAS, G. Interdependence of routes excreting manganese. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 211, n. 1, p. 217–224, 1 jul. 1966.

BOZKURT, M. *et al.* Comparative evaluation of dietary supplementation with mannan oligosaccharide and oregano essential oil in forced molted and fully fed laying hens between 82 and 106 weeks of age. **Poultry Science**, v. 95, n. 11, p. 2576–2591, nov. 2016.

BRANDT, M.; SCHRAMM, V. L. Mammalian manganese metabolism and manganese uptake and distribution in rat hepatocytes. In: **Manganese in Metabolism and Enzyme Function**. [s.l.] Elsevier, 1986. p. 3–16.

BRASILICA, A. V.; LIMA, M. R. DE. Efeito Da Relação Lisina: Arginina Digestível Sobre O Desempenho De Poedeiras Comerciais No Período De Postura. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 1, n. 4, p. 118–124, 2008.

BRITO, J. Á. G. de *et al.* Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1342–1348, ago. 2006.

BRUNELLI, S. R. *et al.* Efeito de diferentes níveis de farelo de gérmen de milho desengordurado em dietas suplementadas com fitase para poedeiras comerciais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1991–2000, 30 out. 2012.

BURRELL, A. L. *et al.* Responses of broilers to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. **British Poultry Science**, v. 45, n. 2, p. 225–263, 2004.

CALDWELL, R. A. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 1, p. 43–46, jan. 1992.

CAO, J. *et al.* Effect of Dietary Iron Concentration, Age, and Length of Iron Feeding on Feed Intake and Tissue Iron Concentration of Broiler Chicks for Use as a Bioassay of Supplemental Iron Sources. **Poultry Science**, v. 75, n. 4, p. 495–504, abr. 1996.

CARD, L.E.; NESHEIM, M. . **Poultry production**. Lea & Febi ed. Philadelphia: 1966.

CARVALHO, L. S. S. *et al.* Effect of the inclusion of organic copper, manganese, and zinc in the diet of layers on mineral excretion, egg production, and eggshell quality. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 17, p. 87–92, 2015.

CARVALHO, L. S. S. *et al.* Qualidade de ovos e desempenho produtivo de poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com microminerais quelatados a aminoácidos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 491–500, dez. 2016.

CHERYAN, M.; RACKIS, J. J. Phytic acid interactions in food systems. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, n. 4, p. 297–335, 29 dez. 1980.

CHOWDHURY, S. D. Shell membrane protein system in relation to lathrogen toxicity and copper deficiency. **World's Poultry Science Journal**, v. 46, n. 2, p. 153–169, 1 jul. 1990.

COHEN, A.; SMITH, Y. Estrogen Regulation of microRNAs, Target Genes, and microRNA Expression Associated with Vitellogenesis in the Zebrafish. **Zebrafish**, v. 11, n. 5, p. 462–478, out. 2014.

CONDOMINA, J. *et al.* Kinetics of zinc transport in vitro in rat small intestine and colon: interaction with copper. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 4–5, p. 289–295, set. 2002.

CONSOLO, Lourdes Zélia Zanoni. **Alterações plasmáticas do cobre e do zinco em crianças submetidas a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea**. 2008. 116 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) -Programa Multiinstitucional e Inter-regional de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília / UFG / UFMS, Campo Grande, 2008.

COUSINS, R. J.; LIUZZI, J. P.; LICHTEN, L. A. Mammalian Zinc Transport, Trafficking, and Signals. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 34, p. 24085–24089, ago. 2006.

COUSINS, R. J.; MCMAHON, R. J. Zinc and Health: Current Status and Future Directions. Integrative aspects of zinc transporters. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 5S Suppl, p. 1341S-1519S, maio 2000.

CUI, Y. M. *et al.* Effects of long-term supplementation with amino acid-complexed manganese on performance, egg quality, blood biochemistry and organ histopathology in laying hens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 254, n. June, p. 114203, 2019.

DARRAS, V. M.; GEYTEN, S. V.; KUHN, E. R. Thyroid hormone metabolism in poultry. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ**, v. 4, n. S2, p. 13–20, 24 jun. 2000.

DE FARIAS, M. R. S. *et al.* Organic minerals with different chemical characteristics in diets for Hy-Line White laying hens: Performance, biometry of digestive organs, and bone quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, n. 1, 2019.

DHABHAR, F. S. A hassle a day may keep the pathogens away: The fight-or-flight stress response and the augmentation of immune function. **Integrative and Comparative Biology**, v. 49, n. 3, p. 215–236, 1 set. 2009.

DOZIER, W. A. *et al.* Early growth and environmental implications of dietary zinc and copper concentrations and sources of broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 44, n. 5, p. 726–731, 2003.

EBEID, T. A. *et al.* Effects of catecholamines on ovary morphology, blood concentrations of estradiol-17 β , progesterone, zinc, triglycerides and rate of ovulation in domestic hens.

Theriogenology, v. 69, n. 7, p. 870–876, abr. 2008.

ESTEVEES, C.; NEVES, C.; CARVALHO, D. O selénio e a tiróide. **Arquivos de Medicina**, v. 26, n. 4, p. 149–153, 2012.

FASSANI, É. J. *et al.* Manganese in Nutrition of the Leghorn Hens in the. **Ciênc. Agrotec.**, v. 24, n. 2, p. 468–478, 2000.

FAVERO, A. *et al.* Reproductive performance of Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 1, p. 80–91, 2013.

FISININ, V. I.; PAPAZYAN, T. T.; SURAI, P. F. Producing selenium-enriched eggs and meat to improve the selenium status of the general population. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 18–28, mar. 2009.

FRANCESCH, M.; BROZ, J.; BRUFAU, J. Effects of an experimental phytase on performance, egg quality, tibia ash content and phosphorus bioavailability in laying hens fed on maize- or barley-based diets. **British Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 340–348, 2005.

GAJČEVIĆ, Z. *et al.* Effects of organic selenium supplemented to layer diet on table egg freshness and selenium content. **Italian Journal of Animal Science**, v. 8, n. 2, p. 189–199, jan. 2009.

GAO, S. *et al.* Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life Sciences**, v. 109, n. 1, p. 50–56, 2014.

GAUTRON, J. *et al.* Soluble matrix of hen's eggshell extracts changes in vitro the rate of calcium carbonate precipitation and crystal morphology. **British Poultry Science**, v. 37, n. 4, p. 853–866, set. 1996.

GAUTRON, J. *et al.* Ovocalyxin-32, a Novel Chicken Eggshell Matrix Protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 42, p. 39243–39252, out. 2001.

GHEISARI, A. A. *et al.* Effects of organic chelates of zinc, manganese and copper in comparison to their inorganic sources on performance of broiler chickens. **Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 6, n. 2, p. 630–636, 2010.

GIBBONS, R. A. *et al.* Manganese metabolism in cows and goats. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 444, n. 1, p. 1–10, ago. 1976.

GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2017.

GOPALSAMY, G. *et al.* The Relevance of the Colon to Zinc Nutrition. **Nutrients**, v. 7, n. 1, p. 572–583, 14 jan. 2015.

GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. SUPPL. 2, p. 08–17, jun. 2010.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, A. *et al.* Influence of eggshell matrix proteins on the

precipitation of calcium carbonate (CaCO₃). **Journal of Crystal Growth**, v. 310, n. 7–9, p. 1754–1759, abr. 2008.

HINCKE, M. T. *et al.* Soluble protein constituents of the domestic fowl's eggshell. **British Poultry Science**, v. 33, n. 3, p. 505–516, jul. 1992.

HUDSON, B. P. *et al.* Reproductive Performance and Immune Status of Caged Broiler Breeder Hens Provided Diets Supplemented with Either Inorganic or Organic Sources of Zinc from Hatching to 65 wk of Age. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 13, n. 2, p. 349–359, jul. 2004.

HUDSON, B. P.; DOZIER, W. A.; WILSON, J. L. Broiler live performance response to dietary zinc source and the influence of zinc supplementation in broiler breeder diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 118, n. 3–4, p. 329–335, fev. 2005.

HUFF, W. E. *et al.* Effect of Dietary Phytase and High Available Phosphorus Corn on Broiler Chicken Performance. **Poultry Science**, v. 77, n. 12, p. 1899–1904, 1998.

JAHANIAN, R.; RASOULI, E. Effects of dietary substitution of zinc-methionine for inorganic zinc sources on growth performance, tissue zinc accumulation and some blood parameters in broiler chicks. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 50–58, fev. 2015.

JEGEDE, A. V. *et al.* Effect of Dietary Copper on Performance, Serum and Egg Yolk Cholesterol and Copper Residues in Yolk of Laying Chickens. v. 2015, n. 1, p. 29–36, 2015.

Jl, F. *et al.* Effect of Manganese Source on Manganese Absorption by the Intestine of Broilers. **Poultry Science**, v. 85, p. 1947–1952, out. 2006.

JINTASATAPORN, O. *et al.* The Efficacy of Mineral-Amino Acid Complex (Zn, Mn, Cu, Fe and Se) on White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Diets. **Aquacultura Indonesiana**, v. 16, n. 1, 15 out. 2015.

KAUFMANN, S. *et al.* Iodine supplementation of laying hen feed : A supplementary measure to eliminate iodine deficiency in humans? **Physiologische Chemie und Tierernahrung Veterinarstr**, v. 293, p. 288–293, 1998.

KETTA, M.; TŮMOVÁ, E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. **Czech Journal of Animal Science**, v. 61, n. 07, p. 299–309, 24 jul. 2016.

KHATUN, A. *et al.* Comparative Effects of Inorganic and Three Forms of Organic Trace Minerals on Growth Performance, Carcass Traits, Immunity and Profitability of Broilers. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 6, n. 1, p. 1, 2019.

LEESON, S. Copper metabolism and dietary needs. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n. 3, p. 353–366, 1 set. 2009.

LESLIE, M. A.; MORAN, E. T.; BEDFORD, M. R. The effect of phytase and glucanase on the ileal digestible energy of corn and soybean meal fed to broilers. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2350–2357, 2007.

LI, L. L. *et al.* Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. **Poultry Science**, v. 98, n. 2, p. 923–931, 2019.

LI, X. *et al.* Kinetics of manganese transport and gene expressions of manganese transport carriers in Caco-2 cell monolayers. **BioMetals**, v. 26, n. 6, p. 941–953, 31 dez. 2013.

LIM, H. S.; NAMKUNG, H.; PAIK, I. K. Effects of phytase supplementation on the performance, egg quality, and phosphorous excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorous. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 92–99, 2003.

LÖNNERDAL, B. Intestinal regulation of copper homeostasis: a developmental perspective. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 3, p. 846S-850S, 1 set. 2008.

LYONS, M. P.; PAPAZYAN, T. T.; SURAI, P. F. Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature -Review-. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1135–1155, 27 jun. 2007.

MABE, I. *et al.* Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v. 82, n. 12, p. 1903–1913, 2003.

MACARI M, FURLAN R L, G. E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2ª Edição ed. Jaboticabal: [s.n.].

MACIEL, M. P. *et al.* Effect of using organic microminerals on performance and external quality of eggs of commercial laying hens at the end of laying. **Revista Brasileira de Zootecnia**. n. 1997, p. 344–348, 2010.

MACKENZIE, B.; GARRICK, M. D. Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 289, n. 6, p. G981–G986, dez. 2005.

MAGNAGO, J. G. P. *et al.* Níveis de fitase sobre o desempenho, parâmetros ósseos e bioquímicos de suínos alimentados com ração de origem vegetal sem inclusão de fosfato bicálcico. **Ciência Rural**, v. 45, n. 7, p. 1286–1291, 22 maio 2015.

MAO, X. *et al.* A Histidine-rich Cluster Mediates the Ubiquitination and Degradation of the Human Zinc Transporter , hZIP4 , and Protects against Zinc Cytotoxicity *. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 10, p. 6992–7000, 2007.

MATSUBARA, T.; SAWANO, K. Proteolytic cleavage of vitellogenin and yolk proteins during vitellogenin uptake and oocyte maturation in barfin flounder (*Verasper moseri*). **Journal of Experimental Zoology**, v. 272, n. 1, p. 34–45, 1 maio 1995.

MAZZUCO, H.; BERTECHINI, A. G. Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 1, p. 07–14, 2014.

MEDEIROS, J. *et al.* Morphology of the oviduct of commercial egg-laying hens supplemented with organic minerals. **Analytical and quantitative cytopathology and histopathology**, v. 35, n. 5, p. 278–82, out. 2013.

MEDEIROS-VENTURA, W. R. L. *et al.* Zinc, manganese, and copper amino acid complexes improve performance and bone characteristics of layer-type chicks under thermoneutral and cold stress conditions. **Poultry Science**, v. 99, n. 11, p. 5718–5727, nov. 2020.

MEZZOMO, T. R.; NADAL, J. Efeito Dos Nutrientes E Substâncias Alimentares Na Função Tireoidiana E No Hipotireoidismo. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 11, n. 2, p. 427–444, 2016.

MIN, Y. N. *et al.* Effects of organic zinc on tibia quality, mineral deposit, and metallothionein expression level of aged hens. **Poultry Science**, v. 98, n. 1, p. 366–372, 1 jan. 2019.

NICOLA, J. P.; CARRASCO, N.; MASINI-REPISO, A. M. Dietary I– Absorption. In: **Vitamins and Hormones**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2015. v. 98p. 1–31.

NISHIYAMA, S. *et al.* Zinc supplementation alters thyroid hormone metabolism in disabled patients with zinc deficiency. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 62–67, fev. 1994.

NOLLET, L. *et al.* The Effect of Replacing Inorganic With Organic Trace Minerals in Broiler Diets on Productive Performance and Mineral Excretion. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 4, p. 592–597, dez. 2007.

NUNES, J. K. *et al.* Qualidade de ovos e resistência óssea de poedeiras alimentadas com minerais orgânicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 2, p. 610–618, 2013.

NYS, Y. *et al.* Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. **Comptes Rendus Palevol**, v. 3, n. 6–7, p. 549–562, out. 2004.

NYS, Y. *et al.* Avian Eggshell Mineralization. **Poultry and Avian Biology Reviews**, v. 3, p. 143–166, 1999.

NYS, Y.; GUYOT, N. Egg formation and chemistry. In: **Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products**. [s.l.] Elsevier, 2011. p. 83–132.

ODIHAMBO MUMMA, J. *et al.* Physiological Stress in Laying Hens. **Poultry Science**, v. 85, n. 4, p. 761–769, abr. 2006.

OLIVEIRA, H. B. **Utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras semipesadas na fase de produção**. Recife: [s.n.].

OPSAHL, W. *et al.* Role of copper in collagen cross-linking and its influence on selected mechanical properties of chick bone and tendon. **Journal of Nutrition**, v. 112, n. 4, p. 708–716, 1982.

OTEIZA, P. I. Zinc and the modulation of redox homeostasis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 9, p. 1748–1759, nov. 2012.

PAIK, I.; LEE, H.; PARK, S. Effects of Organic Iron Supplementation on the Performance and Iron Content in the Egg Yolk of Laying Hens. **The Journal of Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 198–202, 2009.

- PAN, E. A. *et al.* Performance of Brown-Egg Laying Hens Fed Organic Selenium. **R. Bras. Agrociência, Pelotas**, v.16, n.1-4, p. 83–89, 2010.
- PARK, S. W. *et al.* Production of Iron Enriched Eggs of Laying Hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 17, n. 12, p. 1725–1728, 1 jan. 2004.
- PAYNE, R. L.; LAVERGNE, T. K.; SOUTHERN, L. L. Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. **Poultry Science**, v. 84, n. 2, p. 232–237, fev. 2005.
- PEREIRA, C. G. *et al.* Zinc, manganese and copper amino acid complexed in laying hens' diets affect performance, blood parameters and reproductive organs development. **PLOS ONE**, v. 15, n. 11, p. e0239229, 4 nov. 2020.
- PEREIRA, E. L. *et al.* Produção industrial de hormônios esteroides. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 15, p. 411–435, 2017.
- PESSOA, G. *et al.* Novos conceitos em nutrição de aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 755–774, 2012.
- PINE, M. *et al.* Manganese acts centrally to stimulate luteinizing hormone secretion: A potential influence on female pubertal development. **Toxicological Sciences**, v. 85, n. 2, p. 880–885, 2005.
- QIN, S. *et al.* An Optimal Dietary Zinc Level of Brown-Egg Laying Hens Fed a Corn-Soybean Meal Diet. **Biological trace element research**, v. 177, n. 2, p. 376–383, 19 jun. 2017.
- QIU, J. L. *et al.* Organic trace minerals improve eggshell quality by improving the eggshell ultrastructure of laying hens during the late laying period. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1483–1490, 2020a.
- QIU, J. L. *et al.* Organic trace minerals improve eggshell quality by improving the eggshell ultrastructure of laying hens during the late laying period. **Poultry Science**, v. 99, n. 3, p. 1483–1490, mar. 2020b.
- RADWAN, L. M. *et al.* Mechanical and Ultrastructural Properties of Eggshell in Two Egyptian Breeds of Chicken. **International Journal of Poultry Science**, v. 1, p. 77–81, 2010.
- ROBERTS, J. R. Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality in Laying Hens. **The Journal of Poultry Science**, v. 41, n. 3, p. 161–177, 2004.
- ROBIN, A. W. K. S. **Oocyte Growth in Teleosts**. 1. v. 343, p. 325–343, 1981.
- RODRIGUEZ-NAVARRO, A. *et al.* Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. **British Poultry Science**, v. 43, n. 3, p. 395–403, 28 jul. 2002.
- ROLLIN, F. Mise en évidence des carences en oligo-éléments dans les exploitations bovines. **Proceedings of the Veterinary Sciences Congress**, p. 95–106, 2002.
- ROSE-MARTEL, M.; DU, J.; HINCKE, M. T. Proteomic analysis provides new insight into the chicken eggshell cuticle. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 9, p. 2697–2706, maio 2012.

ROVER JÚNIOR, L. *et al.* Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Stress The International Journal on the Biology of Stress**, v. 24, n. 1, p. 112–119, 2001.

SARTORI, É. V. *et al.* Concentração de proteínas em gemas de ovos de poedeiras (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 481–487, set. 2009.

SAUER, A. K. *et al.* Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **BioMetals**, v. 30, n. 5, p. 643–661, 2017.

SCHIAVONE, A.; BARROETA, A. C. Egg enrichment with vitamins and trace minerals. In: **Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products**. [s.l.] Elsevier, 2011. v. 2p. 289–320.

SCHWEIGGERT, U. *et al.* Effects of processing and storage on the stability of free and esterified carotenoids of red peppers (*Capsicum annuum* L.) and hot chilli peppers (*Capsicum frutescens* L.). **European Food Research and Technology**, v. 225, n. 2, p. 261–270, 2 maio 2007.

SCOTT, T. A.; KAMPEN, R.; SILVERSIDES, F. G. The effect of adding exogenous phytase to nutrient-reduced corn- and wheat-based diets on performance and egg quality of two strains of laying hens. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, n. 3, p. 393–401, 2001.

SCOTTÁ, B. A. *et al.* Influência dos minerais quelatados e inorgânicos no metabolismo, desempenho, qualidade da carcaça e da carne de frangos de corte. **Pubvet**, v. 8, n. 9, maio 2014.

SECHINATO, A. DA S.; DE ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com micro minerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 2, p. 159–166, 2006.

SELLE, P. H. *et al.* Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. **Nutrition Research Reviews**, v. 13, n. 2, p. 255–278, 2000.

SETIAN, N. Hypothyroidism in children: diagnosis and treatment. **Jornal de Pediatria**, v. 0, n. 0, p. 209–216, 12 nov. 2007.

SHAO, Y. *et al.* Effect of zinc on growth performance, gut morphometry, and cecal microbial community in broilers challenged with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 12, p. 1002–1011, 29 dez. 2014.

SILVA, J. H. V. DA; ALBINO, L. F. T.; GODÓI, M. J. DE S. Efeito do extrato de urucum na pigmentação da gema dos ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1435–1439, out. 2000.

SINGH, M.; KRIKORIAN, A. D. Inhibition of Trypsin Activity in Vitro by Phytate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 4, p. 799–800, 1982.

SMITH, J. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 1, p. 45–60, jan. 2002.

SOLOMON, S. E. The eggshell: strength, structure and function. **British Poultry Science**, v.

51, n. sup1, p. 52–59, 12 ago. 2010.

STAPLEY, J. *et al.* A Linkage Map of the Zebra Finch *Taeniopygia guttata* Provides New Insights Into Avian Genome Evolution. **Genetics**, v. 179, n. 1, p. 651–667, maio 2008.

STEFANELLO, C. *et al.* Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v. 93, n. 1, p. 104–113, 2014a.

STEFANELLO, C. *et al.* Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v. 93, n. 1, p. 104–113, 2014b.

SUN, Q. *et al.* Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens. **Journal of Poultry Science**, v. 49, n. 1, p. 20–25, 2012.

SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. **Veterinarni Medicina**, v. 53, n. 10, p. 555–563, 2008.

TABATABAIE, M. *et al.* Effect of different sources and levels of zinc on egg quality and laying hen performance. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, p. 3476–6478, 2007.

THESIS, A. Effect of Increasing Levels of Dietary Zinc (Zn), Manganese (Mn), and Copper (Cu) From Organic and Inorganic Sources on Egg Quality and Egg Zn, Mn, and Cu Content in Laying Hens. n. August, 2016.

TOMASI, P. Diferenças entre os minerais orgânicos. **Revista da Nutrição Animal**, p. 53–57, 2013.

TRHALL, M. A. *et al.* **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2ª Edição ed., 2015.

TSE, M. L. P. *et al.* Leitões recém-desmamados alimentados com dietas contendo proteína láctea e zinco suplementar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 2006–2016, set. 2010.

TSOKOVA, L. T. Influence of the Enzyme Phytase on the Clinical Status , Some Plasma Macroelements and the Histostructure of Femur and Tibia in Chickens. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 9, p. 201–209, 2006.

UMAR YAQOUB, M. *et al.* Effects of inorganic trace minerals replaced by complexed glycinate on reproductive performance, blood profiles, and antioxidant status in broiler breeders. **Poultry Science**, v. 99, n. 5, p. 2718–2726, maio 2020.

VAN DEN BERGHE, P. V.; KLOMP, L. W. J. New developments in the regulation of intestinal copper absorption. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 11, p. 658–672, nov. 2009.

VENGLOVSKÁ, K. *et al.* Effects of feed supplementation with manganese from its different sources on performance and egg parameters of laying hens. **Czech Journal of Animal Science**, v. 59, n. 4, p. 147–155, 2014.

VIVEROS, A. *et al.* Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1172–1183, 2002.

WANG, F. *et al.* Relative Bioavailability of Manganese Proteinate for Broilers Fed a Conventional Corn–Soybean Meal Diet. **Biological Trace Element Research**, v. 146, n. 2, p. 181–186, 12 maio 2012.

WANG, G. *et al.* Effects of replacing inorganic trace minerals with organic trace minerals on the production performance, blood profiles, and antioxidant status of broiler breeders. **Poultry Science**, v. 98, n. 7, p. 2888–2895, 2019.

WHITEHEAD, C. C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science**, v. 83, n. 2, p. 193–199, fev. 2004.

WOLLENBERG, P.; RUMMEL, W. Dependence of intestinal iron absorption on the valency state of iron. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 336, n. 5, p. 578–582, nov. 1987.

XIAO, J. F. *et al.* Manganese supplementation enhances the synthesis of glycosaminoglycan in eggshell membrane: A strategy to improve eggshell quality in laying hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 2, p. 380–388, 2014.

XIAO, J. F. *et al.* Bioefficacy comparison of organic manganese with inorganic manganese for eggshell quality in Hy-Line Brown laying hens. **Poultry Science**, v. 94, n. 8, p. 1871–1878, 2015.

XIE, J. *et al.* Physiology, endocrinology, and reproduction: effects of inorganic and organic manganese supplementation on gonadotropin-releasing hormone-i and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 4, p. 959–969, 2014a.

XIE, J. *et al.* Physiology, endocrinology, and reproduction: effects of inorganic and organic manganese supplementation on gonadotropin-releasing hormone-i and follicle-stimulating hormone expression and reproductive performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 4, p. 959–969, 2014b.

YALÇIN, S. *et al.* Effects of supplementary iodine on the performance and egg traits of laying hens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 4, p. 499–503, 19 ago. 2004.

YAROSHENKO, F.; DVORSKA, J. Selenium-enriched eggs as a source of selenium for human consumption. **Applied Biotechnology, Food ...**, v. 1, n. 1, p. 13–23, 2003.

YILMAZ DIKMEN, B. *et al.* Effects of Supplementary Mineral Amino Acid Chelate (ZnAA - MnAA) on the Laying Performance, Egg Quality and Some Blood Parameters of Late Laying Period Layer Hens. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 21, n. 2, p. 155–162, 2015.

YILMAZ, O. *et al.* Estrogen-induced yolk precursors in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*: Status and perspectives on multiplicity and functioning of vitellogenins. **General and Comparative Endocrinology**, v. 221, n. January, p. 16–22, set. 2015.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2176–2183, 2017a.

ZHANG, Y. N. *et al.* Dietary manganese supplementation modulated mechanical and ultrastructural changes during eggshell formation in laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 8, p. 2699–2707, 2017b.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic manganese on eggshell quality, ultrastructure, and components in laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2184–2193, 2017c.

ZHANG, Y. N. *et al.* Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2176–2183, jul. 2017d.

ZINNUROGLU, M. *et al.* Prospective evaluation of free radicals and antioxidant activity following 6-month risedronate treatment in patients with postmenopausal osteoporosis. **Rheumatology International**, v. 32, n. 4, p. 875–880, 2012.