

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CATARINA STEFANELLO

MICROMINERAIS ORGÂNICOS EM DIETAS PARA  
POEDEIRAS COMERCIAIS

MARINGÁ  
2012

CATARINA STEFANELLO

MICROMINERAIS ORGÂNICOS EM DIETAS PARA  
POEDEIRAS COMERCIAIS

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tatiana Carlesso dos Santos

MARINGÁ  
2012

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S816m Stefanello, Catarina  
Microminerais orgânicos em dietas para poedeiras comerciais / Catarina Stefanello. -- Maringá, 2012.  
64 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof.a Dr.a Tatiana Carlesso dos Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2012.

1. Cobre. 2. Manganês. 3. Zinco. 4. Proteínatos. 5. Qualidade - Casca do ovo. 6. Ultra-estrutura - Casca do ovo. I. Santos, Tatiana Carlesso dos, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 21.ed. 636.5

ECSL-0083



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**MICROMINERAIS ORGÂNICOS EM DIETAS  
PARA POEDEIRAS COMERCIAIS**

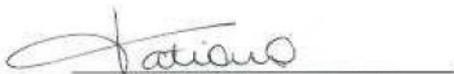
Autora: Catarina Stefanello  
Orientadora: Profª Drª Tatiana Carlesso dos Santos

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 08 de março de 2012.

  
Profª Drª Alice Eiko Murakami

  
Prof. Dr. Antônio Gilberto  
Bertechini

  
Profª Drª Tatiana Carlesso  
dos Santos  
(Orientadora)

Aos meus pais,

**Nelci e Anesia,**

pelo amor, incentivo

e por acreditarem em mim sempre.

Minha eterna gratidão.

Aos meus irmãos,

**Suzana, Moisés e Raquel**

pelo carinho, amizade

e apoio incondicional.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e dar forças durante esta jornada.

À minha família, em especial ao meu pai Nelci e minha mãe Anesia, por todo o carinho e exemplo. Obrigada pela boa educação, pelo amor e pelo constante incentivo.

Aos meus irmãos, Suzana, Moisés e Raquel, pela confiança, amizade, motivação e ajuda na conquista dos meus objetivos.

Ao Júnior, Josiane e Wagner que me apoiaram e auxiliaram muito nesta etapa. Agradeço também à Dona Euridese e ao Fábio, pela confiança e amizade.

À Universidade Estadual de Maringá, pela possibilidade de realização do curso de Mestrado em Zootecnia.

À professora Tatiana Carlesso dos Santos, pela orientação, apoio e conhecimentos transmitidos.

À professora Alice Eiko Murakami, pelo auxílio e por ter possibilitado a realização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pelos ensinamentos, profissionalismo e dedicação transmitidos durante o Mestrado. Em especial, agradeço ao professor Elias Nunes Martins, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos colegas do grupo de pesquisa: Thais C. Carneiro, Mariane T. Lopes, Nayara Girdelli, Paula da Costa, Kelly C. Vitorino e Caio Feitosa. Aos funcionários da Fazenda Experimental Iguatemi, especialmente, ao Valentim e ao Mauro, pela ajuda e dedicação apresentada.

À doutoranda Eliana Endo, pela colaboração e assistência na utilização do microscópio eletrônico de varredura.

À minha amiga, Fernanda Amarante de Oliveira e aos amigos e colegas de Pós-graduação, obrigada pelos bons momentos de aprendizado, trabalho e descontração.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

Enfim, agradeço a todos que colaboraram, diretamente ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

CATARINA STEFANELLO, filha de Nelci S. Stefanello e Anesia Rita Osmari Stefanello nasceu em Nova Palma, Rio Grande do Sul, no dia 25 de novembro de 1985.

Em julho de 2009, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM – Santa Maria/RS).

Em março de 2010, matriculou-se no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de nutrição de não-ruminantes.

No mês de março de 2012, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
RESUMO .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
I- INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Considerações sobre minerais .....	2
1.2. Fontes de minerais .....	4
1.2.1. Minerais inorgânicos .....	4
1.2.2. Minerais orgânicos ou quelatados .....	6
1.3. Microminerais na alimentação de poedeiras .....	9
1.3.1. Zinco .....	9
1.3.2. Manganês .....	11
1.3.3. Cobre .....	13
1.4. Qualidade da casca dos ovos .....	14
1.4.1. Estrutura da casca .....	14
1.4.2. Ultra-estrutura da casca .....	17
1.5. Literatura Citada .....	18
II- OBJETIVOS GERAIS .....	23
III- DESEMPENHO PRODUTIVO, QUALIDADE DA CASCA E ULTRA- ESTRUTURA DA CASCA DOS OVOS DE POEDEIRAS ALIMENTADAS COM DIETAS SUPLEMENTADAS COM MICROMINERAIS .....	24
Abstract .....	25
Introdução .....	26

Material e Métodos .....	28
Resultados e Discussão.....	35
Conclusões .....	46
Referências .....	46
III- CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	49

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>III- Desempenho produtivo, qualidade da casca e ultra-estrutura da casca dos ovos de poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com microminerais</b>	
Tabela 1 - Composição percentual e calculada da ração experimental .....	30
Tabela 2 - Quantidade dos microminerais suplementados nas dietas experimentais .....	30
Tabela 3 - Análise de contrastes entre as médias dos tratamentos com diferentes níveis de microminerais (Mn-Zn-Cu) de fonte inorgânica ou orgânica, para poedeiras comerciais no período de 47 a 62 semanas de idade.....	36
Tabela 4 - Valores médios de desempenho produtivo e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais no período de 47 a 62 semanas de idade em função do nível de suplementação e da fonte dos microminerais (Mn, Zn e Cu).....	38
Tabela 5 - Valores médios obtidos através da microscopia eletrônica da casca dos ovos de poedeiras comerciais com 62 semanas de idade em função do nível de suplementação e da fonte dos microminerais (Mn, Zn e Cu).....	42

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>I- Introdução</b>	
Figura 1 - Representação da estrutura da casca do ovo (Roberts, 2004).....	17
<b>III- Desempenho produtivo, qualidade da casca e ultra-estrutura da casca dos ovos de poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com microminerais</b>	
Figura 1 - Peso médio dos ovos e massa de ovos de poedeiras no período de 47 a 62 semanas de idade em função dos níveis suplementados de Mn, Zn e Cu: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15) e nível 4 (125-120-20)	39
Figura 2 - Espessura da casca e percentual de casca dos ovos de poedeiras no período de 47 a 62 semanas de idade em função dos níveis suplementados de Mn, Zn e Cu: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15) e nível 4 (125-120-20) .....	40
Figura 3 - Percentual de perda de ovos e resistência da casca dos ovos de poedeiras no período de 47 a 62 semanas de idade em função dos níveis suplementados de Mn, Zn e Cu: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15) e nível 4 (125-120-20).....	41
Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura do corte transversal da casca dos ovos de poedeiras com 62 semanas de idade. Notar a espessura das camadas que compõem a estrutura da casca, camada paliçada (pa), mamilar (ma) e a vista vertical dos botões mamilares (bm). A) Tratamento sem suplementação de Mn, Zn e Cu; B) Suplementação de 35-30-05 mg/kg de Mn-Zn-Cu fonte inorgânica; C) Suplementação de 125-120-20 mg/kg de Mn-Zn-Cu fonte orgânica. Barra: 100 µm.....	43

Figura 5 - Microscopia eletrônica de varredura da superfície interna da casca dos ovos de poedeiras com 62 semanas de idade. Notar a distinta distribuição dos botões mamilares (bm) que se tornaram maiores à medida que aumentou o nível de microminerais suplementados na dieta. A) Tratamento sem suplementação de Mn, Zn e Cu; B) Suplementação de 65-60-10 mg/kg de Mn-Zn-Cu de fonte inorgânica; C) Suplementação de 65-60-10 mg/kg de Mn-Zn-Cu de fonte orgânica; D) Suplementação de 125-120-20 mg/kg de Mn-Zn-Cu de fonte orgânica. Barra:200  $\mu\text{m}$  ..... 43

Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura da superfície interna da casca de ovos de poedeiras com 62 semanas de idade com maior aproximação em relação à figura anterior. Os botões mamilares (bm) estão mais largos e confluídos entre si em função dos níveis de microminerais que foram suplementados na dieta. Barra: 50  $\mu\text{m}$ ..... 44

Figura 7 - Espessura da camada paliçada e número de botões mamilares da casca dos ovos de poedeiras com 62 semanas de idade em função dos níveis suplementados de Mn, Zn e Cu: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15) e nível 4 (125-120-20) ..... 44

## RESUMO

O efeito da suplementação dietética de diferentes níveis de microminerais foi avaliado sobre o desempenho produtivo, a qualidade da casca e a ultra-estrutura da casca dos ovos de poedeiras comerciais. Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação dos microminerais manganês (Mn), zinco (Zn) e cobre (Cu) sobre o desempenho produtivo das aves e a qualidade dos ovos. Foram utilizadas 360 poedeiras da linhagem Hy-Line W36, no período de 47 a 62 semanas de idade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com nove tratamentos, cinco repetições e oito aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de uma dieta controle, sem a suplementação dos microminerais Mn, Zn e Cu; quatro níveis de suplementação destes microminerais de fonte inorgânica e quatro níveis de suplementação com fonte orgânica (proteínatos). Os níveis de suplementação, em mg/kg, dos microminerais Mn, Zn e Cu, respectivamente, foram: 35-30-05; 65-60-10; 95-90-15 e 125-120-20. A suplementação da dieta com os microminerais não exerceu influência ( $P>0,05$ ) sobre o consumo de ração, a produção de ovos, a conversão alimentar (kg/dz e kg/kg), o peso específico e a unidade Haugh dos ovos. Entretanto, observou-se efeito quadrático ( $P<0,05$ ) dos níveis de suplementação dos microminerais sobre o peso médio dos ovos e a massa de ovos, sem diferença entre as fontes de microminerais. Houve redução linear ( $P<0,05$ ) do percentual de perda de ovos e aumento linear ( $P<0,05$ ) da resistência e do percentual de casca dos ovos. O efeito da fonte mineral ficou evidente na menor perda de ovos, maior espessura e maior resistência da casca para os tratamentos que foram suplementados com a fonte orgânica utilizada na forma de proteínatos. Houve efeito ( $P<0,05$ ) da fonte e dos níveis de suplementação para espessura total, espessura da camada paliçada e número de botões mamilares presentes na casca dos ovos. Os melhores resultados foram obtidos com a suplementação da fonte orgânica, pois proporcionou efeito quadrático

( $P < 0,05$ ) da espessura total e da camada paliçada e redução linear ( $P < 0,05$ ) do número de botões mamilares na casca. O aumento dos níveis de suplementação de Mn, Zn e Cu proporcionou aumento ( $P < 0,05$ ) do percentual das camadas paliçada e mamilar, porém não diferiu quanto à fonte mineral suplementada.

Palavras-Chave: cobre, manganês, proteínatos, qualidade da casca, ultra-estrutura, zinco

## ABSTRACT

The effect of dietary supplementation of different levels of trace minerals was evaluated on the productive performance, eggshell quality and ultrastructure of the eggshell of commercial laying hens. This study was carried out with the objective of evaluating the effect of supplementation of trace minerals manganese (Mn), zinc (Zn) and copper (Cu) on the productive performance and egg quality of the birds. Three hundred sixty Hy-Line W36 laying hens from 47 to 62 weeks of age were used. The experimental design was completely randomized, compound by nine treatments, five replicates and eight birds per experimental unit. The treatments consisted of a control diet without supplementation of trace minerals Mn, Zn and Cu; four supplementation levels of these minerals in inorganic form, and four levels of supplementation of these minerals in organic form (proteinates). The supplementation levels in mg/kg of Mn, Zn and Cu, were, respectively, 35-30-05, 65-60-10, 95-90-15, and 125-120-20. The supplemented diet with minerals in organic form did not affect ( $P>0.05$ ) the feed intake, egg production and feed conversion (kg/dz and kg/kg), specific weight and Haugh unit of eggs. However, there was a quadratic effect ( $P<0.05$ ) of the levels of trace mineral supplementation on average egg weight and egg mass, with no difference between the sources of trace minerals. There was a linearly reduction ( $P<0.05$ ) in the percentage of loss of eggs and a linearly increase ( $P<0.05$ ) in the breaking strength and in the percentage of eggshell. The effect of the mineral source was evident in the lower loss of eggs, higher thickness and increased strength of the shell for the treatments that were supplemented with the organic source used in the form of proteinates. There was effect ( $P<0.05$ ) of the source and supplementation levels for total thickness, thickness of palisade layer and number of mammillary buttons in the shell. The best results were obtained with the supplementation of organic source, as it provided quadratic effect

( $P < 0.05$ ) of the total thickness and of the palisade layer and linearly reduced ( $P < 0.05$ ) the number of mammillary buttons in the shell. The increase of the supplementation levels of Mn, Zn and Cu provided quadratic increase ( $P < 0.05$ ) in the percentage of palisade and mammillary layers, but it did not differ regarding the mineral supplemented source.

Key Words: copper, manganese, proteinates, shell quality, ultrastructure, zinc

## I- INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os dez maiores produtores mundiais de ovos. O plantel de poedeiras comerciais em 2011 foi de, aproximadamente, 80 milhões de aves, com uma produção anual superior a 31,5 bilhões de ovos. A grande maioria destes ovos é destinada ao consumo interno com cerca de 162 ovos consumidos *per capita* por ano em 2011 (UBABEF, 2012). A produção de ovos como atividade industrial busca melhorar a eficiência em termos produtivos e econômicos beneficiando-se do potencial genético das atuais linhagens de poedeiras. Porém, problemas relacionados à má qualidade da casca representam uma importante causa de perda econômica na fase de produção, visto que milhões de ovos deixam de ser comercializados ou têm seus preços reduzidos em função de problemas na casca (Fassani et al., 2000; Roberts, 2004).

A porcentagem de perda de ovos é considerada um dos aspectos que melhor define o prejuízo do produtor de ovos em função da qualidade da casca, sendo a resistência da casca, uma das características mais desejadas (Furtado et al., 2001). Os defeitos na casca dos ovos são motivo de preocupação não apenas para produtores e processadores de ovos, mas também para o consumidor final (Bain et al., 2006). Rodriguez-Navarro et al. (2002) alertaram a respeito da importância da qualidade da casca na avicultura industrial quanto à saúde alimentar, pois ovos com cascas de baixa qualidade podem representar risco de contaminação bacteriana. Isto porque, a casca também possui a função de proteger o conteúdo do ovo contra a invasão de microrganismos prejudiciais à saúde humana.

As poedeiras comerciais são geneticamente selecionadas para atingir altos níveis de desempenho durante os ciclos de postura. Entretanto, vários fatores podem afetar negativamente a expressão do seu potencial produtivo e a qualidade dos ovos. Os principais aspectos relacionados à qualidade da casca dos ovos são a nutrição e a idade

das aves (Furtado et al., 2001). Neste contexto, verifica-se que uma nutrição adequada possibilita a otimização do metabolismo e a maximização do desempenho (Araujo et al., 2008).

Para se obter uma boa nutrição, é necessário que a ave receba quantidades adequadas de nutrientes, incluindo os minerais, pois estes participam de uma série de processos bioquímicos corporais (Sechinato et al., 2006). A suplementação de minerais nas dietas das aves se faz necessária porque, muitas vezes, a concentração de um ou mais microminerais nos ingredientes, ou na própria dieta formulada, não atende as exigências nutricionais para um bom desempenho produtivo (Miles & Henry, 2000).

Muitos estudos têm sido realizados sobre a suplementação de minerais orgânicos e inorgânicos, individualmente ou em associação (Paik et al., 2001; Mabe et al., 2003; Sechinato et al., 2006; Saldanha et al., 2009; Maciel et al., 2010). Entretanto, os resultados da literatura em relação à adição de diferentes fontes de microminerais em dietas para poedeiras comerciais ainda são controversos. A falta de resultados mais significativos em termos de qualidade dos ovos pode ser explicada, principalmente, devido a diferenças entre as fontes e entre os níveis utilizados nesses estudos (Saldanha et al., 2009).

Dentre os microminerais, destacam-se o manganês (Mn), o zinco (Zn) e o cobre (Cu), importantes para uma ampla variedade de processos fisiológicos em todos os animais. Estes atuam como cofatores essenciais para centenas de enzimas celulares e, assim, participam de uma grande variedade de processos bioquímicos, estando diretamente associados ao crescimento e ao desenvolvimento do tecido ósseo e à formação da casca dos ovos em aves (Maiorka & Macari, 2002; Richards et al., 2010).

### 1.1. Considerações sobre minerais

Os minerais participam de amplas funções no organismo animal e são considerados elementos essenciais para uma boa nutrição. De modo geral, estão envolvidos em quase todas as vias metabólicas do organismo e possuem funções importantes na reprodução, no crescimento, no sistema imunológico e no metabolismo energético, entre outras funções fisiológicas vitais à manutenção da vida e ao aumento da produtividade (Bertechini, 2006). Os minerais podem atuar como componentes

estruturais de órgãos e tecidos do corpo, como constituintes de fluidos na forma de eletrólitos e como catalisadores de processos enzimáticos e hormonais (Leeson & Summers, 2001).

Em termos nutricionais, os minerais são classificados em macrominerais e microminerais. Os macrominerais (cálcio, fósforo, potássio, sódio, enxofre, cloro e magnésio), são expressos em porcentagem e necessários em maiores quantidades pelo organismo animal. Já os microminerais ou elementos traços, entre os quais, zinco, manganês, cobre, ferro, selênio, iodo e cobalto, são necessários em menores quantidades, expressos em ppm ou mg/kg e são mais difíceis de serem avaliados através de análise devido as suas baixas concentrações nos tecidos (Vieira, 2008).

A maioria dos macro e microminerais e as suas funções biológicas começaram a ser estudadas nas primeiras décadas do século XX. Os primeiros estudos sobre fontes de minerais para rações datam da década de 50, em que se iniciou a suplementação mineral para resolver problemas ósseos e de desempenho das aves. A importância da suplementação mineral para aves aumentou nos últimos anos devido, principalmente, ao melhoramento genético, à alta produção de ovos e à intensificação do sistema de produção avícola (Bertechini, 2006). Com isso, a suplementação mineral tornou-se uma prática necessária para atender às exigências das aves, garantindo seu desenvolvimento e melhorando a produtividade (Araujo et al., 2008; Nys et al., 2003).

Outro fator que contribui para a utilização da suplementação mineral é o fato de que as principais matérias-primas utilizadas na fabricação das rações (milho e farelo de soja) não atendem às exigências dos animais. O conteúdo mineral destas matérias-primas também é variável por ser dependente de fatores como solo, clima, espécie explorada e sua maturidade (Araujo et al., 2008).

Dessa forma, cada vez mais são desenvolvidas pesquisas para que os microminerais sejam bem aproveitados e possam desempenhar adequadamente as suas funções fisiológicas. No alimento, os minerais são encontrados em uma grande variedade de formas químicas, como moléculas orgânicas ou como parte de sais de solubilidade variada. A principal fonte de microminerais suplementada nas rações é a inorgânica, porém, as fontes orgânicas têm surgido recentemente no mercado devido a um crescente interesse em estudar fatores que aumentam a absorção e a biodisponibilidade mineral (Vieira, 2008).

## 1.2. Fontes de minerais

As fontes minerais utilizadas nas rações de poedeiras são oriundas de compostos inorgânicos ou orgânicos. Estes compostos são, comumente, utilizados na sua forma natural ou através de misturas minerais (premix), a fim de suplementar os minerais deficientes nos ingredientes. A escolha de um suplemento ou fonte de mineral a ser utilizada em uma ração depende, principalmente, das formas químicas em que os elementos são combinados, do custo por unidade dos elementos requeridos e da garantia de ausência de substâncias tóxicas para os animais (Araujo et al., 2008).

Nos últimos anos, aumentou o interesse pela suplementação dietética de fontes minerais quelatadas ou orgânicas para poedeiras, assim denominadas por serem constituídas por íons metálicos ligados a substâncias orgânicas. Essa ligação pode torná-las mais estáveis e menos sujeitas às interações e, portanto, mais disponíveis ao organismo, quando comparadas às formas inorgânicas, que ainda são as mais utilizadas em rações (Richards et al., 2010). Entretanto, o número de pesquisas com minerais de fontes orgânicas na alimentação de poedeiras ainda é pequeno e os resultados encontrados na literatura mostram informações controversas, indicando a necessidade de mais trabalhos com o intuito de avaliar a resposta das aves aos minerais orgânicos frente aos minerais inorgânicos (Saldanha et al., 2010).

### 1.2.1. Minerais inorgânicos

A maioria dos minerais adicionados às dietas das aves deriva de fontes inorgânicas, tais como óxidos, sulfatos, cloretos, carbonatos e fosfatos. Os minerais inorgânicos são de origem geológica ou industrial e existe uma grande variedade de compostos a serem utilizados nas rações para poedeiras, em que a finalidade e a proporção do composto a ser utilizado dependem do percentual e da biodisponibilidade do elemento (Araujo et al., 2008; Roberts, 2004).

Historicamente, cobre, zinco e manganês são suplementados em dietas para animais na forma de sais inorgânicos. No entanto, estes sais tendem a dissociar-se no ambiente de baixo pH do trato gastrintestinal superior, deixando os sais minerais susceptíveis a vários nutrientes e aos antagonismos que podem prejudicar a absorção e, assim, reduzir a sua biodisponibilidade (Underwood & Suttle, 1999).

As fontes inorgânicas de minerais utilizadas nas rações visam atender às necessidades nutricionais das aves. Porém, uma vez no trato gastrintestinal, os minerais precisam ser inicialmente solubilizados em formas iônicas para serem absorvidos. Tais formas iônicas possuem cargas elétricas que podem interagir com outros componentes da dieta e tornarem-se indisponíveis para o animal (Vieira, 2008).

De acordo com Herrick (1993), as moléculas inorgânicas dissociam-se liberando íons metálicos, por exemplo,  $Zn^{++}$ ,  $Mn^{++}$  e outros. No intestino delgado ocorre o transporte dos íons para o interior dos enterócitos por difusão passiva ou transporte ativo e estas moléculas necessitam estar atreladas a um agente ligante ou molécula transportadora que permita a sua passagem através da parede intestinal, sendo assim absorvidos. Muitas vezes, estes íons não encontram o agente ligante e acabam sendo excretados. Nessas condições podem ocorrer perdas pela reação com fitatos, colóides insolúveis ou no processo de competição pelos sítios de absorção entre os elementos minerais com interações antagônicas que inibem a absorção.

Ammerman et al. (1995) definiram a biodisponibilidade de um nutriente como sendo a fração do nutriente ingerido que é aproveitado, ficando disponível a ser utilizado pelo metabolismo do animal. Desta forma, fatores físico-químicos que reduzem a absorção de minerais no lúmen intestinal influenciam a biodisponibilidade mineral. Neste caso, podem ocorrer antagonismos entre nutrientes e ingredientes que afetam adversamente a absorção. Por exemplo, altos níveis de zinco podem reduzir a disponibilidade do cobre e o ácido fítico é capaz de formar quelatos muito estáveis e insolúveis, reduzindo a absorção de minerais (Richards et al., 2010; Leeson & Summers, 2001).

Deficiências subclínicas de microminerais também representam um problema na nutrição animal, visto que os microminerais participam de amplas funções no organismo e, por isso, os sintomas causados pelos desequilíbrios minerais na dieta não são específicos e podem ser confundidos facilmente (Araujo et al., 2008). Devido a essas incertezas, as concentrações fornecidas na dieta, geralmente, não atendem às exigências nutricionais pela falta destes nutrientes ou, então, são mais elevadas que o mínimo necessário para o desempenho ideal, resultando em uma suplementação excessiva e desnecessária, levando a um aumento dos custos com a formulação e a maior excreção destes elementos para o ambiente (Close, 1998; Skrivan et al., 2005).

Informações recentes sugerem que microminerais quelatados ou complexados podem melhorar a biodisponibilidade de minerais para animais. A vantagem potencial

da utilização de minerais quelatos é que a ligação do ligante orgânico com o mineral pode fornecer estabilidade ao complexo no trato gastrointestinal superior, minimizando as perdas minerais para antagonistas e permitindo melhor absorção no intestino delgado (Lim & Paik, 2003). Esse fato justifica o crescente interesse em explorar fatores que aumentem a absorção ou metabolização dos microelementos mediante a utilização de minerais orgânicos ou quelatados.

### 1.2.2. Minerais orgânicos ou quelatados

A utilização de minerais de fontes orgânicas têm sido objeto de um número crescente de estudos nas últimas décadas. As definições de minerais orgânicos ainda são muito amplas e, frequentemente, podem levar à confusão quando a tomada de decisões torna-se necessária (Vieira, 2008).

Existem várias formas de complexos metálicos disponíveis no mercado para fins de uso na alimentação animal. Estes são intitulados coletivamente minerais orgânicos, devido ao microelemento mineral estar complexado ou associado com moléculas orgânicas. Tendo em vista a vaga definição e a confusão envolvendo a natureza química e física dos minerais orgânicos, é necessário, primeiramente, distinguir os termos complexo e quelato. Um complexo de metal é composto por um íon metálico central e os seus ligantes. O termo complexo pode ser utilizado para descrever produtos formados pela reação de um íon metálico com uma molécula ou íon que contenha um átomo que possua um único par de elétrons. Nos complexos, os ligantes ligam-se ao átomo metálico central por apenas um ponto, ou seja, uma única ligação. O outro tipo de complexo existente são os quelatos ou quelatos de metal, que se formam quando um cátion metálico liga-se a uma substância que possui dois ou mais grupos doadores de elétrons, formando uma ou mais estruturas em anel heterocíclico (Rutz & Murphy, 2009).

Os suplementos de minerais orgânicos comercialmente disponíveis variam quanto ao tipo de ligantes utilizados para formar o metal complexado ou quelato. As diferenças entre as categorias dos microminerais orgânicos parecem ser sutis, por isso, a garantia da quantidade depende da estrutura química do quelato, cuja definição é difícil (Vieira, 2008). Existe também uma variação da fonte e do percentual de micromineral presente nos diferentes suplementos comercializados pelas empresas.

Os minerais quelatados são definidos por Leeson & Summers (2001) como uma mistura de elementos minerais que são ligados a algum tipo de carreador o qual pode ser

um aminoácido, um polissacarídeo ou até mesmo proteínas, que possuem a capacidade de se ligar ao metal por ligações covalentes, através de grupamentos amino ou oxigênio, formando, assim, uma estrutura cíclica. Esses quelantes possuem a função de aumentar a absorção e a disponibilidade desse mineral no organismo, além de aumentar a sua estabilidade física, reduzindo, assim, a tendência do micromineral separar-se do alimento. Acredita-se que os quelatos sejam quimicamente mais estáveis que os complexos, nos quais o elemento mineral está preso por uma única ligação química.

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

a) Complexo metal-aminoácido: produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com um ou mais aminoácidos. Ex: Complexo ferro aminoácido (Fe-aminoácido).

b) Complexo metal-aminoácido específico: produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com um aminoácido específico, formando ligações covalentes coordenadas. Ex: zinco-metionina (Zn-Met), zinco-lisina (Zn-Lis), manganês-metionina (Mn-Met), cobre-lisina (Cu-Lis).

c) Proteinato metálico: produto resultante da quelação de um sal solúvel com aminoácidos e/ou proteínas parcialmente hidrolisadas, formando uma estrutura em anel aberta. Ex: proteinato de zinco, proteinato de manganês, proteinato de cobre.

d) Complexo metal-polissacarídeo: produto resultante da complexação de um sal metálico solúvel com uma solução de polissacarídeos, formando um complexo metálico específico. Ex: Complexo zinco-polissacarídeo.

e) Quelato metal-aminoácido: produto resultante da reação de um íon metálico obtido de um sal metálico solúvel com aminoácidos na relação de um mol de metal para um a três moles de aminoácidos, formando ligações covalentes coordenadas.

Não há na literatura científica uma metodologia que quantifique diretamente o teor do mineral que está realmente sob a forma orgânica ou quanto dele está dissociado e, dessa forma, a efetividade do mineral quelatado depende muito do método de quelatação. Vieira (2008) afirma que a determinação das exigências dos microminerais tem sido deixada em segundo plano com relação aos outros nutrientes. Segundo o autor,

a utilização de microminerais tem agregado uma série de complicadores que não têm paralelo na utilização dos demais nutrientes essenciais para os animais. As necessidades de microminerais para aves estão relacionadas, principalmente, às fontes, aos ingredientes utilizados na ração, à idade das aves e às interações dos microminerais entre si e com os outros componentes da dieta.

Para Kiefer (2005), os minerais orgânicos normalmente possuem preços mais elevados que os minerais inorgânicos, mas espera-se que ocorra a melhoria do desempenho e da sua absorção quando comparados com os minerais inorgânicos. O mecanismo pelo qual o agente quelante melhora a utilização do mineral depende da capacidade do ligante sequestrar o mineral, ou a sua maior habilidade em competir com outros ligantes no trato gastrointestinal, formando complexos solúveis com o mineral.

De acordo com Richards & Dibner (2005), a vantagem dos minerais orgânicos é conferir estabilidade ao complexo no trato gastrointestinal, assim, evitando a perda de mineral para antagonistas. Para que os minerais sejam absorvidos, as moléculas devem ser solubilizadas no lúmen intestinal, possibilitando que os metais ionizados possam ser transportados pelas proteínas carreadoras através da membrana celular dos enterócitos.

Quando os animais encontram-se com suas necessidades fisiológicas atendidas em minerais suas concentrações nos tecidos ou fluidos variam muito pouco. Nestas condições, a forma que estes minerais são fornecidos na dieta deve influenciar pouco na disponibilidade mineral. Desse modo, nos estudos de biodisponibilidade são utilizados, preferencialmente, animais com deficiência mineral, para que as fontes estudadas restabeleçam o seu devido equilíbrio (Jondreville et al., 2003).

Os resultados do uso de minerais quelatados são promissores, embora estudos avaliando a utilização destes minerais não apresentem respostas diferentes àquela proporcionada quando se utiliza uma maior concentração de elementos minerais na forma inorgânica. Por outro lado, a excreção de microminerais já é preocupante em algumas regiões brasileiras, onde existe maior concentração de aves e suínos, podendo ocorrer a contaminação potencial do solo e do lençol freático (Brito, 2005). Nesse sentido, a utilização de microminerais sob a forma de complexo orgânico pode reduzir a excreção de microminerais para o ambiente, seja pelo melhor aproveitamento pelos animais ou pela possível redução nos níveis de suplementação de cada micromineral (Kiefer, 2005).

### 1.3. Microminerais na alimentação de poedeiras

Zinco, manganês e cobre são elementos essenciais necessários na alimentação de poedeiras. Estes microminerais podem afetar a produção e a qualidade dos ovos, pois participam do processo produtivo e são essenciais para a atividade fisiológica normal das aves (Lim & Paik, 2003). Estes microminerais possuem relação com o crescimento ósseo e com a formação da casca dos ovos. O zinco é um dos constituintes da metaloenzima anidrase carbônica, atuando no equilíbrio ácido-básico e na calcificação óssea e da casca. O cobre também é importante na formação óssea por ativar a enzima lisil oxidase que participa na síntese do colágeno, enquanto o manganês possui a função de ativação das enzimas envolvidas na síntese de glicosaminoglicanos e glicoproteínas, contribuindo para a formação da matriz óssea e da matriz orgânica da casca dos ovos (Leeson & Summers, 2001). Além de funções específicas na formação óssea e da casca dos ovos, estes microelementos possuem outras funções que são imprescindíveis ao crescimento das aves, como a participação no metabolismo de carboidratos, síntese de proteínas, ácidos nucleicos e como cofatores de inúmeras enzimas (Vieira, 2008).

Existem algumas recomendações de suplementação de manganês, zinco e cobre para poedeiras no primeiro ciclo de produção. Rostagno et al. (2005) recomendaram 65 mg/kg de Mn, 60 mg/kg de Zn, e 5 mg/kg de Cu na dieta para poedeiras. Leeson & Summers (2001) indicaram que 60 a 80 mg de Zn são necessários por kg em dietas à base de milho e farelo de soja. Já a recomendação do guia de manejo da linhagem Hy-Line (2009) foi de 88 mg/kg de Zn e Mn e 8 mg de Cu por kg de ração. Recentemente, Rostagno et al. (2011) recomendaram os níveis de suplementação de 77, 72 e 11 mg/kg, respectivamente, de Mn, Zn e Cu para aves na fase de postura.

#### 1.3.1. Zinco

O zinco (Zn) é um micromineral essencial no metabolismo de carboidratos e gorduras, na síntese de proteínas e está associado ao crescimento de tecidos e função no sistema imune (Neto et al., 2011; Cheng et al., 1998). O zinco é cofator importante de enzimas essenciais como, lactato desidrogenase, fosfatase alcalina, anidrase carbônica, carboxipeptidase, superóxido dismutase, DNA e RNA polimerase, entre outras (Lim & Paik, 2003).

A absorção de zinco ocorre principalmente no intestino delgado. O trato gastrointestinal está envolvido na regulação homeostática do Zn, sua excreção endógena é um mecanismo rápido e a absorção é um mecanismo de resposta lenta, com capacidade de lidar com maior intervalo de flutuações no teor de Zn da dieta. O tecido ósseo é um órgão de reserva de Zn, ele possui a capacidade de acumular o excedente de Zn e liberá-lo em condições de deficiência na dieta (Emmert & Baker, 1995; Leeson & Summers, 2001). Em casos de deficiências de Zn, pode ocorrer um impacto negativo na qualidade da casca dos ovos (Dale & Strong Jr., 1998).

No enterócito, o zinco liga-se à proteína chamada metalotioneína e a síntese dessa proteína é influenciada tanto por níveis dietéticos, quanto por concentrações plasmáticas de zinco. Acredita-se que a função da metalotioneína é regular a quantidade de Zn que entra no corpo. Muitos componentes dietéticos podem reduzir a absorção de zinco, tais como: fitatos, gorduras saturadas, cobre e cromo. No plasma, o Zn é transportado ligado à albumina (Maiorka & Macari, 2002).

O zinco apresenta funções importantes no organismo de poedeiras como a fixação do cálcio sob a forma de carbonato de cálcio nos ossos e nos ovos, e a ativação de sistemas enzimáticos (Park et al., 2004). Como constituinte de metaloenzimas, desempenha função importante na qualidade da casca, pois está diretamente relacionado com a atividade da enzima anidrase carbônica que controla a transferência de íons bicarbonato do sangue para a glândula da casca (Mabe et al., 2003).

A importância do zinco foi demonstrada inicialmente em 1940 com o isolamento e a purificação da anidrase carbônica e observou-se que essa enzima continha 0,33% de Zn. A anidrase carbônica também atua na calcificação dos ossos e na formação da casca do ovo. Altas concentrações dessa enzima foram encontradas no útero de poedeiras (Leeson & Summers, 2001).

A enzima anidrase carbônica está presente em eritrócitos, túbulos renais, mucosa gastrointestinal e epitélio glandular. O zinco atua como cofator desta enzima que catalisa a reação  $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ , que formará ácido carbônico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) e este se dissociará em íons bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) e  $\text{H}^+$  (Bar, 2009). Cofatores são pequenas moléculas orgânicas ou inorgânicas que podem ser necessárias para a função de uma enzima. Estes cofatores não estão ligados permanentemente à molécula da enzima, porém, na ausência deles, a enzima é inativa (Lehninger et al., 2000).

Através da comparação entre fonte de minerais, a fonte orgânica de zinco pode ser considerada mais disponível para aves, tornando-se uma opção na nutrição animal e

para a melhoria da qualidade dos ovos (Aoyagi & Baker, 1993). Moreng (1992) obteve melhora na resistência à quebra e uma significativa redução dos defeitos de casca quando as aves receberam zinco orgânico, melhora essa que não ocorreu nas aves que receberam a forma inorgânica do produto.

Paik (2001) avaliou a utilização de zinco orgânico, cobre e manganês, individualmente ou em combinação, e observou melhor desempenho das aves alimentadas com a utilização de cobre orgânico e da combinação destes três metais em um complexo orgânico. No entanto, não observou melhorias com a utilização de zinco orgânico ou a combinação de cobre e quelatos de zinco. Sechinato et al. (2006) não encontraram quaisquer efeitos da suplementação de minerais orgânicos sobre o desempenho e a produção de ovos de poedeiras com 48 a 60 semanas de idade, em comparação à fonte inorgânica.

Para Stahl et al. (1986), o nível de 30 mg/kg de Zn na ração foi suficiente para manter a alta qualidade da casca, enquanto Guo et al. (2002) observaram que 80 mg/kg de Zn são necessários para melhorar a resistência da casca dos ovos de poedeiras com 55 a 59 semanas de idade. Já Scatolini (2007), trabalhando com a suplementação de 30, 50 e 6 mg/kg, respectivamente, de Mn, Zn e Cu na forma de proteínatos, juntamente com ferro (Fe) e selênio (Se), observou que a fonte orgânica proporcionou melhores resultados de espessura, porcentagem de casca e unidade Haugh, quando comparada com a fonte inorgânica destes mesmos elementos.

### 1.3.2. Manganês

O manganês (Mn) é um ativador metálico das enzimas glicosiltransferase e fosfatase alcalina, que estão envolvidas na síntese de mucopolissacarídeos e glicoproteínas, as quais contribuem para a formação da matriz orgânica dos ossos e da casca dos ovos (Nys et al., 2003). No osso, os proteoglicanos da zona epifisária contribuem para a sua capacidade de resistir a cargas de compressão. Da mesma forma, proteoglicanos, dermatinas e queratinas estão presentes na matriz da casca e podem estar envolvidos no controle da sua estrutura e resistência. Conseqüentemente, eles podem influenciar nas propriedades mecânicas da casca dos ovos (Nys, 2001; Arias et al., 1993).

De acordo com Leeson & Summers (2001), a absorção de Mn no trato intestinal é muito baixa e sua biodisponibilidade nos principais alimentos também é baixa. O osso é a maior fonte de reserva de Mn no organismo, apresentando concentração em torno de 4

ppm, seguido pelo fígado. Além da eficiência de absorção do Mn ser baixa, outros minerais como cálcio, fósforo e ferro podem reduzir a sua solubilidade e inibir a sua absorção.

A suplementação de Mn na forma inorgânica em dietas à base de milho e farelo de soja tem levado a interações com fitatos presentes, reduzindo sua disponibilidade para as aves. Além desse fato, rações com altos teores de cálcio, normalmente utilizadas para poedeiras, podem interferir no aproveitamento desse micromineral (Fassani et al. (2000). A taxa de excreção do Mn é afetada pela concentração desse elemento na dieta e não é influenciada por outros íons da dieta e por mudanças no equilíbrio ácido-básico (Leeson & Summers, 2001).

A deficiência de Mn na dieta pode aumentar a incidência de ovos de casca fina. Leach Jr. & Gross (1983) descreveram defeitos na casca, menor peso da casca e diminuição na produção de ovos de galinhas com deficiência dietética de manganês. Os ovos apresentaram formatos mais circulares, áreas translúcidas e anormalidades na ultra-estrutura da casca, principalmente, na camada mamilar. Hill & Mathers (1968) constataram redução no teor de Mn e na espessura da casca de ovos produzidos por poedeiras que receberam níveis baixos de Mn durante o período de pré-postura e de postura, sendo que alguns desses ovos apresentaram cascas irregulares com áreas translúcidas.

O efeito positivo da adição de Mn de fonte inorgânica na dieta sobre alguns parâmetros da casca dos ovos também foi observado por Abdallah et al. (1994). Inal et al. (2001) observaram que 25 mg/kg de Mn na dieta é suficiente para a máxima produção de ovos, peso dos ovos e conversão alimentar. No estudo de Fassani et al. (2000), níveis de Mn (40, 80, 100, 120 e 200 mg/kg) adicionados na dieta de poedeiras, no segundo ciclo de produção, melhoraram a espessura da casca e o índice de perda de ovos. A melhor espessura da casca foi observada quando a dieta foi suplementada com 200 mg/kg de Mn.

A utilização de fontes orgânicas de Zn e Mn em poedeiras afeta benéficamente o desempenho e a qualidade da casca, medido como o peso da casca e espessura da casca (Klecker et al., 2002), enquanto que outros autores não encontraram diferenças entre as fontes orgânicas e inorgânicas de Zn, Mn e Cu (Mabe et al., 2003). Para Wedekind et al. (1992) a inclusão de Zn e Mn na forma orgânica ou quelatada é sugerida com base em um maior suprimento de elemento disponível do que o fornecido na forma mineral inorgânica.

### 1.3.3. Cobre

O cobre (Cu) é um elemento essencial para a reprodução, o crescimento, o desenvolvimento do tecido conjuntivo e a pigmentação da pele. É um componente de proteínas sanguíneas como a eritrocupreína, encontrada nos eritrócitos, exercendo função em muitos sistemas enzimáticos e, também, é essencial para a formação normal dos ossos, sendo ativador da lisil oxidase, enzima que participa da biossíntese de colágeno. O cobre só é superado pelo zinco no número de enzimas ativadas (Suttle, 2010; Leeson & Summers, 2001).

O cobre possui como principal função metabólica a hematopoiese. Compõe diversas enzimas com funções oxidativas e atua favorecendo a absorção intestinal de ferro, bem como, a mobilização do mesmo dos tecidos para o plasma, estimulando assim, a síntese de hemoglobina (Nys et al., 2003). Embora o cobre não seja constituinte da hemoglobina, ele está presente em proteínas do plasma que estão envolvidas na liberação do ferro. Portanto, no animal, uma deficiência de cobre pode resultar na incapacidade de absorver o ferro, mobilizá-lo a partir de tecidos e utilizá-lo na síntese de hemoglobina (Leeson & Summers, 2001).

Nys et al. (2003) enfatizaram que o cobre também participa da mineralização dos ossos e sua principal função é a defesa do organismo contra o estresse oxidativo. O cobre desempenha uma função importante na formação da matriz da casca dos ovos e, por sua vez, influencia a estrutura, a textura e a forma da casca dos ovos (Baumgartner et al., 1978).

A carência de cobre determina a produção de ovos com má formação da casca e maior incidência de ovos sem casca, embora as causas ainda não sejam conhecidas (Guo et al., 2001). Dietas com deficiência deste mineral são responsáveis por ossos frágeis e cartilagens espessas, assim como, ovos com cascas frágeis pela má formação da membrana da casca (Leeson & Summers, 2001).

Ocorrem interações do cobre com outros minerais durante a absorção, principalmente com o zinco. A absorção de cobre depende da sua ligação com um transportador, o qual também tem alta afinidade pelo zinco, portanto, existe um sítio intestinal de interação entre a absorção de Zn e Cu, em que altos níveis de zinco na dieta podem causar deficiência de cobre devido à redução na sua absorção (Leeson & Summers, 2001). A absorção do cobre também depende de sua concentração na dieta, visto que, altas concentrações favorecem sua absorção por mecanismo de difusão

simples e quando o cobre está em baixas concentrações, o transporte necessita de gasto energético (Maiorka & Macari, 2002).

#### 1.4. Qualidade da casca dos ovos

O ovo de galinha é um dos alimentos naturais mais perfeitos, oferecendo aos consumidores um balanço quase completo de nutrientes essenciais com proteínas de excelente valor biológico, vitaminas, minerais e ácidos graxos (Ramos et al., 2010). O aumento do consumo de ovos e a utilização de suas vantagens nutricionais pela população dependem da qualidade do produto oferecido ao consumidor, que é determinada por um conjunto de características que podem influenciar o seu grau de aceitabilidade no mercado. A formação da casca e as condições de conservação são as principais causas de perda da qualidade interna dos ovos após a postura (Barbosa et al., 2008).

Os métodos mais utilizados para avaliar a qualidade da casca são a espessura e o peso da casca, a porcentagem da casca em relação ao peso do ovo, a resistência da casca e o peso específico do ovo (Roberts, 2004). Recentemente, também é possível utilizar a avaliação da ultra-estrutura da casca com o objetivo de visualizar pequenas trincas internas que comprometem a integridade da casca e, conseqüentemente, a sua qualidade. Porém, este método não possui ampla utilização, em função da sua metodologia complexa e do seu elevado custo.

A qualidade da casca é de primordial importância para cadeia produtiva de ovos. A casca do ovo precisa ser forte o suficiente para permanecer intacta desde a produção no aviário, até chegar aos diferentes consumidores. Uma casca forte auxilia a manter intacto o conteúdo do ovo e protege de contaminação microbiana (Roberts, 2010a). Porém, pode haver a incidência de cascas com trincas internas e a ocorrência deste problema em lotes de poedeiras pode variar de 2 a 12% dos ovos produzidos, podendo haver aumento de ovos trincados em lotes de poedeiras mais velhas (Nys, 2001).

##### 1.4.1. Estrutura da casca

A casca do ovo é composta de, aproximadamente, 95% de carbonato de cálcio na forma de calcita e 5% de material orgânico que compreende proteínas, proteoglicanos e glicoproteínas. A casca do ovo é uma biocerâmica natural, porosa, resultante da

deposição sequencial das diferentes camadas dentro dos segmentos do oviduto (Solomon, 1991; Hunton, 1995).

A casca do ovo de galinha é uma estrutura altamente ordenada com uma organização policristalina que pode ser dividida em duas frações: a fração orgânica e a calcificada (Solomon, 1991). A fração orgânica consiste em membranas da casca, sítios mamilares de nucleação, matriz da casca e cutícula. Já a porção calcificada da casca pode ser dividida em camada de botões mamilares, paliçada e de cristal superficial externa (Nascimento & Salle, 2003).

Resumidamente, a casca do ovo é composta por cinco camadas estruturalmente diferentes. Estas incluem, de dentro para fora, as membranas da casca (interna e externa), camada mamilar, camada paliçada, camada de cristal vertical e cutícula (Lammie et al., 2005; Roberts, 2004; Solomon, 1991). A parte mineral é constituída por colunas de cristais de calcita (camada paliçada) produzida a partir de núcleos distintos (botões mamilares) e as membranas internas e externas são formadas por fibras orgânicas dispostas paralelamente à superfície do ovo (Rodriguez-Navarro et al., 2002).

A função exata desempenhada pelos componentes orgânicos na formação da casca não é bem compreendida, no entanto, acredita-se que eles influenciam o crescimento dos cristais e o controle da sua forma (Abdel-Salam et al., 2006). Também podem influenciar na determinação das propriedades mecânicas da casca resultante. Nos últimos anos tem sido demonstrado que a formação da matriz orgânica determina a taxa de formação da casca do ovo e controla o tamanho, a forma e a orientação dos cristais de calcita que compreende a porção inorgânica da casca (Nys et al., 2004).

A deposição de carbonato de cálcio na casca do ovo é dependente das funções enzimáticas atribuídas aos microminerais. O carbonato é necessário para se ligar ao cálcio que chega à glândula da casca durante o processo de deposição da casca e, forma então, o carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ). Mais de 90% do carbonato necessário para a síntese do  $\text{CaCO}_3$  tem origem no metabolismo das células uterinas e não do plasma. A fração inorgânica da casca é composta basicamente por calcita, aragonita e vaterita, que são três formas de carbonato de cálcio. Fósforo e magnésio estão presentes em pequenas quantidades, e se encontram traços de sódio, potássio, ferro, zinco, manganês e cobre (Nascimento & Salle, 2003).

Durante o período em que o ovo passa pelo útero, formam-se na superfície externa da membrana externa do ovo, microesferas de calcita, as quais crescem a partir de centros de cristalização (sítios mamilares de nucleação). No centro de cada sítio de

nucleação há uma pequena massa protéica ligada a membrana externa da casca. A partir destes sítios, cristais de calcita crescem radialmente em todas as direções, inserindo-se nas fibras da membrana e, assim, ligam firmemente a parte calcificada da casca às membranas. Os cristais de calcita continuam se formando, originando a camada de botões mamilares e a precipitação subsequente forma a camada paliçada, que são colunas de cristais perpendiculares à superfície da casca e finaliza com a deposição cristais superficiais, que possuem orientação vertical e a cutícula (Nascimento & Salle, 2003).

A calcificação da casca ocorre na matriz orgânica, a partir dos botões mamilares, formando uma camada radiada de cristais de cálcio dentro da membrana externa e uma camada de cristais perpendicular à membrana, chamada camada paliçada. O processo principal da calcificação da casca, ou seja, o depósito de cálcio na camada paliçada implica na formação de carbonato de cálcio a partir dos íons cálcio e carbonato. Os íons carbonato ( $\text{CO}_3^-$ ) são provenientes dos íons bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) do sangue, com atuação da enzima anidrase carbônica. Os íons  $\text{CO}_3^-$  ligam-se ao Ca proveniente do sangue ou do osso para formar  $\text{CaCO}_3$  e, posterior deposição na camada paliçada (Robinson & King, 1963).

De acordo com Romanoff & Romanoff (1949), durante a calcificação da casca ocorre a formação dos poros que correspondem às áreas de cristalização incompleta. Os poros funcionam como um mecanismo de comunicação física entre o ovo e o ambiente, permitindo trocas gasosas de oxigênio, dióxido de carbono e vapor de água, que ocorrem por difusão passiva.

A estrutura da casca dos ovos tem sido estudada há muitos anos e uma das primeiras conclusões a respeito da qualidade da casca foi que a resistência da casca dos ovos possui uma relação direta com a sua espessura (Romanoff & Romanoff, 1949). No entanto, sabe-se atualmente que a força de uma casca de ovo é determinada não apenas pelo percentual de casca que está presente e a espessura medida em milímetros, mas também pela qualidade da calcificação da casca (Solomon, 2010).

Estudos sobre a qualidade da formação da casca são realizados através da análise da ultra-estrutura da casca dos ovos utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV). Por exemplo, o peso da casca, a porcentagem e a espessura podem ser elevados, porém, se a resistência desta casca for relativamente fraca, a explicação estará, provavelmente, na sua ultra-estrutura ou quão bem esta casca foi construída (Bain et al., 2006; Roberts, 2010b).

A força da casca do ovo é resultado de uma combinação de materiais e variáveis estruturais. As propriedades da casca dos ovos são dependentes dos componentes inorgânicos e orgânicos, e como eles interagem uns com os outros, enquanto as propriedades estruturais são dependentes da espessura da casca dos ovos, bem como a distribuição de material sobre a superfície da casca do ovo, o tamanho e a forma do ovo. A maioria dos métodos atualmente disponíveis para avaliar as propriedades mecânicas dos ovos (rigidez e resistência) não pode quantificar ou distinguir as diversas contribuições feitas pelos materiais e variáveis estruturais, devido às suas complexas inter-relações (Bain, 2004).

#### 1.4.2. Ultra-estrutura da casca

As camadas mamilar, paliçada e de cristais verticais são identificadas de acordo com as descrições de Solomon (1991) e Roberts (2004). A camada mamilar é formada por múltiplas estruturas em forma de cone (botões mamilares), enquanto a camada paliçada consiste em alongamentos verticais, justapostos à camada mamilar. Já a camada de cristais verticais é uma estreita coluna verticalmente orientada imediatamente acima da camada paliçada e a cutícula é a camada mais externa da casca do ovo (Figura 1).

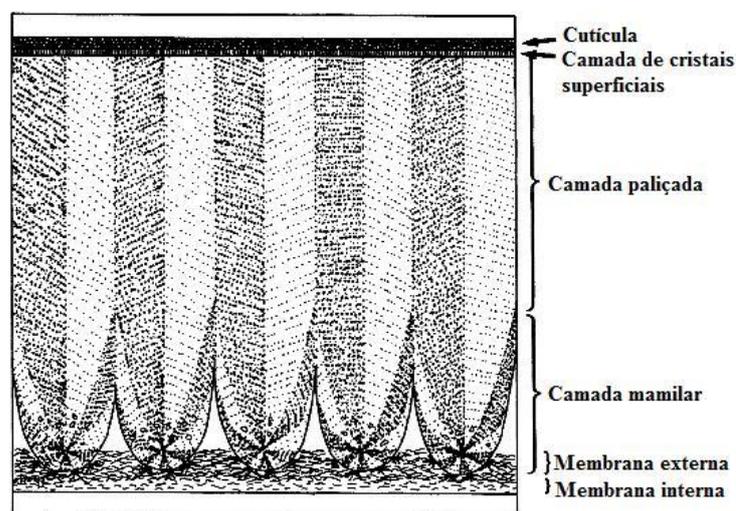


Figura 1 - Representação da estrutura da casca do ovo (Roberts, 2004).

Existem poucos estudos que analisaram a influência da ultra-estrutura sobre a resistência da casca. Neste caso, a estrutura da casca dos ovos é comparada por microscopia eletrônica de varredura, o que indica que a força da casca depende da

espessura da camada paliçada, da organização dos cristais de calcita nesta camada e da densidade de botões mamilares presentes na face interna da casca (Meyer et al., 1973). Esta evidência está de acordo com ideia de que não só o peso específico do ovo e a espessura da casca exercem influência sobre a resistência da casca, mas a sua ultra-estrutura (Rodriguez-Navarro et al., 2002).

Bain (1992) propôs que cada uma das camadas que compõem a casca dos ovos contribui de maneira diferente para o desempenho dos ovos sob carga. Também afirmou que a camada mamilar contribui pouco para as características de rigidez da casca, assim a espessura efetiva da camada paliçada é a medida mais significativa para descrever as propriedades mecânicas e de resistência das cascas dos ovos. Para Leeson & Summers (2001), a resistência da casca está diretamente relacionada com a integridade e a espessura da camada paliçada que compõe a casca.

A matriz orgânica também pode influenciar as propriedades mecânicas da casca do ovo. Rodriguez-Navarro et al. (2002) afirmaram que as membranas que compõem a matriz orgânica podem fornecer uma rede de reforço fibroso dentro da casca que pode contribuir na resistência do ovo à quebra. Para Bain (2004), os componentes da matriz orgânica não permanecem estáticos ao longo do tempo o que, provavelmente, explica por que os ovos de espessura semelhante, frequentemente, apresentam propriedades mecânicas diferentes.

Para Solomon (2010), os aspectos envolvidos na resistência da cascas dos ovos são muito complexos, possivelmente reflexo da interação entre seus componentes orgânicos e inorgânicos. Dessa forma, a avaliação da ultra-estrutura das cascas dos ovos permite uma maior compreensão da organização e reforça a visão de que as propriedades mecânicas dos ovos não podem ser definidas por uma simples medição de espessura da casca quando se trabalha com nutrientes capazes de influenciá-la (Nys et al., 2004).

Diante destas considerações, percebe-se que novas pesquisas são necessárias para compreender a atuação dos microminerais nas características de estrutura e qualidade da casca dos ovos. De modo geral, os resultados práticos da suplementação mineral em dietas para poedeiras ainda são conflitantes devido a diferenças entre as fontes e os níveis de suplementação utilizados. No entanto, estes resultados são cada vez mais promissores pelas melhorias que os microminerais exercem na qualidade da casca dos ovos e a sua importância como ativadores enzimáticos de várias reações bioquímicas no organismo animal.

## 1.5. Literatura citada

- ABDALLAH, A.G.; HARMS, R.H.; WILSON, H.R. et al. Effect of removing trace minerals from the diet of hens laying eggs with heavy or light shell weight. **Poultry Science**, v.73, p.295-301, 1994.
- ABDEL-SALAM, Z.A.; ABDOU, A.M.; HARITH, M.A. Elemental and ultrastructural analysis of the eggshell: Ca, Mg, and Na distribution during embryonic development via LIBS and SEM techniques. **International Journal of Poultry Science**, v.5, p.35-42, 2006.
- AMMERMAN, C.B.; BAKER, D.H.; LEWIS, A.J. **Bioavailability of nutrients for animals: aminoacids, minerals, and vitamins**. New York: Academic Press, 1995. 237p.
- AOYAGI, S.; BAKER, D.H. Nutritional evaluation of a cooper-lysine and zinc-lysine complexes for chicks. **Poultry Science**, v.72, n.1, p.160-171, 1993.
- ARAÚJO, J.A.; SILVA, J.H.; AMÂNCIO, A.L. et al. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p.53-60, 2008.
- ARIAS, J.L.; FINK, D.J.; XIAO, S. et al. Biomineralization and eggshells: cell-mediated acellular compartments of mineralized extracellular matrix. **International Review of Cytology**. v.145, p.217-250, 1993.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. **Official Publication**. Atlanta; 2001. 266p.
- BAIN, M.M. Eggshell strength: a relationship between the mechanism of failure and the ultrastructural organization of the mammillary layer. **British Poultry Science**, v.33, p.303-319, 1992.
- BAIN, M.M.; MACLEOD, N.; THOMSON, R. et al. Microcracks in eggs. **Poultry Science**, v.85, p.2001-2008, 2006.
- BAIN, M.M. Recent advances in the assessment of eggshell quality and their future application. In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, 22., 2004, Istanbul. **Proceedings ...** Istanbul, 2004. p.1-10.
- BAR, A. Calcium transport in strongly calcifying laying birds: mechanisms and regulation. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.152, p.447-469, 2009.
- BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; MENDONÇA, M.O. et al. Qualidade de ovos comerciais provenientes de poedeiras comerciais armazenados sob diferentes tempos e condições de ambientes. **ARS Veterinaria**, v.24, n.2, p.127-133, 2008.
- BAUMGARTNER, S.; BROWN, D.J.; SALEVSKY JR., E. et al. Copper deficiency in the laying hen. **The Journal of Nutrition**, v.108, p.804-811, 1978.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. 2.ed. Lavras: UFLA/FAEPE, 2006. 301p.
- BRITO, J.A.G. **Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas na fase de recria**. 2005. 63f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CHENG, J.; KORNEGAY, E.T.; SCHELL, T. Influence of dietary lysine on the utilization of zinc from zinc sulfate and a zinc-lysine complex by young pigs. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1064-1074, 1998.
- CLOSE, W.H. Biotechnology in the food industry: the role of trace mineral proteينات in pig nutrition. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 14., 1998, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham, 1998. p.376-469.
- DALE, N.; STRONG JR., C.F. Inability to demonstrate an effect of eggshell 49 on shell quality in older laying hens. **The Journal of Applied Research**, v.7, p.219-224, 1998.

- EMMERT, J.L.; BAKER, D.H. Zinc stores in chickens delay the onset of zinc deficiency symptoms. **Poultry Science**, v.74, p.1011-1021, 1995.
- FASSANI, E.J.; BERTECHINI, A.G.; OLIVEIRA, B.L. et al. Manganês na nutrição de poedeiras no segundo ciclo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.2, p.468-478, 2000.
- FURTADO, I.M.; OLIVEIRA, A.I.; FERREIRA, D.F. et al. Correlação entre medidas da qualidade da casca e perda de ovos no segundo ciclo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p.654-660, 2001.
- GUO, R.; HENRY, P.R.; HOLWERDA, R.A. et al. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1132-1141, 2001.
- GUO, Y.M.; YANG, R.; YUAN, J. et al. Effect of Availa Zn and ZnSO<sub>4</sub> on laying hen performance and egg quality. **Poultry Science**, v.81, n.40, (Suppl 1), 2002.
- HERRICK, J.B. Mineral in animal health. In: ASHMEAD, H.D. (Ed.) **The roles of aminoacid chelates in animal nutrition**. New Jersey: Noyes, 1993. p.3-9.
- HILL, R.; MATHERS, J.W. Manganese in the nutrition and metabolism of the pullet: shell thickness and manganese content of egg from birds given a diet of low or high manganese content. **British Journal of Nutrition**, v.22, p.625-633, 1968.
- HUNTON, P. Understanding the architecture of the eggshell. **World's Poultry Science Journal**, v.51, p.140-147, 1995.
- HY-LINE DO BRASIL. **Guia de manejo Hy-Line® Variedade W-36**. 2009. 42p.
- INAL, F.; COSKUN, B.; GULSEN, N. et al. The effects of withdrawal of vitamin and trace mineral supplements from layer diets on egg yield and trace mineral composition. **British Poultry Science**, v.42, p.77-80, 2001.
- JONDREVILLE, C.; REVY, P.S.; DOURMAD, J.Y. Dietary means to better control the environmental impact of copper and zinc by pigs from weaning to slaughter. **Livestock Production Science**, v.84, n.2, p.147-156, 2003.
- KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.3, p.206-220, 2005.
- KLECKER, D.; ZEMAN, L.; JELINEK, P. et al. Effect of manganese and zinc chelates on the quality of eggs. **Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis**, v.50, p.59-68, 2002.
- LAMMIE, D.; BAIN, M.M.; WESS, T.J. Microfocus X-ray scattering investigations of eggshell nanotexture. **Journal of Synchrotron Radiation**, v.12, p.721-726, 2005.
- LEACH JR., R.M.; GROSS, J.R. The effect of manganese deficiency upon the ultrastructure of the eggshell. **Poultry Science**, v.62, n.3, p.499-504, 1983.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Nutrition of the chickens**. 4.ed. Guelph: University Books, 2001. 591p.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger principles of biochemistry**. 3.ed. New York: Worth Publishers, 2000. 1152p.
- LIM, H.S.; PAIK, I.K. Effects of supplementary mineral methionine chelates (Zn, Cu, Mn) on the performance and eggshell quality of laying hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.16, n.12, p.1804-1808, 2003.
- MABE, I.; RAPP, C.; BAIN, M.M. et al. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v.82, p.1903-1913, 2003.
- MACIEL, M.P.; SARAIVA, E.P.; AGUIAR, E.F. 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**, v.39, n.2, p.344-348, 2010.

- MAIORKA, A.; MACARI, M. Equilíbrio ácido-básico. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Ed.) **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p.167-173.
- MEYER, R.; BAKER, R.C.; SCOTT, M.L. Effects of hen egg-shell and other calcium sources upon egg-shell strength and ultrastructure. **Poultry Science**, v.52, p.949-955, 1973.
- MILES, R.D.; HENRY, P.R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n.2, p.73-93, 2000.
- MORENG, R.E. Dietary zinc methionine effect on shell quality of hens drinking saline water. **Poultry Science**, v.71, p.1163-1167, 1992.
- NASCIMENTO, V.P.; SALLE, C.T.P. O ovo. In: MACARI, M.; MENDES, A.A. (Ed.) **Manejo da Incubação**. Campinas: FACTA, 2003. p.34-50.
- NETO, M.A.T.; PACHECO, B.H.C.; ALBUQUERQUE, R. et al. Lysine and zinc chelate in diets for brown laying hens: effects on egg production and composition. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.2, p.377-384, 2011.
- NYS, Y. Oligo-éléments, croissance et santé du poulet de chair. **INRA Productions Animales**, v.14, n.3, p.171-180, 2001.
- NYS, Y.; GAUTRON, J.; GARCIA-RUIZ, J.M. et al. Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. **Comptes Rendus Palevol**, v.3, p.549-562, 2004.
- NYS, Y.; REVY, P.S.; JONDREVILLE, C. Zinc, cuivre et manganese en aviculture: role, disponibilité et risque pour l'environnement. JOURNÉES DE LA RECHERCHE AVICOLE, 5., 2003, Tours. **Annales...** Tours, 2003.
- PAIK, I. Application of chelated minerals in animal production. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.14, p.191-198, 2001.
- PARK, S.Y.; BIRKHOOD, S.G.; KUBENA, L.F. et al. Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction. **Biological Trace Element Research**, v.102, n.2, p.147-163, 2004.
- RAMOS, K.C.B.; CAMARGO, A.M.; OLIVEIRA, E.C.D. et al. Avaliação da idade da poedeira, da temperatura de armazenamento e do tipo embalagem sobre a qualidade de ovos comerciais. **Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida**, v.30, n.2, 2010.
- RICHARDS, J.; DIBNER, J. Organic trace minerals are not all equally effective. **World Poultry**, v.21, n.9, p.17-19, 2005.
- RICHARDS, J.D.; ZHAO, J.Z.; HARREL, R.J. et al. Trace mineral nutrition in poultry and swine. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.23, n.11, p.1527-1534, 2010.
- ROBERTS, J.R. Factors affecting egg internal quality and egg shell quality in laying hens. **Journal of Poultry Science**, v.41, p.161-177, 2004.
- ROBERTS, J.R. Factors affecting egg shell and internal egg quality. In: ANNUAL (ASAIM SE) ASIAN FEED TECHNOLOGY AND NUTRITION WORKSHOP, 18., 2010, Cambodia. **Proceedings...** Cambodia, 2010a.
- ROBERTS, J.R. Egg quality and food safety. In: ANNUAL (ASAIM SE) ASIAN FEED TECHNOLOGY AND NUTRITION WORKSHOP, 18., 2010, Cambodia. **Proceedings...** Cambodia, 2010b.
- ROBINSON, D.S.; KING, N.R. Carbonic anhydrase and formation of the hen's egg shell. **Nature**, v.199, p.497-498, 1963.
- RODRIGUEZ-NAVARRO, A.; KALIN, O.; NYS, Y. et al. Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. **British Poultry Science**, v.43, p.395-403, 2002.

- ROMANOFF, A.L.; ROMANOFF, A.J. **The avian egg**. New York: John Wiley and Sons, 1949. 543p.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2005. 186p.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2011. 252p.
- RUTZ, F.; MURPHY, R. Minerais orgânicos para aves e suínos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2009, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2009. p.21-36.
- SALDANHA, E.S.P.B.; GARCIA, E.A.; PIZZOLANTE, C.C. et al. Effect of organic mineral supplementation on the egg quality of semi-heavy layers in their second cycle of lay. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.11, n.4, p.215-229, 2009.
- SALDANHA, E.S.P.B.; GARCIA, E.A.; PIZZOLANTE, C.C. et al. Effects of dietary trace mineral sources and levels fed to layers in their second laying cycle on the quality of eggs stored at different temperatures and for different periods. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, n.4, p.223-231, 2010.
- SCATOLINI, A.M. **Mn, Zn e Se associados a moléculas orgânicas na alimentação de galinhas poedeiras no segundo ciclo de produção**. 2007. 51f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Jaboticabal.
- SECHINATO, A.S.; ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com microminerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.46, n.2, p.159-166, 2006.
- SKŘIVAN, M.; SKŘIVANOVÁ, V.; MAROUNEK, M. Effects of dietary zinc, iron, and copper in layer feed on distribution of these elements in eggs, liver, excreta, soil, and herbage. **Poultry Science**, v.84, p.1570-1575, 2005.
- SOLOMON, S.E. **Egg and eggshell quality**. London: Wolfe; 1991. 149p.
- SOLOMON, S.E. The eggshell: strength, structure and function. **British Poultry Science**, v.51, (Suppl 1), p.52-59, 2010.
- STAHL, J.L., COOK M.E., SUNDE M.L. Zinc supplementation: its effect on egg production, feed conversion, fertility and hatchability. **Poultry Science**, v.65, 2104-2109, 1986.
- SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 4.ed. CABI International: Wallingford, 2010. 579p.
- UBABEF - UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. [2012]. **Estatísticas Ubabef**. Disponível em: <<http://www.uba.org.br.html>> Acesso em: 18 jan. 2012.
- UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. CABI International: Wallingford, 1999. 614p.
- VIEIRA, S.L. Chelated minerals for poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.10, n.2, p.73-79, 2008.
- WEDEKIND, K.J.; HORTIN, A.E.; BAKER, D.H. Methodology for assessing zinc bioavailability: efficacy estimative for zinc-methionine, zinc sulfate and zinc oxidase. **Journal of Animal Science**, v.70, p.178-187, 1992.

## II-OBJETIVOS GERAIS

Avaliar o efeito da suplementação dietética dos microminerais manganês, zinco e cobre de fonte inorgânica ou orgânica sobre o desempenho produtivo e a qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais no período de 47 a 62 semanas de idade.

Estudar o efeito da suplementação dietética de manganês, zinco e cobre de fonte inorgânica ou orgânica sobre as características ultra-estruturais da casca dos ovos de poedeiras com 62 semanas de idade.

### **III - Desempenho produtivo, qualidade da casca e ultra-estrutura da casca dos ovos de poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com microminerais**

**RESUMO** - Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de microminerais de fonte inorgânica ou orgânica sobre o desempenho produtivo, a qualidade da casca e a ultra-estrutura da casca dos ovos de poedeiras comerciais. Foram utilizadas 360 poedeiras da linhagem Hy-Line W36 no período de 47 a 62 semanas de idade, distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado com nove tratamentos, cinco repetições e oito aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de uma dieta controle sem a suplementação dos microminerais manganês (Mn), zinco (Zn) e cobre (Cu); quatro níveis de suplementação destes microminerais de fonte inorgânica e quatro níveis de suplementação com fonte orgânica (proteínatos). Os níveis de suplementação, em mg/kg, dos microminerais Mn, Zn e Cu, respectivamente, foram: 35-30-05; 65-60-10; 95-90-15 e 125-120-20. Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da suplementação de Mn, Zn e Cu sobre o percentual de postura, o consumo de ração, a conversão alimentar, o peso específico e a unidade Haugh dos ovos. Entretanto, observou-se efeito quadrático ( $P<0,05$ ) dos níveis de suplementação dos microminerais sobre o peso médio dos ovos e a massa de ovos, porém os resultados não diferiram quanto à fonte utilizada. O aumento nos níveis de suplementação de Mn, Zn e Cu proporcionou redução linear ( $P<0,05$ ) do percentual de perda de ovos e aumento linear ( $P<0,05$ ) da resistência da casca e do percentual de casca dos ovos. Houve efeito ( $P<0,05$ ) da fonte e dos níveis de suplementação sobre a espessura total, a espessura da camada paliçada e o número de botões mamilares presentes na casca. Os melhores resultados foram obtidos utilizando dietas suplementadas com microminerais de fonte orgânica, pois proporcionaram menor perda de ovos, maior espessura e maior resistência da casca. Estruturalmente, Mn, Zn e Cu orgânicos proporcionaram maior espessura da camada paliçada e menor densidade mamilar, contribuindo para a resistência da cascas. A suplementação dos microminerais melhorou as características estruturais e de qualidade da casca dos ovos.

Palavras-Chave: cobre, manganês, microscópio eletrônico de varredura, protéinatos, perda de ovos, zinco

### **III- Performance and eggshell quality and ultrastructure of the eggshell of laying hens fed with supplemented diets with organic trace minerals**

**ABSTRACT** - This study was carried out with the purpose of evaluating the effect of trace minerals supplementation of inorganic or organic sources on the productive performance, eggshell quality and ultrastructure of the eggshell of laying hens. Three hundred sixty Hy-Line W36 laying hens in the period from 47 to 62 weeks of age were used, distributed in a completely randomized experimental design, with nine treatments, five replicates and eight birds for experimental unit. The treatments consisted of a control diet without supplementation of trace minerals manganese (Mn), zinc (Zn) and copper (Cu); four supplementation levels of these trace minerals of inorganic source, and four levels of supplementation of organic source (proteinates). The supplementation levels in mg/kg of Mn, Zn and Cu, were respectively, 35-30-05, 65-60-10, 95-90-15, and 125-120-20. There was no effect ( $P>0.05$ ) of supplementation of trace minerals on the percentage of posture, feed intake, feed conversion, specific weight and Haugh unit of eggs. However, there was a quadratic effect ( $P<0.05$ ) of the levels of trace mineral supplementation on average egg weight and egg mass, but the results did not differ regarding the source used. The increase in the levels of supplementation of Mn, Zn and Cu provided a linearly reduction in the percentage of loss of eggs and a linearly increase ( $P<0.05$ ) in the breaking strength and in the percentage of eggshell. There was effect ( $P<0.05$ ) of the source and supplementation levels on the total thickness, thickness of palisade layer and number of mammillary buttons in the shell. The best results were obtained using diets supplemented with trace mineral of organic source, since it provided lower loss of eggs, higher thickness and increased strength of the shell. Structurally, organic Mn, Zn and Cu provided higher thickness of palisade layer and lower mammillary density contributing to the strength of the eggshells. The trace minerals supplementation improved the structural characteristics and the quality of eggshells.

**Key Words:** copper, manganese, scanning electron microscope, proteinates, loss of eggs, zinc

## Introdução

A compreensão do conjunto de fatores que afetam o desempenho produtivo e a qualidade da casca dos ovos produzidos por poedeiras comerciais é essencial para a produção de ovos de alta qualidade. Para a indústria de ovos em todo o mundo, a produção de ovos de boa qualidade interna e com cascas resistentes à quebra é fundamental para a viabilidade econômica do segmento de postura (Roberts, 2004).

A função da casca dos ovos é proteger o conteúdo do ovo de impactos mecânicos e da invasão de microrganismos (Nys et al., 1999). No mercado de alimentos, a boa qualidade e a resistência da casca dos ovos são essenciais. Por isso, a estrutura da casca dos ovos tem sido pesquisada, também, com o objetivo de reduzir a quebra e melhorar a resistência da casca (Rodrigues-Navarro et al., 2002).

Defeitos na qualidade da casca podem causar perdas significativas para a indústria de ovos comerciais. Entre 10 e 15% dos ovos de poedeiras são perdidos antes e durante o processo de coleta por apresentarem algum tipo de problema relacionado à qualidade da casca (Roland 1988; Coutts et al., 2007). Por isso, diferentes estratégias têm sido consideradas para melhorar essa qualidade, incluindo melhorias genéticas, ambientais e nutricionais, especialmente na nutrição mineral (Nys, 2001; Roberts, 2004).

As principais matérias-primas utilizadas na fabricação de rações (milho e farelo de soja) geralmente não atendem às exigências nutricionais de minerais e por isso, os minerais devem ser suplementados nas dietas para aves. A maioria das fontes minerais utilizadas nas rações para poedeiras deriva de compostos inorgânicos como óxidos, sulfatos, carbonatos e fosfatos (Araujo et al., 2008). No entanto, fontes minerais orgânicas têm surgido recentemente no mercado pela perspectiva de serem mais biodisponíveis e aumentarem a absorção mineral em relação às fontes inorgânicas convencionais (Vieira, 2008). A AAFCO (2001) conceitua os minerais orgânicos como íons metálicos ligados quimicamente a uma molécula orgânica, formando estruturas com características únicas de estabilidade e de alta biodisponibilidade mineral.

As fontes orgânicas podem atuar melhorando o desempenho produtivo e a qualidade dos ovos, pois se acredita que elas sejam facilmente absorvidas e retidas pelas aves, podendo reduzir a excreção dos microminerais que potencialmente poluem o ambiente (Brito et al., 2006). No entanto, os resultados práticos da sua utilização em dietas para aves ainda são conflitantes devido a diferenças entre fontes e níveis de suplementação utilizados.

Os microminerais são essenciais na dieta de poedeiras por participarem de processos bioquímicos necessários para o crescimento e desenvolvimento normal, atuando na formação óssea e da casca dos ovos, incluindo o zinco, o manganês e o cobre (Richards et al., 2010). O zinco (Zn) é um dos componentes da enzima anidrase carbônica que está envolvida na formação da casca dos ovos (Mabe et al., 2003; Paik, 2001). O manganês (Mn) atua como ativador de enzimas que estão envolvidas na síntese de glicosaminoglicanos e glicoproteínas que contribuem para a formação da matriz orgânica da casca (Nys et al., 2003). Já o cobre (Cu) é parte integrante da enzima lisil oxidase que é importante na formação de ligações cruzadas de colágeno presentes na membrana da casca dos ovos (Leeson & Summers, 2001).

A casca dos ovos é composta estruturalmente por uma matriz orgânica firmemente aderida à porção inorgânica (calcificada). A matriz orgânica da casca é constituída pelas membranas da casca, os núcleos mamilares, a matriz da casca e a cutícula (Roberts, 2004). Já a parte inorgânica da casca consiste em cristais de carbonato de cálcio, normalmente, sob a forma de calcita e as diferentes camadas de carbonato de cálcio que compõem a casca dos ovos, a partir do interior para o exterior são: camada de botões mamilares, camada paliçada e camada de cristais superficiais (Roberts, 2010).

Os microminerais podem afetar a qualidade da casca devido às suas propriedades catalíticas como componentes de enzimas envolvidas nos processos de síntese da casca ou pela interação direta com cristais de cálcio durante a formação da casca (Fernandes et al. (2008). Entretanto, os resultados relatados na literatura comprovam que a suplementação de minerais orgânicos ainda é controversa. Mabe et al. (2003) ao avaliarem a suplementação de fontes, orgânica e inorgânica, de Zn, Mn e Cu não observaram efeito na qualidade dos ovos. Já Zamani et al. (2005) relataram que a suplementação da dieta basal com Zn e Mn em combinação teve efeito positivo sobre o percentual de casca dos ovos. No estudo de Fassani et al. (2000), a maior espessura de casca e a menor perda de ovos foi observada quando a dieta foi suplementada com 200 mg/kg de Mn na dieta.

Para Bain (1992) e Ruiz & Lunam (2000), a camada paliçada fornece as características de rigidez e, assim, resistência da casca. Neste caso, uma redução na sua espessura relativa poderia comprometer a resistência da casca, levando a uma maior incidência de rupturas. Assim, mais estudos devem ser conduzidos utilizando fontes minerais orgânicas para observar como os microminerais podem influenciar a

organização estrutural da casca dos ovos e estabelecer um maior esclarecimento sobre seus mecanismos de atuação e a participação da ultra-estrutura da casca na resistência dos ovos à quebra.

Dessa forma, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação dietética de microminerais de fonte inorgânica e orgânica sobre o desempenho, a qualidade da casca e as medidas de ultra-estrutura da casca dos ovos de poedeiras comerciais no período de 47 a 62 semanas de idade.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) no período de setembro de 2010 a janeiro de 2011. O período experimental foi 112 dias, dividido em quatro ciclos de avaliação de 28 dias.

Foram utilizadas 360 poedeiras da linhagem Hy-Line W36, com 47 semanas de idade ao início do experimento. As aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado, com quatro divisórias medindo 25 x 45 cm cada, com duas aves em cada divisória e totalizando oito aves por gaiola. Foi utilizado um galpão convencional de postura com cobertura de telhas de barro e telas nas laterais. O alimento e a água foram fornecidos *ad libitum* e as aves foram uniformizadas por peso e produção de ovos antes de começar o experimento, sendo submetidas a 14 dias de adaptação às dietas experimentais. O programa de iluminação adotado foi de 17 horas de luz.

As médias de temperatura, mínima e máxima, monitoradas diariamente dentro do galpão foram, respectivamente, 17,4°C e 26,5°C e as porcentagens médias de umidade relativa registradas foram 37,6% (mínima) e 84,6% (máxima). O monitoramento da temperatura e da umidade do ar foi realizado por meio de um termohigrômetro digital.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos, 5 repetições e 8 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram em:

T1 (sem suplementação) = dieta controle sem a suplementação de Mn, Zn e Cu;

T2 (35-30-05 MI) = dieta controle suplementada com 35 mg/kg de Mn; 30 mg/kg de Zn e 5 mg/kg de Cu de fonte inorgânica;

T3 (65-60-10 MI) = dieta controle suplementada com 65 mg/kg de Mn; 60 mg/kg de Zn e 10 mg/kg de Cu de fonte inorgânica;

T4 (95-90-15 MI) = dieta controle suplementada com 95 mg/kg de Mn; 90 mg/kg de Zn e 15 mg/kg de Cu de fonte inorgânica;

T5 (125-120-20 MI) = dieta controle suplementada com 125 mg/kg de Mn; 120 mg/kg de Zn e 20 mg/kg de Cu de fonte inorgânica;

T6 (35-30-05 MO) = dieta controle suplementada com 35 mg/kg de Mn; 30 mg/kg de Zn e 5 mg/kg de Cu de fonte orgânica;

T7 (65-60-10 MO) = dieta controle suplementada com 65 mg/kg de Mn; 60 mg/kg de Zn e 10 mg/kg de Cu de fonte orgânica;

T8 (95-90-15 MO) = dieta controle suplementada com 95 mg/kg de Mn; 90 mg/kg de Zn e 15 mg/kg de Cu de fonte orgânica;

T9 (125-120-20 MO) = dieta controle suplementada com 125 mg/kg de Mn; 120 mg/kg de Zn e 20 mg/kg de Cu de fonte orgânica.

As rações experimentais foram formuladas de acordo com as exigências e a composição dos alimentos segundo as recomendações de Rostagno et al. (2005). A composição percentual e calculada da ração experimental encontra-se na Tabela 1. Os microminerais Mn, Zn e Cu foram suplementados de acordo com os tratamentos (Tabela 2), nas formas inorgânica e orgânica. Os demais microminerais (Fe, I, Co e Se) foram suplementados na forma inorgânica e em quantidades iguais em todos os tratamentos, através de premix mineral e vitamínico.

Tabela 1 - Composição percentual e calculada da ração experimental

Ingredientes (%)	%
Milho	64,02
Farelo de soja (45%)	22,37
Fosfato bicálcico	1,49
Calcário calcítico	9,06
Óleo de soja	2,12
Sal comum	0,35
DL-Metionina (98%)	0,152
L-Lisina HCl (78%)	0,032
Premix Min. - Vit <sup>1</sup>	0,40
Antioxidante <sup>2</sup>	0,010
Total	100,00
Valores calculados	
EM (kcal/kg)	2880
Proteína bruta (%)	15,50
Cálcio (%)	3,90
Fósforo disponível (%)	0,364
Lisina (%)	0,706
Metionina + Cistina (%)	0,642
Treonina (%)	0,524
Triptofano (%)	0,164
Valores analisados	
Manganês (mg/kg)	37,10
Zinco (mg/kg)	24,17
Cobre (mg/kg)	5,65

<sup>1</sup> Suplemento mineral e vitamínico – Nucleopar Nutrição Animal Ltda (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 2.550 UI/g; Vit E 2.083,33 mg; Vit D3 500 UI/g; Vit K3 650 mg; Vit B1 408,33 mg; Vit B12 2.500 µg; Vit B2 1.000 mg; Vit B6 412,5 mg; Ác. Fólico 66,67 mg; Biotina 8,33 mg; Colina 70.000 mg; Ác. Pantotênico 2.375 mg; Metionina 226.875 mg; Niacina 5.308,33 mg; Ferro 12.500 mg; Iodo 258,33 mg; Selênio 75 mg; Cobalto 83,33 mg; Antioxidante 1.250 mg.

<sup>2</sup> BHT (Butil Hidroxi Tolueno).

Tabela 2 - Quantidade dos microminerais suplementados nas dietas experimentais

Microminerais (mg/kg)*	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Manganês Inorgânico	0	35	65	95	125	0	0	0	0
Zinco Inorgânico	0	30	60	90	120	0	0	0	0
Cobre Inorgânico	0	05	10	15	20	0	0	0	0
Manganês Orgânico	0	0	0	0	0	35	65	95	125
Zinco Orgânico	0	0	0	0	0	30	60	90	120
Cobre Orgânico	0	0	0	0	0	05	10	15	20

\* Fontes inorgânicas: sulfato de manganês (31% de Mn), óxido de zinco (94% de Zn) e sulfato de cobre (24% de Cu). Fontes orgânicas - Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda (Conteúdo por kg do produto): proteinato de manganês (150000 mg de Mn), proteinato de zinco (150000 mg de Zn) e proteinato de cobre (100000 mg de Cu).

Os dados de consumo de ração (g/ave/dia) e conversão alimentar (kg de ração/dúzia de ovos e kg de ração/kg de ovos) foram controlados em intervalos de 28 dias. Para o cálculo da porcentagem de postura, os ovos foram coletados diariamente, duas vezes ao dia e anotados em planilhas para cada unidade experimental. A perda de ovos (% de ovos trincados, quebrados, de casca mole, sem casca ou porosos) também foi anotada diariamente e, ao final de cada ciclo, obteve-se a produção de ovos e a perda de ovos em cada unidade experimental. A massa de ovos foi calculada multiplicando a taxa de postura (%) pelo peso médio dos ovos (g) e dividindo o resultado por 100.

No final de cada intervalo de 28 dias, por três dias consecutivos, foram avaliados o peso médio dos ovos, a altura de albúmen, o peso específico, a porcentagem e a espessura da casca. Todos os ovos íntegros, de cada unidade experimental, foram identificados e pesados individualmente em balança de precisão digital (0,01 g), e submetidos após, ao teste de peso específico pelo método da imersão dos ovos em solução salina. Foram preparadas seis soluções com densidades que variaram de 1,070 a 1,090 g/cm<sup>3</sup>, com variação de 0,004 para cada solução. As soluções salinas foram aferidas com a utilização de um densímetro de petróleo.

Posteriormente à realização do teste de gravidade específica, uma amostra de três ovos por unidade experimental foi utilizada para a determinação da altura de albúmen. Os ovos foram quebrados em superfície plana de vidro e medida a altura do albúmen, na região mediana, entre a borda externa e a gema do ovo, utilizando um paquímetro digital. As mensurações, em milímetros (mm), foram relacionadas ao peso do ovo obtendo-se, assim, a unidade Haugh conforme descrito por Haugh (1937):

$$UH = 100 \log (H + 7,57 - 1,7 W^{0,37}),$$

em que:

H = altura de albúmen (mm); W = peso do ovo (gramas).

As cascas foram lavadas e secas à temperatura ambiente por 72 horas e, em seguida, pesadas em balança de precisão digital (0,001g). O percentual de casca foi obtido pela relação do peso das cascas secas com o peso dos respectivos ovos. Após a pesagem das cascas, efetuou-se a medição da espessura com auxílio de um micrômetro digital (Mitutoyo®) em três pontos na região central de cada casca.

Três ovos íntegros por unidade experimental foram utilizados para a medição da força de resistência da casca, no 28º dia de cada ciclo. A resistência, em quilograma-força (kgf), foi obtida utilizando-se um texturômetro TA.XT2 *Texture Analyser* provido

de uma sonda de delrin com 5 mm de diâmetro a velocidades pré, durante e pós-teste de 3,0; 0,5; e 5,0 mm/s e uma distância de 6,0 mm. A força de gatilho utilizada foi de 3,0 g, seguindo a descrição de Oliveira (2006).

No último dia do experimento, foram colhidos, aleatoriamente, 2 ovos por unidade experimental. Os ovos foram quebrados, lavadas as cascas e separadas amostras com mais ou menos 1 cm<sup>2</sup> da região equatorial dos ovos, as quais foram preparadas segundo a metodologia descrita por Radwan et al. (2010). As membranas da casca foram cuidadosamente retiradas por imersão em água e os resíduos de membrana foram removidos por imersão das amostras em solução de 6% de hipoclorito de sódio, 4,12% de cloreto de sódio e 0,15% de hidróxido de sódio. Após 12 horas nesta solução, as amostras foram lavadas em água corrente e secas em temperatura ambiente, por no mínimo 48 horas.

Duas amostras da casca de cada ovo (0,5 cm<sup>2</sup>) foram preparadas para análise em microscópio eletrônico de varredura, sendo que uma foi utilizada para a análise da superfície interna da casca e outra para a análise da casca em sua espessura. As amostras foram coladas em suporte de alumínio (*stub*), metalizadas com ouro por 10 min. e foram analisadas em microscópio eletrônico Shimadzu *SS-550 Superscan*. As amostras destinadas à análise da superfície interna do ovo foram coladas com esta face voltada para cima e de cada amostra foram obtidas três imagens digitalizadas, com ampliação de 50 vezes, totalizando seis imagens por unidade experimental. Em cada imagem, foram contados os botões mamilares, os quais foram expressos em número de botões mamilares/mm<sup>2</sup> de casca. Já as amostras destinadas à análise da espessura da casca, foram coladas verticalmente na superfície do *stub* e obtidas imagens digitais. Destas imagens, foram realizadas mensurações diretamente no *software* do microscópio eletrônico de varredura. Para cada variável foram obtidas 15 mensurações/amostra. As variáveis analisadas foram: espessura total e espessura das camadas paliçada e mamilar (µm). O percentual das camadas paliçada e mamilar foi obtido pela relação da espessura de cada camada com a espessura total medida.

A análise estatística dos resultados experimentais foi realizada utilizando o programa estatístico SAEG (*SAEG Sistema para Análises Estatísticas*, versão 9.1). Quando a análise de variância indicou efeito significativo dos tratamentos, as médias foram comparadas por meio de contrastes e utilizou-se o teste t a 5% de probabilidade.

Para comparações do tratamento controle (T1) *versus* o uso de suplementação, os dados de desempenho produtivo e qualidade dos ovos foram analisados conforme o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + C_j + T_i C_j + e_{ijk}$$

em que:

$Y_{ijk}$  = característica avaliada j referente ao tratamento i no ciclo de produção k;

$\mu$  = constante geral;

$T_i$  = efeito do tratamento experimental i,  $i=1\dots 9$ ;

$C_j$  = efeito do ciclo de produção j,  $j=1\dots 4$ ;

$T_i C_j$  = efeito da interação entre o tratamento i e o ciclo de produção j;

$e_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação.

Já para as comparações do tratamento controle (T1) *versus* o uso de suplementação, os dados de microscopia eletrônica de varredura foram analisados conforme o modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$  = característica avaliada j referente ao tratamento i;

$\mu$  = constante geral;

$T_i$  = efeito do tratamento experimental i,  $i=1\dots 9$ ;

$e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação.

As comparações do tratamento controle *versus* a utilização de suplementação de microminerais foram procedidas por meio de contrastes entre médias, como descrito a seguir:

$C_1$  - refere-se ao contraste do tratamento controle (T1) *versus* o uso de qualquer suplementação micromineral, ou seja, T1 vs. T2 +...+ T9.

Dado por:  $C_1 = 8m_c - \sum_{\substack{i=2 \\ j=1}}^{i=9, j=4} m_{ij}$  em que: i indica a fonte e j indica o nível de suplementação.

$C_2$  - contraste do tratamento controle *versus* o uso de fonte inorgânica, ou seja, T1 vs. T2 + T3 + T4 + T5.

$$\text{Dado por: } C_2 = 4m_c - \sum_{j=1}^4 m_{1j}$$

$C_3$  - contraste do tratamento controle *versus* o uso de fonte orgânica, ou seja, T1 vs. T6 + T7 + T8 + T9.

$$\text{Dado por: } C_3 = 4m_c - \sum_{j=1}^4 m_{2j}$$

$C_4$  - contraste do tratamento controle *versus* o uso do nível de suplementação 1 (35-30-05), ou seja, T1 vs. T2 + T6.

$$\text{Dado por: } C_4 = 2m_c - m_{11} - m_{21}$$

$C_5$  - contraste do tratamento controle *versus* o uso do nível de suplementação 2 (65-60-10), ou seja, T1 vs. T3 + T7.

$$\text{Dado por: } C_5 = 2m_c - m_{12} - m_{22}$$

$C_6$  - contraste do tratamento controle *versus* o uso do nível de suplementação 3 (95-90-15), ou seja, T1 vs. T4 + T8.

$$\text{Dado por: } C_6 = 2m_c - m_{13} - m_{23}$$

$C_7$  - contraste do tratamento controle *versus* o uso do nível de suplementação 4 (125-120-20), ou seja, T1 vs. T5 + T9.

$$\text{Dado por: } C_7 = 2m_c - m_{14} - m_{24}$$

Para a avaliação das fontes de microminerais, dos níveis de suplementação e dos ciclos de produção, os dados de desempenho e qualidade dos ovos foram analisados conforme o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + t + F_i + N_j + C_k + FN_{ij} + FC_{ik} + NC_{jk} + FNC_{ijk} + e_{ijkl}$$

em que:

$Y_{ijkl}$  = característica avaliada na unidade experimental l, que recebeu o nível de suplementação j, da fonte i e o ciclo de produção k;

$\mu$  = constante geral;

t = efeito do tratamento controle;

$F_i$  = efeito da fonte i, sendo  $i_1$ = fonte inorgânica e  $i_2$ = fonte orgânica;

$N_j$  = efeito do nível de suplementação j, sendo  $j_1$ = 35-30-05;  $j_2$ = 65-60-10;  $j_3$ = 95-90-15;  $j_4$ = 125-120-20;

$C_k$  = efeito do ciclo de produção k, sendo  $k_1$ = 47 a 50 semanas;  $k_2$ = 51 a 54;  $k_3$ = 55 a 58;  $k_4$ = 59 a 62 semanas de idade;

$FN_{ij}$  = efeito da interação entre a fonte i e o nível de suplementação j;

$FC_{ik}$  = efeito da interação entre a fonte i e o ciclo de produção k;

$NC_{jk}$  = efeito da interação entre o nível de suplementação j e o ciclo de produção k;

$FNC_{ijk}$  = efeito da interação entre a fonte  $i$ , o nível de suplementação  $j$  e o ciclo de produção  $k$ ;

$e_{ijkl}$  = erro aleatório associado a cada observação.

Já para a avaliação das fontes de microminerais e dos níveis de suplementação, os dados de microscopia eletrônica foram analisados conforme o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + t + F_i + N_j + FN_{ij} + e_{ijk}$$

em que:

$Y_{ijk}$  = característica avaliada na unidade experimental  $k$ , que recebeu o nível de suplementação  $j$  da fonte  $i$ ;

$\mu$  = constante geral;

$t$  = efeito do tratamento controle;

$F_i$  = efeito da fonte  $i$ , sendo  $i_1$ = fonte inorgânica e  $i_2$ = fonte orgânica;

$N_j$  = efeito do nível de suplementação  $j$ , sendo  $j_1$ = 35-30-05;  $j_2$ = 65-60-10;  $j_3$ = 95-90-15;  $j_4$ = 125-120-20;

$FN_{ij}$  = efeito da interação entre a fonte  $i$  e o nível de suplementação  $j$ ;

$e_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação.

Adicionalmente, os efeitos da fonte e dos níveis de suplementação foram analisados por meio de regressão. Para tanto, os níveis de suplementação considerados em mg/kg, respectivamente, de Mn, Zn e Cu foram: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15), nível 4 (125-120-20), sendo que o aumento da suplementação dos microminerais em cada nível foi equivalente e correspondeu a 30 mg/kg de Mn, 30 mg/kg de Zn e 5 mg/kg de Cu.

## Resultados e Discussão

A análise dos contrastes do tratamento controle (T1), em que os microminerais Mn, Zn e Cu não foram suplementados *versus* todos os demais tratamentos; a fonte inorgânica; a fonte orgânica e cada nível de suplementação de ambas as fontes está representada na Tabela 3. Realizou-se o estudo de contrastes apenas para as variáveis que apresentaram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos e não houve interação entre tratamentos e ciclos de produção.

Tabela 3 - Análise de contrastes entre as médias dos tratamentos com diferentes níveis de microminerais (Mn-Zn-Cu) de fonte inorgânica ou orgânica, para poedeiras comerciais no período de 47 a 62 semanas de idade

Contrastes	Peso ovos	Massa ovos	Perda ovos	Casca	Espessura	Resist. casca	Paliçada	Total	% paliçada	% mamilar	Botões mamilares
T1 vs. T2 +...+ T9	5,73*	5,77*	6,27*	0,80*	0,11 <sup>NS</sup>	3,43*	29,21 <sup>NS</sup>	27,22 <sup>NS</sup>	2,29 <sup>NS</sup>	2,29 <sup>NS</sup>	83,14 <sup>NS</sup>
T1 vs. T2 + T3 + T4 + T5	3,09*	2,95*	2,72*	0,34*	0,06 <sup>NS</sup>	1,58*	0,98 <sup>NS</sup>	3,48 <sup>NS</sup>	1,24 <sup>NS</sup>	1,24 <sup>NS</sup>	18,09 <sup>NS</sup>
T1 vs. T6 + T7 + T8 + T9	2,64*	2,81*	3,57*	0,46*	0,07 <sup>NS</sup>	1,85*	19,80 <sup>NS</sup>	21,53 <sup>NS</sup>	0,74 <sup>NS</sup>	0,74 <sup>NS</sup>	52,30 <sup>NS</sup>
T1 vs. T2 + T6	0,28 <sup>NS</sup>	0,40 <sup>NS</sup>	0,38 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>	0,01 <sup>NS</sup>	0,35*	32,92 <sup>NS</sup>	30,80 <sup>NS</sup>	2,68 <sup>NS</sup>	2,68 <sup>NS</sup>	9,22 <sup>NS</sup>
T1 vs. T3 + T7	1,45*	1,63*	1,25*	0,12 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>	0,62*	10,47*	9,76*	0,88*	0,88*	15,88 <sup>NS</sup>
T1 vs. T4 + T8	1,95*	1,88*	2,06*	0,26 <sup>NS</sup>	0,04*	1,13*	23,78*	21,76*	2,02 <sup>NS</sup>	2,02 <sup>NS</sup>	28,43 <sup>NS</sup>
T1 vs. T5 + T9	2,06*	1,87*	2,60*	0,33 <sup>NS</sup>	0,05*	1,32*	27,48*	26,49*	2,08 <sup>NS</sup>	2,08 <sup>NS</sup>	48,03*

\* Efeito significativo - Teste t (P<0,05).

<sup>NS</sup> Não significativo.

Quando os resultados obtidos para os tratamentos com suplementação de Mn, Zn e Cu foram contrastados com o tratamento controle observou-se que a suplementação dos microminerais em estudo aumentou ( $P < 0,05$ ) o peso e a massa dos ovos produzidos pelas poedeiras. O tratamento controle não diferiu dos demais tratamentos ( $P > 0,05$ ) para as variáveis porcentagem de postura, consumo de ração e conversão alimentar, peso específico e unidade Haugh.

De maneira geral, através dos contrastes, observou-se um efeito positivo da suplementação dos microminerais nas dietas, independente da fonte mineral e do nível de suplementação. Ou seja, o fato dos microminerais serem suplementados nas dietas para poedeiras possibilitou melhor peso dos ovos, massa de ovos, porcentagem de casca, espessura e resistência da casca e reduziu a perda de ovos, indicando que os minerais em estudo estão associados principalmente à qualidade externa dos ovos.

O nível de suplementação de 35-30-05 mg/kg, respectivamente, de Mn, Zn e Cu não diferiu do tratamento controle para as variáveis peso e massa de ovos, perda de ovos, percentual de casca e espessura da casca. Isto é, independente da fonte utilizada, o menor nível suplementado foi insuficiente para proporcionar melhorias no percentual e espessura da casca e não reduziu a perda de ovos quando contrastado com o tratamento que não foi suplementado com os microminerais.

Observou-se também através do estudo de contrastes que a suplementação de Mn, Zn e Cu aumentou ( $P < 0,05$ ) a espessura da camada paliçada e a espessura total da casca dos ovos, além de aumentar o percentual das camadas paliçada e mamilar e reduzir o número de botões mamilares. A espessura da camada mamilar não foi influenciada ( $P > 0,05$ ) pela suplementação dos microminerais nas dietas, já que o tratamento controle não diferiu dos demais tratamentos.

Os resultados referentes à análise de regressão das variáveis de desempenho e qualidade dos ovos das poedeiras alimentadas com dietas suplementadas com níveis crescentes de Mn, Zn e Cu estão representados na Tabela 4. Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre a fonte mineral e o nível de suplementação, desta forma, cada efeito foi analisado separadamente. Também não houve interação entre os ciclos de produção e a fonte mineral e entre os ciclos e os níveis de suplementação.

Tabela 4 - Valores médios de desempenho produtivo e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais no período de 47 a 62 semanas de idade em função do nível de suplementação e da fonte dos microminerais (Mn, Zn e Cu)

Suplementação Mn-Zn-Cu (mg/kg)	Variáveis											
	Post (%)	Cons (g/ave/dia)	Peso ovos (g)	Massa ovos (g)	CA (kg/dz)	CA (kg/kg)	Perda (%)	Peso específico (g/cm <sup>3</sup> )	Unidade Haugh	Casca (%)	Espessura (mm)	Resist. casca (kgf)
Sem suplementação												
0-0-0	85,01	102,51	66,20	56,48	1,40	1,74	1,57	1,078	88,56	8,61	0,353	3,39
Microminerais inorgânicos (MI)												
35-30-05	85,72	102,79	66,33	56,76	1,40	1,74	1,55	1,079	88,71	8,65	0,358	3,56
65-60-10	85,86	103,08	67,02	57,34	1,39	1,73	1,09	1,079	88,84	8,64	0,365	3,67
95-90-15	85,40	102,78	67,30	57,34	1,39	1,74	0,59	1,079	88,94	8,73	0,374	3,93
125-120-20	85,75	102,61	67,27	57,44	1,40	1,73	0,32	1,079	88,99	8,76	0,375	3,97
Média	85,68	102,82	66,97	57,22	1,40	1,74	0,89 <sup>a</sup>	1,079	88,87	8,70	0,368 <sup>b</sup>	3,78 <sup>b</sup>
Microminerais orgânicos (MO)												
35-30-05	84,91	102,94	67,35	57,60	1,40	1,75	1,21	1,079	88,60	8,65	0,360	3,57
65-60-10	85,80	102,84	67,85	57,25	1,39	1,74	0,79	1,079	88,99	8,70	0,369	3,74
95-90-15	85,95	102,81	67,05	57,50	1,40	1,74	0,49	1,079	88,87	8,75	0,378	3,99
125-120-20	85,56	102,65	67,19	57,39	1,40	1,73	0,22	1,080	88,95	8,80	0,380	4,12
Média	85,56	102,81	67,36	57,18	1,40	1,74	0,68 <sup>b</sup>	1,079	88,85	8,73	0,371 <sup>a</sup>	3,85 <sup>a</sup>
CV (%)	1,42	0,55	1,12	1,64	2,14	2,01	61,63	0,11	0,73	1,27	1,30	3,23
Análise de Regressão												
Níveis suplem.	NS	NS	Q*	Q*	NS	NS	L*	NS	NS	L*	Q*	L*
Nível x Fonte	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

L\* - Efeito linear (P<0,05); Q\* - Efeito quadrático (P<0,05); NS - não significativo; <sup>a</sup> médias da mesma variável seguidas de letra diferente diferem significativamente para a fonte dos microminerais.

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) da suplementação dos microminerais Mn, Zn e Cu sobre o percentual de postura, o consumo de ração, a conversão alimentar (kg/dz e kg/kg), o peso específico e a unidade Haugh dos ovos. Os resultados de peso específico e unidade Haugh concordaram com os estudos de Dale & Strong Jr. (1998) e Saldanha et al. (2009), que não observaram efeito da suplementação de microminerais. Outros estudos encontrados na literatura também não relataram efeitos de microminerais orgânicos na produção de ovos, consumo de ração e conversão alimentar (Ludeen, 2001; Fernandes et al., 2008; Maciel et al., 2010).

Observou-se que a suplementação das dietas com níveis crescentes de Mn, Zn e Cu resultou em aumento quadrático ( $P<0,05$ ) do peso médio dos ovos e da massa de ovos, sem efeito da fonte mineral suplementada (Figura 1).

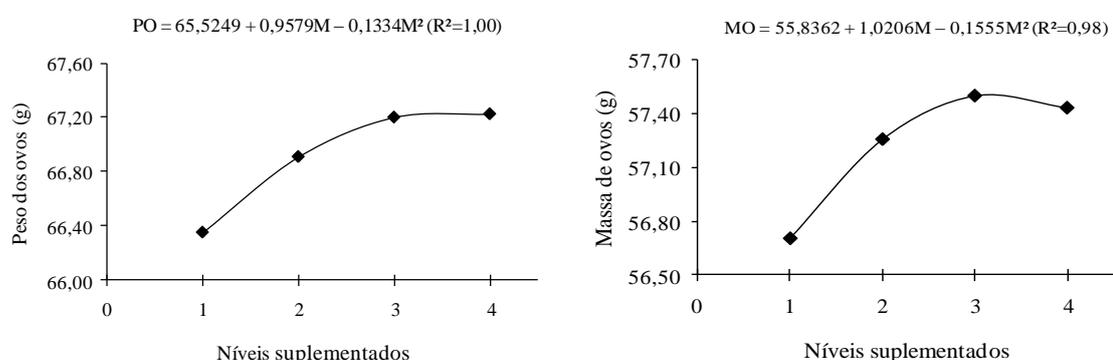


Figura 1 - Peso médio dos ovos e massa de ovos de poedeiras no período de 47 a 62 semanas de idade em função dos níveis suplementados de Mn, Zn e Cu: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15) e nível 4 (125-120-20)

Os níveis mais elevados de Mn, Zn e Cu aumentaram o peso dos ovos, com efeito quadrático, o que permitiu inferir que a maior quantidade suplementada (125-120-20), que é praticamente o dobro da recomendação proposta por Rostagno et al. (2005), é muito superior às necessidades das aves e não resultou em incremento adicional para o peso médio dos ovos. Recentemente, Rostagno et al. (2011) indicaram uma recomendação de suplementação de microminerais superior de 77, 72 e 11 mg/kg, respectivamente, de Mn, Zn e Cu para poedeiras na fase de produção.

A espessura da casca dos ovos aumentou de forma quadrática ( $P<0,05$ ) em função do nível de suplementação dos microminerais. Também houve efeito das fontes minerais utilizadas, em que se observou maior espessura da casca para a fonte orgânica. O percentual de casca de ovos aumentou linearmente ( $P<0,05$ ) e de forma independente da fonte mineral suplementada (Figura 2).

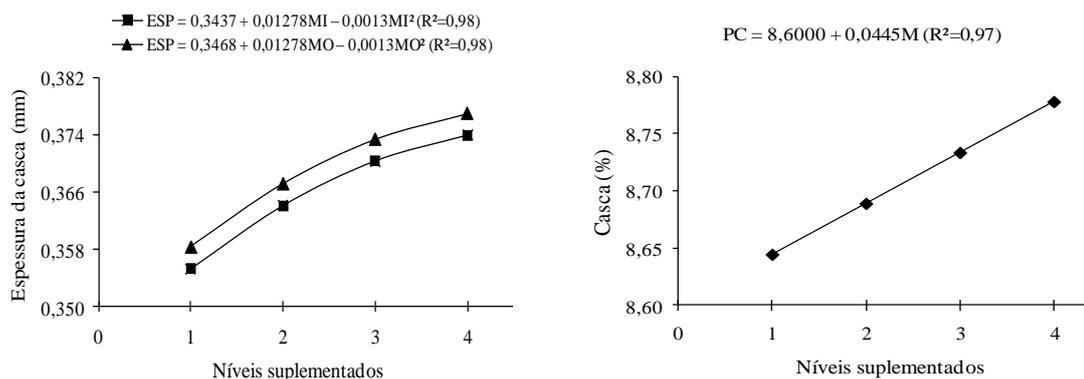


Figura 2 - Espessura da casca e percentual de casca dos ovos de poedeiras no período de 47 a 62 semanas de idade em função dos níveis suplementados de Mn, Zn e Cu: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15) e nível 4 (125-120-20)

Em relação à qualidade da casca dos ovos, Swiatkiewicz & Koreleski (2008) avaliaram a adição de Zn e Mn de fontes inorgânicas e orgânicas para poedeiras no período de 35 a 70 semanas de idade e não observaram alterações na porcentagem e na espessura da casca dos ovos. No entanto, Maciel et al. (2010) não observaram efeitos da utilização de Zn, Mn e Cu sobre a espessura da casca dos ovos.

Avaliando fontes de Zn, Cu e Mn orgânico para poedeiras Paik (2001) observou que a porcentagem de casca foi maior nos tratamentos que receberam minerais orgânicos. Porém, Abdallah et al. (1993) observaram que a porcentagem de casca não é alterada pela utilização de fontes orgânicas na dieta. Já Mabe et al. (2003) verificaram que poedeiras produziram ovos com menor porcentagem de casca quando submetidas a suplementação de Zn orgânico na dieta no período de 32 a 45 semanas de idade, entretanto não foram observadas diferenças no período de 60 a 82 semanas de idade.

Zamani et al. (2005), utilizando os níveis suplementados de até 150 mg/kg de Zn e 90 mg/kg de Mn, sozinhos ou em combinação, concluíram que a suplementação afetou significativamente a espessura da casca, o índice de rigidez e a resistência à ruptura. Os autores observaram que a adição isolada de Zn não influenciou a resistência da casca dos ovos, porém quando as dietas foram suplementadas com Zn e Mn em combinação, os ovos tiveram maior resistência da casca, demonstrando que estes elementos atuaram em conjunto para a melhoria da qualidade da casca dos ovos.

O aumento dos níveis de suplementação de Mn, Zn e Cu proporcionou a redução linear ( $P<0,05$ ) do percentual de perda de ovos e o aumento linear ( $P<0,05$ ) da resistência da casca (Figura 3). Observou-se que os tratamentos que continham Mn, Zn e Cu na forma de proteínatos proporcionaram os melhores resultados quando comparados com os tratamentos suplementados com estes microminerais na forma inorgânica.

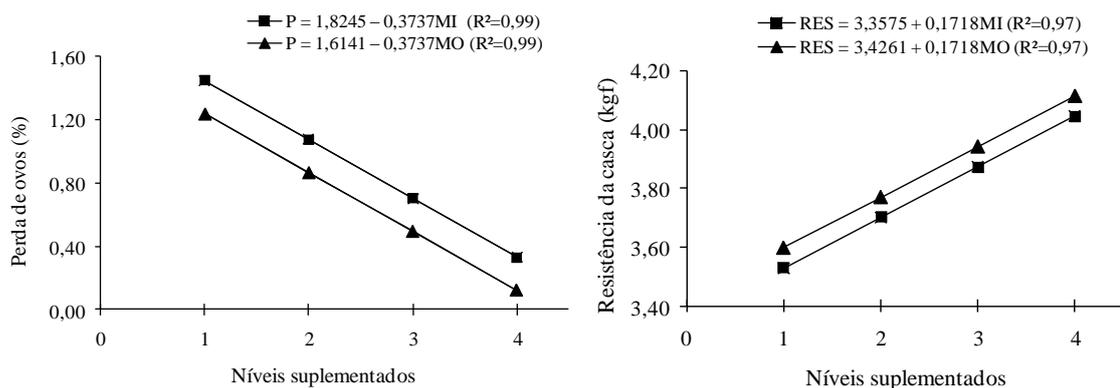


Figura 3 - Percentual de perda de ovos e resistência da casca dos ovos de poedeiras no período de 47 a 62 semanas de idade em função dos níveis suplementados de Mn, Zn e Cu: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15) e nível 4 (125-120-20)

A maior resistência da casca dos ovos foi obtida utilizando fontes orgânicas, o que pode estar relacionado com a menor perda de ovos e a maior porcentagem de casca. A menor perda de ovos foi observada com o aumento dos níveis de suplementação dos microminerais, com melhores resultados também para a fonte orgânica, que deve estar relacionada com a formação da membrana da casca do ovo. Particularmente, o Cu pode melhorar a membrana da casca e o Zn e o Mn participam da fração estrutural orgânica e inorgânica da casca, resultando em ovos com cascas de melhor qualidade. Esse efeito também foi observado por Maciel et al. (2010) que observaram menor perda de ovos quando as aves receberam ração suplementada com 50% de Zn, Mn e Cu na forma orgânica ou com a suplementação isolada de 50% de cobre nas dietas para poedeiras.

A redução na perda de ovos e a melhor resistência da casca são características desejáveis e que possuem importância econômica no segmento de poedeiras comerciais. Dessa forma, os resultados desta pesquisa estão de acordo com os obtidos por Ludeen (2001), que observou melhora na resistência à quebra de ovos provenientes de galinhas no período de 40 a 60 semanas de idade e que receberam proteínatos de Zn e Mn. Paik (2001) também observou que a associação de Zn e Mn orgânico melhorou a resistência da casca e relatou que houve influência do Zn na síntese da enzima anidrase carbônica, pois esta é essencial para a formação da casca.

Os melhores resultados de qualidade dos ovos foram obtidos com o fornecimento da fonte mineral orgânica. Acredita-se que isto esteja relacionado ao melhor aproveitamento destes elementos minerais em relação aos inorgânicos. Os microminerais quelatados apresentam proteção contra os efeitos adversos presentes no trato gastrintestinal, proporcionando maior absorção. A ligação dos íons metálicos com

moléculas orgânicas pode torná-los mais estáveis e reduzir as interações com outros elementos da digesta e os antagonismos entre minerais, possibilitando maior absorção e aproveitamento dos microminerais (Richards et al., 2010).

Os resultados referentes à análise de regressão da ultra-estrutura da casca dos ovos das poedeiras com 62 semanas de idade alimentadas com dietas suplementadas com níveis crescentes e duas fontes de microminerais estão representados na Tabela 5. Não houve interação ( $P>0,05$ ) entre a fonte e o nível de suplementação, assim cada efeito foi analisado separadamente. A suplementação de Mn, Zn e Cu nas dietas para poedeiras comerciais não afetou ( $P>0,05$ ) a espessura da camada mamilar da casca dos ovos.

Tabela 5 - Valores médios obtidos através da microscopia eletrônica da casca dos ovos de poedeiras comerciais com 62 semanas de idade em função do nível de suplementação e da fonte dos microminerais (Mn, Zn e Cu)

Suplementação Mn-Zn-Cu (mg/kg)	Variáveis					
	Paliçada ( $\mu\text{m}$ )	Mamilar ( $\mu\text{m}$ )	Espessura total ( $\mu\text{m}$ )	Paliçada (%)	Mamilar (%)	Botões mamilares/ $\text{mm}^2$
Sem suplementação						
0-0-0	231,11	66,12	297,23	77,75	22,75	262,84
Microminerais inorgânicos (MI)						
35-30-05	239,86	64,28	304,14	78,87	21,12	191,93
65-60-10	265,05	63,61	328,67	80,63	19,37	176,46
95-90-15	267,33	62,86	330,19	80,97	19,03	170,39
125-120-20	270,06	63,65	333,71	80,92	19,07	162,10
Média	260,57 <sup>b</sup>	63,60	324,18 <sup>b</sup>	80,35	19,65	175,22 <sup>a</sup>
Microminerais orgânicos (MO)						
35-30-05	247,88	67,88	315,76	78,53	21,47	176,78
65-60-10	266,07	65,11	331,19	80,33	19,67	167,14
95-90-15	277,11	64,55	341,67	81,13	18,82	160,68
125-120-20	278,49	64,39	342,88	81,23	18,76	149,34
Média	267,39 <sup>a</sup>	65,48	332,87 <sup>a</sup>	80,30	19,69	163,48 <sup>b</sup>
CV (%)	3,29	6,75	3,29	1,30	5,21	11,12
Análise de Regressão						
Níveis suplem.	Q*	NS	Q*	Q*	Q*	L*
Nível x Fonte	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Equações de Regressão					R <sup>2</sup>	
ESP = 273,8961 + 31,1219MI - 4,4037MI <sup>2</sup>					0,99	
ESP = 282,5938 + 31,1219MO - 4,4037MO <sup>2</sup>					0,99	
PPAL = 76,2138 + 2,9580M - 0,4375M <sup>2</sup>					0,99	
PMAM = 28,7862 - 2,9580M + 0,4375M <sup>2</sup>					0,99	

L\* - Efeito linear ( $P<0,05$ ); Q\* - Efeito quadrático ( $P<0,05$ ); NS - não significativo; M - microminerais; MI - fonte inorgânica; MO - fonte orgânica; ESP - espessura da casca; PAL - camada paliçada; PPAL - % camada paliçada; PMAM - % camada mamilar; BM - números de botões mamilares/ $\text{mm}^2$ ; <sup>a</sup> médias da mesma variável seguidas de letra diferente diferem significativamente para a fonte dos microminerais.

O aumento nas quantidades suplementadas dos microminerais Mn, Zn e Cu proporcionou aumento quadrático ( $P<0,05$ ) da espessura total e da camada paliçada e redução linear ( $P<0,05$ ) do número de botões mamilares. Os melhores resultados foram obtidos para a fonte orgânica que apresentou maior espessura total e da camada paliçada e menor número de botões mamilares por  $\text{mm}^2$  de casca, ilustrados nas Figuras 4, 5 e 6.

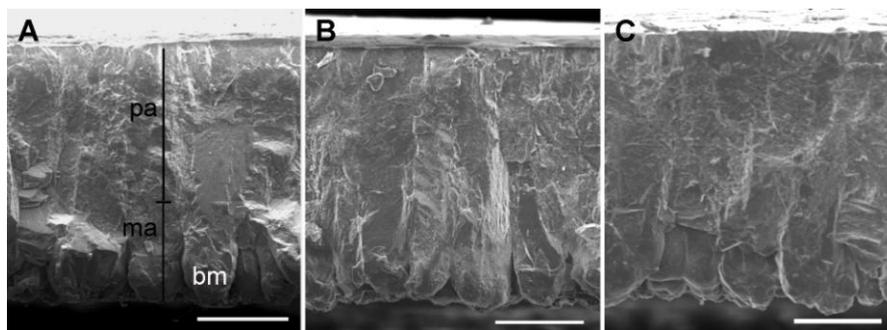


Figura 4 - Microscopia eletrônica de varredura do corte transversal da casca dos ovos de poedeiras com 62 semanas de idade. Notar a espessura das camadas que compõem a estrutura da casca, camada paliçada (pa), mamilar (ma) e a vista vertical dos botões mamilares (bm). A) Tratamento sem suplementação de Mn, Zn e Cu; B) Suplementação de 35-30-05 mg/kg de Mn-Zn-Cu fonte inorgânica; C) Suplementação de 125-120-20 mg/kg de Mn-Zn-Cu fonte orgânica. Barra: 100  $\mu\text{m}$

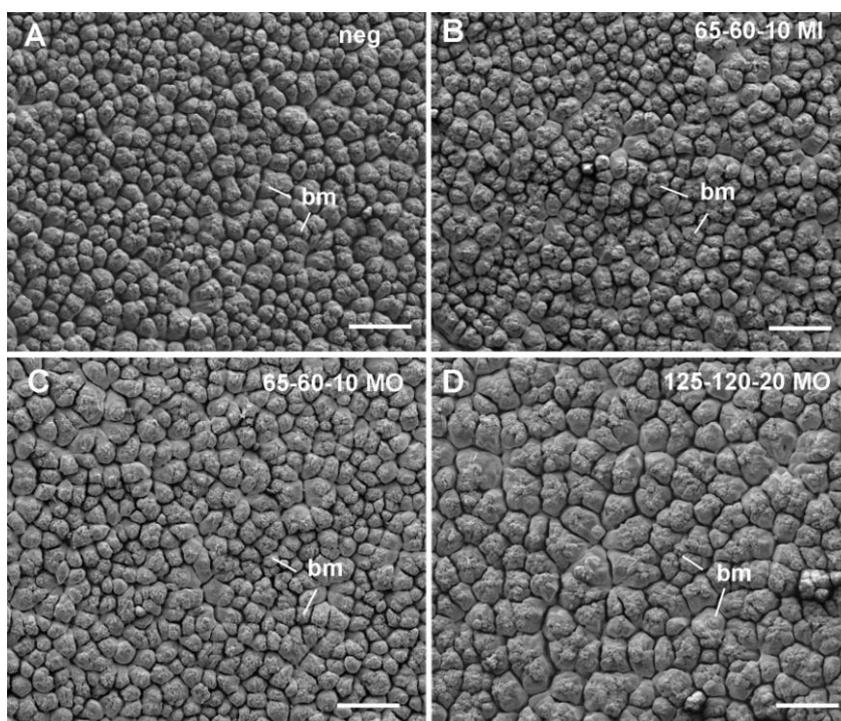


Figura 5 - Microscopia eletrônica de varredura da superfície interna da casca dos ovos de poedeiras com 62 semanas de idade. Notar a distinta distribuição dos botões mamilares (bm) que se tornaram maiores à medida que aumentou o nível de microminerais suplementados na dieta. A) Tratamento sem suplementação de Mn, Zn e Cu; B) Suplementação de 65-60-10 mg/kg de Mn-Zn-Cu de fonte inorgânica; C) Suplementação de 65-60-10 mg/kg de Mn-Zn-Cu de fonte orgânica; D) Suplementação de 125-120-20 mg/kg de Mn-Zn-Cu de fonte orgânica. Barra: 200  $\mu\text{m}$

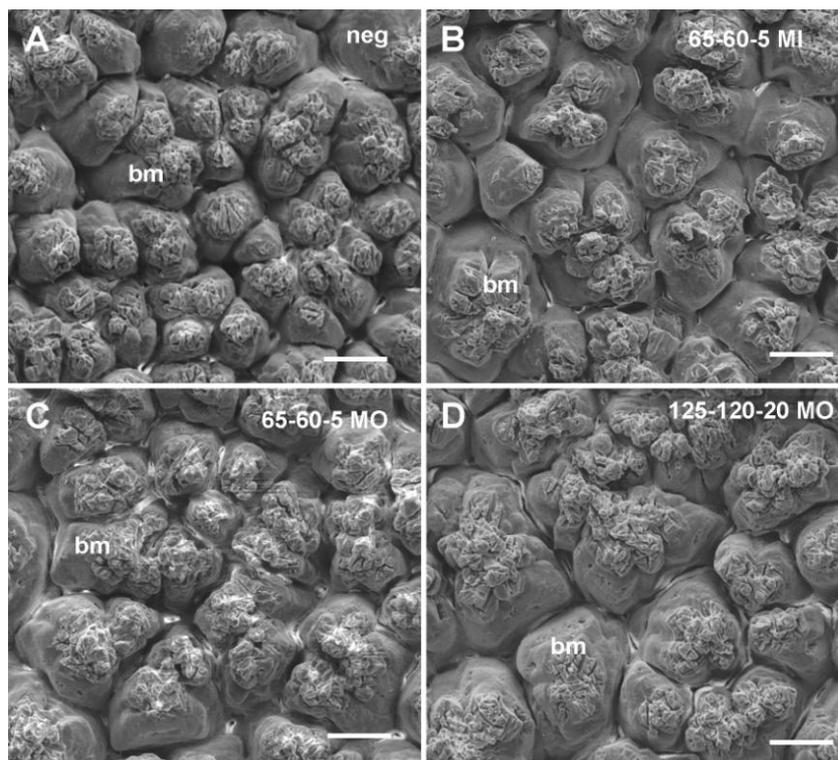


Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura da superfície interna da casca de ovos de poedeiras com 62 semanas de idade com maior aproximação em relação à figura anterior. Os botões mamilares (bm) estão mais largos e confluídos entre si em função dos níveis de microminerais que foram suplementados na dieta. Barra: 50 µm

Observou-se aumento quadrático ( $P < 0,05$ ) da espessura da camada paliçada da casca dos ovos na microscopia eletrônica de varredura. Já a densidade mamilar, avaliada como número de botões mamilares por  $\text{mm}^2$ , reduziu de maneira linear ( $P < 0,05$ ) em função da fonte e do aumento do nível suplementado de Mn, Zn e Cu (Figura 7).

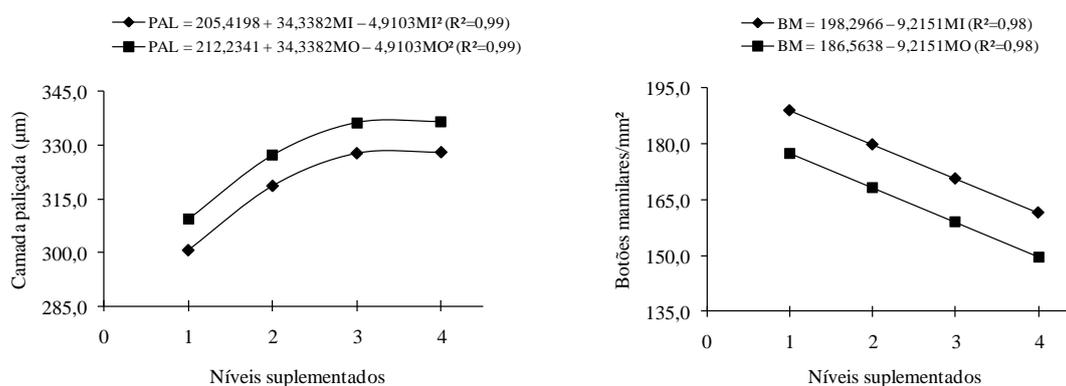


Figura 7 - Espessura da camada paliçada e número de botões mamilares da casca dos ovos de poedeiras com 62 semanas de idade em função dos níveis suplementados de Mn, Zn e Cu: nível 1 (35-30-05), nível 2 (65-60-10), nível 3 (95-90-15) e nível 4 (125-120-20)

A obtenção de medidas ultra-estruturais das cascas dos ovos por microscopia eletrônica de varredura permitiu a realização de comparações entre os resultados obtidos das diferentes fontes minerais e os níveis de suplementação de Mn, Zn e Cu. O aumento da espessura da camada paliçada da casca dos ovos é importante, pois de acordo como o estudo de Radwan et al. (2010), a força da casca depende da espessura da camada paliçada e da organização dos cristais de calcita nesta camada. Solomon (1991) sugeriu que a organização das colunas da camada paliçada é um dos principais determinantes da rigidez da casca e, portanto, da força e da resistência da casca dos ovos.

Tradicionalmente, a resistência da casca do ovo tem sido considerada dependente quase que totalmente das propriedades da parte inorgânica (Bain, 1992; El-Safty, 2004). A resistência da casca está diretamente relacionada a sua espessura e à espessura da camada paliçada que compreende, aproximadamente, dois terços da espessura total da casca (Fathi et al., 2007). Portanto, é provável que as alterações na espessura da camada paliçada afetaram a resistência da casca dos ovos, melhorando a qualidade da casca dos ovos produzidos pelas poedeiras que receberam dietas suplementadas com Mn, Zn e Cu, principalmente as que receberam estes microminerais na forma de proteínatos.

As propriedades do material que forma a casca dos ovos dependem de sua microestrutura e sua composição química, as quais podem variar através da espessura da casca (Rodríguez-Navarro et al., 2002; Nys et al., 2004; Bain et al., 2006). Neste contexto, a suplementação de Mn, Zn e Cu participou da formação da casca dos ovos por influenciar a espessura, pois os microminerais atuaram como ativadores de enzimas importantes neste processo, como é o caso da anidrase carbônica (Nys et al., 2004; Zamani et al., 2005).

Observou-se neste estudo, uma desorganização quanto à distribuição dos botões mamilares na superfície interna das cascas e esta observação foi feita nas cascas que apresentavam maior densidade de botões mamilares, especificamente, no tratamento que não foi suplementado com os microminerais e no menor nível de suplementação. Estes aspectos concordam com o estudo de Van Toledo et al. (1982), os quais observaram que cascas com uma maior densidade de botões mamilares apresentaram desorganização, fissuras e arranhões na superfície interna e estas cascas também foram menos resistentes. Tal evidência apoia a ideia de que não só a espessura e a porcentagem de casca influenciaram na resistência, mas também a espessura da camada paliçada e o número de botões mamilares presentes na casca.

Avaliando a superfície interna da casca de ovos com cascas de baixa resistência, também é possível observar uma desorganização e várias alterações estruturais que, normalmente, não são visualizados em cascas de alta resistência (Solomon, 1991). Este autor concluiu que esses problemas podem atuar como sítios de nucleação de trincas e contribuir para a fraqueza relativa destas cascas. Contrariando este estudo, Rodrigues-Navarro et al. (2002) não observaram nenhuma mudança significativa na densidade mamilar ou na forma de deformidades na superfície e que poderiam explicar as diferenças nas propriedades mecânicas das cascas dos ovos.

Dessa forma, com base neste estudo, sugere-se que a deposição de carbonato de cálcio na casca do ovo é atribuída às funções enzimáticas dos microminerais e, conseqüentemente, pode ser influenciada pelos níveis e pelas fontes suplementadas nas dietas para poedeiras na fase de produção. Também foi possível inferir que a suplementação mineral exerceu influência na formação da camada paliçada, com botões mamilares maiores na superfície interna e com uma melhor formação ultra-estrutural da casca.

### Conclusões

A suplementação de Mn, Zn e Cu não influenciou as principais variáveis de desempenho como a produção de ovos, o consumo de ração e a conversão alimentar. Entretanto, melhorou as características de qualidade e ultra-estrutura da casca dos ovos.

Níveis iguais ou acima de 65-60-10 mg/kg de Mn, Zn e Cu, respectivamente, resultaram em menor perda de ovos e maior resistência da casca, sendo que a suplementação de fonte orgânica proporcionou melhores resultados em comparação à inorgânica.

### Referências

- ABDALLAH, A.G.; HARMS, R.H.; EL-HUSSEINY, O. Various methods of measuring shell quality in relation to percentage of cracked eggs. **Poultry Science**, v.72, n.11, p.2038-2043, 1993.
- ARAUJO, J.A.; SILVA, J.H.; AMÂNCIO, A.L. et al. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasílica**, v.2, n.3, p.53-60, 2008.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. **Official Publication**. Atlanta; 2001. 266p.

- BAIN, M.M. Eggshell strength: a relationship between the mechanism of failure and the ultrastructural organization of the mammillary layer. **British Poultry Science**, v.33, p.303-319, 1992.
- BAIN, M.M.; MACLEOD, N.; THOMSON, R. et al. Microcracks in eggs. **Poultry Science**, v.85, p.2001-2008, 2006.
- BRITO, J.A.G.; BERTECHINI, A.G.; FASSANI, E.G. et al. Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1342-1348, 2006.
- COUTTS, J.A.; WILSON, G.C.; FERNANDEZ, S. **Optimum egg quality - A practical approach**. Sheffield: 5M Enterprises, 2007, 66p.
- DALE, N.; STRONG JR., C.F. Inability to demonstrate an effect of eggshell 49 on shell quality in older laying hens. **The Journal of Applied Research**, v.7, p.219-224, 1998.
- EL-SAFETY, S.A. Stepwise regression analysis for ultrastructural measurements of eggshell quality in two local breeds of chicken. **Egyptian Poultry Science**, v.24, p.189-203, 2004.
- FASSANI, E.J.; BERTECHINI, A.G.; OLIVEIRA, B.L. et al. Manganês na nutrição de poedeiras no segundo ciclo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.2, p.468-478, 2000.
- FATHI, M.M.; ZEIN EL-DEIN, A.; EL-SAFETY, S.A. et al. Using scanning electron microscopy to detect the ultrastructural variations in eggshell quality of Fayoumi and Dandarawi chicken breeds. **International Journal of Poultry Science**, v.6, p.236-241, 2007.
- FERNANDES, J.I.M.; MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M.I. et al. Effects of organic mineral dietary supplementation on production performance and egg quality of white layers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.10, n.1, p.59-65, 2008.
- HAUGH, R.R. The Haugh unit for measuring egg quality. **United States Egg Poultry Magazine**, v.43, p.552-555, 1937.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Nutrition of the chickens**. 4.ed. Guelph: University Books, 2001. 591p.
- LIM, H.S.; PAIK, I.K. Effects of supplementary mineral methionine chelats (Zn, Cu, Mn) on the performance and eggshell quality of laying hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.16, n.12, p.1804-1808, 2003.
- LUDEEN, T. Mineral proteinates may have positive effect on shell quality. **Feedstuffs**, v.73, n.14, p.10-15, 2001.
- MABE, I.; RAPP, C.; BAIN, M.M. et al. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v.82, p.1903-1913, 2003.
- MACIEL, M.P.; SARAIVA, E.P.; AGUIAR, E.F. 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**, v.39, n.2, p.344-348, 2010.
- NASCIMENTO, V.P.; SALLE, C.T.P. O ovo. In: MACARI, M.; MENDES, A.A. (Ed.) **Manejo da Incubação**. Campinas: FACTA, 2003. p.34-50.
- NYS, Y. Oligo-éléments, croissance et santé du poulet de chair. **INRA Productions Animales**, v.14, n.3, p.171-180, 2001.
- NYS, Y.; GAUTRON, J.; GARCIA-RUIZ, J.M. et al. Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins. **Comptes Rendus Palevol**, v.3, p.549-562, 2004.

- NYS, Y.; HINCKE, M.T.; ARIAS, J.L. et al. Avian eggshell mineralization. **Poultry and Avian Biology Reviews**, v.10, p.143-166, 1999.
- NYS, Y.; REVY, P.S.; JONDREVILLE, C. Zinc, cuivre et manganese en aviculture: role, disponibilidade et risque pour l'environnement. **JOURNÉES DE LA RECHERCHE AVICOLE**, 5., 2003, Tours. **Annales...** Tours, 2003.
- OLIVEIRA, G.E. **Influência da temperatura de armazenamento nas características físico-químicas e nos teores de aminos bioativas em ovos**. 2006. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- PAIK, I. Application of chelated minerals in animal production. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.14, p.191-198, 2001.
- RADWAN, L.M.; GALAL, A.; FATHI, M.M. et al. Mechanical and ultrastructural properties of eggshell in two egyptian native breeds of chicken. **International Journal of Poultry Science**, v.9, n.1, p.77-81, 2010.
- RICHARDS, J.D.; ZHAO, J.Z.; HARREL, R.J. et al. Trace mineral nutrition in poultry and swine. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.23, n.11, p.1527-1534, 2010.
- ROBERTS, J.R. Factors affecting egg internal quality and egg shell quality in laying hens. **Journal of Poultry Science**, v.41, p.161-177, 2004.
- ROBERTS, J.R. Factors affecting egg shell and internal egg quality. In: ANNUAL (ASAIM SE) ASIAN FEED TECHNOLOGY AND NUTRITION WORKSHOP, 18., 2010, Cambodia. **Proceedings...** Cambodia, 2010.
- RODRIGUEZ-NAVARRO, A.; KALIN, O.; NYS, Y. et al. Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. **British Poultry Science**, v.43, p.395-403, 2002.
- ROLAND, D.A. Eggshell breakage: incidence and economic impact. **Poultry Science**, v.67, p.1801-1803, 1988.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2005. 186p.
- RUIZ, J.; LUNAM, C.A. Ultrastructural analysis of the eggshell: contribution of the individual calcified layers and the cuticle to hatchability and egg viability in broiler breeders. **British Poultry Science**, v.41, p.584-592, 2000.
- SALDANHA, E.S.P.B.; GARCIA, E.A.; PIZZOLANTE, C.C. et al. Effect of organic mineral supplementation on the egg quality of semi-heavy layers in their second cycle of lay. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.11, n.4, p.215-229, 2009.
- SECHINATO, A.S.; ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com microminerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.46, n.2, p.159-166, 2006.
- SOLOMON, S.E. **Egg and eggshell quality**. London: Wolfe; 1991. 149p.
- 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.
- VAN TOLEDO, B.; PARSONS, A.H.; COMBS, G.F. Role of ultrastructure in determining eggshell strength. **Poultry Science**, v.61, p.569-572, 1982.
- VIEIRA, S.L. Chelated minerals for poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.10, n.2, p.73-79, 2008.
- ZAMANI, A.; RAHMANI, H.R.; POURREZA, J. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese and zinc improves eggshell quality in laying hens. **Pakistan Journal of Biological Science**, v.8, n.9, p.1311-1317, 2005.

### III- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados do experimento de desempenho produtivo e qualidade dos ovos e da avaliação da ultra-estrutura da casca, conclui-se que os microminerais possuem funções importantes na formação da casca dos ovos. A adição de níveis crescentes dos microminerais Mn, Zn e Cu resultou em melhor qualidade dos ovos, medida em maior peso dos ovos, maior espessura e resistência da casca e na redução do percentual de perda de ovos.

São necessárias mais pesquisas científicas para verificar a viabilidade da suplementação de minerais orgânicos nas dietas para aves e trabalhar com produtos que apresentem uma composição mais detalhada, permitindo reduzir custos na formulação. Mesmo existindo produtos comerciais diferentes e que possuem uma atuação fisiológica diferenciada, de maneira geral, os resultados da suplementação de microminerais em dietas para poedeiras comerciais são promissores pelo efeito positivo que exercem na qualidade da casca dos ovos.