



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**EDIBERGUE OLIVEIRA DOS SANTOS**

**ZINCO E MANGANÊS ORGÂNICOS E VITAMINA D<sub>3</sub> EM RAÇÕES DE  
POEDEIRAS COM IDADE AVANÇADA**

**FORTALEZA**

**2017**

EDIBERGUE OLIVEIRA DOS SANTOS

ZINCO E MANGANÊS ORGÂNICOS E VITAMINA D<sub>3</sub> EM RAÇÕES DE POEDEIRAS  
COM IDADE AVANÇADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.  
Coorientador: Dr. Rafael Carlos Nepomuceno.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S234z Santos, Edibergue Oliveira dos.  
Zinco e manganês orgânicos e vitamina D<sub>3</sub> em rações de poedeiras com idade avançada /  
Edibergue Oliveira dos Santos. – 2017.  
53 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.

Coorientação: Prof. Dr. Rafael Carlos Nepomuceno.

1. desempenho. 2. qualidade da casca. 3. estabilidade lipídica. 4. qualidade óssea. I. Título.

CDD  
636.08

---

EDIBERGUE OLIVEIRA DOS SANTOS

ZINCO E MANGANÊS ORGÂNICOS E VITAMINA D<sub>3</sub> EM RAÇÕES DE POEDEIRAS  
COM IDADE AVANÇADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura.

Aprovada em: 17/07/2017.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Germano Augusto Jerônimo  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Raffaella Castro Lima  
Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

A Deus.

Aos meus pais, José Vandelbergue dos Santos e Antônia Edlane Oliveira de Menezes e as minhas irmãs, Edicleia Oliveira dos Santos, Edicleuma Oliveira dos Santos e Emily Oliveira dos Santos pelo amor, compreensão, carinho, paciência e força durante toda essa caminhada.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter permitido alcançar mais uma etapa da minha vida.

À minha família, em especial ao meu pai José Vandenbergue dos Santos e minha mãe Antônia Edlane Oliveira de Menezes, por todo o carinho e exemplo. Obrigada pela boa educação, pelo amor, pelo constante incentivo e por me ensinar os princípios de vida, dos quais me orgulho de ter.

Às minhas irmãs Edicleia Oliveira dos Santos, Edicleuma Oliveira dos Santos e Emily Oliveira dos Santos, que sempre apoiaram minhas escolhas.

Ao professor e orientador, Ednardo Rodrigues Freitas, exemplo de dedicação à pesquisa científica na avicultura, pela paciência, ensinamentos, amizade e todo o apoio durante esse período, pois esteve sempre disponível para sanar dúvidas desde a realização do experimento até à redação da dissertação, sempre mostrando compromisso e responsabilidade de um bom orientador.

Ao Coorientador Rafael Carlos Nepomuceno pela amizade, pela disponibilidade para sanar dúvidas e por toda a colaboração durante esse período.

Aos demais professores membros da banca examinadora, Germano Augusto Jerônimo do Nascimento, Pedro Henrique Watanabe e professora Raffaella Castro Lima pela disponibilidade e cooperação com o trabalho desenvolvido.

Aos pós doutorandos Fábio Vasconcelos e a Irvila Ricardo pela amizade e contribuições construtivas.

Aos companheiros e amigos de trabalho da pós-graduação Danilo Rodrigues, Davyd Herik, Amanda Virgínia, Carla Cordeiro, Ezequiel Coelho, Germana Aguiar, Marcelle Craveiro, Monik Bueno, Paula Joyce, Herbenson Marques, Heiceane Soares, Polyana Andrade, Samara Dulce. Aos funcionários em nome do Isaías Carlos e Francisco Ormanir.

Aos colegas e amigos que contribuíram de maneira mais próxima para realização do experimento, Nayanna Monteiro, Juliana Arruda, Daniel Oliveira, Camila, Felipe, Rafael Dantas, Cirliane Abreu, Anna kayllyny, Amanda Maciel, Ana Carolina.

Aos meus amigos Alfredo, Danilo, Germano, Isarael, Marcelo, Neto, Ramon, Sebastião Mendes, Tiago, Valsergio e aos demais amigos e amigas, que sempre estiveram do meu lado, nos bons e maus momentos.

À Universidade Federal do Ceará e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação pela oportunidade de realização do curso, aos demais professores, funcionários e colegas que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação (CAPES/MEC), pela concessão da bolsa de estudo durante o período cursado.

À empresa Integral Mix Ltda pela doação dos ingredientes utilizados nas rações.

“Tudo o que a mente humana pode conceber,  
ela pode conquistar.”

Napoleon Hill

## RESUMO

A produção de ovos comerciais apresenta limitações com o avançar da idade das poedeiras, devido ao aumento das perdas de ovos decorrente da má qualidade da casca. Objetivou-se nesse estudo avaliar os efeitos da suplementação dos microminerais orgânicos zinco e manganês e vitamina D<sub>3</sub> nas rações de poedeiras com 86 a 100 semanas de idade. Além de avaliar esses efeitos sobre o desempenho, qualidade de ovos, estabilidade lipídica de ovos armazenados e qualidade óssea. Foram utilizadas 288 poedeiras da linhagem *Dekalb White* com 86 semanas de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos de 6 repetições de 8 aves cada. Os tratamentos foram uma ração controle e rações com suplementações com zinco, manganês, zinco e manganês, vitamina D<sub>3</sub> e zinco, manganês e vitamina D<sub>3</sub>. No desempenho, não houve interação significativa entre os tratamentos e o período de avaliação para nenhuma das variáveis; mas houve diferença significativa sobre o consumo de ração com menores valores para as aves suplementadas com manganês orgânico que apresentaram o menor resultado. Também foi observada diferença significativa entre os períodos para todas as variáveis, com exceção para o peso do ovo. Quanto à qualidade dos ovos não houve interação significativa entre as rações e o período de avaliação para nenhuma das variáveis. Contudo, a alimentação recebida pelas poedeiras influenciou significativamente a espessura da casca, observou-se que a suplementação com zinco e manganês orgânicos, somente com vitamina D<sub>3</sub> ou com zinco e manganês orgânicos e vitamina D<sub>3</sub> resultou em espessura superior a dos ovos oriundos das aves que receberam ração controle, não havendo diferença para as demais variáveis. Para a estabilidade lipídica da gema, medida pelos valores de TBARS, verificou-se que não houve interação significativa entre as rações e tempo de armazenamento. Observou-se também que as diferentes suplementações não influenciaram significativamente a estabilidade lipídica da gema. No entanto, a estabilidade lipídica variou conforme o tempo de armazenamento, havendo aumento dos valores de TBARS com prolongamento do armazenamento até 28 dias. As diferentes suplementações realizadas na dieta não influenciaram nenhuma das variáveis de qualidade óssea, medidas na tíbia e fêmur das poedeiras. A suplementação, associada ou isolada, dos microminerais orgânicos zinco e manganês e de vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>) na dieta de poedeiras em idade avançada não influencia o desempenho, a estabilidade lipídica da gema de ovos frescos e armazenados e a qualidade óssea; porém, a suplementação conjunta de zinco e manganês, somente vitamina D<sub>3</sub>, ou a combinação desses dois minerais orgânicos com vitamina D<sub>3</sub> melhoram a espessura da casca do ovo.

**Palavras-chave:** Desempenho. Qualidade da casca. Estabilidade lipídica. Qualidade óssea.



## ABSTRACT

The production of commercial eggs presents limitations with the advancing age of laying hens, caused by the increase of egg losses due to the poor quality of the eggshell. The objective of this study was to evaluate the effects of supplementation with the organic microminerals zinc and manganese and vitamin D<sub>3</sub> in the diets of laying hens from 86 to 100 weeks of age. In addition to evaluating these effects on performance, egg quality, lipid stability of fresh and stored eggs and bone quality. A total of 288 laying hens of the Dekalb White line were distributed in a completely randomized design with 6 treatments of 6 replicates of 8 hens each, in which they were tested: a control diet and other five diets with the supplements of zinc; manganese, zinc and manganese, vitamin D<sub>3</sub>, zinc, manganese and vitamin D<sub>3</sub>. In the performance, there was no significant interaction between the treatments and the evaluation period for any of the variables, but there was a significant difference in feed intake, with lower values for the Laying hens supplemented with organic manganese showed the lowest result. It was also observed a significant difference between the periods for all variables, except for egg weight. In the evaluation of egg quality there was no significant interaction between diet and the evaluation period for any of the variables. However, the diet offered to laying hens significantly influenced the egg shell thickness, being observed that the supplementation with organic zinc and manganese, with vitamin D<sub>3</sub> alone or with organic zinc and manganese and vitamin D<sub>3</sub> resulted in higher thickness than eggs from the birds that received control diet, with no difference for the other variables. The evaluation of the lipid stability of the yolk, measured by the Tbars values, showed that there was no significant interaction between the diets and storage time. It was also observed that the different supplements did not significantly influence the lipid stability of the egg yolk. However, lipid stability varied according to storage time, with increase of Tbars values with storage prolongation up to 28 days. The different dietary supplements did not influence any of the bone quality variables measured in the tibia and femur of the laying hens. The supplementation, associated or isolated, of organic zinc and manganese microminerals and of vitamin D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>) in the diet of laying hens of old age not influence the performance, lipid stability of fresh and stored egg yolk and bone quality; but supplementation of zinc and manganese alone, vitamin D<sub>3</sub> alone, or the combination of these two organic minerals with vitamin D<sub>3</sub> improve the egg shell thickness.

**Keywords:** Performance. Shell quality. Lipid stability. Bone quality.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais .....	31
Tabela 2- Desempenho de poedeiras leves suplementadas com zinco e manganês orgânicos e vitamina D <sub>3</sub> (25-OHD <sub>3</sub> ) .....	35
Tabela 3- Qualidade de ovos de poedeiras leves suplementadas com zinco e manganês orgânicos e vitamina D <sub>3</sub> (25-OHD <sub>3</sub> ) .....	37
Tabela 4- Valores de TBARS (µg de malondialdeído por g de amostra) em gemas de ovos de poedeiras alimentadas com rações suplementadas com os minerais orgânicos zinco e manganês e a vitamina D <sub>3</sub> (25-OHD <sub>3</sub> ) .....	40
Tabela 5- Qualidade óssea de poedeiras leves suplementadas com zinco e manganês orgânicos e vitamina D <sub>3</sub> (25-OHD <sub>3</sub> ).....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ATP	Trifosfato de Adenosina
CAT	Catalase
CCA	Centro de Ciências Agrárias
CV	Coefficiente de Variação
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
DZ	Departamento de Zootecnia
g	Gramma
GPx	Glutathiona peroxidase
kg	Kilograma
Kgf	kilograma força
Mn	Manganês
mg	Miligrama
NRC	National Research Council
ppm	partes por milhão
PTCa	Proteína Transportadora de Cálcio
RNA	Ácido ribonucleico
SNK	Student-Newman-Keuls
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
UFC	Universidade Federal do Ceará
UH	Unidades Haugh
UI	Unidade Internacional
UV	Ultravioleta
Zn	Zinco

## LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau centígrado
%	Porcentagem
+	Mais
-	Menos
>	Maior que
25-OHD <sub>3</sub>	Hidroxicolecalciferol
1,25-OHD <sub>3</sub>	Dihidroxicolecalciferol

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
2.1	<b>Metabolismo e fisiologia da vitamina D.....</b>	<b>16</b>
2.2	<b>Importância da vitamina D na produção de ovos.....</b>	<b>17</b>
2.3	<b>Exigência de vitamina D e suplementação em rações de poedeiras .....</b>	<b>18</b>
2.4	<b>Microminerais orgânicos na alimentação de poedeiras comerciais .....</b>	<b>20</b>
2.5	<b>Zinco na alimentação de poedeiras .....</b>	<b>21</b>
2.6	<b>Manganês na alimentação de poedeiras .....</b>	<b>23</b>
2.7	<b>Oxidação .....</b>	<b>25</b>
2.8	<b>Estresse oxidativo.....</b>	<b>26</b>
2.9	<b>Sistema de defesa antioxidante .....</b>	<b>27</b>
2.10	<b>Qualidade óssea.....</b>	<b>28</b>
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
5	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de ovos comerciais, caracterizada pelo uso de aves de linhagens melhoradas com aporte nutricional de acordo com a fase de produção associada ao manejo e estado sanitário adequados, apresenta limitações com o avançar da idade das aves, devido ao aumento das perdas de ovos decorrente da má qualidade da casca (FASSANI *et al.*, 2000). Aproximadamente 15% de todas as perdas na produção de ovos estão diretamente ligadas à qualidade da casca do ovo (COUTTS *et al.*, 2007).

Com o decorrer da idade, o peso do ovo aumenta, sem, no entanto, aumentar a deposição de cálcio; tendo como consequência a produção de ovos com casca mais fina. Isso demanda uma alimentação balanceada de acordo com a necessidade nas diferentes fases de postura. A ave deve receber a quantidade necessária dos nutrientes que participam nos processos bioquímicos do organismo, como os minerais e vitaminas, que juntos merecem destaque na formação da casca do ovo.

A vitamina D<sub>3</sub> é essencial para a absorção intestinal e metabolismo do cálcio, sua forma ativa promove a síntese da proteína responsável pelo transporte de cálcio no intestino e, provavelmente no útero (PLAIMAST *et al.*, 2015). Alguns estudos relataram melhor qualidade de casca quando as aves foram suplementadas com vitamina D<sub>3</sub> ou seus metabólitos (NASCIMENTO *et al.*, 2014; PLAIMAST *et al.*, 2015; ZANG *et al.*, 2011). A inclusão de metabólitos da vitamina D<sub>3</sub> na dieta pode aumentar o efeito da vitamina D<sub>3</sub> devido à sua pronta disponibilidade, poupando a cadeia de reações necessárias para a síntese do metabólito ativo.

Sabe-se também que os microminerais são importantes para a qualidade da casca do ovo (VENGLOVSKÁ *et al.*, 2014), além de atuarem como cofatores enzimáticos de diversos processos metabólicos. Dessa forma, o número de pesquisas sobre a relação entre microminerais com a qualidade da casca do ovo e óssea tem ganhado importância.

O zinco e o manganês como cofatores de metaloenzimas são responsáveis pela síntese de carbonatos e mucopolissacarídeos, desempenhando um papel importante na formação da casca do ovo (SWIATKIEWICZ; KORELESKI, 2008). Além disso, esses minerais atuam como cofatores enzimáticos da enzima superóxido dismutase, que é fundamental para a manutenção do equilíbrio da quantidade de radicais livres no organismo. Essa ação apresenta importância fisiológica para poedeiras em idade avançada, visto que, segundo Bonatto *et al.* (2004), quanto maior a idade do animal maiores as chances de problemas devido ao estresse oxidativo.

O estado antioxidativo de codornas submetidas ao calor foi favorecido com a suplementação de zinco (SAHIN *et al.*, 2005). O manganês, por sua vez, participa ativamente do processo de deposição da casca e é essencial para a atividade fisiológica normal das aves (FASSANI *et al.*, 2000). A deficiência de manganês pode aumentar a incidência de ovos com casca mole ou sem casca (SCOTT *et al.*, 1982), além de resultar em ovos com menor teor de hexosamina e ácido hexurônico do que as produzidas por aves com suprimento normal de manganês (LEACH JÚNIOR; GROSS, 1983).

Deve-se considerar que, mesmo fornecendo a quantidade requerida pelas aves, os minerais podem não ser bem disponibilizados devido à competição por sítios de absorção. No entanto, a utilização de fontes de minerais orgânicos ou quelatadas são alternativas para aumentar a absorção ou metabolização desses microminerais, devido à perspectiva de serem mais biodisponíveis, uma vez que utilizam outros canais de absorção e apresentam maior estabilidade. Os minerais orgânicos são absorvidos por carreadores intestinais de aminoácidos e monossacarídeos, e não por transportadores intestinais de minerais, o que evita a competição entre minerais pelos mesmos mecanismos de absorção (FIGUEIREDO JÚNIOR *et al.*, 2012; GRAVENA *et al.*, 2011).

Diante dos possíveis benefícios para a eficiência da produção de ovos, objetivou-se nessa pesquisa avaliar os efeitos da suplementação com os microminerais orgânicos zinco e manganês, bem como o metabólito de vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>) nas rações de poedeiras leves com 86 a 100 semanas de idade sobre o desempenho, qualidade dos ovos frescos, estabilidade dos lipídios da gema durante o armazenamento e qualidade óssea da tíbia e do fêmur.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Metabolismo e fisiologia da vitamina D

De forma geral as vitaminas são substâncias exigidas em pequenas quantidades e exercem funções metabólicas, sendo encontradas em diversas concentrações em vários alimentos, porém em quantidade inferior ao que é requerido pelo metabolismo no organismo animal (LEESON; SUMMERS, 2009). Por sua vez, a vitamina D, além de encontrada nos alimentos, também pode ser obtida por meio da síntese de seus metabólitos ativos e precursores, na superfície da pele mediante exposição da luz ultravioleta. Contudo, a quantidade de vitamina D<sub>3</sub> produzida no organismo não é suficiente para atender as exigências metabólicas das aves em produção (LEESON, 2007).

O termo vitamina D engloba o ergocalciferol ou vitamina D<sub>2</sub> proveniente das plantas, e colecalciferol ou vitamina D<sub>3</sub> proveniente do organismo animal. A vitamina D<sub>3</sub> é obtida pela exposição da superfície da epiderme a ação da luz ultravioleta (UV 295-300 nm), transformando o 7-dehidrocolesterol em colecalciferol (Vitamina D<sub>3</sub>), que é liberado no meio extracelular e posteriormente passa para a corrente sanguínea (SEPÚLVEDA; ROSALES, 2014).

A manutenção da concentração extracelular de cálcio ocorre através de um complexo mecanismo de retroalimentação que envolve o sistema intestinal, renal, ósseo e hormônios como paratormônio, calcitonina e 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

A absorção de vitamina D, oriunda dos alimentos, por ser lipossolúvel é realizada por solução micelar no intestino (BONDI, 1988). Na corrente sanguínea, o colecalciferol, metabólito da vitamina D, é transportado na forma de portomicrons para o fígado, onde ocorre uma hidroxilação formando 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>), que poderá sofrer uma segunda hidroxilação no rim produzindo a forma ativa 1-25-dihidroxicolecalciferol ou calcitriol, estando capacitada para realizar funções hormonais (KANIS, 1982; BIEHL; BAKER, 1997). Entretanto, se não houver necessidade da segunda hidroxilação na posição 1, irá ocorrer uma hidroxilação na posição 24 formando a forma inativa 24,25-dihidroxicolecalciferol (RUTZ, 2008).

O equilíbrio da quantidade de vitamina D no organismo é realizado por fatores como a presença de 1-25-dihidroxicolecalciferol, paratormônio, calcitonina, outros hormônios e níveis de íons de cálcio e fosfato na corrente sanguínea (SEPÚLVEDA; ROSALES, 2014). A síntese de vitamina D<sub>3</sub> é estimulada pelo paratormônio quando há redução da quantidade de



íons de cálcio, o que leva a um aumento na função renal da enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase. A enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase renal é responsável pela ativação da molécula no rim sendo controlada principalmente pelo paratormônio e os níveis de cálcio e fósforo (LUCA, 2008). Quando o nível de fosfato sérico é baixo, um mecanismo desconhecido aparentemente associado com um hormônio da glândula pituitária aumenta a síntese de 1- $\alpha$ -hidroxilase. Por outro lado, o paratormônio estimula diretamente a absorção de cálcio no intestino e sua utilização na formação do osso (BONDI, 1988).

## 2.2 Importância da vitamina D na produção de ovos

A vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) é um hormônio esteroide que tem como principal função regulação do metabolismo do cálcio e fósforo no organismo das aves, mantendo a homeostase desses minerais, através da sua interação com as paratireoides, os rins e os intestinos (ARNSON, 2007; BERTECHINI, 2012), sendo essencial para manter a qualidade óssea e formação da casca dos ovos (HUOPALAHTI *et al.*, 2007), pois atua na absorção de cálcio e fósforo no intestino, reabsorção no rim, mineralização e desmineralização dos ossos (ATENCIO, 2006).

Nas células endoteliais do intestino, a 1-25-hidroxicolecalciferol estimula a absorção ativa de cálcio no duodeno, regulada pelo estímulo à expressão de proteínas responsáveis pela captação do cálcio pelos enterócitos, de proteínas envolvidas no transporte intracelular do cálcio (calbindina ou proteína transportadora de cálcio, PTCa) e dos canais de membrana ATP-dependentes para a extrusão do cálcio para o fluido extracelular. No jejuno, a absorção é passiva, de modo que a 1-25-hidroxicolecalciferol estimula a expressão de paracelinas, proteínas intercelulares que formam canais por onde o cálcio é transferido passivamente por gradiente de concentração (CASTRO, 2011).

A vitamina D ativa no útero estimula a produção de proteínas de ligação ao cálcio (CaBP) indispensável na absorção do cálcio para a formação da casca do ovo (CORRADINO, 1968). Quando a vitamina D ativa está em excesso, é armazenada no tecido adiposo (ATENCIO, 2006).

Também buscando manter a homeostase de cálcio no corpo, a vitamina D atua na mobilização do cálcio a partir do osso, na presença do paratormônio, e aumenta a reabsorção renal de cálcio no túbulo distal (ABREU *et al.*, 2009). Para a manutenção do osso medular é necessária a suplementação de cálcio e da vitamina D ativa (NEWMAN; LEESON, 1999). Durante o período de formação do ovo, o osso medular é formado e reabsorvido pelos

osteoclastos e osteoblastos, respectivamente. Antes da entrada do ovo na glândula de formação da casca, a formação do osso medular pelos osteoblastos é induzida em resposta da secreção de estrógenos pelos folículos maduros e a ligação de receptores específicos ocorre principalmente na membrana plasmática dos osteoblastos. Durante a calcificação da casca, a concentração de íons de cálcio diminui no plasma, o que induz a secreção de paratormônio (WALZEM *et al.*, 1999) e se liga a receptores específicos, no tempo requerido para a reabsorção dos osteoclastos (YASUOKA, 1996; SUGIYAMA, KUSUHARA, 2001). A glândula paratireoide é sensível a pequenas variações na concentração de cálcio iônico nos fluidos extracelulares, e quando as concentrações caem, o paratormônio é secretado e ele ativa a vitamina D<sub>3</sub> (OMDAH; LUCA, 1973). Os hormônios gonadais e 1-25-hiroxicolicalciferol são importantes na formação do osso medular e o paratireoide na reabsorção do osso (DACKE, 1993; ELIAM, 1988).

Galinhas poedeiras que produzem ovos com cascas normais possuem maior atividade da enzima 1-hidroxilase renal e concentrações plasmáticas de 1-25-hiroxicolicalciferol e de calbindina duodenal e uterina superiores às de poedeiras que produzem ovos sem casca (SALVADOR *et al.*, 2009). Yoshimura *et al.* (1997) constaram que os receptores de vitamina D<sub>3</sub> estão mais concentrados no útero do que em outros segmentos do oviduto de poedeiras em produção. Segundo Leeson e Summers (2001), o 25-OHD<sub>3</sub> pode ser 200 vezes mais efetivo que o colecalciferol na absorção intestinal de cálcio, sendo importante tanto na prevenção de problemas ósseos quanto na espessura da casca dos ovos.

Galinhas poedeiras na fase de postura apresentam altos níveis de 1-25-hiroxicolicalciferol quando o cálcio está sendo mobilizado do osso medular para a formação da casca do ovo (BONDI, 1988). Existe uma interação endócrina sobre determinados órgãos para a síntese da casca do ovo e com o avançar da idade ocorre uma redução da produção de estrogênio e do metabólito ativo da vitamina D (BAHR; JONHSON, 1991). Dessa forma, a suplementação de vitamina D em aves mais velhas pode ser uma possibilidade de reduzir possíveis falhas na formação da casca dos ovos.

### **2.3 Exigência de vitamina D e suplementação em rações de poedeiras**

A vitamina D<sub>3</sub> pode ser sintetizada na pele, catalisada a partir de 7-dihidrocolesterol presente na derme e na epiderme ou podem ser fornecidos na ração. Como as poedeiras comerciais são mantidas dentro de galpões, e conseqüentemente não conseguem converter 7-dihidrocolesterol em níveis suficientes para fornecer sua vitamina D<sub>3</sub> exigida, esta é adicionada na alimentação aves, o que é essencial para produção de ovos e formação de casca

de ovo (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Existem divergências nas recomendações de vitamina D para alimentação de aves. Segundo o NRC (1994), a recomendação dessa vitamina para poedeiras leves na fase de postura é de 375 UI/kg, enquanto que Rostagno *et al.* (2011) recomendam 2.000 UI/kg. Devido à grande importância da vitamina D no pleno funcionamento do organismo, diversos experimentos têm sido realizados avaliando níveis de suplementação e seus efeitos sobre a qualidade da casca do ovo, buscando reduzir perdas dos ovos por problemas de casca.

Mattila *et al.* (2004), ao avaliarem a suplementação do ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>) ou colecalciferol (6.000 ou 15.000 UI/kg) em dietas de poedeiras no período de 20 a 68 semanas de idade, não verificaram efeito negativo sobre o desempenho e qualidade dos ovos. Contudo, constataram aumento da concentração de vitamina D em gemas no tratamento com suplementação de colecalciferol e não verificaram efeito negativo sobre o desempenho e qualidade dos ovos.

Panda *et al.* (2006) conduziram experimento para elucidar o efeito de níveis graduados de vitamina D<sub>3</sub> (colecalciferol) na linhagem *Leghorn White* (72 - 88 semanas). Verificaram que o peso da casca do ovo, a espessura da casca, a resistência à ruptura da tíbia, a cinza óssea e o teor de cálcio não foi influenciado pela concentração de vitamina D<sub>3</sub> na dieta. Contudo, houve aumento na concentração sérica de cálcio das aves alimentadas com dieta contendo 2.400 UI/kg de vitamina D<sub>3</sub> em comparação com outros grupos dietéticos.

Torres *et al.* (2009) realizaram pesquisa com poedeiras suplementando colecalciferol ou 25-hidroxicolecalciferol em aves de 32 a 67 semanas de idade e verificaram efeito positivo do 25-hidroxicolecalciferol na casca do ovo com 60 semanas de idade, porém sem qualquer influência no desempenho.

Salvador *et al.* (2009), em experimento com suplementação de colecalciferol ou 25-hidroxicolecalciferol (2.756 UI/kg) em dieta de poedeiras ISA Babcock B300, observaram melhor porcentagem e espessura da casca do ovo e conversão alimentar, no período de 23 a 34 semanas de idade, das aves cuja dieta continha 25-hidroxicolecalciferol. Koreleski e Swiatkiewicz (2005), ao avaliarem a utilização colecalciferol (1.500 IU/kg) com substituições de 25, 50, 75 e 100% de 25-hidroxicolecalciferol em dieta de poedeiras entre 26<sup>a</sup> a 70<sup>a</sup> semanas de idade, observaram efeito positivo da utilização do 25-hidroxicolecalciferol na qualidade da casca do ovo quando as aves estavam mais velhas, no período de 66-70 semanas; porém não encontram diferenças no desempenho e resistência da tíbia. Estes mesmos autores observaram efeito positivo da utilização do 25-hidroxicolecalciferol na qualidade da casca do ovo quando as aves estavam mais velhas, no período de 66-70 semanas.

Zang *et al.* (2011), ao trabalharem com poedeiras com 25 semanas de idade, verificaram que a adição de 25-hidroxicolecalciferol aumentou significativamente a força da casca do ovo e a concentração de 25-hidroxicolecalciferol no ovo. Em poedeiras Dekalb White de 24 a 40 semanas de idade, a suplementação a partir de 50% de 25-hidroxicolecalciferol em associação com colecalciferol aumentou a porcentagem de casca do ovo (RIVERA *et al.*, 2014).

Plaimast *et al.* (2015) trabalharam com poedeiras semipesadas de 98 a 106 semanas de idade e observaram uma melhor qualidade da casca de ovo quando as aves foram alimentadas com dietas contendo 6000 UI/kg, porém alto nível de vitamina D<sub>3</sub> não melhorou desempenho e nem a digestibilidade de Ca. Nascimento *et al.* (2014) ao testarem três fontes de vitamina D (colecalciferol, 25-hidroxicolecalciferol e 1-25-hidroxicolecalciferol) e três níveis de cálcio (2,85; 3,65; 4,45 e 5,25%) em dieta de poedeiras Hy-Line W36 com 80 semanas de idade, constataram que o colecalciferol e 25-hidroxicolecalciferol melhoraram a produção, desempenho e qualidade dos ovos, enquanto que a resistência óssea e níveis séricos de cálcio não foram influenciados pelas fontes de vitamina D.

#### **2.4 Microminerais orgânicos na alimentação de poedeiras comerciais**

Os minerais são essenciais para a nutrição animal, tendo diversas funções no organismo. O tecido ósseo é constituído principalmente pelos macromelementos Ca e P, enquanto os microelementos participam principalmente como agentes catalíticos nas reações do metabolismo (BERTECHINI, 2012). Como exemplo, zinco e manganês são cofatores enzimáticos na síntese de mucopolissacarídeos e carbonato, que são essenciais para a formação e qualidade da casca do ovo (SWIĄTKIEWICZ; KORELESKI, 2008).

Nas formulações de rações para animais as fontes inorgânicas de minerais são majoritariamente utilizadas. No entanto, para que os minerais sejam absorvidos no trato gastrointestinal, estes precisam ser solubilizados na forma iônica. Todavia, devido à carga elétrica, pode interagir com outros nutrientes da dieta tornando-se indisponível, resultando em quantidades fornecidas nas dietas geralmente superiores à exigência do animal (CLOSE, 1998).

Para aumentar a eficiência de uso dos minerais presentes nos alimentos tem-se utilizado fontes orgânicas de minerais, pois se espera que sejam mais biodisponíveis do que os oriundos das fontes inorgânicas, promovendo maior absorção e retenção no organismo, aumentando assim a eficiência de utilização.

Minerais orgânicos são resultantes da ligação entre estes a um aminoácido ou polissacarídeo que possui capacidade de se ligar ao metal por ligações covalentes, através de

grupamentos aminos ou oxigênio, formando uma estrutura cíclica (LEESON; SUMMERS, 2001).

Os minerais orgânicos, ao invés de utilizar as vias normais de captação de íons no intestino delgado, usadas pelos minerais inorgânicos, são capazes de utilizar vias de captação de aminoácidos ou monossacarídeos (KIEFER, 2005). Desse modo, os minerais orgânicos não competem com os minerais inorgânicos pelo transportador, sítios de absorção, (GRAVENA *et al.*, 2011) aumentando assim sua biodisponibilidade e favorecendo o melhor aproveitamento pelo organismo. A utilização desses minerais é uma alternativa para reduzir a concentração de minerais nas dietas e sua excreção no meio ambiente, por meio da maior eficiência de absorção, evitando problemas na produção, visto que os minerais na forma orgânica apresentam maior absorção (FIGUEIREDO JÚNIOR *et al.*, 2012).

A baixa absorção de microminerais devido à formação de complexos com outras substâncias no trato digestivo das aves reduzindo a solubilidade dos elementos pode proporcionar piora na qualidade da casca do ovo, aumentando o interesse na utilização das formas que aumentem a metabolização de microminerais (MABE, 2001).

Segundo Furtado *et al.* (2001), problemas relacionados à qualidade da casca do ovo têm ocasionado diversas perdas que podem ser resultado da nutrição inadequada associada ou não a idade das aves. Nesse sentido, uma alimentação adequada e nutricionalmente equilibrada permite uma maximização do desempenho das aves (ARAÚJO *et al.*, 2008).

Várias pesquisas são desenvolvidas com a utilização de microminerais orgânicos e inorgânicos, individualmente ou em associação (MABE *et al.*, 2003; MACIEL *et al.*, 2010; SALDANHA *et al.*, 2009; SECHINATO *et al.*, 2006). Todavia, os resultados presentes na literatura em relação à utilização de diferentes fontes de microminerais como Zn e Mn em rações para poedeiras em relação à qualidade da casca ainda são controversos. De acordo com Saldanha *et al.* (2009), a falta de resultados mais significativos em termos de qualidade dos ovos quanto à utilização de microminerais pode ser explicado devido ao possível excesso de suplementação dos microminerais e das diferenças entre as fontes e entre os níveis utilizados nos diferentes estudos.

## **2.5 Zinco na alimentação de poedeiras**

O zinco é um micromineral componente de muitas metaloenzimas, como cobre-zinco superóxido dismutase, anidrase carbônica, álcool desidrogenase, carboxipeptidase, fosfatase alcalina e RNA polimerase, as quais afetam o metabolismo dos carboidratos, das

proteínas, dos lipídios e dos ácidos nucleicos. Este mineral também é componente da timosina, hormônio produzido pelas células tímicas que regulam a imunidade mediada por células (GOFF, 2006). Ainda segundo os mesmos autores, o zinco atua também na defesa imune do organismo e cicatrização, pois é necessária para o funcionamento adequado de linfócitos e fibroblastos.

De acordo com Christian e West (1998), o zinco influencia o metabolismo da vitamina A, participando dos processos de absorção, transporte e utilização da vitamina, pela ação na conversão do retinol em retinal, pois esta reação necessita de enzimas dependentes do zinco.

Segundo Leeson e Summers (2001), em 1940, foi constatado que a metaloenzima anidrase carbônica continha 0,33% de Zn, enzima que atua na calcificação dos ossos e na formação da casca do ovo, catalisa a quebra do ácido carbônico em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. Demonstrou-se a importância do mineral na transferência de íons bicarbonato do sangue para a glândula da casca (MABE *et al.*, 2003). Além disso, o zinco é necessário para o crescimento, manutenção, desenvolvimento ósseo, emplumar, estrutura enzimática e função e regulação do apetite para todas as espécies aviárias (BATAL *et al.*, 2001).

No trato gastrointestinal, o zinco é absorvido no intestino delgado, por difusão passiva e mediado por carreadores localizados na borda em escova do enterócito. Em condição de homeostase do zinco no organismo, a absorção é feita pela proteína chamada de metalotioneína, presente nas células da mucosa, cuja síntese é regulada pela concentração de zinco no plasma (MAFRA; COZZOLINO, 2004).

O zinco ligado a metalotioneína permanece no enterócito e pela regulação da quantidade de metalotioneína do enterócito o organismo consegue controlar a quantidade zinco dietético que é absorvido. Por outro lado, quando há deficiência de zinco, a absorção nos enterócitos é mediante transporte realizado por proteína intestinal rica em cisteína. Há de se considerar que a absorção do zinco da dieta pode ser comprometida mediante a presença de outros componentes da dieta como fitatos, gorduras saturadas, cobre e cromo. Após a absorção, o zinco liga-se a albumina ou transferrina para ser transportado no plasma (COZZOLINO, 2012; MAIORKA; MACARI, 2002; GOFF, 2006).

Este mineral atua também na defesa imune do organismo e cicatrização, pois é necessário para o funcionamento adequado de linfócitos e fibroblastos. Segundo o NRC (1994), a recomendação de zinco para poedeiras leves na fase de postura é de 44 mg/kg, enquanto que Rostagno *et al.* (2011) recomendam 72 mg/kg. Frente a disparidade das recomendações, várias pesquisas são realizadas visando obter informações sobre o efeito em diferentes níveis de

suplementação e diferentes fontes sobre o desempenho das aves em diferentes idades.

Em estudo realizado por Stevenson (1985), níveis de 100 ou 200 mg de Zn/kg não apresentaram influência na espessura da casca do ovo. Da mesma forma, Sechinato *et al.* (2006) avaliaram a utilização de minerais orgânicos e não encontraram quaisquer efeitos da suplementação sobre o desempenho e a produção de ovos de poedeiras com 48 a 60 semanas de idade em comparação à fonte inorgânica.

Guo *et al.* (2002) determinaram que 80 mg de Zn/kg na dieta é necessário para obter boa qualidade de casca de ovo em galinhas com 55 e 59 semanas de idade.

Indowu *et al.* (2011) realizaram a suplementação de zinco na dieta de poedeiras a partir da dieta controle baseada nas recomendações do NRC (1994), onde testaram como fontes: óxido de zinco, sulfato de zinco, carbonato de zinco, cloreto de zinco e proteinato de zinco (Bioplex Zinc,) de forma que as dietas continham 140 mgZn/kg. Para melhor postura, maior retenção de zinco na tíbia e alívio do estresse, 140 ppm de Zn em forma bioplex (Zn proteinato) foi recomendado para galinhas poedeiras nos trópicos.

## **2.6 Manganês na alimentação de poedeiras**

O manganês é um micromineral essencial para a atividade metabólica das aves, estando relacionado com a atividade de enzimas, com as metaloenzimas: arginase, glutamina sintetase, manganês superóxido dismutase e piruvato carboxilase. Essas metaloenzimas são essenciais para os sistemas imunológico, reprodutivo e digestivo, o crescimento ósseo, o metabolismo celular e a proteção contra espécies reativas de oxigênio (TRZECIAK *et al.*, 2000). Pode-se destacar ainda a sua atuação na fosforilação oxidativa na mitocôndria, para a síntese de ácidos graxos e incorporação de acetato no colesterol (LEESON; SUMMERS, 2001), além de estar diretamente ligado à formação da casca em virtude da sua presença nas moléculas de mucopolissacarídeos, de forma que a deficiência desse mineral pode comprometer a formação da camada mamilar da casca.

Nas células, o manganês é encontrado em sua maior parte nas mitocôndrias; dessa forma, órgãos que têm grande quantidade de mitocôndrias, como fígado, rins e pâncreas possuem alta quantidade deste micromineral enquanto que a quantidade presente no plasma é muito baixa (COZZOLINO, 2012).

A suplementação de manganês na forma de fontes inorgânicas em dietas à base de milho e farelo de soja tem levado a interações com fitatos, além de possíveis competições por sítios de absorção com os íons de cálcio, devido aos altos teores desse macromineral na dieta,

que conjuntamente podem reduzir a biodisponibilidade do manganês para aves (FASSANI *et al.*, 2000).

De acordo com Leeson e Summers (2001), ocorre pouca absorção do manganês pelo trato intestinal, sendo questionável o percentual do manganês presente nos alimentos que se tornam disponíveis para as aves. Segundo os autores supracitados, a absorção e excreção parecem ser dependentes da formação de um quelato natural especialmente com sais biliares. Segundo estes mesmos autores, mudanças marcantes têm sido notadas na distribuição do manganês no organismo com o uso de quelatos artificiais, em momentos de deficiência na dieta, a fonte mais rica em manganês no organismo das aves é o osso, com cerca de 3 a 4 µg/g.

As recomendações de exigência de manganês variam entre as fontes. A exigência considerada pelo NRC (1994) de manganês para poedeiras leves na fase de postura é de 25 mg/kg, enquanto que Rostagno *et al.* (2011) recomendam 77 mg/kg. Diante da importância do mineral no organismo animal, várias pesquisas têm sido realizadas objetivando obter mais informações sobre o efeito de diferentes níveis de suplementação e diferentes fontes sobre o desempenho das aves em diferentes idades.

Este micromineral possui grande importância no controle do estresse oxidativo pois é cofator da enzima superóxido dismutase que é responsável pela proteção de mitocôndrias contra os processos oxidativos (POPHAL; SUIDA, 2006).

Leach Júnior e Gross (1983) observaram que poedeiras alimentadas com dietas deficientes em manganês produziam ovos com cascas mais finas, áreas translúcidas e anormalidades particularmente na camada mamilar da casca, corroborando com Fassani *et al.*, (2000) que suplementaram poedeiras após muda forçada com manganês e obtiveram maior espessura da casca dos ovos.

Xiao *et al.* (2014) investigaram o efeito da suplementação de manganês (sulfato de manganês monohidratado.) nos níveis: 0, 25 e 100 ppm em poedeiras (*Hy-Line Gray*) de 50 a 62 semanas de idade e verificaram que o manganês pode afetar as concentrações de glicosaminoglicano e ácidos urônicos na membrana da casca do ovo, que podem influenciar na resistência à ruptura e espessura da casca.

Considerando que o manganês é um constituinte essencial da enzima superóxido dismutase, responsável pela proteção das mitocôndrias, pode-se dizer que esse micromineral tem um papel antioxidante em uma variedade de células, incluindo neurônios do sistema nervoso central (COZZOLINO, 2012), mostrando sua importância no controle do estresse oxidativo.



## 2.7 Oxidação

O oxigênio é essencial no metabolismo celular aeróbio, pois é utilizado na respiração da célula que ocorre nas mitocôndrias para a produção de energia (ANDRADE; MARREIRO, 2011). Entretanto, esse metabolismo, conseqüentemente, leva à formação de radicais livres, podendo conduzir a condição de estresse oxidativo, porque as espécies reativas de oxigênio semirreduzido, superóxido e peróxido de hidrogênio são produzidas durante a respiração celular nas mitocôndrias (URSO *et al.*, 2003).

Nos organismos aeróbios, o oxigênio consumido é reduzido à água na mitocôndria. A enzima responsável por catalisar esta reação é a citocromo oxidase e que impede a produção elevada de espécies reativas de oxigênio nas mitocôndrias celulares (KOURY; DONANGELO, 2003). No entanto, segundo Halliwell e Gutteridge (1989), de 2% a 5% do oxigênio consumido pelos organismos gera espécies reativas de oxigênio, íon superóxido e de peróxido de hidrogênio nestas organelas.

Segundo Belló (2002), os efeitos da oxidação variam de acordo com o tipo de organismo, seu estado fisiológico, suas defesas antioxidantes e sua dieta assim como de acordo com os diferentes tecidos do organismo.

As espécies reativas de oxigênio são átomos, íons ou moléculas que contêm oxigênio com um elétron não pareado em sua órbita externa. São caracterizadas por apresentar grande instabilidade e conseqüentemente elevada reatividade, logo tendem a ligar o elétron não pareado com outros presentes em estruturas próximas de sua formação, comportando-se como receptores (oxidantes) ou como doadores (redutores) de elétrons (KOURY; DONANGELO, 2003). A formação de espécies reativas de oxigênio é um processo normal e elas são constantemente formadas no organismo, ocorrendo, por exemplo, durante a fagocitose realizada pelos neutrófilos, monócitos e macrófagos, no combate a micro-organismos invasores (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

O radical hidroxila (OH) é uma espécie reativa de oxigênio muito prejudicial ao organismo, pois reage com a maioria dos compostos orgânicos essenciais à integridade e função das biomoléculas dos organismos vivos, ocasionando danos nas células (LEHNINGER *et al.*, 1998). Os radicais livres podem atacar todas as principais classes de biomoléculas, sendo os lipídios os mais suscetíveis. Os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) das membranas celulares são rapidamente atacados por radicais oxidantes. A destruição oxidativa dos PUFA, conhecida como peroxidação lipídica, é bastante lesiva por ser uma reação de autopropagação na membrana celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

O processo de oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para consumo, provocando outras alterações que afetam a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, além de afetar a integridade e segurança dos alimentos, por conta da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2006).

## 2.8. Estresse oxidativo

O termo estresse oxidativo refere-se ao desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio tais como os ânions superóxido, radicais hidroxil (radicais livres), peróxido de hidrogênio e as atividades de defesa antioxidantes (ARUOMA *et al.*, 1998). Quando os níveis das espécies reativas de oxigênio ultrapassam a capacidade antioxidante dos tecidos e dos fluídos corporais, é possível que estes danifiquem macromoléculas biológicas, o que leva a danos celulares, disfunções, prejudicando a produtividade (MATES *et al.*, 1999).

Em condições normais, a formação de radicais livres é inevitável durante os processos metabólicos, pois são necessários no processo de respiração celular que ocorre nas mitocôndrias, atuando como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas, a fim de gerar trifosfato de adenosina (ATP) através da cadeia transportadora de elétrons (BARBOSA *et al.*, 2010). Contudo, a produção em excesso pode conduzir a danos oxidativos (SHAMI, *et al.*, 2004), caracterizando o processo de estresse oxidativo.

Este processo ocorre devido ao desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração de radicais livres ou em detrimento da remoção desses, que leva a oxidação de biomoléculas e, conseqüentemente, interferência nas suas funções no organismo (HALLIWELL *et al.*, 2004), o que pode implicar em numerosas enfermidades (GREEN *et al.*, 2004).

Segundo Barreiros *et al.* (2006), entre os danos mais graves causados pelo excesso de radicais livres ao organismo estão os danos causados ao DNA, às enzimas, nas membranas celulares e no sangue. Conforme os mesmos pesquisadores, as proteínas, fosfolipídios, glicoproteínas e os glicolipídios das membranas são alguns dos potenciais alvos dos radicais livres e, uma vez que a membrana celular está lesionada, as estruturas celulares dos órgãos ficam expostas, tornando-se vulneráveis, inclusive o DNA, que pode gerar mutações genéticas que desfavoreçam a regulação do ciclo celular.

De acordo com Bonatto *et al.* (2004), os danos causados pelo estresse oxidativo são maiores com o decorrer da idade do animal, pois quanto maior a idade maior será a exposição

do sistema biológico a condições oxidativas.

O envelhecimento é consequência do acúmulo de lesões nas moléculas biológicas provocadas por radicais livres, que conduz a perda da funcionalidade e a doenças com o aumento da idade (HARMAN, 1956; MOTA *et al.*, 2004). Com avançar da idade, o estresse oxidativo tem maiores efeitos sobre o organismo merecendo maior atenção para com o auxílio de uma adequada nutrição manter um adequado desempenho dos animais.

## 2.9 Sistema de defesa antioxidante

O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir ou reduzir os danos causados pelos radicais livres e divide-se em enzimático e não enzimático. O último é constituído por substâncias antioxidantes, que podem ter origem endógena ou dietética. Substâncias antioxidantes, estando presentes em menores concentrações que as do substrato oxidável, são capazes de atrasar ou inibir a oxidação deste de maneira eficaz (BARBOSA *et al.*, 2010).

O sistema de defesa enzimático inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) que realizam mecanismos de controle da formação de radicais livres para que ocorra um equilíbrio da quantidade no organismo (BARBOSA *et al.*, 2010; CAROCHO, 2013).

Os microminerais também são essenciais componentes de enzimas que participam do sistema de defesa antioxidante. A enzima superóxido dismutase é dependente de cobre, zinco e manganês, enquanto a glutathiona peroxidase é dependente do selênio e a catalase do ferro (EVANS; HALLIWELL, 2001).

A enzima superóxido dismutase pode ser encontrada no citoplasma tendo o cobre e zinco como cofatores enzimáticos, sendo também encontrada na mitocôndria utilizando o manganês como cofator (BARBOSA *et al.*, 2010).

Zhu *et al.* (2016) avaliaram a suplementação de manganês em frangos de corte em arranjo fatorial de 2 temperaturas ambientais, (21°C e alta, 32°C) × 3 tratamentos com manganês (dieta sem suplementação; dieta suplementada com 120 ppm de manganês inorgânico ou dieta suplementada com manganês orgânico). Os autores observaram que com o aumento da temperatura houve uma maior atividade da enzima manganês superóxido dismutase ( $P < 0,05$ ) independente da fonte.

Sahin *et al.* (2005) avaliaram a suplementação de picolinato de zinco e sulfato de zinco sobre o crescimento e status antioxidante em codornas japonesas criadas sob tensão de

calor (34°C) e verificaram que a suplementação dietética de zinco oferece uma maneira viável de reduzir as perdas de desempenho de codornas japonesas criadas sob estresse térmico, ressaltando a importância dos microminerais no sistema de defesa antioxidante enzimático do organismo.

## 2.10 Qualidade óssea

A estrutura óssea das aves tem diversas funções, como sustentar o organismo, proteger os órgãos vitais. Além de possibilitar a locomoção, armazenar cálcio para a demanda nos processos fisiológicos (HESTER *et al.*, 2011) como a formação da casca do ovo, quando parte do cálcio é proveniente da reabsorção do cálcio do osso. A rigidez do tecido ósseo é resultante da deposição de cálcio e fósforo, na forma de hidroxiapatita, durante o processo de mineralização óssea (ALMEIDA *et al.*, 2009).

A absorção de cálcio e fósforo no epitélio intestinal aumenta 3 a 4 vezes na presença de vitamina D (LEESON; SUMMERS, 2001). Sua forma ativa promove a síntese de proteínas que participam da captação de cálcio no intestino e estimulam a reabsorção óssea quando necessário (EDWARDS, 2000).

Por meio da manipulação adequada dos nutrientes da ração é possível preservar a massa óssea e manter a resistência dos ossos. Para isso, é fundamental que as aves disponham de níveis adequados de nutrientes principalmente cálcio, fósforo e vitamina D devido à função destes na manutenção óssea, pois além de estimular a mineralização também estimula a reabsorção óssea quando necessário (RATH *et al.*, 2000; WHITEHEAD, 2004).

Almeida *et al.* (2009) realizaram ensaio com níveis adequados (3,8%) e baixos (1,8%) de cálcio e concluíram que as aves mobilizam minerais ósseos para a produção de ovos, independentemente do nível de cálcio na dieta a qualidade da casca dos ovos das aves alimentadas com níveis baixos de cálcio é afetada.

Rivera *et al.* (2014) avaliaram o efeito da suplementação de colecalciferol (D<sub>3</sub>) e 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>) como fontes isoladas ou associadas de vitamina D em galinha *Dekalb White* com 24 semanas de idade alimentadas com duas concentrações de cálcio e fósforo disponível na dieta basal e verificaram que as fontes de vitamina D na dieta com 0,38% de cálcio e - 0,36% de fósforo disponível com pelo menos 50% de 25-OHD<sub>3</sub> incrementaram a porcentagem de cinzas e a densitometria óssea radiográfica.

Os distúrbios ósseos estão relacionados a alterações na qualidade do osso, que pode ser medida por meio da densitometria óssea (ALMEIDA *et al.*, 2009), composição mineral

óssea, índice Seedor, resistência do osso à quebra. O índice Seedor é obtido pela divisão do peso do osso pelo seu comprimento, conforme fórmula proposta por Seedor (1991), sendo indicativo de sua qualidade. A resistência do osso à quebra é mensurada por meio da reação dos mesmos quando submetidos à força (TALATY *et al.*, 2009). A resistência à quebra do osso é afetada pela nutrição, design do osso, quantidade e qualidade de materiais orgânicos e inorgânicos, quantidade e tamanho de materiais minerais (BOSKEY *et al.*, 1999).

Alterações nas rações que afetam a disponibilidade de nutrientes como vitamina D, zinco e manganês para as aves podem influenciar diretamente a qualidade óssea, como verificado com a suplementação de zinco e manganês por Swiątkiewicz e Koreleski (2008), e com a suplementação de vitamina D por Rivera *et al.*(2005).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrária da Universidade Federal do Ceará (DZ/CCA/UFC) em um galpão convencional de criação de aves de postura, provido de gaiolas de arame galvanizado de 1 metro de comprimento com 4 subdivisões de 25x45x40 cm (comprimento x largura x altura) com capacidade para alojar 2 aves por subdivisão, sendo estas dispostas em sistema piramidal e equipadas com comedouros linear tipo calha de chapa galvanizada, bebedouro tipo *nipple* e coletor de ovos.

Para a condução do experimento foram utilizadas 288 poedeiras da linhagem *Dekalb White* com 86 semanas de idade. Conforme recomendações de Sakomura e Rostagno (2007), as aves foram selecionadas com base no peso ( $1630,44 \pm 1,74$  g) e produção de ovos (78,90%), e distribuídas seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado com seis rações e seis repetições de oito aves por unidade experimental, de modo que todas as repetições ficaram com pesos e produção de ovos similares.

Foram formuladas rações a base de milho, milheto, farelo de soja e farinha de carne, sendo uma ração controle e as outras rações foram suplementadas com zinco orgânico (quelato, zinco e metionina) 32 mg/kg de ração; manganês orgânico (quelato, manganês e metionina) 26 mg/kg de ração e 1500 UI de vitamina D<sub>3</sub> na forma 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>). Logo, foram: ração controle e rações contendo suplementações com zinco orgânico (Zn-orgânico), manganês orgânico (Mn-orgânico), zinco e manganês orgânicos (Zn + Mn orgânicos), vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>), zinco e manganês orgânicos e vitamina D<sub>3</sub> (Zn + Mn +25-OHD<sub>3</sub>).

As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais propostas no manual da linhagem *Dekalb White* para serem isoenergéticas e isonutrientes, com exceção do zinco, manganês e vitamina D<sub>3</sub> que foram suplementados. Também foram considerados os valores nutricionais e energéticos dos ingredientes apresentados por Rostagno *et al.* (2011).

O período experimental foi de 105 dias divididos em 5 períodos com duração de 21 dias cada. Durante todo o experimento, as rações e água foram oferecidas à vontade. O programa de luz utilizado foi de 16 horas de luz por dia. O monitoramento das condições ambientais foi realizado por meio de termohigrômetro, cujas temperaturas e umidade relativa do ar foram registradas diariamente no início da manhã (08:00) e no final da tarde (16:00), sendo as médias de máxima e mínima da temperatura e umidade relativa do ar, durante o período experimental, respectivamente, 32,1°C, 27,7°C, 78% e 56%.

Tabela 1- Composição percentual e nutricional calculada das rações experimentais

Ingredientes (kg)	Controle	Zn Orgânico	Mn Orgânico	Zn+Mn Orgânico	25- OHD <sub>3</sub>	Zn+Mn+ 25-OHD <sub>3</sub>
Milho	17,500	17,500	17,500	17,500	17,500	17,500
Milheto	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000	50,000
Farelo de soja 46%	15,620	15,620	15,620	15,620	15,620	15,620
Farinha de carne 45%	4,300	4,300	4,300	4,300	4,300	4,300
Óleo de soja	2,200	2,200	2,200	2,200	2,200	2,200
Calcário fino 37%	3,800	3,800	3,800	3,800	3,800	3,800
Calcário grosso 37%	5,500	5,500	5,500	5,500	5,500	5,500
Sal	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
Premix min -vit <sup>1</sup>	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
DL-Metionina	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
Zn orgânico (16%)	0,000	0,020	0,000	0,020	0,000	0,020
Mn orgânico (13%)	0,000	0,000	0,020	0,020	0,000	0,020
25-OHD <sub>3</sub>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,025	0,025
Inerte	0,065	0,045	0,065	0,025	0,040	0,000
Aditivos <sup>2</sup>	0,385	0,385	0,385	0,385	0,385	0,385
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
Energia metabolizável (kcal/kg)	2800	2800	2800	2800	2800	2800
Proteína Bruta (%)	16,47	16,47	16,47	16,47	16,47	16,47
Extrato etéreo (%)	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50
Cálcio (%)	4,19	4,19	4,19	4,19	4,19	4,19
Fósforo disponível (%)	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
Sódio (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Zinco (ppm)	97,12	129,12	97,12	129,12	97,12	129,12
Manganês (ppm)	99,29	99,29	125,29	125,29	99,29	125,29
Lisina digestível (%)	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Metionina digestível (%)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Metionina+cistina digestível (%)	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
Treonina digestível (%)	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
Triptofano digestível (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Vitamina D <sub>3</sub> (UI/kg)	2000	2000	2000	2000	3500	3500

<sup>1</sup>Premix mineral e vitamínico - Níveis de garantia: ferro (min) 16,70 g/kg; cobre (min) 3.333,00 mg/kg; manganês (min) 26,67 g/kg; zinco (min) 26,67 g/kg; iodo (min) 333,00; cobalto (min) 67,00 mg/kg; selênio (min) 100 mg/kg; vitamina A (min) 3.333.330,00 UI/kg; vitamina D<sub>3</sub> (min) 1.166.670,00 UI/kg; vitamina E (min) 13.333,00 UI/kg; vitamina K<sub>3</sub> (min) 667,00 mg/kg; vitamina B<sub>1</sub> (min) 500,00 mg/kg; vitamina B<sub>12</sub> (min) 1.667,00 mg/kg; niacina (min) 10,00 g/kg; ácido pantotênico (min) 3.333,00 mcg/kg; vitamina B<sub>6</sub> (min) 1.000,00 mg/kg; ácido fólico (min) 167,00 mg/kg; biotina (min) 8,33 mg/kg; vitamina B<sub>12</sub> (min) 3.330,00 mcg/kg; vitamina C (min) 50,00 mg/kg; colina (min) 166,66 g/kg; colistina 3.333,33 mg/kg. <sup>2</sup>Aditivos – prebiótico (30g); ácido butírico (30); fitase (10g); carboidrase (10g); adsorvente (300g); selênio 2% (1g); pigmento vermelho (0,5g); pigmento amarelo (3,5g).

As variáveis avaliadas foram consumo de ração (g/ave/dia), porcentagem de postura (%), peso do ovo (g), massa de ovo (g/ave/dia) e conversão alimentar por massa de ovo (consumo de ração/massa de ovo), obtendo médias para cada período de 21 dias.

O consumo de ração por parcela foi calculado pela diferença entre a quantidade de ração fornecida no início, e as sobras, ao final de cada período. Para a determinação da percentagem de postura, considerou-se a produção de ovos registrada diariamente por gaiola onde no final de cada período foram calculadas as percentagens de postura por parcela. A massa de ovo foi obtida a partir da quantidade de ovos e do peso médio do ovo por parcela. A conversão alimentar foi determinada a partir da relação dos dados de consumo de ração e da massa de ovo produzida por parcela.

Para a avaliação da qualidade dos ovos, um dia por semana todos os ovos de cada parcela foram coletados, identificados e levados para o laboratório de avaliação da qualidade de ovos, no Setor de Avicultura/DZ/CCA/UFC, onde foram armazenados à temperatura de 22°C até o dia seguinte, quando foram individualmente pesados em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g para determinação do peso médio. Na sequência, foram selecionados três ovos por parcela para as análises de densidade específica ( $\text{g/cm}^3$ ), qualidade de albúmen, percentagens de gema, casca e albúmen (%) e espessura da casca (mm):

A densidade específica foi determinada conforme procedimentos descritos por Freitas *et al.* (2004). A avaliação da qualidade do albúmen foi realizada com a determinação da unidade Haugh. Com as medidas de peso do ovo no ar e altura do albúmen foram realizados os cálculos utilizando-se a equação:  $UH = 100 \times \log (H + 7,57 - 1,7 \times P^{0,37})$ , onde: UH = unidades Haugh; H = altura do albúmen em mm e P = peso do ovo em g.

Para a determinação do percentual de gema, esta foi separada do albúmen para pesagem e determinação do percentual em relação ao peso do ovo. Para o percentual de casca (%), após a quebra dos ovos, as cascas foram separadas, lavadas e postas para secar em estufa com circulação de ar e temperatura de 55°C por 48 horas. Depois de secas, foram pesadas em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g, para obtenção do percentual em relação ao peso do ovo. O percentual de albúmen foi obtido por diferença, onde, % albúmen = 100 – (% gema + % casca). Após a pesagem das cascas, procedeu-se com a mensuração da espessura da casca dos ovos (mm), determinada a partir da média das medidas da espessura da casca dos pólos, maior, menor e região equatorial dos ovos com o uso de micrômetro com divisões de 0,01mm.

No quarto período experimental, durante dois dias, os ovos foram selecionados, com base na ausência de rachaduras, manchas ou sujeiras na casca, para serem submetidos a análises após os períodos de armazenamento de 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Para isso, após a identificação, os ovos foram acondicionados em bandejas de papelão e levados para



armazenamento sob temperatura ambiente. Foi utilizado um termohigrômetro para registrar as temperaturas e umidades diariamente.

Durante o armazenamento, os valores médios de máxima e de mínima da temperatura e umidade relativa foram 33,11°C, 28°C, 88% e 59%, respectivamente.

Após o período de armazenamento, as gemas foram avaliadas quanto à oxidação lipídica determinando-se a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (Tbars).

A curva de calibração e o preparo das amostras, para determinação da oxidação lipídica da gema dos ovos (Tbars), foram realizados utilizando-se o método de extração ácido aquosa segundo a técnica descrita por KANG *et al.*, (2001). Em um tubo de 15 mL, foram pesados aproximadamente 2 g de amostra que foi homogeneizado com 6,75 mL de ácido perclórico (3,86%) e 18,75 µL de BHT (4,5%). Em seguida, foram adicionados 18 mL de ácido perclórico 3,86% e o conteúdo homogeneizado em triturador Terrutec (Tecnal, Praticaba, SP) por 15 segundos a alta velocidade. O homogeneizado foi filtrado e 0,75 mL transferidos para tubos de ensaio, juntamente com 0,75 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (20 mM). Os tubos foram aquecidos em banho de água fervente durante 30 minutos. Após o resfriamento até a temperatura ambiente foi realizada a leitura no espectrofotômetro a 531 nm. O branco utilizado foi preparado com 0,75 mL de ácido perclórico e 0,75 mL da solução de Tba. O número de Tbars da amostra foi expresso como µg de malondialdeído por g da amostra.

A avaliação da qualidade óssea foi determinada no fêmur e tíbia das aves. Estes ossos foram submetidos a análises para obtenção do índice de Seedor (mg/mm), resistência (kgf/cm<sup>2</sup>) e deformidade (mm) óssea, bem como teores de matérias seca e mineral. Dessa forma, para a coleta das amostras, ao final do experimento, uma ave de cada unidade experimental foi selecionada, identificada e encaminhada ao abatedouro do Setor de Avicultura, onde as mesmas foram eutanasiadas, seguido de sangria, escaldagem em água a 60°C por 3 minutos e depena. Na sequência, as coxas e sobrecoxas foram retiradas, identificadas e congeladas em freezer a -20°C, onde permaneceram até o momento da desossa.

Para a realização da desossa, as peças foram postas para descongelar em geladeira doméstica (temperatura de 4°C por 12 horas) e depois colocadas sobre a bancada até atingir a temperatura ambiente. Posteriormente, coxa e sobrecoxa foram mergulhadas em água fervente por 10 minutos e desossadas com auxílio de um bisturi, conforme metodologia descrita por Xavier *et al.* (2015).

A mensuração do comprimento dos ossos, fêmur e tíbia, foi realizada utilizando um paquímetro digital e o peso obtido em balança semi-analítica, com sensibilidade de 0,01g. A avaliação da densidade óssea foi realizada por meio da determinação do índice de Seedor,

obtido pela divisão do valor do peso (mg) pelo do comprimento (mm) do osso avaliado (Seedor, 1991).

Os parâmetros, resistência e deformidade óssea foram determinados com ossos *in natura* (tíbia e fêmur) com auxílio de uma prensa mecânica Triaxial. Os ossos foram colocados em posição horizontal sobre um suporte de madeira e depois aplicada uma força no centro de cada osso. A quantidade máxima de força aplicada no osso antes da sua ruptura foi a resistência a quebra ( $\text{kgf/cm}^2$ ), sendo esta mensurada através de um extensômetro. A deformidade (mm) também foi mensurada através de um extensômetro no momento da ruptura do osso.

A determinação dos teores de matéria seca e mineral da tíbia e do fêmur foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal (DZ/CCA/UFC), onde os ossos direito da tíbia e do fêmur foram retirados do freezer e colocados em uma bancada para descongelar, e posteriormente, submetidos à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a  $55^\circ\text{C}$  por 72 horas. Na sequência os ossos foram triturados em moinho tipo bola e as amostras moídas foram submetidas à determinação da matéria seca e matéria mineral, conforme metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

Para análise estatística dos dados, foi utilizado o software “*Statistical Analyses System*” (SAS, 2000). Os dados de desempenho, qualidade dos ovos e estabilidade lipídica foram submetidos à análise de variância pelo procedimento ANOVA, seguindo um modelo inteiramente casualizado em esquema fatorial (6x5), sendo 6 rações e 5 períodos de avaliação (idade das aves) para o desempenho e qualidade dos ovos, e 6 rações e 5 tempos de armazenamento para a estabilidade lipídica. Os dados de qualidade óssea foram submetidos à análise de variância pelo mesmo procedimento, excluindo-se o efeito da idade do modelo matemático. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação significativa entre as rações e o período de avaliação para nenhuma das variáveis (tabela 2). Contudo, houve diferença significativa sobre o consumo de ração, onde as aves suplementadas com manganês orgânico apresentaram menor consumo em relação àquelas que receberam ração controle. Também foi observada diferença significativa entre os períodos para quase todas as variáveis, com exceção apenas para o peso do ovo.

Tabela 2- Desempenho de poedeiras leves suplementadas com zinco e manganês orgânicos e vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>)

Rações	Consumo (g/ave/dia)	Postura (%ave/dia)	Peso do ovo (g)	Massa de ovo (g/ave/dia)	Conversão alimentar
Controle	108,34 a	82,54	65,81	49,52	2,27
Zn-orgânico	108,12 ab	81,95	65,38	51,37	2,28
Mn-orgânico	106,58 b	80,81	65,80	50,49	2,15
Zn+Mn-orgânicos	107,06 ab	80,65	66,42	48,90	2,27
25-OHD <sub>3</sub>	106,75 ab	80,67	65,70	50,35	2,18
Zn+Mn+25-OHD <sub>3</sub>	107,62 ab	81,04	65,99	50,53	2,18
Média	107,41	81,28	65,93	50,19	2,22
Períodos (idade - semana)					
1 (86 a 88)	110,42 a	82,47 ab	66,22	53,04 a	2,11 b
2 (89 a 91)	107,70 b	84,23 a	66,12	52,90 a	2,08 b
3 (92 a 94)	106,17 c	83,46 ab	65,69	50,36 a	2,20 b
4 (95 a 97)	106,61 c	80,16 b	65,98	49,96 a	2,19 b
5 (98 a 100)	106,16 c	76,06 c	65,66	44,72 b	2,54 a
Análise de variância			<i>p-valor</i>		
Rações	0,0126	0,8089	0,3658	0,8760	0,9174
Período	<0,0001	<0,0001	0,2858	<0,0001	0,0075
Ração x período	0,9221	0,9996	0,9553	0,5133	0,3620
CV <sup>1</sup> (%)	2,14	7,86	2,05	15,75	26,10

<sup>1</sup>CV = Coeficiente de variação; médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Student-Newman-Keuls (P<0,05).

Em relação ao período de avaliação, os resultados indicaram que independente das rações as quais as aves foram submetidas, houve redução no consumo de ração do primeiro até o terceiro período estabilizando a partir desse. Na produção de ovos, houve redução no quarto e quinto período, mas apenas no quinto período os valores foram significativamente menores em relação aos demais períodos. Por sua vez, as variações na porcentagem de postura influenciaram os resultados da massa de ovo e, conseqüentemente, influenciaram a conversão alimentar. Dessa forma, a massa de ovo e a conversão alimentar das aves entre 98<sup>a</sup> a 100<sup>a</sup> semana foram piores quando comparadas aos outros períodos.

A redução do consumo de ração e a sua estabilização posterior com o decorrer dos períodos podem ser atribuídas a uma adaptação das aves às dietas experimentais. Por sua vez, uma melhoria na qualidade da ração ofertada durante o experimento em relação a que vinham consumindo anteriormente pode ter contribuído para os resultados na produção de ovos, retardando o efeito da piora na produção com o decorrer do ciclo produtivo, que é característica normal da curva de produção de poedeiras comerciais com o passar da idade, bem como os seus efeitos na massa de ovos e conversão alimentar.

Quanto à redução de consumo com a suplementação somente de manganês, pode-se inferir que esta não foi suficiente a ponto de alterar a produção de ovos, peso médio dos ovos ou conversão alimentar por massa de ovos. Os resultados obtidos corroboram com os obtidos por Faria *et al.* (1999), que utilizando níveis de até 140 ppm de manganês inorgânico, não verificaram diferença na massa de ovos, peso médio do ovo e porcentagem de postura. Fassani *et al.* (2000) verificaram que níveis até 120 ppm de manganês inorgânico não prejudicaram a produção de ovos, o consumo de ração nem conversão alimentar, porém proporcionou melhor qualidade de casca em relação ao controle.

Por sua vez, a ausência de diferença entre as diferentes suplementações para as demais variáveis pode ser associada ao fato das rações terem sido balanceadas para serem isoenergéticas e isonutrientes, com exceção dos níveis de zinco, manganês e vitamina D<sub>3</sub>, o que dessa forma todas as rações devam ter suprido as exigências nutricionais das aves para a produção de ovos.

Entretanto, os resultados para suplementação de minerais orgânicos são diferentes dos encontrados por Indowu *et al.* (2011) que observaram melhora na produção de ovos de poedeiras suplementadas com manganês. Maciel *et al.* (2010), com a suplementação de zinco, manganês e cobre orgânico, verificaram maior peso do ovo em poedeiras leves de 72 a 80 semanas de idade. Por outro lado, os resultados corroboram com os encontrados por Swiatkiewicz e Koreleski (2008) que não observaram alterações no peso médio do ovo, porcentagem de postura, consumo de ração e conversão alimentar de poedeiras em segundo ciclo de produção alimentadas com dieta suplementadas com zinco e manganês orgânicos. De forma semelhante, Carvalho *et al.* (2015) não verificaram diferenças significativas na produção de ovos ao realizarem substituição parcial e total de cobre, zinco e manganês inorgânicos por orgânicos em dietas para poedeiras Dekalb com 100 semanas de idade.

Plaimast *et al.* (2015) e Torres *et al.* (2009) relataram ausência de influência da suplementação com vitamina D<sub>3</sub> sobre o desempenho das poedeiras. Em contrapartida, Nascimento *et al.* (2014) realizaram ensaio com poedeiras Hy-Line W36 com 80 semanas de

idade em segundo ciclo de produção e verificaram melhora na produção de ovos com suplementação de colecalciferol e 25-hidroxicolecalciferol.

Não houve interação significativa entre as rações e o período de avaliação para as variáveis de qualidade de ovos (tabela 3). Contudo, a alimentação recebida pelas poedeiras influenciou significativamente a espessura da casca, onde as aves cujas dietas foram suplementadas com zinco e manganês orgânicos, vitamina D<sub>3</sub> e zinco com manganês orgânicos juntamente com vitamina D<sub>3</sub> apresentaram espessura superior aos dos ovos oriundos das aves do tratamento controle, não havendo diferença para as demais variáveis.

Tabela 3- Qualidade de ovos de poedeiras leves suplementadas com zinco e manganês orgânicos e vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>)

Rações	Densidade Específica (g/cm <sup>3</sup> )	Unidade Haugh	Gema (%)	Albúmen (%)	Casca (%)	Espessura da casca (mm)
Controle	1,077	82,53	26,37	65,20	8,42	0,386 b
Zn-orgânico	1,078	82,20	26,37	65,08	8,61	0,392 ab
Mn-orgânico	1,078	81,89	26,63	64,83	8,57	0,394 ab
Zn+Mn-orgânicos	1,077	81,45	26,08	65,41	8,51	0,396 a
25-OHD <sub>3</sub>	1,076	81,93	26,33	65,11	8,56	0,397 a
Zn+Mn+25-OHD <sub>3</sub>	1,076	81,79	26,25	65,21	8,56	0,398 a
Média	1,077	81,97	26,34	65,14	8,54	0,39
Períodos (idade - semana)						
1 (86 a 88)	1,073 b	82,30	26,17	65,25	8,58	0,38 c
2 (89 a 91)	1,078 a	82,04	26,54	65,04	8,49	0,37 c
3 (92 a 94)	1,078 a	81,26	26,41	65,04	8,56	0,41 a
4 (95 a 97)	1,079 a	82,22	26,30	65,18	8,54	0,40 b
5 (98 a 100)	1,077 a	82,01	26,26	65,22	8,51	0,41 a
Análise de variância			p-valor			
Rações	0,1031	0,4916	0,1171	0,2726	0,5437	0,0238
Período	<0,0001	0,2534	0,2501	0,8046	0,88751	<0,0001
Rações x período	0,7047	0,21766	0,6169	0,7598	0,9972	0,6437
CV <sup>2</sup> (%)	0,32	2,61	2,78	1,44	6,78	3,63

<sup>1</sup>CV: Coeficiente de variação; Médias seguidas por letras iguais, nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de SNK (P<0,05).

A melhora na espessura da casca com a suplementação dos minerais orgânicos associados pode estar relacionada ao fato do zinco e o manganês serem componentes de metaloenzimas responsáveis pela síntese de carbonatos e mucopolissacarídeos que desempenham um papel importante na formação de casca de ovo (SWIĄTKIEWICZ; KORELESKI, 2008). Além disso, deve-se considerar que a absorção intestinal de microminerais na forma inorgânica varia de 10 a 18%, quando ligados à estrutura orgânica a absorção pode chegar a 90% (FIGUEIREDO JÚNIOR *et al.*, 2012).

A melhora na qualidade da casca do ovo já foi observada após a suplementação com zinco e manganês por Swiątkiewicz e Koreleski (2008), e manganês por Fassani *et al.* (2000).

Por sua vez, o efeito da suplementação com vitamina D<sub>3</sub> fornecida de forma isolada ou em conjunto com zinco e manganês orgânicos pode ser associado à possível melhora da absorção de cálcio e fósforo decorrente da suplementação com o metabólito de vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>), pois segundo Leeson e Summers (2001), a vitamina D<sub>3</sub> na forma de 25-OHD<sub>3</sub> pode ser 200 vezes mais efetiva que o colecalciferol na absorção intestinal de cálcio, contribuindo assim para melhor deposição de cálcio e fósforo na casca do ovo.

Em relação ao período de avaliação, os resultados mostraram que independente da ração ofertada a percentagens de gema, albúmen e casca dos ovos, e valores de unidade Haugh não variaram significativamente. Entretanto, a densidade específica dos ovos aumentou significativamente do primeiro para os demais períodos que não diferiram entre si, enquanto, a espessura da casca aumentou significativamente após o segundo período. Os resultados obtidos indicam uma manutenção da qualidade da casca das aves com o avançar da idade.

Os resultados obtidos para a densidade específica e espessura da casca dos ovos com o avançar da idade das aves discordam em parte dos relatos frequentemente encontrados na literatura (Barbosa *et al.* (2012) de que galinhas poedeiras apresentam uma piora na qualidade da casca dos ovos com o avançar da idade. Entretanto, vale ressaltar que os efeitos observados nesse experimento podem ser associados a alguns fatores que conjuntamente podem ter contribuído para isso.

A densidade específica é considerada uma variável indireta para expressar a qualidade da casca dos ovos e está intimamente relacionada com a porcentagem de casca (Freitas *et al.*, 2004). Dessa forma, considerando que as demais variáveis de qualidade de casca não variaram significativamente é provável que a diferença observada para a densidade específica do primeiro para o segundo período esteja relacionada a um efeito aleatório devido à homogeneidade dos dados coletados para a variável, permitindo que pequenas variações fossem consideradas como diferença mínima significativa.

Quanto ao aumento da espessura da casca com o decorrer dos períodos, além dos efeitos da suplementação para as aves alimentadas com as rações suplementadas com zinco e manganês, vitamina D<sub>3</sub> e zinco mais manganês mais vitamina D<sub>3</sub>, as aves de todos os tratamentos podem ter sido beneficiadas por mudanças na ração ofertada durante o experimento em relação a que vinham consumindo anteriormente, em que podemos destacar a granulometria do calcário visto que nas rações experimentais foi utilizada uma proporção de 50% de calcário com maior granulometria, o que pode ter contribuído para aumentar a disponibilidade de cálcio

para formação da casca do ovo das aves de todos os tratamentos.

Melhorias na qualidade da casca com a suplementação de zinco mais manganês e vitamina D também foram relatadas por outros pesquisadores. Swiątkiewicz e Koreleski (2008), que trabalhando com poedeiras em segundo ciclo alimentadas com rações suplementadas com zinco e manganês, verificaram melhora na resistência da casca do ovo. Sun *et al.* (2012) também verificaram melhora na espessura da casca com a utilização de zinco e manganês orgânicos. Já Nascimento *et al.* (2014) e Plaimast *et al.* (2015) em experimento com poedeiras comerciais com idade avançada, 80 e 98 semanas, respectivamente, observaram uma melhor qualidade da casca de ovo quando as aves foram alimentadas com rações com adição de vitamina D<sub>3</sub>.

A diminuição da qualidade da casca de galinhas com idade avançada ou em segundo ciclo de postura, pós muda, é atribuída a um declínio na vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) o que acarreta em redução da formação de proteína de ligação ao cálcio chamada de calbindina (BAR, 2009). Assim, a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> na forma de 25-OHD<sub>3</sub>, que possui maior atividade do que a forma colecalfiferol, pode contribuir para melhor qualidade da casca dos ovos de aves em idade avançada pela maior disponibilidade para formação da proteína calbindina, evitando dessa forma a indução de muda simultânea nas aves, que é um período não produtivo, e mantendo a qualidade da casca do ovo das aves. Isso justificaria a melhora da casca observada para as aves na presente pesquisa.

Na avaliação da estabilidade lipídica da gema (Tabela 4), medida pelos valores de TBARS, verificou-se que não houve interação significativa entre os fatores, rações e tempo de armazenamento. Observou-se também que a suplementação com os minerais orgânicos e vitamina D<sub>3</sub>, de forma isolada ou associada, não influenciaram significativamente a estabilidade lipídica da gema. No entanto, a estabilidade lipídica variou conforme o tempo de armazenamento, havendo aumento dos valores de Tbars com prolongamento do armazenamento até 28 dias.

Esse comportamento da variável ao longo do tempo de armazenamento tem sido relatado por outros pesquisadores (FREITAS *et al.*, 2013; RADWAN *et al.*, 2008; SHAHRYAR *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2011), sendo a oxidação lipídica da gema um processo espontâneo e progressivo que ocorre logo após a postura do ovo, devido a presença de ácidos graxos poli-insaturados que favorecem a rancidez oxidativa e resulta em produtos secundários como o malonaldeído.

A concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em ovos frescos pode ser influenciada pela ingestão de antioxidantes ou compostos pró-antioxidante presentes na ração e ou sua produção endógena com posterior transferência para a gema do ovo (RADWAN

*et al.*, 2008). Segundo Mabe *et al.* (2003) e Venglovská *et al.* (2014), o aumento da disponibilidade de zinco e manganês na dieta aumenta a quantidade desses minerais na gema. Nesse contexto, a hipótese da suplementação de zinco e manganês, que são cofatores da enzima superóxido dismutase (EVANS; HALLIWELL, 2001; BARBOSA *et al.*, 2010); cuja atividade já foi constatada em gema de ovos (MANN; MANN, 2008; WAWRZYKOWSKI; KANKOFER 2011) e tem ação no sistema de defesa antioxidante, baseia-se no fato de que a maior oferta, acima da exigência nutricional, e a maior disponibilidade desses minerais, pelo uso de fontes orgânicas, possibilitasse o aumento da concentração de zinco e manganês na gema do ovo, potencializando a atividade da enzima superóxido dismutase no controle da formação de radicais livres.

Tabela 4- Valores de TBARS ( $\mu\text{g}$  de malondialdeído por g de amostra) em gemas de ovos de poedeiras alimentadas com rações suplementadas com os minerais orgânicos zinco e manganês e a vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>)

Rações	Tempo de armazenamento					Média
	0	7	14	21	28	
Controle	0,99	1,09	1,21	1,29	1,37	1,19
Zn-orgânico	0,88	0,86	1,23	1,30	1,35	1,13
Mn-orgânico	0,82	0,92	1,19	1,27	1,36	1,11
Zn + Mn-orgânicos	0,85	0,91	1,16	1,23	1,34	1,10
25-OHD <sub>3</sub>	0,83	1,00	1,19	1,24	1,32	1,12
Zn+Mn+25-OHD <sub>3</sub>	0,92	0,97	1,16	1,25	1,32	1,12
Média	0,88 c	0,96 c	1,19 b	1,27 ab	1,34 a	
Análise de variância			<i>p-valor</i>			
Rações			0,6373			
Tempo			<0,0001			
Rações x tempo			0,9997			
<sup>1</sup> CV			16,69			

<sup>1</sup>CV = Coeficiente de variação; médias seguidas por letras iguais, nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de SNK (P<0,05).

Embora alguns estudos tenham indicado efeitos positivos da suplementação de zinco e manganês na atividade da enzima superóxido dismutase sobre o *status* antioxidante (SAHIN *et al.*, 2005; ZHU *et al.*, 2016), nessa pesquisa, efeito semelhante não foi constatado nas gemas dos ovos frescos e armazenados oriundos das aves alimentadas com rações suplementadas com zinco e manganês orgânicos. De acordo com SHAHRYAR *et al.* (2010), a concentração de Tbars nos ovos após o período de armazenamento está relacionada à composição lipídica e à transferência do antioxidante para os ovos. Logo, as diferentes suplementações realizadas não influenciaram a atividade das enzimas com ação antioxidante a



ponto de promover mudanças na composição da gema para alterar os valores de Tbars.

Quanto ao efeito da suplementação com vitamina D<sub>3</sub>, Longoni *et al.* (2016) verificaram que a vitamina D<sub>3</sub> na forma ativa atua como um antioxidante, reduzindo o dano oxidativo que tende a ser maior em animais com idade avançada (BREE *et al.*, 2002) e contribuindo assim para um adequado funcionamento organismo. De acordo com Mattila *et al.* (2004) e Plaimast *et al.* (2015), a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> aumenta sua quantidade na gema dos ovos. Conforme a hipótese anterior, a maior oferta de vitamina D<sub>3</sub> e de forma mais disponível (25-OHD<sub>3</sub>) possibilitaria o aumento da concentração de vitamina D<sub>3</sub> na gema, potencializando seus possíveis efeitos; todavia, não foram verificados efeitos na estabilidade lipídica da gema dos ovos avaliados.

A ausência de efeitos das suplementações com vitamina D<sub>3</sub>, associada ou não aos microminerais orgânicos, pode ser decorrente da quantidade dessa vitamina fornecida na ração ter sido insuficiente para haver transferência para a gema do ovo a ponto de alterar a estabilidade lipídica e influenciar o valor de Tbars. Além disso, a idade avançada das aves, que as torna mais propensas ao estresse oxidativo, pode ter aumentado a demanda dos nutrientes suplementados, em virtude do metabolismo para a formação dos ovos, reduzindo a possibilidade de serem acumulados na gema do ovo.

Na avaliação da qualidade dos ossos das aves ao final do período experimental, observou-se que a suplementação de zinco e manganês orgânicos, bem como vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>), de forma isolada ou associada, não teve efeito significativo sobre as variáveis de qualidade óssea na tíbia e fêmur das aves (Tabela 5).

Considerando o nível de produção das aves nos diferentes tratamentos e a ausência de diferença significativa na produção de ovos e porcentagem de casca, pode-se inferir que a disponibilidade de minerais foi suficiente para atender à exigência para a formação da casca, necessitando de pouca reabsorção óssea a ponto destes não serem alterados e, assim, fossem verificadas diferenças nas variáveis da tíbia e do fêmur avaliadas.

Na literatura, têm sido relatados efeitos positivos e ausência de influência significativa da suplementação das formas ativas da vitamina D<sub>3</sub> sobre a qualidade óssea. Koreleski e Swiatkiewicz (2005) não verificaram melhora significativa nos ossos da tíbia em galinhas poedeiras a 70 semanas de idade com a adição da forma ativa de vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>). Em contrapartida, Rivera *et al.*(2014), em ensaio com galinha poedeira *Dekalb White* com 24 semanas de idade, verificaram que as fontes de vitamina D<sub>3</sub> na dieta com 0,38% cálcio e 0,36% fósforo disponível com pelo menos 50% de 25-OHD<sub>3</sub> incrementaram a porcentagem de cinzas e a densitometria óssea radiográfica.

Tabela 5- Qualidade óssea de poedeiras leves suplementadas com zinco e manganês orgânicos e vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>)

Rações	Índice de Seedor (mg/mm)	Resistência (kgf/cm <sup>2</sup> )	Deformidade (mm)	Matéria seca (%)	Matéria mineral (%) <sup>1</sup>
Tíbia					
Controle	55,81	7,35	1,63	59,74	56,31
Zn-orgânico	56,98	8,04	1,94	59,44	56,12
Mn-orgânico	54,87	7,43	1,72	58,40	54,95
Zn+Mn-orgânicos	60,86	8,33	1,99	59,70	56,07
25-OHD <sub>3</sub>	60,71	9,12	1,60	58,83	55,22
Zn+Mn+25-OHD <sub>3</sub>	60,08	8,02	1,67	57,91	54,81
Média	58,22	8,05	1,76	59,00	55,58
Análise de variância			<i>p-valor</i>		
Rações	0,0771	0,4741	0,1623	0,5499	0,9202
CV <sup>3</sup> (%)	7,47	20,42	17,56	3,45	5,50
Fêmur					
Controle	68,10	9,01	1,52	59,94	57,06
Zn-orgânico	71,87	11,34	1,54	58,64	58,57
Mn-orgânico	68,47	11,81	1,44	59,06	56,82
Zn+Mn-orgânicos	72,28	11,95	1,48	58,01	58,68
25-OHD <sub>3</sub>	71,38	10,57	1,70	58,90	56,50
Zn+Mn+25-OHD <sub>3</sub>	73,02	9,12	1,45	59,42	57,82
Média	70,85	10,63	1,52	58,99	57,58
Anova			<i>p-valor</i>		
Rações	0,356	0,0562	0,7573	0,6778	0,7294
CV <sup>2</sup> (%)	6,47	19,24	21,01	3,47	5,24

<sup>1</sup>Matéria mineral com base na matéria seca; <sup>2</sup>CV- Coeficiente de variação.

Para a suplementação mineral na forma orgânica, os resultados para melhoria na qualidade dos ossos têm sido mais consistentes. A qualidade óssea das aves melhorou com a suplementação de zinco e manganês orgânicos ou inorgânicos por meio de substituições ou de adição na ração de poedeiras em várias idades (FASSANI *et al.*, 2000; SWIĄTKIEWICZ; KORELESKI, 2008). Yildiz *et al.* (2011) determinaram melhores resultados para a resistência óssea quando a ração das poedeiras foi suplementada com minerais orgânicos. Diferente desses efeitos, os resultados obtidos com as suplementações avaliadas nesta pesquisa indicam que independente das suplementações as aves conseguiram manter a qualidade óssea, mesmo com o avançar da idade.

Mesmo assim, deve-se considerar que a utilização de calcário fino (50%) e grosso (50%) pode ter contribuído para o melhor aproveitamento do cálcio da dieta, com uma maior disponibilização de cálcio nos momentos de escuro devido à solubilização mais lenta, contribuindo para uma menor reabsorção óssea e levando a reduzir o possível efeito das

suplementações. Cufadar *et al.* (2011) observaram que partículas grandes (2-5 mm) ou muito grandes (>5 mm) de calcário têm efeito benéfico sobre a resistência da tíbia de poedeiras (76-88 semanas de idade).

## 5 CONCLUSÃO

A suplementação associada ou isolada dos microminerais orgânicos zinco e manganês e de vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>) não influenciam o desempenho, a estabilidade lipídica da gema de ovos frescos e armazenados e a qualidade óssea de poedeiras leves em idade avançada.

A suplementação conjunta dos microminerais orgânicos zinco e manganês, ou combinados com vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>) ou somente de vitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>) melhoram a espessura da casca de ovos de poedeiras leves em idade avançada.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, D. A. F.; EYLES, D.; FÉRON, F. Vitamin D, a neuro-immunomodulator: implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. **Psychoneuroendocrino**, [S.I.], v. 34, n. 1, p. 265-277, 2009.
- ALMEIDA *et al.* Efeito do cálcio na qualidade óssea e de ovos de poedeiras. **Revista Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, n. 222, p. 173-183, 2009.
- ANDRADE, L. S.; MARREIRO, D. N. Aspectos sobre a relação entre exercício físico, estresse oxidativo e zinco. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 629-640, 2011.
- ARAÚJO, J. A. *et al.* Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 2, n. 3, p.53-60, 2008.
- ARNSON Y, AMITAL H, SHOENFELD Y. Vitamin D and autoimmunity: new etiological and therapeutic considerations. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [S.I.], v. 66, n. 9, p. 1137-42, 2007.
- ARUOMA, O. I. *et al.* Effect of hydroxytyrosol found in extra virgin olive oil on oxidative DNA damage and on low-density lipoprotein oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 46, n. 12, p. 5181-5187, 1998.
- ATENCIO, A. *et al.* The vitamin D<sub>3</sub> requirement of broiler breeders. **Poultry science**, Oxford, v. 85, n. 4, p. 674-692, 2006.
- BAHR, J. M.; JOHNSON, P. A. **Reproduction in poultry**. In: CUPPS, P.T. (Ed.). **Reproduction in domestic animals**. 3 ed. Academic, [SI], 1991. p. 555- 575.
- BAIÃO N. C.; LÚCIO C. G. **Nutrição de matrizes pesadas**. In: Macari M; Mendes AA. **Manejo de matrizes de corte**. Facta, Campinas, 2005, p.197-216.
- BAR, A. Differential regulation of calbindin in the calcium-transporting organs of birds with high calcium requirements. **Journal of Poultry Science**, Japan, v. 46, n. 4, p. 267-285, 2009.
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios, **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BARBOSA, V. M. *et al.* Avaliação da qualidade da casca dos ovos provenientes de matrizes pesadas com diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 4, p. 1036-1044, 2012.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BATAL, A. B.; PARR, T. M.; BAKER, D. H. Zinc bioavailability in tetrabasic zinc chloride and the dietary zinc requirement of young chicks fed a soy concentrate diet. **Poultry Science**, Oxford, v. 80, n. 1, p. 87-90, 2001.

BELLÓ, A. **Dano oxidativo e Regulação Biológica pelos Radicais Livres**. In: MARRONI *et al.*, Estresse Oxidativo e Antioxidantes. Porto Alegre: Editora Ulbra, 2002.

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2012. 373p.

BIEHL, R. R.; BAKER, D. H.  $1\alpha$ -hydroxycholecalciferol does not increase the specific activity of intestinal phytase but does improve phosphorus utilization in both cecectomized and sham-operated chicks fed cholecalciferol-adequate diets. **Journal of Nutrition**, Oxford, v. 127, n. 10, p. 2054-2059, 1997.

BONATTO, D. *et al.* **Estresse oxidativo e envelhecimento**. In: SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. Ulbra, Canoas, 2004.

BONDI, A. A. **Nutrition animal**. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España, 1988.

BOSKEY, A. L.; WRIGHT, T. M.; BLANK, R. D. Collagen and bone strength. **Journal of Bone and Mineral Research**, Washington, DC, v. 14, n. 3, p. 330-335, 1999.

BREE, A. *et al.* Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. **Pharmacological Reviews**, [S.I.], v. 54, n. 4, p.599-618, 2002.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, [S.I.], v. 51, n. 1, p. 15-25, 2013.

CARVALHO, L. S. S. *et al.* Effect of the inclusion of organic copper, manganese, and zinc in the diet of layers on mineral excretion, egg production, and eggshell quality. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 17, n.1, p. 87-92, 2015.

CASTRO, L.C. G. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 55, n. 8, 2011.

CHRISTIAN P, WEST K. P. Interactions between zinc and vitamin A: an update. **American Journal of Clinical Nutrition**, Oxford, v. 68, n. 2, p. 435-441, 1998.

CLOSE, W. H. **The role of trace mineral proteinates in pig nutrition**. In: Biotechnology in the food industry, In: Alltech's 14th Annual Symposium, Nottingham University, 1998, Nottingham. p. 469-376.

CORRADINO, R.A. *et al.* Vitamin D3 induction of a calcium-binding protein in the uterus of the laying hen. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S.I.], v. 125, n. 1, p. 378-380, 1968.

COUTTS, J. A.; WILSON, G. C.; FERNANDEZ, S. **Optimum egg quality - A practical approach**. Sheffield: 5M Enterprises, 2007, 66p.

COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 4ª edição. Barueri, SP: Manole. 2012. 1334p.

CUFADAR, Y.; OLGUN, O.; YILDIZ, A. O. The effect of dietary calcium concentration and particle size on performance, eggshell quality, bone mechanical properties and tibia mineral contents in moulted laying hens. **British Poultry Science**, Reino Unido, v. 52, n. 6, p. 761-768, 2011.

DACKE, C.G. *et al.* Medullary bone and avian calcium regulation. **Journal of Experimental Biology**, [S.I.], v. 184, n. 1, p. 63-88, 1993.

LUCA, L. 2008. Calcio, fósforo, vitamina D y parathormona. Burnet laboratorios S.A. <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/nutricion/articulos/calcio-fosforo-vitamina-parathormona-t269/141-p0.htm> acesso em 25/01/2017.

EDWARDS, Jr.; H. M. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, Oxford, v. 79, n. 7, p. 1018-1023, 2000.

ELIAM, M. C. Influence of blood calcium on calcitonin receptors in isolated chick osteoclasts. **Journal of Endocrinology**, [S.I.], v. 119, n. 2, p. 243–248, 1988.

EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidante satatus. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, n. 2, p. 67-74, 2001.

FASSANI, É, J. *et al.* Manganês na nutrição de poedeiras no segundo ciclo de produção, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 468-478, 2000.

FARIA, D. E. *et al.* Efeito de diferentes níveis de manganês e fósforo sobre o desempenho e a qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 105-112, 1999.

FREITAS, E.R. *et al.* Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 5, p. 509-512, 2004.

FREITAS, E. R. *et al.* Extratos etanólicos de manga como antioxidantes na alimentação de poedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 7, p. 714-721, 2013.

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**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 654-660, 2001.

FIGUEIREDO JÚNIOR, J. P. *et al.* Microminerais orgânicos na nutrição de poedeiras, **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 9, n. 3, p. 1833-1843, 2012.

GOFF, J. P. Minerais. In: REECE, W.O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006. p. 532-555.

GRAVENA, R.H. *et al.* Suplementação da dieta de codornas com minerais nas formas orgânicas sobre o desempenho e a qualidade dos ovos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 6, p. 1453-1460, 2011.

GREEN, K.; BRAND M. D.; MURPHY M. P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**. [S.I.], v. 53, n. 1, p. 110-118, 2004.

GUO, Y. M. *et al.* Effect of Availa Zn and ZnSO<sub>4</sub> on laying hen performance and egg quality. **Poultry Science**, Oxford, v. 81, n. 40, 2002.

HUOPALAHTI, R. *et al.* **Bioactive egg compounds** (1st ed.). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2007.

HALLIWELL, B. GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radical in biology and medicine**. 2<sup>a</sup>edição. New York: Oxford University Press; 1989.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, [S.I.], v. 142, n. 2, p. 231-55, 2004.

HARMAN, D. Aging: a theory based on the free radical and radiation chemistry. **Journal of Gerontology**. [S.I.], v. 11, n. 3, p. 298-300, 1956.

HESTER, P. Y. *et al.* Effect of lighting programs during the pullet phase on skeletal integrity of egg-laying strains of chickens. **Poultry Science**, Oxford, v. 90, n. 8, p. 1645-1651, 2011.

INDOWU, O. M. O. *et al.* Effects of Zinc Supplementation on Laying Performance, Serum Chemistry and Zn Residue in Tibia Bone, Liver, Excreta and Egg Shell of Laying Hens, **International Journal of Poultry Science**, [S.I.], v. 10, n. 3, p. 225-230, 2011.

KANG, K. R.; CHERIAN, G.; SIM, J. S. Dietary palm oil alters the lipid stability of polyunsaturated fatty acid-modified poultry products. **Poultry Science**, Oxford, v.80, n.2, p.228-234, 2001.

KANIS JA. Vitamin D metabolism and its clinical application. **Journal of Bone Joint Surgery**, [S.I.], v. 64, n. 5, p. 542-560, 1982.

KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 2, n. 3, p. 206-220, 2005.

KLECKER, D. *et al.* Effect of manganese and zinc chelates on the quality of eggs. **Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis**, [S.I.], v. 50, n. , p. 59-68, 2002.

KORELESKI, J.; SWIATKIEWICZ, S. Efficacy of different levels of a cholecalciferol 25-OH-derivative in diets with two limestone forms in laying hen nutrition. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Polônia, v. 14, n. 2, p. 305-315, 2005.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 433-441, 2003.

LEACH Jr., R.M.; GROSS, J.R. The effect of manganese deficiency upon the ultrastructure of the eggshell. **Poultry Science**, Oxford, v. 62, n. 3, p. 499-504, 1983.



LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Commercial poultry nutrition**. 3<sup>rd</sup> ed. Nottingham: Nottingham University, 2009, 264 p.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Scott's nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph, Ontario: University Books, 2001. 591 p.

LEESON, S. Vitamin requirements: is there basis for reevaluating dietary specifications. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 63, n. 2, p. 255-266, 2007.

LEHNINGER A. L.; NELSON D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier; 1998. p.41-60.

LONGONI, A, *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> exerts neuroprotective effects in an ex vivo model of mild hyperhomocysteinemia. **International Journal of Developmental Neuroscience**. [S.I.], v. 48, n. 1, p. 71-79, 2016.

MABE, I. Efeitos da suplementação dietética com quelatos de Zinco e Manganês na produção, qualidade de ovos e morfologia intestinal de galinhas poedeiras. Tese Doutorado. FCF – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 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**, oxford, v. 82, n. 12, p. 1903-1913, 2003.

MACIEL, M. P. *et al.* Effect of using organic microminerals on performance and external quality of eggs of commercial laying hens at the end of laying. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 2, p. 344-348, 2010.

MAFRA, D; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 79-87, 2004.

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.

MANN, K.; MANN, M. The chicken egg yolk plasma and granule proteomes. **Proteomics**, [S.I.], v. 8, n. 1, p. 178-191, 2008.

MATES, J. M.; PEREZ-GOMEZ, C.; CASTRO, I. N. Antioxidant enzymes and human diseases. **Clinical Biochemistry**, [S.I.], v. 32, n. 8, p. 595-603, 1999.

MATTILA, P. *et al.* Effect of vitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> enriched diets on egg vitamin D content, production, and bird condition during an entire production period. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 433-440, 2004.

MOTA, M. P.; FIGUEIREDO, P. A. Duarte, J. A. Teorias biológicas do envelhecimento. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, [S.I.], v. 4, n. 1, p. 81-110, 2004.

NASCIMENTO, G. R. *et al.* Effect of Different Vitamin D Sources and Calcium Levels in the Diet of Layers in the Second Laying Cycle. **Brazilian Journal of Poultry Science**,

Campinas, v. 16, n. 2, p. 37-42, 2014.

NEWMAN, S.; LEESON, S. The effect of dietary supplementation with 1,25-dihydroxycholecalciferol or vitamin C on the characteristics of the tibia of older laying hens. **Poultry Science**, Oxford, v. 78, n. 1, p. 85-90, 1999.

NYS, Y. (2001): Recent developments in layer nutrition for optimising shell quality. In: Proceedings of 13th European Symposium of Poultry Nutrition, Blankenberge, Belgium, p. 45-52.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9 ed. Washington, D. C.: National Academy of Sciences: 1994. 155p.

OMDAH, J. L.; LUCA, H. F. Regulation of vitamin D metabolism and function. **Physiological Reviews**, [S.I.], v. 53, n. 2, p. 327-372, 1973.

PANDA, A. K. *et al.* Influence of supplemental vitamin D<sub>3</sub> on production performance of aged white leghorn layer breeders and their progeny. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, [S.I.], v. 19, n. 11, p. 1638-1642.

PLAIMAST, H; KIJPARKORN, S.; ITTITANAWONG, P. Effects of vitamin D<sub>3</sub> and calcium on productive performance, egg quality and vitamin D<sub>3</sub> content in egg of second production cycle hens. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, [S.I.], v. 45, n. 2, 2015.

POPHAL, S.; SUIDA, D. Microminerais orgânicos: benefícios da suplementação para aves de postura. **AveWord**, [S.I.], v. 4, n. 23, p. 26-30, 2006.

RADWAN, L. N. Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. **International Journal of Poultry Science**, [S.I.], v. 7, n. 2, p. 134-150, 2008.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p.755-760, 2006.

RATH, N. C. *et al.* Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, Oxford, v. 79, n. 7, p. 1024-1032, 2000.

RIVERA, D. F. R. Combinations of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol as vitamin D sources in white laying hen feed diets. **Ciência e Agrotecnologia**, Viçosa, v. 38, n. 6, p. 573-580, 2014.

ROSSI, P. *et al.* Efeito dos minerais orgânicos sobre o desempenho reprodutivo de matrizes pesadas. In: Congresso de Iniciação Científica, 16, 2007, Pelotas, **Anais... Pelotas: IX Encontro de Pós-Graduação 2007**.

ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos. 3ª edição, Viçosa, MG: UFV, 252 p., 2011.

RUTZ, F. Absorção de vitaminas. 2008. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L. E GONZALES, E. **Fisiologia aviária: aplicada a frangos de corte**. 2ª ed. FUNEP/UNESP. Jaboticabal. p. 149-

165.

SAS Institute. **SAS Users guide**: Statistics. Version 8. Carry, NC, 2000.

SAHIN, K. *et al.* Supplementation of Zinc from Organic or Inorganic Source Improves Performance and Antioxidant Status of Heat-Distressed Quail. **Poultry Science**, Oxford, v. 84, n. 6, p. 882-887, 2005.

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**, Campinas, v. 11, n. 4, p. 215-229, 2009.

SALVADOR, D. *et al.* Vitaminas D e C para poedeiras na fase inicial de produção de ovos **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 5, p. 887-892, 2009.

SCOTT, M.L.; NESHEIN, M.C.; YOUNG, R.J. **Nutrition of the chicken**. 3.ed. New York: M.L. Scott, 1982. 562p.

SECHINATO, A.S.; ALBUQUERQUE, R.; NAKADA, S. Efeito da suplementação dietética com microminerais orgânicos na produção de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 46, n. 2, p. 159-166, 2006.

SEEDOR, J.G. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Bone and Mineral Research**, [S.I.], v.6, n. 4, p.339-346, 1991.

SEPÚLVEDA, C. A. G.; ROSALES, R. B. Mecanismos de acción de la vitamina D<sub>3</sub>, 1- $\alpha$ -hidroxicolecalciferol (1- $\alpha$ -OH-D<sub>3</sub>) y 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D<sub>3</sub>) en gallinas de postura commercial. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, [S.I.], v. 9, n. 1, 2014.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SHAHRYAR, H.A. *et al.* Lipid oxidation in fresh and stored eggs enriched with dietary  $\omega$ 3 and  $\omega$ 6 polyunsaturated fatty acids and vitamin E and A dosages. **African Journal of Biotechnology**, [S.I.], v. 9, n. 12, p. 1827-1832, 2010.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: Editora da UFV, 2002. 167p.

STEVENSON, M. H. Effect of added cassava root meal, ZnO and their interaction on the production and quality of eggs from laying hens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.I.], v. 36, n. 10, p. 909-914, 1985.

SUGIYAMA, T.; KUSUHARA, S. Avian calcium metabolism and bone function. **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**, [S.I.], v. 14, p. 82-90, 2001.

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

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

TALATY, P. N.; KATANBAF, M. N.; HESTER, P. Y. Life cycle changes in bone mineralization and bone size traits of commercial broilers. **Poultry Science**, Oxford, v. 88, n. 5, p. 1070-1077, 2009.

TORRES, C. *et al.* Productive performance of broiler breeder hen fed 25-hydroxycholecalciferol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 7, p. 1286-2009.

TRZECIAK, A. *et al.* Genotoxicity of chromium in human gastric mucosa cells and peripheral blood lymphocytes evaluated by single cell gel electrophoresis (comet assay). **Medical Science Monitor**, [S.I.], v. 6, n. 1, p. 24-9, 2000.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. Selenium. **The Mineral Nutrition of Livestock**. 3rd ed. E. J. Underwood and N. F. Suttle, eds. CABI Publishing, New York, NY p. 421, 1999.

URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, [S.I.], v. 189, n. 1, p. 41-54, 2003.

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

WALZEM, R. L. *et al.* Estrogen induction of VLDL assembly in egg-laying hens. **Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 129, n. 2, p. 467-472, 1999.

WAWRZYKOWSKI, J.; KANKOFER, M. Changes in activity during storage and characteristics of superoxide dismutase from hen eggs (*Gallus gallus domesticus*). **European Food Research and Technology**, [S.I.], v. 232, n. 3, p. 479-484, 2011.

WHITEHEAD C. C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science**, Oxford, v. 83, n. 1, p. 193-199, 2004.

XAVIER, R. P. S. *et al.* Limestone particle sizes and lighting regimens on egg and bone quality of laying hens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 8, p. 718-725, 2015.

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

YASUOKA, T. *et al.* Changes in parathyroid hormone receptor binding affinity during egg laying: Implications. **Journal of Bone Mineralization Research**, [S.I.], v. 11, n. 12, p. 1913-1920, 1996.

YILDIZ, A. Ö.; CUFADAR, Y.; OLGUN, O. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralization in laying hens. **Revue de Médecine Vétérinaire**, [S.I.], v. 162, n. 10, 482-488, 2011.

YOSHIMURA, Y.; OHIRA, H.; TAMURA, T. Immunocytochemical localization of vitamin D receptors in the shell gland of immature, laying, and molting hens. **General and Comparative Endocrinology**, [S.I.], v.108, n. 2, p.282-289, 1997.

ZANG, H. *et al.* Effects of Different Dietary Vitamin Combinations on the Egg Quality and Vitamin deposition in the Whole Egg of Laying Hens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas. v. 13 n. 3 p. 189-196, 2011.

ZHAO, X. *et al.* Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) on laying performance and antioxidant status of laying hens and on dietary oxidation stability. **Poultry Science**, Oxford, v. 90, n. 8, p. 1720-1727, 2011.

ZHU, Y. W. *et al.* Effect of dietary manganese on antioxidant status and expression levels of heat-shock proteins and factors in tissues of laying broiler breeders under normal and high environmental temperatures. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 14, n. 12, p. 1965-74, 2016.