

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

HELVIO DA CRUZ FERREIRA JÚNIOR

**EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE COBRE E DE FERRO PARA FRANGOS DE
CORTE ALIMENTADOS COM DUAS FONTES DOS MICROMINERAIS**

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2018**

HELVIO DA CRUZ FERREIRA JÚNIOR

**EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE COBRE E DE FERRO PARA FRANGOS DE
CORTE ALIMENTADOS COM DUAS FONTES DOS MICROMINERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F383e
2018

Ferreira Júnior, Helvio, 1986-
Exigências nutricionais de cobre e de ferro para frangos de
corte alimentados com duas fontes dos microminerais / Helvio
Ferreira Júnior. – Viçosa, MG, 2018.
x, 74 f. : il. ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Melissa Izabel Hannas.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Frango de corte - Nutrição. 2. Minerais na nutrição
animal. 3. Cobre na nutrição animal. 4. Ferro na nutrição animal.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia.
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

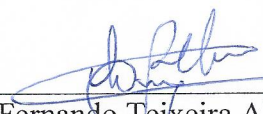
CDD 22. ed. 636.513

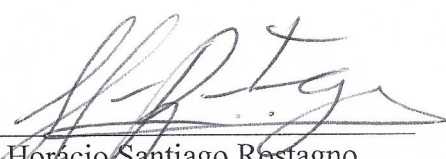
HELVIO DA CRUZ FERREIRA JÚNIOR

**EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE COBRE E DE FERRO PARA FRANGOS DE
CORTE ALIMENTADOS COM DUAS FONTES DOS MICROMINERAIS**

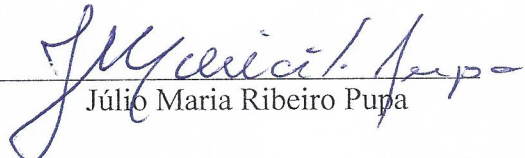
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

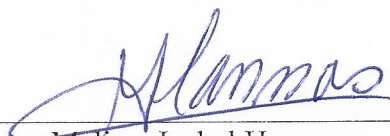
APROVADA: 19 de junho de 2018.


Luiz Fernando Teixeira Albino
(Coorientador)


Horácio Santiago Restagno
(Coorientador)


Marlene Schmidt


Júlio Maria Ribeiro Pupa


Melissa Izabel Hannas
(Orientadora)

Aos meus pais, pelo apoio e sacrifício ao longo dos anos...

Aos meus amigos, pelo suporte e companheirismo...

Ao Sheldon, meu cãozinho, pelo amor e pelas noites juntos enquanto escrevia essa tese.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Santo Expedito por fornecer a força para vencer os obstáculos, saúde para aproveitar a vida e sabedoria para alcançar meus objetivos.

Aos meus pais Lucimare e Helvio, pelo amor incondicional, carinho, por apoiar meus objetivos, por me ensinarem a ser feliz com pouco e por muitas vezes se privarem de algo para suprir minhas necessidades. E ao meu irmão Matheus pelo companheirismo e amizade ao longo dos anos.

Ao meu cãozinho Sheldon por cinco anos de companhia e amor.

A Universidade Federal de Viçosa, junto com o Departamento de Zootecnia pela minha formação profissional e por permitir a realização desse trabalho. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos. A Alltech Inc. pelo financiamento do experimento e oportunidade de trabalhar em um estudo único e inovador.

A minha orientadora Melissa, por esses seis anos de companheirismo, trabalho e ensinamentos. Por nosso relacionamento ter ultrapassado as quatro pilastras e nos tornamos grandes amigos. Serei eternamente grato a você.

Ao Professor Luiz Albino, pela oportunidade de estágio em 2009, por me acolher e acreditar no meu trabalho, e principalmente por ser humano como poucos conseguem ser. Ao Professor Horácio Rostagno, por todos os desafios e horas de trabalho e aprendizado.

A Dra. Marlene Schmidt e ao Dr. Júlio Pupa, por aceitarem participar desse momento tão importante para mim. Fico imensamente honrado em ter profissionais tão respeitados participando do meu processo de formação.

Aos meus familiares da amada São Geraldo, por me apoiarem durante meus estudos e por me receberem sempre com felicidade e um sorriso no rosto. Em especial a minha avó Ilda,

por ser esse ser humano cheio de amor e minha avó Didina (*in memoriam*) eu tenho certeza da sua presença em minha vida.

Aos amigos da ZOO7, pelos anos de graduação e pós, e por compartilhar com vocês os melhores anos da minha vida. Em especial ao Bruno, por ser meu melhor amigo e incentivador.

Aos amigos do Aviário pela acolhida desde a época do estágio, todos os almoços repletos de muitas risadas, trabalho árduo e ensinamentos.

Aos amigos, que Viçosa me presenteou, os de dentro e de fora do DZO, pela paciência, festas e por mostrar que nem só de UFV vive um estudante. Em especial ao Bruno por ser meu melhor amigo durante esses onze anos de jornada, por me aceitar do jeito que sou e pela ajuda em todos os projetos de minha vida. A Bruna pela amizade, as boas risadas e as noites de derrotas no nosso apartamento. Sempre que abrir uma cerveja no domingo para fazer almoço, vou lembrar da gente. A Alessandra, por ser o presente que 2017 colocou na minha vida, pelo trabalho e ombro amigo. Ao Maurílio pelo companheirismo e amizade. Ao Macaé pela amizade desde a graduação.

Gostaria de agradecer especialmente ao Raully, Pedro, Filipe e Carol por toda ajuda ao longo do experimento, pois este não aconteceria sem vocês. Obrigado pela amizade e por estarem sempre comigo, no campo e no bar. Serei eternamente grato.

Aos funcionários do aviário e do DZO-UFV, e todos os professores que contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

Aos meus amigos de São Geraldo, por estarem sempre comigo, vibrar minhas vitórias e me levantar quando eu não pensava ser possível. Por serem os melhores amigos que alguém poderia ter. Obrigado especialmente a minha amada amiga Juliana, que onde quer que esteja, estará sempre guiando meus passos e torcendo por mim. Dedico essa vitória a você.

*“Não tenha pena dos mortos Harry, tenha pena dos vivos...
e acima de tudo, daqueles que não tem amor.”*

Albus Percival Wulfric Brian Dumbledore

RESUMO

FERREIRA JÚNIOR, Helvio da Cruz, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2018. **Exigências nutricionais de cobre e de ferro para frangos de corte alimentados com duas fontes dos microminerais.** Orientadora: Melissa Izabel Hannas. Coorientadores: Luiz Fernando Teixeira Albino e Horácio Santiago Rostagno.

Foram conduzidos dois experimentos com o objetivo de determinar as exigências de cobre e de ferro para frangos de corte alimentados com níveis crescentes dos minerais proveniente de duas fontes, inorgânica e orgânica. Foram utilizados 500 animais aleatoriamente distribuídos em um arranjo fatorial 2 x 5 (2 fontes do mineral x 5 níveis de suplementação), totalizando 10 tratamentos, com 10 repetições de 5 aves por unidade experimental, durante 10 dias. As aves foram alimentadas com uma dieta semipurificada, a base de milho, albumina e caseína com quantidades reduzidas dos minerais em estudo. Ao final de cada período experimental, as aves e as sobras de ração foram pesadas para o cálculo dos parâmetros de desempenho; e uma ave foi abatida para coleta do músculo do peito, fígado e tíbia para determinação das concentrações dos minerais nos tecidos. Os dados foram analisados a partir de modelo polinomial quadrático e os níveis decompostos nas regressões para a estimação das exigências de cobre ou de ferro dietéticos. No experimento I, foram utilizados o sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e o proteinato de cobre (ProCu) e cinco níveis de suplementação de 0, 4, 8, 12 e 16 mg de Cu/kg. Os frangos de corte alimentados com ProCu apresentaram melhor ($P < 0,05$) conversão alimentar (CA). Houve tendência ($P < 0,10$) de redução do consumo médio diário de ração (CMDR) de aves alimentadas com $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Os níveis crescentes de Cu apresentaram resposta linear ($P < 0,05$) para CA e quadrática ($P < 0,05$) para peso médio final (PC), ganho de peso médio diário (GPMD) e CA. Houve diferenças ($P > 0,05$) entre as fontes ProCu e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Considerando o valor de 1,32 mg de Cu/ kg da dieta basal, a exigência média de cobre suplementado foi de 7,61 (8,93) mg de Cu/kg de ração. A maximização do desempenho foi atingida a partir dos níveis de cobre de 8,26 (9,58) e 8,84 (10,16) mg de Cu/kg da fonte orgânica e inorgânica, respectivamente. No experimento II, foram utilizados o sulfato de ferro ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e proteinato de ferro (ProFe) e cinco níveis de suplementação 0, 25, 50, 75 e 100 mg de Fe/kg. Os animais que receberam ProFe apresentaram tendência de menor CA ($P < 0,10$) em relação àqueles que receberam a fonte $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Enquanto que não houve diferença ($P > 0,05$) entre as fontes ProFe e $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ para desempenho e concentração do mineral nos tecidos. Considerando o valor de 29 mg da dieta basal, a exigência média de ferro foi de 41,67 (70,67) mg de Fe/kg considerando o desempenho. A exigência média de ferro da fonte orgânica foi de

43,23 (72,23) mg de Fe/kg de ração. Em relação a deposição de ferro nos tecidos e níveis de ferro séricos, a exigência média do mineral para os níveis crescentes de ferro foi de 72,80 (101,80) mg de Fe/kg de ração. A exigência média de ferro proveniente do ProFe é de 67,80 (96,80) mg de Fe/kg, valor 15% inferior em comparação a exigência média para o conteúdo de ferro nos tecidos de frangos alimentados com $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 80,19 (109,19) mg de Fe/kg de ração.

ABSTRACT

FERREIRA JÚNIOR, Helvio da Cruz, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2018. **Nutritional requirements of copper and iron for broilers fed with two trace mineral sources.** Adviser: Melissa Izabel Hannas. Co-advisers: Luiz Fernando Teixeira Albino and Horácio Santiago Hostagno.

Two experiments were conducted to determine the copper and iron requirements for broilers fed with increasing levels this mineral from two different sources. In both studies, 500 birds were randomly distributed in a factorial arrangement 2 x 5 (2 sources of minerals x 5 increasing levels of mineral addition), with a total of 10 treatments, 10 replicates with 5 animals per pen for 10 d. Broilers were fed with a semi purified diet, based on corn, albumin and casein, with reduced amounts of minerals from each study. At the end of experimental period, birds and feed leftovers were weighed for calculations of performance and one animal from each experimental unit was slaughtered and removed the chest muscle, liver and tibia for content minerals evaluation on tissues. The data were analyzed from the quadratic polynomial model and the levels decomposed in the regressions for the estimation of dietary copper or iron requirements. In the experiment I, was used copper sulphate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) and copper proteinate (CuPro) at supplementation levels of 0, 4, 8, 12 and 16 mg of Cu/kg of feed. The broilers feed with CuPro showed better ($P < 0,05$) feed conversion (FC). There was a trend ($P < 0,10$) of decreased average daily feed intake (ADFI) for birds fed with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Increased levels of Cu presented linear response ($P < 0,05$) for FC and quadratics ($P < 0,05$) for body weight (BW), average daily gain (ADG) and FC. No significant differences ($P > 0,05$) were observed between ProCu and $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sources. Considering the 1,32 mg of Cu/kg from the basal diet, the average requirement for increased levels of copper was 7,61 (8,93) mg of Cu/kg of feed. To maximize performance obtained from the copper levels were 8,26 (9,58) and 8,84 (10,16) mg of Cu/kg from the organic and inorganic source, respectively. In the experiment II, iron sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) and iron proteinate (ProFe) were used as iron sources, and five levels of iron 0, 25, 50, 75 and 100 mg of Fe/kg were supplemented in the semi purified diets. The animals that received ProFe showed a trend of decrease FC ($P < 0,10$) compared to those that received the $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. However, there was no difference ($P > 0,05$) between the ProFe and $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sources for performance and tissues mineral concentration. Considering the 29 mg of Fe from the basal diet, the average iron requirement for the increasing levels of iron was 41,67 (70,67) mg of Fe/kg for the performance responses. For the same parameters, the average iron requirement from an organic source was 43,23 (72,23) mg of Fe/kg of feed. Analyzing iron

content of tissues and serum iron levels, the average mineral requirement for increasing levels of iron was 72,80 (101,80) mg of Fe/kg of feed. The average iron requirement for ProFe is 67,80 (96,80) mg of Fe/kg, 15% lower compared to the average iron requirement for iron content in the tissues of chickens fed with the inorganic mineral source, 80,19 (109,19) mg of Fe/kg feed.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. CAPÍTULO I - Exigência de cobre para frangos de corte alimentados com diferentes fontes do mineral	7
2.1. Introdução.....	9
2.2. Material e métodos.....	11
2.3. Resultados.....	15
2.4. Discussão.....	16
2.5. Referências.....	21
2.6. Apêndice.....	26
3. CAPÍTULO I - Exigência de ferro para frangos de corte alimentados com diferentes fontes do mineral.....	35
3.1. Introdução.....	41
3.2. Material e métodos.....	43
3.3. Resultados.....	47
3.4. Discussão.....	49
3.5. Referências.....	55
3.6. Apêndice.....	60

1. INTRODUÇÃO

As exigências de microminerais para frangos de corte utilizadas pela indústria avícola são baseadas nos níveis preconizados pelo NRC (1994), onde os valores para o cobre e o ferro são de 8 e 80mg do mineral/kg. Entretanto, os trabalhos utilizados para compor essas informações, bem como os métodos para estimar os valores, vão contra as metodologias atuais para estimação dos níveis de exigências dos nutrientes. A base de dados que compõe os valores referentes ao NRC, constitui-se de pesquisas realizadas entre as décadas de 40 a 70, o que acaba desconsiderando os ganhos e desenvolvimento da genética animal ao longo do tempo. Com o avançar dos anos, o aumento do volume de trabalhos sobre determinação das exigências de nutrientes, influenciados pela concretização e estudos de níveis ótimos de aminoácidos, houve uma necessidade de desenvolver e aperfeiçoar as metodologias de estimação desses valores. Logo, pesquisas foram desenvolvidas para determinar modelos e comparar sua eficácia (Robbins et al., 1979; Robbins et al., 2006) em estabelecer as exigências de nutrientes resultando nos métodos que conhecemos hoje. Mesmo com alguns trabalhos sobre exigência de microminerais abordando as metodologias atualmente recomendadas, devido ao baixo preço de mercado e inclusão nas dietas, os níveis de suplementação das fontes desses minerais são corriqueiramente negligenciados.

Tradicionalmente, os microminerais são fornecidos na dieta através de misturas de fontes salinas (óxidos ou sulfato), constituindo assim os premixes minerais. Entretanto tais fontes podem trazer problemas para o sistema de produção, que são ignorados pelos produtores e técnicos devido ao seu baixo impacto no custo da ração. No lúmen intestinal, os sais inorgânicos se dissociam e apresentam carga, o que faz com que haja grande possibilidade de interação com moléculas presentes no ambiente. Em proporções diferentes, os microminerais cobre, ferro, manganês e zinco, são absorvidos na membrana

do enterócito pelo mesmo transportador (Grider, 2013), “o divalent metal transporter 1” (DMT1), fazendo com que excessos de fornecimento de determinados microminerais possam interferir na absorção de outros, causando o desenvolvimento de quadros de deficiência. Existe ainda uma grande variação entre as quantidades do mineral em sua própria fonte, devido ao método de processamento químico ou composição da rocha, além de grandes concentrações de outros minerais (Wong-Valle et al., 1989) fazendo com que o premix possa levar contaminação à dieta. Fontes inorgânicas provenientes de óxidos apresentam baixa solubilidade em meio aquoso e em diferentes agentes solúveis (Sandoval, et al. 1997), o que possivelmente explica os seus baixos valores de biodisponibilidade (Wong-Valle et al., 1989; Aoyagi e Baker, 1993; Edwards et al., 1999).

Por outro lado, os suplementos minerais provenientes de fontes orgânicas apresentam uma série de vantagens devido as características intrínsecas da própria molécula. Vários autores apontam como as principais características das fontes orgânicas a maior solubilidade ainda que quimicamente estável; neutralidade química impossibilitando a formação de complexos insolúveis; e a manutenção da sua integridade estrutural no trato digestivo, sugerindo que as moléculas cheguem no seu sitio absorptivo no intestino delgado intactas, absorvidas e metabolizadas com mais eficiência em relação a íons de metais (Brown & Zeringue, 1994). As fontes de minerais orgânicos apresentam maior força de quelatação (Q_f), que é o grau em que o mineral e o ligante orgânico estão ligados, e está diretamente associada à sua estabilidade no trato gastrointestinal do animal. Cao et al. (2000) mostrou que uma fonte de proteinato de zinco com força de quelatação moderada, apresentou menor solubilidade em água deionizada e em tampões com diferentes faixas de pH, enquanto que a fonte inorgânica apresentou solubilidade próxima de 99%. Isso mostra que, mesmo estável, a molécula orgânica apresenta certo grau de

solubilidade, mas não o suficiente para a completa dissociação, ajudando a prevenir a interação com outros minerais. Pesquisas mostram que fontes de Q_f moderado e forte de zinco (Yu et al., 2010) e manganês (Ji et al., 2006) apresentaram o percentual de absorção intestinal maior em relação as fontes inorgânicas dos minerais para frangos de corte. Mesmo não havendo evidências fisiológicas sobre como os minerais de fontes orgânicas são captados a nível intestinal, é possível observar que há uma maior absorção de pelo enterócito acompanhado de maior eficiência de utilização. Assim, as vantagens das fontes orgânicas de minerais, na maioria das vezes, refletem em maiores valores de biodisponibilidade relativa em relação a uma fonte inorgânica como padrão (Briens et al., 2013; Miles et al., 2003; Sahraei et al., 2012; Star et al., 2012; Zhang et al., 2016). Uma vez que as fontes orgânicas são mais disponíveis, espera-se que o animal necessite de uma menor quantidade de mineral adicionado na dieta em relação a rações suplementadas com minerais inorgânicos; ou que estes possibilitem melhores respostas de desempenho, aumento dos estoques de minerais nos tecidos ou mesmo respostas metabólicas. Essa premissa nos permite questionar se os níveis de exigências de microminerais variam de acordo com a fonte mineral suplementada nas dietas para frangos de corte e a necessidade de atualizações dos valores de suplementação de microminerais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOYAGI, S. e BAKER, D. H. Bioavailability of copper in analytical-grade and feed-grade inorganic copper sources when fed to provide copper at levels below the chick's requirements. **Poult. Sci.** 72:1075-1083, 1993.
- BRIENS, M.; MERCIER, Y.; ROUFFINEAU, F.; VACCHINA, V.; GERAERT, P. A. Comparative study of a new organic selenium source v. seleno-yeast and mineral selenium sources on muscle selenium enrichment and selenium digestibility in broiler chickens. **Brit. J. Nutr.** 110:617-624, 2013.
- BROWN, T. F., e ZERINGUE, K. Laboratory Evaluations of Solubility and Structural Integrity of Complexed and Chelated Trace Mineral Supplements. **J. Dairy Sci.** 77: 181-189, 1994.
- CAO, J.; HENRY, P. R.; GUO, R.; HOLWERDA, R. A.; TOTH, J. P.; LITTELL, R. C. MILLES, R. D.; AMMERMAN, C. B. Chemical Characteristics and Relative Bioavailability of Supplemental Organic Zinc Sources for Poultry and Ruminants. **J. of Anim. Sci.** 78:2039-2054, 2000.
- EDWARDS, H. M. e BAKER, D. H. Bioavailability of zinc in several sources of zinc oxide, zinc sulfate, and zinc metal. **J. Anim. Sci.** 77:2730-2735, 1999.
- GRIDER, A. Zinc, copper and manganese. Em: **Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition**. M. H. Stipanuk and M. A. Caudill, 3rd ed., 2013, 829-845p.
- JI, F.; LUO, X. G.; LU, L.; LIU, B. Effect of Manganese Source on Manganese Absorption by the Intestine of Broilers. **Poult. Sci.** 85:1947-1952, 2006.

- MILES, R. D.; HENRY, P. R.; SAMPATH, V.C.; SHIVAZAD, M.; COMER, C. W.
Relative bioavailability of a novel amino acid chelates of manganese and copper for chicks. **J. Appl. Poult. Res.** 12:417-423, 2003.
- National Research Council. **Nutrient requirements of poultry**. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. 1994.
- ROBBINS, K. R.; NORTON, H. W.; BAKER, D. H. Estimation of nutrient requirements from growth data. **J. Nutr.** 109:1710-1714, 1979.
- ROBBINS, K. R.; A. M. SAXTON; L. L. SOUTHERN. Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. **J. Anim. Sci.** 84:155-165, 2006.
- ROSTAGNO, H. S. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 4th Federal University of Viçosa, Minas Gerais, 2017.
- SANDOVAL, M.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B.; MILLES, R. D.; LITTELL, R. C. Relative bioavailability of supplemental inorganic zinc sources of chicks. **J. Anim. Sci.** 75:3195-3205, 1997.
- SHARAEI, M.; JANMMOHAMADI, H.; TAGHIZADED, A.; MOGHADAM, G. A.; RAFAT, S. A. Estimation of the Relative Bioavailability of Several Zinc Sources for Broilers When fed a Conventional Diet. **Biotechnol. Anim. Husb.** 28:441-453, 2012.
- STAR, L.; VAN DER KLIS, J.D.; RAPP, C.; WARD, T. L. Bioavailability of Organic and Inorganic Zinc Sources in Male Broilers. **Poult. Sci.** 91:3115-3120, 2012.
- WONG-VALLE, J.; C. B. AMMERMAN; P. R. HENRY; P. V. RAO; R. D. MILLES. Bioavailability of manganese from feed grade manganese oxides for broilers chicks. **Poult. Sci.** 68:1368-1373, 1989.

YU, Y.; LU, L.; WANG, R. L.; XI, L.; LUO, X. G.; LIU, B. Effects of Zinc Source and Phytate on Zinc Absorption by in Situ Ligated Intestinal Loops of Broilers. **Poult. Sci.**, 89:2157-2165, 2010.

ZHANG, L.Y.; LU, L. L.; LOU, X. G. The chemical characteristics of organic iron sources and their relative bioavailability for broilers fed a conventional corn-soybean meal diet. **J. Anim. Sci.** 94:2378-2396, 2016.

Capítulo redigido conforme as normas da revista Poultry Science

Exigência de cobre para frangos de corte alimentados com diferentes fontes do mineral.

*Correspondência do autor. Tel: 55-42-999829826; e-mail: mail.helviocruz@gmail.com

ABSTRACT

O cobre (Cu) é responsável por uma série de funções no organismo animal, principalmente como cofator enzimático de muitas enzimas. Sua suplementação na dieta é feita tradicionalmente através de fonte inorgânica (sulfato de cobre) para suprir as exigências nutricionais de frangos de corte. O experimento foi conduzido para avaliar a exigência de frangos de corte com 17 dias de idade frente aos níveis crescentes de cobre de duas fontes do mineral. Um total de 500 frangos de corte foram aleatoriamente distribuídos em arranjo fatorial 2 x 5 (2 fontes de Cu x 5 níveis crescentes de Cu), com 10 repetições e 5 aves por repetição. Foram utilizadas uma fonte de Cu orgânica (ProCu) e outra inorgânica ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e suplementação dos níveis de 0, 4, 8, 12 e 16 mg de Cu/kg. Foi utilizada uma dieta semipurificada para obter níveis mínimos do mineral em estudo. O ProCu apresentou menor ($P < 0.05$) conversão alimentar (CA) e tendência ($P < 0.05$) de redução de consumo de ração das aves em relação a fonte inorgânica. Não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0.05$) entre as fontes ProCu e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ para concentração de Cu em tecidos. Considerando o valor de 1.32 mg de Cu/kg da dieta basal, a exigência média referente aos níveis crescentes de cobre suplementado foi de 7,61 (8,93) mg de Cu/kg de ração. As respostas médias para maximização do desempenho foram atingidas com os níveis de cobre de 8,26 (9,58) e 8,84 (10,16) mg de Cu/kg da fonte orgânica e inorgânica, respectivamente. Considerando a concentração de cobre nos tecidos, a exigência do mineral foi de 7,98 (9,30) mg de Cu/kg para os níveis crescentes de suplementação do mineral. A exigência de Cu da fonte inorgânica foi menor em relação ao ProCu, entretanto a fonte orgânica apresentou melhor CA.

Palavras-chave: Frangos, cobre, exigência, conversão alimentar e biodisponibilidade.

INTRODUÇÃO

O cobre é um mineral presente na dieta dos animais e desempenha amplas funções para a manutenção de diferentes sistemas fisiológicos. Dentre estes, é extensivamente documentado a sua participação como cofator enzimático da enzima superóxido desmutase (Fukai e Ushio-Fukai, 2011; Surai, 2016) na proteção das células contra a atividade das espécies reativas de oxigênio. Dentro da família das aminas oxidase de cobre, a lisil oxidase é uma proteína que contém cobre (Wang et al., 1996) responsável pela formação de ligações cruzadas de lisina para a formação proteínas de caráter estrutural, particularmente o colágeno e a elastina (Rucker et al., 1998). Além disso, estudos mostram que o status de cobre está intimamente relacionado com a resposta imunológica animal. Ratos submetidos a deficiência crônica de cobre apresentaram grande redução do peso relativo do órgão linfoide timo (Prohaska et al., 1983; Lukasewycz et al., 1990) e a diminuição da quantidade relativa de células T esplênicas (Lukasewycz et al., 1985) explicada pela redução da proliferação dos linfócitos no baço (Lukasewycz et al., 1990). Da mesma forma, os níveis de imunoglobulina sérica G foram diminuídos em ratos alimentados com dieta purificada deficiente em cobre (Lukasewycz et al., 1990).

Considerando o entendimento das funções desempenhadas por este mineral, o cobre é fornecido nas dietas de frangos de corte como constituinte da mistura mineral. Na maioria das vezes, essa mistura contém todos as fontes de microminerais usualmente fornecidas na forma de sais de sulfato. No caso do cobre, adicionado a dieta na forma de sulfato de cobre, assim excedendo ou atendendo as exigências nutricionais dos animais. A exigência nutricional de cobre estabelecida é 8 mg/kg (NRC, 1994) para frangos de corte, entretanto existem algumas considerações quanto as metodologias experimentais utilizadas para estimar esse valor. McNaughton et al. (1979) consideraram o valor de 10

mg/kg de cobre para maximizar o ganho de peso das aves aos 21 dias de idade. Entretanto o número foi obtido levando-se em consideração o maior valor de ganho de peso determinado segundo um teste de Duncan a 5% de probabilidade. Ao longo das décadas houve um aumento do volume de estudos referentes a determinação das exigências de nutrientes, principalmente relacionado aos níveis ótimos de aminoácidos para frangos de corte, e a necessidade de desenvolvimento e aperfeiçoamento das metodologias para a sua estimação. Logo, pesquisas foram desenvolvidas para determinar modelos e comparar sua eficácia (Robbins et al., 1979; Robbins et al., 2006) em estabelecer as exigências resultando nos métodos que conhecemos hoje. Além do número restrito de pesquisas para determinação desses valores, os trabalhos são datados de décadas passadas não se levando em consideração os ganhos genéticos produtivos dos animais.

Mesmo a mistura mineral na forma de sais sendo a mais utilizada na indústria, seu uso apresenta série de desvantagens em relação as características desse tipo de molécula. As fontes inorgânicas de minerais podem apresentar baixa biodisponibilidade (Henry et al., 1989; Aoyagi e Baker, 1993a; Edwards e Baker, 1999), contaminação com outros minerais traços (Sandoval et al., 1997), aumento da quantidade de mineral excretada (Nollet et al., 2007) e interações com agentes ligantes como a molécula de fitato (Yu et al., 2010). Assim, ao longo do tempo, fontes orgânicas de microminerais foram desenvolvidas como alternativa às misturas inorgânicas de sais. Os minerais ligados a moléculas orgânicas trazem uma série de benefícios como uma maior solubilidade ainda que quimicamente estável; neutralidade química, impossibilitando a formação de complexos insolúveis; e a manutenção da sua integridade estrutural no trato digestivo, sugerindo que as moléculas cheguem no seu sitio absorptivo no intestino delgado intactas (Brown e Zeringue, 1994). Experimentos comprovam que, uma vez que atingem o intestino, os minerais de fontes orgânicas são mais absorvidos em relação aos de fontes

inorgânicas (Jia et al., 2006; Yu et al., 2010) sugerindo assim a sua maior eficiência e metabolização.

O reflexo de tais propriedades resulta em maiores valores de biodisponibilidade de fontes orgânicas de cobre (Aoyagi e Baker, 1993b; Aoyagi e Baker, 1993c, Guo et al., 2001) em relação a uma fonte de cobre inorgânica considerada como padrão. As diferenças químicas e estruturais entre as fontes de minerais traço, aliado as vantagens da utilização de fontes orgânicas, nos permite questionar se as exigências de cobre para frangos de corte são as mesmas independente da fonte do mineral utilizado na constituição do premix. Rostagno et a. (2017), preconizam a suplementação de 10,54 e 4,58 mg de Cu/kg de ração para as fontes de minerais inorgânicas e orgânicas, respectivamente. Aproximadamente, 45% do valor da fonte do mineral considerada padrão para garantir máximo desempenho das linhagens genéticas atuais de frangos de corte. Entretanto, o número de pesquisas relacionadas a determinação de exigência de minerais traço ainda é limitado, uma vez que o nutriente entra em quantidades pequenas na constituição da dieta e representa baixo incremento no custo de produção das rações. Portanto, o objetivo do estudo foi investigar a exigência nutricional de cobre para frangos de corte a partir de diferentes fontes do mineral, sulfato de cobre e proteinato de cobre, fornecidas em uma dieta semipurificada contendo cinco níveis crescentes do mineral estudado.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos utilizados no presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP/UFV – nº 111/2014) da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. O experimento foi realizado no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia, UFV, Brasil, em janeiro e fevereiro de 2017.

Animais e Manejo

Um total de mil pintinhos Cobb 500 machos com um dia de idade (Rivelli, Mateus Leme, Brasil) foram criados em um círculo de proteção até os oito dias de idade recebendo ração e água a vontade. A dieta pré inicial foi formulada a base de milho, farelo de soja e glúten de milho (tabela 1) para atender ou extrapolar as exigências nutricionais das aves preconizadas por Rostagno et al. (2011) exceto para os níveis de cobre, com 5 mg de Cu/kg de ração. Foi realizada suplementação a partir de uma mistura mineral contendo apenas 50% da exigência de cobre (4 mg/kg) com a finalidade de diminuir os reservas corporais do mineral resultando em um valor de 9 mg de Cu/kg.

Dietas Experimentais e Tratamentos

Aos oito dias de idade, 500 aves foram transferidas para um galpão de alvenaria e colocadas em gaiolas plásticas de 49cm x 27cm x 33cm (comprimento x altura x profundidade) com comedouros tubulares de plásticos, bebedouros e bandejas forradas com lona plástica para evitar qualquer contaminação externa. Ração e água desmineralizada foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental. A temperatura do galpão foi mantida usando lâmpadas infravermelhas de 250 watts e cortinas nas laterais do galpão. A luz foi fornecida de forma contínua em um programa de 12 horas de luz natural e 12 horas de luz artificial.

Quinhentas aves com peso inicial de $167,6 \pm 1,58$ g e oito dias de idade foram distribuídas aleatoriamente em um arranjo fatorial 2 x 5, com duas fontes diferentes do mineral e cinco níveis de suplementação em um total de 10 tratamentos e 10 repetições com 5 animais por gaiola. Cada gaiola foi considerada como uma unidade experimental. As fontes utilizadas foram o sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) com 34,5% de Cu (Microsal

Indústria e Comércio – Capivari, SP) e um proteinato de cobre (ProCu) com 10% de Cu (Bioplex® - Alltech, Maringá, Brasil). Os tratamentos dietéticos incluíram uma dieta basal semipurificada suplementada com os níveis de 0, 4, 8, 12 e 16 mg de Cu/kg adicionando Cu a partir das fontes inorgânica e orgânica.

A dieta basal semipurificada a base de caseína, albumina, milho e dextrose (tabela 2) foi formulada para exceder ou atender as exigências nutricionais dos animais segundo Rostagno et al (2011). A mesma dieta, continha uma quantidade de 1,32 mg de Cu/kg na intenção de se obter valores mínimos de cobre, permitindo a expressão da resposta animal com os níveis suplementados. Os níveis dos demais microminerais (ferro, manganês, zinco e selênio) foram mantidos dentro das recomendações do NRC (1994). Nos tratamentos onde foi utilizado a fonte orgânica de cobre, todos os demais microminerais que foram suplementados na mistura mineral também estavam sob a forma orgânica, com exceção do iodo; e quando utilizado a fonte $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, os outros microminerais foram fornecidos sob mesma característica. Foi adicionado a dieta semipurificada o fitato de sódio na tentativa de simular a presença do fator antinutricional em uma dieta a base de milho e farelo de soja. Além disso, todos os tratamentos foram suplementados com uma enzima fitase de uso comercial.

Desempenho e Coleta de Amostras

Ao final do período experimental, os animais com dezessete dias de idade foram pesados e as sobras de rações foram coletadas e pesadas de cada unidade experimental para determinar o peso corporal final (PCF), o ganho de peso médio diário (GPMD), o consumo médio diário de ração (CMDR) e a conversão alimentar (CA) durante os dez dias de experimento. No mesmo dia, um animal por repetição foi selecionado aleatoriamente e abatido por deslocamento cervical. Foi feito um corte longitudinal na

cavidade abdominal para coletar o fígado e a parte esquerda do peito. A tibia esquerda também foi retirada para a análise de concentração mineral no respectivo tecido. Os tecidos coletados foram liofilizados (Liobras – São Carlos, SP) e moídos em moinho de bolas (Tecnal Equipamentos para Laboratório, TE-350, São Paulo, Brazil) durante cinco minutos. A mortalidade ao longo do período experimental foi quase nula (2 aves), sendo a CA ajustada para as unidades experimentais em que ocorreram as perdas.

Concentração de Cu

O nível de cobre de todos os ingredientes foi determinado antes de se fazer as dietas para estimar com segurança os valores mínimos do mineral. Uma alíquota de 0,6 g dos tratamentos dietéticos, das excreta e dos tecidos coletados foram pesados em balança analítica e colocados em tubos de ensaio com uma solução de 4:1 de ácido nitroperclórico (4 partes de ácido nítrico e 1 parte de ácido perclórico). Após a queima calórica em bloco digestor à 200°C, a solução foi filtrada em papel filtro quantitativo (tamanho do poro de 7.5 µm) em balão volumétrico de 50 ml e completados com água destilada. A quantidade de cobre foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica (BEL Engineering, V-M5 – Piracicaba, SP) no laboratório de nutrição animal, UFV, Brasil.

Análise Estatística

Os dados foram submetidos a ANOVA utilizando o procedimento GLM do SAS (SAS user's guide, 2011) para medir os efeitos dos níveis e fontes de cobre, como também as interações. A gaiola foi considerada como unidade experimental. As respostas para diferentes fontes de cobre foram obtidas segundo o teste-F e contrastes ortogonais foram aplicados para respostas lineares e quadráticas para os níveis de suplementação.

Análise de regressão também foram aplicadas aos níveis dietéticos de cobre dentro de cada fonte. As equações regressões obtidas para efeito das fontes foram comparadas a

partir de contrastes ortogonais. O critério de resposta foi considerado significativo para P-valor <0,05 e tendência de resposta para P-valor <0,10. A estimação da máxima resposta ao total de cobre dietético foi feita usando o modelo polinomial quadrático (QP). O modelo QP ($Y = \beta_1 + \beta_2 X \text{ Cu} + \beta_3 X \text{ Cu}^2$) tem Y como a variável dependente em função dos níveis dietéticos de Cu; β_1 como o intercepto; β_2 como o coeficiente linear; e β_3 como o coeficiente quadrático. A resposta máxima para Cu foi definida como $\text{Cu} = -\beta_2 \div (2 X \beta_3)$. O modelo linear plateau (LRP) e exponencial também foram utilizados para estimar os valores de exigência de cobre. Entretanto, devido ao baixo ajuste dos dados aos referidos modelos, os resultados não foram considerados no artigo.

RESULTADOS

Os valores de cobre dos tratamentos foram analisados (tabela 3) antes das dietas terem sido fornecidas aos animais como forma de garantir o fornecimento dos níveis desejados do mineral para cada fonte. Os mesmos níveis de cobre foram obtidos a partir da média de dez repetições de uma amostra para cada tratamento. A relação entre os níveis de Cu calculados e analisados foram mais semelhantes para a fonte de ProCu em comparação à fonte $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. O peso inicial dos animais de 167g com oito dias para início do experimento foi 22,32% inferior ao recomendado pelo manual da linhagem (Cobb-Vantress, 2013). Isso mostra que a suplementação de uma mistura mineral com apenas 50% da exigência de Cu foi suficiente para reduzir as reservas de Cu no corpo das aves nos primeiros oito dias de vida do animal.

Em relação ao desempenho, não houve interação ($P > 0,05$) entre os níveis crescentes de suplementação e as diferentes fontes de cobre utilizadas (tabela 4). Os animais que foram alimentados com ProCu apresentaram menor CA ($P < 0,05$). Além disso, houve uma tendência ($P < 0,10$) de redução do CMDR para as mesmas aves em

comparação àquelas que receberam a fonte inorgânica. Os níveis crescentes de suplementação de Cu apresentaram resposta linear ($P < 0,05$) para CA e quadrática ($P < 0,05$) para PCF, GPMD e CA.

Não houve interação ($P > 0,05$) entre os níveis crescentes de cobre e as fontes para concentração de cobre nos tecidos (tabela 5). Também não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as fontes ProCu e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. A concentração de cobre no fígado e na tíbia apresentaram respostas lineares ($P < 0,05$) frente aos níveis crescentes de suplementação do mineral. Além disso, os níveis crescentes de suplementação de cobre mostraram uma tendência de resposta quadrática ($P < 0,10$) para a concentração de cobre no peito dos animais com 17 dias de idade.

A resposta máxima em relação aos níveis de cobre dietético médios e por cada fonte estão apresentadas na tabela 6. A exigência de cobre baseada no PCF é de 6,75 mg/kg para os níveis de suplementação de cobre e 7,44 mg/kg para o ProCu. A máxima resposta para GPMD foi observada com 6,76 mg/kg de Cu para os níveis de suplementação cobre e 7,47 para a fonte ProCu. A exigência de Cu para maximizar a conversão alimentar foi de 9,31, 9,87 e 8,84 mg/kg para os níveis crescentes de Cu, e as fontes ProCu e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, respectivamente. A concentração máxima de Cu no músculo do peito das aves, aos 17 dias de idade, foi atingida com o nível de 7,98 mg de Cu/kg.

DISCUSSÃO

O uso da dieta com 50% das recomendações do micromineral teste, na fase de alojamento e o uso de uma dieta purificada foram avaliados em experimentos pilotos, previamente a realização do ensaio. Entretanto, a adoção de uma dieta a base de milho e farelo de soja, com suplementação de 50% da recomendação nutricional do mineral, foi

que permitiu a obtenção de animais viáveis aos 8 dias de idade. A utilização de uma dieta completamente purificada de 1 a 7 dias de idade como forma de reduzir os estoques de cobre, resultou em grande prejuízo no peso corporal dos animais e alta taxa de mortalidade. No período experimental, a utilização da mesma dieta durante os dez dias de ensaio, promoveu limitações das aves como empenamento desuniforme, auto índice de regurgitação e baixo ganho de peso. Assim, decidiu-se seguir com uma dieta semi purificada que nos garantiu redução dos níveis do mineral na ração e resposta de desempenho inferiores, mas que permitiram os animais a continuar no experimento.

Starcher (1969) trabalhando com cobre marcado, definiu o duodeno como o principal local de absorção de cobre das aves. Mesmo o proventrículo apresentando uma absorção significativa do mineral, no duodeno o valor encontrado foi cinco vezes superior. O cobre uma vez no lúmen intestinal é absorvido por proteínas de membrana que permitem sua incorporação ao enterócito. Na mesma célula, existe um carreador apical para carrear moléculas de cobre, o “copper membrane transporter” ou CRT1, especializado em absorver cobre na sua forma reduzida Cu^+ (Grider, 2013). Entretanto, a forma divalente Cu^{2+} é transportada através do DMT1 (divalente metal transporter 1), podendo ser armazenado no enterócito pela metalotioneína ou ligado a chaperonas (Grider, 2013). Enquanto que sua distribuição ao longo do corpo é realizada pela ceruloplasmina, albumina e outras proteínas ligantes de cobre em quantidades menos expressivas (Wapnir, 1998).

A exigência de cobre para frangos de corte é de 8 mg/kg segundo o NRC (1994). Este valor foi estabelecido a partir de um estudo abordando diferentes relações de suplementação de ferro e cobre, onde o nível de 6 mg de Cu/kg e 10 mg de Cu/kg apresentaram maiores respostas em relação ao aumento de hemoglobina e peso das aves aos 21 dias de idade (McNaughton and Day, 1979), respectivamente. Além disso, as

respostas máximas foram obtidas através do teste de média Duncan a 5% de probabilidade. Mesmo o NRC sendo a maior referência quanto aos níveis de exigência dos nutrientes de uma forma geral, o referido trabalho não leva em consideração os quarenta anos de ganho e melhoramento genético das linhagens. Estas com o crescimento e deposição de proteínas em tecidos muito mais rápidos do que as aves utilizadas em experimentações de décadas passadas. Além do número reduzido de trabalhos para determinar as exigências de minerais traços para frangos de corte, como o trabalho acima, as metodologias para determinação da exigência dos microminerais, não estão de acordo com as metodologias atualmente preconizadas. Tal realidade faz com que haja a necessidade de se buscar novos estudos com a finalidade de obter os níveis ótimos de cobre para formulação de dietas de frangos de corte. Rostagno et al. (2017), mostram os valores de suplementação de microminerais para as diferentes fases de produção de frangos de corte. Entretanto, as quantidades recomendadas se baseiam em máximo ganho de peso, e não em exigência.

O baixo valor de peso médio das aves aos 8 dias de idade e ao final do período experimental para o nível de zero de suplementação, é indicativo de que os animais sofreram algum grau de deficiência de cobre. Mesmo os frangos sendo alimentadas com uma dieta a base de milho e farelo de soja e 50% (4mg de Cu/kg) de suplementação do mineral, o cobre proveniente dos ingredientes de origem vegetal está geralmente ligado à molécula de fitato o que o torna de difícil acesso para a absorção. Aoyagi e Baker (1993d) encontraram valores de biodisponibilidade de cobre de 38 e 48% para o farelo de soja e glúten de milho, respectivamente. Além disso, a quantidade total de cobre analisada no milho utilizado no experimento foi baixa, aproximadamente 2 mg de Cu/kg (dados não apresentados). Assim é possível afirmar que, mesmo a ração de 1 a 7 dias apresentando níveis de cobre dentro das exigências, esse mineral não estava completamente disponível

fazendo com que a ave entrasse em deficiência. Além da redução do peso dos animais, a deficiência de cobre pode causar claudicação das aves associada com o aparecimento múltiplas lesões nos ossos e cartilagens (O'Dell et al. 1961; Carlton e Henderson, 1964; Rucker e Goettlich-riemann, 1972) e estreitamento da parede da aorta acompanhado de aneurisma dissecante (O'Dell et al. 1961). Kaya et al. (2006), trabalhando com duas dietas deficientes ou não em cobre, concluiu que a deficiência de cobre causa hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia e anemia em frangos aos 49 dias de idade.

As informações sobre a exigência de cobre para frangos de corte são limitadas ou obtidas a décadas passadas. Além disso, tradicionalmente a inclusão de cobre nas dietas são feitas segundo recomendações de empresas produtoras de premixes minerais, e não a partir dos valores de exigência. Assim, geralmente adicionada em elevadas concentrações, sob uma margem de segurança para produção não levando em consideração a exigência de fato. Nesse estudo, os níveis crescentes de cobre maximizaram as respostas de PC, GPMD, CA e concentração de cobre no peito com 6.75, 6.76, 9.87 e 7.98 mg de Cu/kg de ração, respectivamente. As repostas obtidas para PC e GPMD estão ligeiramente abaixo dos 8mg/kg recomendados pelo NRC (1994), enquanto que o valor para maximização da CA está próximo ao preconizado por Schmidt et al (2005) que encontraram o valor de 9.48 mg de Cu/kg para frangos de 8 a 21 dias de idade.

Esperava-se encontrar diferenças entre as exigências do mineral cobre para as diferentes fontes, uma vez que apresentam estruturas químicas e biodisponibilidades diferentes. Observou-se menor CA ($P < 0.05$) para os animais que foram alimentados com níveis crescentes de cobre da fonte ProCu, em relação as aves alimentadas com a fonte inorgânica. Os resultados corroboram com alguns trabalhos publicados, onde as fontes orgânicas apresentam melhores respostas dos parâmetros relacionados ao desempenho das aves (Pott et al. 1994; Mondal et al. 2007; Jegede et al. 2011). Os ganhos em

desempenho e concentração de cobre em tecidos de frangos alimentados com fontes orgânicas do mineral, estão associados com a maior biodisponibilidade da mesma em relação as fontes inorgânicas (Aoyagi e Baker, 1993b; Aoyagi e Baker, 1993c, Guo et al., 2001). A menor solubilidade em diferentes agentes solúveis, pH e o maior grau de força de quelatação das fontes orgânicas (Cao et al. 2000; Li et al. 2004) garantem uma maior estabilidade da molécula durante a passagem do trato gastrointestinal resultando na chegada do mineral ao sítio absorptivo. Estudos com frangos de corte alimentados com fontes inorgânicas ou orgânicas com diferentes graus de quelatação mostraram que o manganês (Ji et al. 2006) e zinco (Yu et al. 2010) de fontes orgânicas são mais absorvidos do que as fontes dos minerais na forma de sulfato. Tais características reforçam a ideia de que os minerais de fontes orgânicas teriam uma exigência menor por serem mais estáveis e disponíveis. Rostagno et al. (2017), recomendam níveis de suplementação de minerais de fontes orgânicas 45% menores em relação aos níveis dos mesmos microminerais de fontes inorgânicas. Sendo a exigência de cobre orgânico de 4,54 mg/kg, cerca de 43% menor em relação ao nível de 10,54 mg de Cu/kg para as fontes inorgânicas. Entretanto a resposta observada para maximização da CA mostra o contrário, onde os valores encontrados foram 9.87 e 8.84 mg de Cu/kg para as fontes ProCu e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, respectivamente. A explicação para tal resposta se sustenta ao se analisar os resultados médios do GMPD dos níveis de cobre para cada fonte do mineral suplementada, onde temos 33.77, 34.44, 34.64, 34.07 e 33.67 para a ProCu; e 33.65, 34.33, 33.91, 33.47 e 33.36 para $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. O consumo sendo igual para ambas as fontes e o $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ obtendo um máximo ganho de peso em um nível de suplementação de cobre (4 mg/kg) menor, resultou em um ponto de mínima para CA anterior ao da fonte ProCu, que teve seu valor de GPMD máximo no nível de 8mg/kg. Vale ressaltar, que mesmo apresentando um valor de 1 mg de Cu/kg a mais, o ProCu apresentou menor CA para as aves

alimentadas de 8 a 17 dias de idade. Trabalhos realizados por Sandoval et al. (1997) e Cao et al. (2000) mostram a alta solubilidade de fontes de minerais inorgânicas em meio aquoso ou em diferentes solventes. Como a dieta semi purificada utilizada no presente estudo é composta por grande quantidade de ingredientes “feed grade” espera-se que a sua solubilidade seja maior em relação a uma dieta a base de milho e farelo de soja. Assim, o sal de sulfato de cobre mais solúvel fornecido em uma dieta também de solubilidade aumentada, pode ter pronunciado os efeitos indesejáveis das fontes inorgânicas como aumento da interação com outros minerais ou mesmo a ligação com o fitato presente na dieta, resultando em maiores valores de CA.

Em conclusão, a exigência de cobre foi estimada a partir dos níveis suplementados, uma vez que o houve variação entre os valores calculados para as diferentes fontes do mineral, podendo provocar interpretação errônea dos dados. Considerando o valor de 1,32 mg de Cu/ kg da dieta basal, os resultados desse estudo indicam que a exigência média referente aos níveis crescentes de cobre suplementado foi de 7,61 (8,93) mg de Cu/kg de ração. As respostas médias para maximização do desempenho foram atingidas a partir dos níveis de cobre de 8,26 (9,58) e 8,84 (10,16) mg de Cu/kg da fonte orgânica e inorgânica, respectivamente. Considerando a concentração de cobre nos tecidos, a exigência do mineral foi de 7,98 (9,30) mg de Cu/kg para os níveis crescentes de suplementação do mineral. Considerando apenas a CA das aves, houve uma maior exigência de Cu para os animais alimentados com a fonte orgânica ProCu segundo o modelo polinomial quadrático, entretanto as aves alimentadas com essa fonte apresentaram menores valores de CA comparadas àquelas que receberam $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

REFERÊNCIAS

- Aoyagi, S., and D. H. Baker. 1993a. Bioavailability of copper in analytical-grade and feed-grade inorganic copper sources when fed to provide copper at levels below the chick's requirements. *Poult. Sci.* 72:1075-1083.
- Aoyagi, S., and D. H. Baker. 1993b. Nutritional evaluation of a copper-methionine complex for chicks. *Poult. Sci.* 72:2309-2315.
- Aoyagi, S., and D. H. Baker. 1993c. Nutritional evaluation of a copper-lysine and zinc-lysine complex for chicks. *Poult. Sci.* 72:165-171.
- Aoyagi, S., and D. H. Baker. 1993c. Estimates of copper bioavailability from liver of different animal species and from feed ingredients derived from plants and animals. *Poult. Sci.* 72:1746-1755.
- Brown, T. F., K. Zeringue. 1994. Laboratory Evaluations of Solubility and Structural Integrity of Complexed and Chelated Trace Mineral Supplements. *J. Dairy Sci.* 77: 181-189.
- Carlton, W. W., W. Henderson. 1964. Skeletal lesions in experimental copper-deficiency in chickens. *Avian Dis.* 8: 48-55.
- Cao, J., P. R. HENRY, R. GUO, R. A. Howerda, J. P. Toth, R. C. Littell, R. D. Miles, C. B. Ammerman. 2000. Chemical Characteristics and Relative Bioavailability of Supplemental Organic Zinc Sources for Poultry and Ruminants. *J. Anim. Sci.* 78:2039-2054.
- Cobb-Vantress. 2013. Breeder Management Supplement. Cobb Vantress Inc., Siloam Springs, AR.
- Edwards, H. M., D. H. Baker. 1999. Bioavailability of zinc in several sources of zinc oxide, zinc sulfate, and zinc metal. *J. Anim. Sci.* 77:2730-2735.

- Fukai, T., and M. Ushio-Fukai. 2011. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid. Redox. Sign.* 6:1583-1606.
- Grider, A. 2013. Zinc, copper and manganese. Pages 829-845 in *Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition*. M. H. Stipanuk and M. A. Caudill, 3rd ed., St. Louis, Missouri, United States of America.
- Guo, R., P. R. Henry, R. A. Holwerda, J. Cao, R. C. Littell, R. D. Miles, C. B. Ammerman. 2001. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. *J. Anim. Sci.* 79:1132-1141.
- Henry, P. R., C. B. Ammeman, R. D. Miles. 1989. Relative bioavailability of manganese in a manganese-methionine complex for broiler chicks. *Poul. Sci.* 68:107-112.
- Jegede, A. V., O. O. Oduguwa, A. M. Bangbose, A. O. Fanimu, L. Nollet. 2011. Growth response, blood characteristics and copper accumulation in organs of broilers fed on diets supplemented with organic and inorganic dietary copper sources. *Brit. Poultry Sci.* 52:133-139.
- Ji, F., X. G. Luo, L. Lu, B. Liu, S. X. Yu. 2006. Effect of Manganese Source on Manganese Absorption by the Intestine of Broilers. *Poult. Sci.* 85: 1947-1952.
- Kaya, A., A. Altiner, A. Özpınar. 2006. Effect of copper deficiency on blood lipid profile and haematological parameters in broilers. *J. Vet. Med.* 53: 399-404.
- Li, S., X. Luo, B. Liu, T. D. Crenshaw, X. Kuang, G. Shao, S. Yu. 2004. Use of chemical characteristics to predict the relative bioavailability of supplemental organic manganese sources for broilers. *J. Anim. Sci.* 82:2352-2363.
- Lukasewycz, O. A., J. R. Prohaska, S. G. Meyer, J. R. Schmidtke, S. M. Hatfield, P. Marder. 1985. Alterations in lymphocyte subpopulations in copper-deficient mice. *Infect. Immun.* 48: 644-647.

- Lukasewycz, O. A., and J. R. Prohaska. 1990. The immune response in copper deficiency. *Ann. Ny. Acad. Sci.* 587: 147-159.
- McNaughton, J. L., E. J. Day. 1979. Effect of Dietary Fe to Cu Rations on Hematological and Growth Responses of Broilers Chickens. *J. Nutr.* 109: 559-564.
- Mondal, M. K., T. K. Das, P. Biswas, C. C. Samanta, B. Bairagi. 2007. Influence of dietary inorganic and organic copper salt and level of soybean oil on plasma lipids, metabolites and mineral balance of broiler chickens. *Anim. Feed. Sci. and Tech.* 139:212-233.
- National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nollet, L., J. D. van der Klis, M. Lensing, P. Spring. 2007. The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. *J. Appl. Poult. Res.* 16: 592-597.
- O'Dell, B. L., D. W. Bird, D. L. Ruggles, J. E. Savage. 1966. Composition of aortic tissue from copper-deficient chicks. *J. Nutr.* 88: 9-14.
- Pott, E. B., E. B. Henry, C. B. Ammerman, Merritt, A. M., Madison, J. B., Miles, R. D. 1994. Relative bioavailability of copper in a copper-lysine complex for chicks and lambs. *Anim. Feed. Sci. and Tech.* 45:193-203.
- Prohaska, J. R., S. W. Downing, O. A. Lukasewycz. 1983. Chronic dietary copper deficiency alters biochemical and morphological properties of mouse lymphoid tissues. *J. Nutr.* 113: 1583-1590.
- Robbins, K. R.; H. W. Norton, D. H. Baker. 1979. Estimation of Nutrient Requirements from Growth data. *J. Nutr.* 109: 1710-1714.
- Robbins K. R., A. M. Saxton; L. L. Southern. 2006. Estimation of Nutrient Requirements using broken-line regression analysis. *J. Anim. Sci.* 84: 155-165.

- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto, and R. F. Euclides. 2011. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 3th Federal University of Viçosa, Minas Gerais.
- Rostagno, H. S. 2017. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 4th Federal University of Viçosa, Minas Gerais.
- Rucker, R. B., and W. Goettlich-riemann. 1972. Isolation and properties of soluble elastin from copper-deficient chicks. *J. Nutr.* 102: 563-570.
- Rucker, R. B., T. Kosonen, M. S. Clegg, A. E. Mitchell, B. R. Rucker, J. Y. Uriu-Hare, C. L. Keen. 1998. Copper, lysyl oxidase, and extracellular matrix protein cross-linking. *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 996S-1002S.
- Sandoval, M., P. R. Henry, C. B. Ammerman, R. D. Miles, R. C. Littell. 1997. Relative bioavailability of supplemental inorganic zinc sources of chicks. *J. Anim. Sci.* 75:3195-3205.
- SAS User's Guide. 2011. Version 9.3 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Schmidt, M., P. C. Gomes, H. S. Rostagno, L. F. T Albino. 2005. Níveis Nutricionais de Cobre para Frangos de Corte Machos e Fêmeas nas Fases de Crescimento e Terminação. *Rev. Bras. de Zootecn.* 34:890-899.
- Starcher, B. C. 1969. Studies on the mechanism of copper absorption in the chick. *J. Nutr.* 97: 321-326.
- Surai, P. F. 2016. Antioxidant Systems in Poultry Biology: Superoxide Dismutase. *Journal of Animal Research and Nutrition.* 1: 1-17.
- Wang, S. X., M. Mure, K. F. Medzihradzsky, A. L. Burlingame, D. E. Brown, D. M.

- Wapnir, R. A. 1998. Copper absorption and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 67:1054-1060.
- Dooley, A. J. Smith, H. M. Kagan, J. P. Klinman. 1996. A crosslinked cofactor in lysyl oxidase: redox function for amino acid side chains. *Science.* 273: 1078-1084.
- Yu, Y., L. Lu; R. L. Wang, L. Xi, X. G. Luo, B. Liu. 2010. Effects of Zinc Source and Phytate on Zinc Absorption by in Situ Ligated Intestinal Loops of Broilers. *Poul. Sci.* 89: 2157-2165.

APÊNDICE

Segue abaixo as análises de regressão aplicada aos níveis crescentes de cobre levando em consideração a fonte do mineral fornecida na dieta, sobre os parâmetros relacionados ao desempenho (tabela 7) e concentração do mineral nos tecidos (tabela 8).

Tabela 1 – Composição da dieta pré inicial para os animais de 1 a 8 dias de idade ¹

Ingredientes	%
Milho	53,54
Farelo de soja	30,00
Glúten de milho	6,88
Óleo de soja	3,70
Amido	1,48
Fosfato de potássio ²	0,96
Carbonato de cálcio ²	1,70
NaCl ²	0,53
Lisina HCl, 79%	0,30
DL- Metionina, 99,7%	0,20
Cloreto de colina, 60%	0,37
Micronutrientes ³	0,34
Composição calculada	
EM, kcal/kg	3.138
PB ⁴ , %	22,40
Lisina digestível, %	1,25
Metionina digestível, %	0,53
Met + Cist digestível, %	0,84
Ca ⁴ , %	0,835
P total ⁴ , %	0,638
Cu ⁵ , mg/kg	5,41

¹ Todos os ingredientes e a composição nutricional estão expressos na matéria natural.

² Produto puro para análise.

³ 0.016% L-treonina (98%); 0,055% coccidiostático; 0,010% avilamicina; 0,01% BHT.

Mistura vitamínica suplementada por kg de ração: vitamina A - 7.500 UI; vitamina D₃ - 1.900 UI; vitamina E - 28 UI; vitamina B₁ - 2 mg; vitamina B₂ - 5 mg; vitamina B₆ - 1.2 mg; vitamina B₁₂ - 12 mcg; vitamina K - 1.5 mg; ác. nicotínico - 0,03 mg; ác. pantotênico - 0,01 mg; ác.fólico - 0,7 mg; biotina - 0,07mg. Mistura mineral suplementada por kg de ração: 4 mg de Cu; 80 mg de Fe; 1 mg de I; 60 mg de Mn; 0,3 mg de Se; e 40 mg de Zn.

⁴ Valor determinado por análise. Cada valor foi baseado em dez repetições.

⁵ O valor de 5,41 mg de Cu/kg foi obtido analisando a ração sem a adição da mistura mineral. O valor de cobre analisado da dieta após a adição da mistura com 4 mg de Cu/kg foi 9,52 mg de Cu/kg.

Tabela 2 – Composição da dieta basal semipurificada para os animais de 8 a 17 dias de idade ¹

Ingredientes	%
Milho	30,00
Caseína ²	4,00
Albumina ²	12,00
Isolado proteico de soja	4,00
Amido	13,40
Dextrose	13,40
Arroz quebrado	8,00
Óleo de soja	2,00
Celulose ²	4,00
Carbonato de cálcio ²	1,69
Fosfato de potássio ²	1,48
Cloreto de magnésio ²	0,65
Cloreto de potássio ²	0,47
Cloreto de colina, 60%	0,37
Fitato de sódio ²	1,02
Fitase	0,01
Mistura de aminoácidos ³	3,55
Micronutrientes ⁴	0,44
Composição calculada	
EM, kcal/kg	3.145
PB ⁵ , %	21,43
Lisina digestível, %	1,25

Metionina digestível, %	0,55
Met + Cist digestível, %	0,91
Ca ⁵ , %	0,64
P total ⁵ , %	0,77
Cu, mg/kg	1,32

¹ Todos os ingredientes e a composição nutricional estão expressos na matéria natural.

² Produto puro para análise.

³ 0,03% L-lisina (79%); 0,27% L-arginina (98,5%); 0,40% L-glicina (98,5%); 0,85% alanina; e 2,0% ácido glutâmico. Os aminoácidos alanina, glicina e ácido glutâmico foram adicionados para manter a relação de nitrogênio essencial: nitrogênio total em 50.

⁴ 0,055% coccidiostático; 0,010% avilamicina; 0,03% BHT. Mistura vitamínica suplementada por kg de ração: vitamina A - 7.500 UI; vitamina D₃ – 1.900 UI; vitamina E – 28 UI; vitamina B₁ – 2 mg; vitamina B₂ – 5 mg; vitamina B₆ – 1,2 mg; vitamina B₁₂ – 12 mcg; vitamina K – 1,5 mg; ác. nicotínico – 0,03 mg; ác. pantotênico – 0,01 mg; ác.fólico – 0,7 mg; biotina – 0,07mg. Mistura mineral suplementada por kg de ração: 80 mg de Fe; 1 mg de I; 60 mg de Mn; 0,3 mg de Se; e 40 mg de Zn.

⁵ Valor determinado por análise. Cada valor foi baseado em dez repetições.

Tabela 3 – Valores de cobre analisados nas dietas experimentais

	Níveis de Cu ¹ (mg/kg) analisado nas dietas				
Níveis de cobre	1,32	5,32	9,32	13,32	17,32
Cu inorgânico	1,18	3,42	8,97	11,93	15,52
Cu orgânico	1,30	6,09	9,23	13,34	17,28

¹ Os níveis de suplementação de cobre foram obtidos pela soma da quantidade do mineral na dieta semipurificada (1,32 mg de Cu/kg) somando as inclusões de 0, 4, 8, 12 e 16 mg de Cu/kg.

Tabela 4 – Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas experimentais e níveis crescentes de cobre proveniente de diferentes fontes do mineral de 8 a 17 dias de idade¹

Principais efeitos ²	Peso corporal (g)	Ganho de peso médio diário (g/ave/dia)	Consumo médio diário de ração (g/ave/dia)	Conversão Alimentar (g/g)
Níveis de cobre (mg/kg)				
0 ³	504,73	33,71	44,42	1,31
4	511,47	34,38	44,24	1,28
8	510,38	34,28	43,84	1,27
12	505,28	33,77	43,07	1,27
16	502,79	33,52	43,48	1,30
Fonte de cobre				
CuSO ₄ .5H ₂ O	505,08	33,74	44,11	1,31
ProCu	508,78	34,12	43,51	1,27
SEM	13,16	1,31	1,52	0,04
agrupado				
ANOVA (P-valor)				
Fonte de Cu	0,1642	0,1595	0,0526	0,0002
Linear	0,2821	0,2834	0,0060	0,0770
Quadrático	0,0442	0,0445	0,05308	0,0022
Cu X Níveis de Cu	0,9211	0,9226	0,8128	0,9530

¹ Diferenças significativas foram consideradas quando P<0,05. E valores entre P<0,05 e P<0,10 como tendência.

² Cada valor representa a média de 10 gaiolas com 5 aves cada.

³ A dieta basal continha 1,32 mg de Cu/kg.

Tabela 5 - Conteúdo de cobre nos tecidos de frangos de corte alimentados com dieta semipurificada e níveis crescentes de cobre proveniente de diferentes fontes do mineral de 8 a 17 dias de idade¹

Principais efeitos ²	Peito (mg/kg)	Fígado (mg/kg)	Tíbia (mg/kg)
Níveis de cobre (mg/kg)			
0 ³	1,71	8,02	3,87
4	1,69	8,67	4,04
8	1,62	8,36	4,02
12	1,59	8,37	4,05
16	1,77	9,15	4,09
Fonte de cobre			
CuSO ₄ .5H ₂ O	1,69	8,47	3,99
ProCu	1,67	8,55	4,03
SEM agrupado	0,30	1,19	0,26
ANOVA (P-valor)			
Fonte de Cu	0,6787	0,7285	0,4780
Linear	0,9061	0,0222	0,0184
Quadrático	0,0767	0,5758	0,3377
Cu X Níveis de Cu	0,3732	0,6284	0,5793

¹ Diferenças significativas foram consideradas quando $P < 0,05$. E valores entre $P < 0,05$ e $P < 0,10$ como tendência.

² Cada valor representa a média de 10 gaiolas com 5 aves cada.

³ A dieta basal continha 1,32 mg de Cu/kg.

Tabela 6 – Resposta máxima estimada pelo modelo polinomial quadrático (QP) de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de cobre de 8 a 17 dias de idade¹

Variáveis	Fonte de cobre	Equações de regressão ²	Resposta máxima, mg/kg ³	P-valor	R ²
PCF	Níveis médios	$y = -0,1003x^2 + 1,3532x + 505,73$	6,75	0,0422	80,75
	ProCu	$y = -0,1296x^2 + 1,9294x + 505,78$	7,44	0,0656	90,93
GPMD	Níveis médios	$y = -0,0101x^2 + 0,1359x + 33,81$	6,76	0,0445	81,12
	ProCu	$y = -0,0129x^2 + 0,1926x + 33,816$	7,47	0,0666	91,01
CA	Níveis médios	$y = 0,00049x^2 - 0,0091x + 1,3182$	9,31	0,0022	99,05
	ProCu	$y = 0,00044x^2 - 0,0088x + 1,3038$	9,87	0,0411	99,49
	CuSO ₄ .5H ₂ O	$y = 0,00054x^2 - 0,0095x + 1,3325$	8,84	0,0136	98,27
Cu no peito	Níveis médios	$y = 0,0020x^2 - 0,0327x + 1,7432$	7,98	0,0767	47,23

¹ Diferenças significativas foram consideradas quando P<0,05. E valores entre P<0,05 e P<0,10 como tendência.

² Equações de regressão obtidas usando os valores crescentes de cobre calculados em cada dieta experimental (0, 4, 8, 12 e 16 mg/kg de Cu).

³ Modelo polinomial quadrático $Y = \beta_1 + \beta_2 X Cu + \beta_3 X Cu^2$, onde Y é a variável dependente; β_1 o intercepto; β_2 o coeficiente linear; e β_3 o coeficiente quadrático. A resposta máxima para Cu é definida como $Cu = -\beta_2 \div (2 X \beta_3)$.

Tabela 7 – Efeitos lineares e quadráticos dos níveis crescentes de cobre para diferentes fontes sobre os parâmetros de desempenho¹

		Níveis de cobre					P-valor	
		0	4	8	12	16	Linear	Quadrático
PCF ²	Inorgânico	504,1	510,9	506,7	502,2	501,2	0,276	0,3094
	o	4	6	6	8	8	8	
	Orgânico	505,3	511,9	514,0	508,2	504,3	0,663	0,0656
GPM	o	2	8	0	8	0	8	
	Inorgânico	33,65	34,33	33,91	33,47	33,36	0,275	0,3085
	o						8	
D	Orgânico	33,77	34,44	34,64	34,07	33,67	0,668	0,0666
	o						4	
	Inorgânico	44,81	44,67	43,94	43,12	44,02	0,043	0,2740
CMD	o						3	
	Orgânico	44,02	43,82	43,74	43,02	42,95	0,056	0,8337
	o						7	
CA	Inorgânico	1,33	1,30	1,29	1,29	1,32	0,376	0,0136
	o						3	
	Orgânico	1,30	1,27	1,26	1,26	1,28	0,104	0,0411
							3	

¹ Efeitos significativos foram considerados a partir de $P < 0,05$, sendo $P < 0,05$ a $P < 0,10$ considerado tendência.

² PCF (peso corporal final, g); GPMD (ganho de peso médio diário, g/animal/dia); CMDR (consumo médio diário de ração, g/animal/dia); CA (conversão alimentar, g/g).

Tabela 8 – Efeitos lineares e quadráticos dos níveis crescentes de cobre para diferentes fontes sobre a concentração de cobre nos tecidos¹

		Níveis de cobre					P-valor	
		0	4	8	12	16	Linear	Quadrático
Peito ²	Inorgânico	1,68	1,73	1,57	1,71	1,76	0,6125	0,3834
	Orgânico	1,75	1,66	1,67	1,47	1,78	0,6611	0,1008
Fígado	Inorgânico	8,16	8,41	8,23	8,17	9,38	0,0690	0,1614
	Orgânico	7,87	8,93	8,49	8,56	8,92	0,1500	0,5381
Tíbia	Inorgânico	3,83	4,08	3,93	4,02	4,10	0,0977	0,7162
	Orgânico	3,90	3,99	4,11	4,08	4,08	0,0877	0,3148

¹ Efeitos significativos foram considerados a partir de $P < 0,05$, sendo $P < 0,05$ a $P < 0,10$ considerado tendência.

² Concentração de cobre (mg/kg) no músculo do peito, fígado e tíbia dos frangos de corte.

Capítulo redigido conforme as normas da revista Poultry Science

Exigência de ferro para frangos de corte alimentados com diferentes fontes do mineral.

*Correspondência do autor. Tel: 55-42-999829826; e-mail: mail.helviocruz@gmail.com

ABSTRACT

O experimento foi conduzido com o objetivo de estimar a exigência de ferro (Fe) para frangos de corte com 20 dias de idade, a partir de níveis crescentes e diferentes fontes. Um total de 500 aves foram distribuídas aleatoriamente em arranjo fatorial 2 x 5 (2 fontes de Fe x 5 níveis crescentes), totalizando 10 tratamentos, com 10 repetições e 5 aves por repetição. As fontes utilizadas foram sulfato de ferro ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e proteinato de ferro (ProFe), suplementadas em níveis de 0, 25, 50, 75 e 100 mg de Fe/kg, e uma dieta semipurificada com 29 mg de Fe/kg. As aves alimentadas com ProFe apresentaram tendência de menor conversão alimentar ($P < 0.10$) em relação àquelas que receberam $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Não houve diferença entre ProFe e $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sob a concentração de Fe em tecidos e ferro sérico ($P > 0.05$). Considerando o valor de 29 mg da dieta basal, a exigência média de ferro em relação aos níveis crescentes do mineral é de 41,67 (70,67) mg de Fe/kg, para as respostas de desempenho. Analisando os mesmos parâmetros, a exigência média de ferro proveniente de uma fonte orgânica foi de 43,23 (72,23) mg de Fe/kg de ração. Em relação a deposição de ferro nos tecidos e níveis de ferro séricos, a exigência média do mineral para os níveis crescentes de ferro foi de 72,80 (101,80) mg de Fe/kg de ração. A exigência média de ferro proveniente de uma fonte orgânica (proteinato de ferro) do mineral é de 67,80 (96,80) mg de Fe/kg, valor 15% inferior em comparação a exigência média para o conteúdo de ferro nos tecidos de frangos alimentados com a fonte inorgânica do mineral, 80,19 (109,19) mg de Fe/kg de ração.

Palavras-chaves: Frangos, ferro, exigência, conversão alimentar e biodisponibilidade.

INTRODUÇÃO

O ferro (Fe) é um elemento essencial na vida dos animais e dos seres humanos em função da grande quantidade de enzimas que utilizam o mineral como cofator e sistemas proteicos (Wang et al., 2007). A importância biológica do Fe reside em sua capacidade de existir em diversos estados de oxidação, sendo os principais ferroso (Fe^{2+} ou FeII) ou férrico (Fe^{3+} ou FeIII); embora outras formas valentes são geradas durante o ciclo catalítico de um grande número de enzimas como catalase, peroxidase e citocromo P450s (Crichton, 2013). O mineral é constituinte de diversas classes de proteínas, dentre estas as proteínas heme ou complexos de ferro porfirina, que desempenham funções distintas como transferência de elétrons, tradução de sinal e controle da expressão gênica, e principalmente, transporte e armazenamento de oxigênio (Paoli et al., 2002). Além disso, o Fe pode atuar na melhora da função neural através da síntese de neurotransmissores, e sua deficiência pode causar desordens de caráter imunológico e no desempenho físico (Beard, 2001).

Tradicionalmente, o Fe é fornecido nas dietas na forma de sulfato de ferro inorgânico para prevenir o desenvolvimento de quadros de deficiência e garantir o ótimo crescimento animal. Os íons de Fe (Fe^{2+} e Fe^{3+}), quando atingem a região apical do enterócitos, o sistema redox operado pelo citocromo b duodenal (DcytB) reduz o Fe^{3+} a Fe^{2+} permitindo sua absorção através do transportador de metal bivalente 1 ou DMT1 (Crichton, 2013). Entretanto, os microminerais cobre, manganês e zinco também são absorvidos via DMT1 (Gunshin et al., 1997). Um dos principais problemas oriundos da utilização de fontes de minerais traço inorgânicos é a maneira em que os íons são absorvidos no lúmen intestinal, estabelecendo entre eles um tipo de relação antagônica. Como já mostrado, os íons metais dos minerais dividem as mesmas proteínas transportadoras da membrana apical do enterócito (DMT1) e tal característica resulta em

competição entre os microminerais pelo mesmo sítio absorptivo. Além disso, estudos mostram que a dissociação das fontes inorgânicas em solventes intermediários como a água é completa (Cao et al., 2000; Guo et al., 2001), ou seja, ao longo da sua passagem pelo trato gastrointestinal a fonte irá se dissociar e ocorrerá a ionização dos metais. A presença de carga permite que ocorra interações com outros elementos no lúmen intestinal como sulfatos, óxidos, os próprios microminerais, fazendo com que estes se liguem a outros tipos de moléculas formando precipitados ou ligações não disponibilizando sua absorção pelo animal (Garret, 2011). Dentre os agentes ligantes de minerais traço, os grupos fosfatos do inositol, ou fitato, podem formar fortes complexos insolúveis com os cátions Zn, Cu, Mn e Ca tornando-os indisponíveis para absorção intestinal (Yu et al., 2010).

Fontes orgânicas de minerais traço, especialmente àquelas complexadas ou quelatadas com aminoácidos ou peptídeos, foram desenvolvidas como alternativa às tradicionais fontes inorgânicas como forma de contornar os problemas característicos desse produto. Existem dois pressupostos básicos sobre os mecanismos de absorção de fontes orgânicas de minerais traço. O primeiro é que os elementos traços complexados ou quelatados a moléculas orgânicas são absorvidos na sua forma intacta através de mecanismos intrínsecos relacionados com a absorção do próprio ligante orgânico; enquanto que o segundo está relacionado com o efeito dos ligantes orgânicos em evitar a ação nociva de ligantes competitivos, como fosfato, fitato e outros compostos tornando-os indisponíveis para absorção (Yu et al., 2017). Jia et al. (2015) observaram um aumento da concentração de ferro no duodeno e jejuno de frangos alimentados com duas fontes de ferro glicina quelato, Fe-Gly(II) e Fe-Gly(III) em relação aos animais que receberam fonte inorgânica, indicando assim uma maior absorção. O reflexo de tais benefícios geralmente resulta em maiores valores de biodisponibilidade relativa das fontes orgânicas de ferro

em relação as fontes inorgânicas, consideradas o padrão (Ma et al., 2014; Zhang et al., 2016).

A exigência de ferro para frangos de corte é de 80 mg/kg (NRC, 1994). McNaughton et al. (1979) observaram um aumento do ganho de peso dos animais alimentados com 80 mg/kg de Fe e diferentes relações Fe:Cu a partir do teste Duncan a 5% de probabilidade. O mesmo valor está de acordo com um estudo anterior desenvolvido por Davi et al. (1968), onde os níveis crescentes de ferro na dieta foram plotados contra o logaritmo e a exigência considerada a partir do ponto onde as linhas de regressão interceptam com a linha acima da abcissa determinada a partir do ganho máximo. Entretanto os modelos estatísticos utilizados para determinação das exigências desses nutrientes não condizem com as metodologias atuais.

Com a maior disponibilidade das fontes de minerais traço orgânicas, espera-se que essas fontes apresentem uma exigência menor dos minerais em relação a fonte inorgânica tradicional. Rostagno et al. (2017), recomendam níveis de suplementação de ferro de 22,91 mg de Fe/kg de ração quando o mineral é fornecido através de fonte orgânica. Valor 43% menor do que o valor de ferro suplementado proveniente de uma fonte inorgânica, 52,84 mg de Fe/kg. Portanto, o objetivo do estudo foi estimar a exigência nutricional de ferro para frangos de corte de 10 a 17 dias de idade a partir de diferentes fontes do mineral, sulfato de ferro e proteinato de ferro, fornecidas em uma dieta semi purificada e cinco níveis crescentes do mineral estudado.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos utilizados no presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP/UFV – nº 111/2014) da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. O experimento foi

realizado no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia, UFV, Brasil, em janeiro e fevereiro de 2017.

Animais e Manejo

Um total de mil pintinhos Cobb 500 machos com um dia de idade (Rivelli, Mateus Leme, Brasil) foram criados em um círculo de proteção até os dez dias de idade recebendo ração e água a vontade. A dieta pré inicial foi formulada a base de milho, farelo de soja e glúten de milho (tabela 1) para atender ou extrapolar as exigências nutricionais das aves preconizadas por Rostagno et al (2011) exceto para os níveis de ferro, a qual continha 122 mg de Fe/kg de ração. Foi realizada uma suplementação a partir de uma mistura mineral contendo apenas 50% da sua exigência (40 mg/kg) com a finalidade de diminuir os reservas corporais do mineral resultando em um valor de 162 mg de Fe/kg.

Aos dez dias de idade, 500 aves foram transferidas para um galpão de alvenaria e colocadas em gaiolas plásticas de 49cm x 27cm x 33cm (comprimento x altura x profundidade) com comedouros tubulares de plásticos, bebedouros e bandejas forradas com lona plástica para a coleta de excreta para evitar qualquer contaminação externa. Ração e água desmineralizada foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental. A temperatura do galpão foi mantida usando lâmpadas infravermelhas de 250 watts e cortinas nas laterais do galpão. A luz for fornecida de forma contínua em um programa de 12 horas de luz natural e 12 horas de luz artificial.

Dietas Experimentais e Tratamentos

Quinhentas aves com peso inicial de $234,8 \pm 2,02$ g e dez dias de idade foram distribuídas aleatoriamente em um arranjo fatorial 2 x 5, com duas fontes diferentes do mineral e cinco níveis de suplementação em um total de 10 tratamentos e 10 repetições

com 5 animais por gaiola. Cada gaiola foi considerada como uma unidade experimental. As fontes utilizadas foram o sulfato de ferro ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) com 30.0% de Fe (Microsal Indústria e Comércio – Capivari, SP) e um proteinato de ferro (ProFe) com 15% de Fe (Bioplex® - Alltech, Maringá, Brasil). Os tratamentos dietéticos incluem uma dieta basal semi purificada suplementada com os níveis de 0, 25, 50, 75 e 100 mg de Fe/kg adicionando Fe a partir das fontes inorgânica e orgânica.

A dieta basal semi purificada a base de caseína, albumina, milho e dextrose (tabela 2), foi formulada para exceder ou atender as exigências nutricionais dos animais segundo Rostagno et al (2011). Foi utilizada uma dieta semi purificada com 29 mg de Fe/kg, para a obtenção dos valores mínimos de ferro na dieta permitindo a expressão da resposta animal com os níveis suplementados. Os níveis dos demais minerais traço (cobre, manganês, zinco e selênio) foram mantidos dentro das recomendações do NRC (1994). É importante salientar que, nos tratamentos onde foi utilizado a fonte orgânica de ferro, todos os minerais traço foram suplementados na mistura mineral também na forma orgânica, com exceção para o iodo, e quando utilizado a fonte $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, os outros microminerais foram fornecidos sob mesma característica. Foi adicionado a dieta semi purificada o fitato de sódio na tentativa de simular a presença do fator antinutricional em uma dieta a base de milho e farelo de soja. Além disso, todos os tratamentos foram suplementados com uma enzima fitase de uso comercial.

Desempenho e Coleta de Amostras

Ao final do período experimental, os animais com vinte dias de idade foram pesados e as sobras de rações foram coletadas e pesadas para cada unidade experimental para determinar o peso corporal final (PCF), o ganho de peso médio diário (GPMD), o consumo médio diário de ração (CMDR) e a conversão alimentar (CA) durante os dez

dias de experimento. No mesmo dia, um animal por repetição foi selecionado aleatoriamente e abatido por deslocamento cervical. Foi feito um corte longitudinal na cavidade abdominal para coletar o fígado e a parte esquerda do peito, e a tíbia esquerda também foi retirada para a análise de concentração mineral nos respectivos tecidos. Os tecidos coletados foram liofilizados (Liobras – São Carlos, SP) e moídos em moinho de bolas (Tecnal Equipamentos para Laboratório, TE-350, São Paulo, Brazil) durante cinco minutos.

Concentração de Fe

O nível de ferro de todos os ingredientes foi determinado antes de se fazer as dietas para estimar com segurança os valores mínimos do mineral. Uma alíquota de 0,6 g dos tratamentos dietéticos e dos tecidos coletados foram pesados em balança analítica e colocados em tubos de ensaio com uma solução de 4:1 de ácido nitroperclórico (4 partes de ácido nítrico e 1 parte de ácido perclórico). Após a queima calórica em bloco digestor à 200°C, a solução foi filtrada em papel filtro quantitativo (tamanho do poro de 7.5 µm) em balão volumétrico de 50 ml e completados com água destilada. A quantidade de ferro foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica (BEL Engineering, V-M5 – Piracicaba, SP) no laboratório de nutrição animal, UFV, Brasil.

Ferro sérico

Um animal por repetição foi selecionado aleatoriamente e amostra de sangue foram coletadas por punção da veia cava usando tubos a vácuo de 6 ml com gel separador de mistura e posteriormente centrifugado (Tecnal Equipamentos para Laboratório, Fanem 206-R, São Paulo, Brasil) a 20,000 rpm por quinze minutos. O soro foi coletado e armazenado em eppendorfs de 2ml a – 20°C até a análise. O ferro sérico foi obtido através

do teste colorimétrico através de kit comercial (Bioclin, kit K017, Belo Horizonte, Brasil) seguindo as instruções do fabricante utilizando o analisador clínico automático BS 200E (Mindray, Shenzhen, China).

Análise Estatística

Os dados foram submetidos a ANOVA utilizando o procedimento GLM do SAS (SAS user's guide, 2011) para medir os efeitos dos níveis e fontes de ferro, como também as interações quando houverem. A gaiola foi considerada como unidade experimental. As respostas para diferentes fontes de ferro foram conclusivas segundo o teste-F e contrastes ortogonais foram aplicados para respostas lineares e quadráticas para os níveis de suplementação.

Análise de regressão também foram aplicadas aos níveis dietéticos de ferro dentro de cada fonte quando houve diferença significativa entre as fontes ProFe e $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. A estimação da máxima resposta ao total de ferro dietético foi feita usando o modelo polinomial quadrático (QP). O modelo QP ($Y = \beta_1 + \beta_2 X \text{ Cu} + \beta_3 X \text{ Cu}^2$) tem Y como a variável dependente em função dos níveis dietéticos de Fe; β_1 como o intercepto; β_2 como o coeficiente linear; e β_3 como o coeficiente quadrático. A resposta máxima para Fe foi definida como $\text{Fe} = -\beta_2 \div (2 X \beta_3)$. O modelo linear plateau (LRP) e exponencial também foram utilizados para estimar os valores de exigência de cobre. Entretanto, devido ao baixo ajuste dos dados aos referidos modelos, os resultados não foram considerados no artigo.

RESULTADOS

Os valores de ferro dos tratamentos foram analisados (tabela 3) antes das dietas terem sido fornecidas aos animais como forma de garantir o fornecimento dos níveis

desejados do mineral. Os mesmos níveis de ferro foram obtidos a partir da média de dez repetições de uma amostra de cada tratamento. O peso inicial dos animais de 234g com dez dias para início do experimento foi 17,32% inferior ao recomendado pelo manual da linhagem (Cobb-Vantress, 2013). Isso mostra que a suplementação de uma mistura mineral com apenas 50% da exigência de Fe foi suficiente para reduzir as reservas de Fe no corpo das aves nos primeiros dez dias de vida do animal.

Em relação ao desempenho, não houve interação ($P>0,05$) entre os níveis crescentes de suplementação de ferro e as diferentes fontes utilizadas (tabela 4). Os animais que receberam ProFe apresentaram tendência de menor conversão alimentar ($P<0,10$) em relação àqueles que receberam a fonte inorgânica. Em relação aos níveis crescentes de suplementação de ferro, foi encontrado efeito quadrático para as variáveis PC ($P<0,10$) e GPMD ($P<0,10$).

Não foi encontrada interação entre os níveis crescentes de ferro e as fontes orgânica e inorgânica ($P>0,05$) para os parâmetros de concentração de ferro em tecidos e ferro sérico (tabela 5). Não houve diferença entre as fontes ProFe e $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em nenhuma das variáveis analisadas ($P>0,05$). Entretanto, com relação aos níveis crescentes de ferro suplementado, observou-se respostas lineares ($P<0,05$) e quadráticas ($P<0,05$) para a concentração de ferro no peito, fígado, tibia e o nível de ferro sérico.

A resposta máxima em relação aos níveis médios de ferro e às diferentes fontes suplementadas do mineral estão apresentadas na tabela 6. A exigência de ferro para maximizar o PC é de 43,98 e 43,27 mg de Fe/kg para os níveis crescentes de ferro e para ProFe, respectivamente. Em relação ao GPMD, valores semelhantes foram encontrados, 48,00 mg/kg para os níveis crescentes de ferro e 43,25 mg/kg para a fonte orgânica ProFe. A resposta máxima para CMDR foi encontrada uma tendência de resposta quadrática para os níveis crescentes de suplementação de ferro, sendo 47,50 mg de Fe/kg. Ao se analisar

as variáveis de concentração de Fe nos tecidos e ferro sérico, os valores de exigência foram superiores a aqueles encontrados nos resultados de desempenho. A resposta máxima para a concentração de Fe no peito foi de 65,30, 64,65 e 73,66 para os níveis crescentes de ferro, ProFe e FeSO₄.H₂O, respectivamente. A exigência de ferro levando em consideração a quantidade de Fe no fígado é de 81,92 mg/kg para os níveis crescentes de ferro, 73,81 mg/kg para a fonte orgânica ProFe, e 95,22 para a fonte inorgânica FeSO₄.H₂O. A resposta máxima para ferro na tíbia foi observada com 76,44, 70,06 e 87,93 mg de Fe/kg para os níveis suplementados de ferro, ProFe e FeSO₄.H₂O, respectivamente. Observou-se as exigências para ferro sérico de 66,98 mg/kg para os níveis de ferro crescentes, 66,24 mg/kg para a fonte orgânica do mineral e 67,76 mg/kg para a fonte inorgânica.

DISCUSSÃO

A quantidade de ferro determinada na ração inicial de 1 a 10 dias de idade foi de 122 mg de Fe/kg, valor esse acima do recomendado pelo NRC (1994) de 80 mg de Fe/kg. Portanto, teoricamente, os animais não estariam em deficiência do mineral ferro, fazendo com que o objetivo de diminuir os estoques do mineral no corpo das aves não fosse alcançado. Entretanto, estudos mostram que o Fe dos ingredientes de origem vegetal não é prontamente disponível às aves. Fritz et al. (1970) observou que a biodisponibilidade do ferro do milho é de 40%, enquanto que o glúten de milho e o farelo de soja apresentam disponibilidade de ferro de 84 e 45%, respectivamente (Chausow e Czamecki-Mauldin, 1988). Assim o nível total de ferro presente na dieta inicial não foi totalmente disponível para a ave nos primeiros dias de vida, resultando em um valor de peso corporal aos 10 dias de idade abaixo das recomendações da linhagem. O uso de uma dieta a base milho e farelo de soja na fase inicial e rações semi purificadas durante o período experimental, foram estabelecidas após a realização de ensaios prévios para garantir a redução dos

estoques do mineral teste nas reservas dos animais, entretanto mantendo sua capacidade de resposta aos incrementos crescentes de ferro. Uma dieta purificada foi testada inicialmente com o objetivo de trabalhar com níveis mínimos dos microminerais. Entretanto, devido a alta mortalidade dos animais, inanição e alta frequência de regurgitação dos animais no comedouro, não seguiu dentro do modelo experimental. No período pré experimento, foi formulada uma dieta a base de milho, farelos de soja e fontes de cálcio e fósforo “feed grade” na tentativa de obter níveis reduzidos de ferro. Foi realizada a suplementação de ao menos 50% (50mg de Fe/kg) da exigência do mineral para garantir que os animais diminuíssem seu estoque de ferro corpóreo, mas teriam condições de chegar ao início do período experimental.

O peso inicial dos animais de 234g com dez dias de idade e 647g ao final do período experimental (25% abaixo da recomendação do manual da linhagem) mostra que houve um certo grau de deficiência de ferro. Tradicionalmente, a redução dos níveis de ferro na dieta vem acompanhada de desenvolvimento de quadros de anemia através da redução da quantidade de hemoglobina no sangue. Tal característica se faz tão legítima que um grande volume de estudos avaliando dietas deficientes em ferro e acréscimos do mineral encontram o aumento dos valores de hemoglobina (Hill e Matrone, 1961; Davis et al., 1962; Kubena et al., 1972; Vahl e Klooster, 1987; Tako et al. 2010) no plasma das aves. Além disso, há também o aumento da quantidade de hematócritos (Kubena et al., 1972) a partir da alimentação com níveis crescentes de ferro e a despigmentação das penas das aves submetidas às dietas deficientes do mineral (Hill e Matrone, 1961; Davis et al., 1962). A suplementação com níveis crescentes de ferro é acompanhada de aumento do peso corporal das aves (Davis et al., 1962; Tako et al., 2010), garantido a otimização das respostas de desempenho.

Saíz et al. (1993) trabalhando com ferro marcado ($^{59}\text{FeCl}_3$) definiram o duodeno e o jejuno como os principais compartimentos intestinais para a absorção de ferro. Mesmo apresentando absorção de ferro semelhantes, a quantidade do mineral no sangue e no fígado foram maiores para o ferro proveniente da absorção no duodeno. O ferro é absorvido no trato gastrointestinal pelo “divalente metal transporter 1” (DMT1). O ferro encontra-se principalmente sob a forma oxidada Fe^{3+} , assim deve ser reduzido a Fe^{2+} pela ferredutase localizada na membrana apical da célula, o “duodenal cytochrome b” (DcytB), então o Fe^{2+} é transportado pela DMT1 para dentro do enterócito (Crichton, 2013). Dentro do enterócito, a quantidade do mineral é equilibrada pela proteína intracelular armazenadora de ferro, a ferritina. Na membrana basolateral, o ferro é transportado para fora da célula pela ferroportina e incorporado a transferrina na forma Fe^{3+} (Crichton, 2013). A transferrina é a principal proteína plasmática envolvida no transporte de ferro (Wessling-Resnick, 2000). A conversão da forma Fe^{2+} para Fe^{3+} e posterior incorporação do mineral na transferrina exige a atividade da enzima ferroxidase que contém cobre em seu domínio, assim quadros de deficiência de cobre pode resultar em anemia (Leeson, 2009).

O NRC recomenda um nível de exigência de ferro de 80mg de Fe/kg baseado em apenas dois trabalhos. A falta de pesquisas sobre as exigências de microminerais se deve a sua baixa inclusão na dieta e pouco impacto no custo de produção na ração. Entretanto, com a consolidação e ampla utilização dos aminoácidos cristalinos nas dietas de frangos de corte, pesquisas foram desenvolvidas visando estimar modelos estatísticos para obtenção da resposta máxima a partir da inclusão de nutrientes (Robbins et al., 1979; Robbins et al., 2006). Além disso, a amplitude temporal entre as aves utilizadas nos referidos estudos do NRC e as aves que estão em produção atualmente, é grande considerando o melhoramento genético das linhagens atuais.

No presente estudo, a fonte orgânica de ferro apresentou uma tendência em redução da conversão alimentar das aves em relação a aquelas alimentadas com $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Entretanto, outros estudos não mostram diferenças entre fontes orgânicas e inorgânicas de ferro (Ma et al., 2014; Zhang et al., 2016), fazendo com que esse parâmetro não tenha tanta confiabilidade quanto ao efeito da fonte de ferro suplementada. Considerando a concentração de ferro em tecidos e o ferro sérico, o estudo não encontrou diferença entre as fontes do mineral para as aves aos 20 dias de idade. Estes resultados não corroboram com outros pesquisas, onde foi possível observar aumento da concentração de ferro no músculo do peito (Seo et al., 2008), fígado (Seo et al., 2008; Shinde et al., 2011), tíbia (Seo et al., 2008; Shinde et al., 2011) e ferro sérico (Kwiecień et al., 2015) das aves alimentadas com fontes orgânicas de ferro. Tal fato, possivelmente está relacionado ao curto tempo de período experimental, apenas 10 dias.

A exigência de ferro para maximização do PC e GPMD foi de 43,98 e 48,00 mg/kg para os níveis de suplementação de ferro, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados para a fonte orgânica, que apresentou valores de exigência de 43,27 e 43,19 mg/kg para PC e GPMD. Entretanto, a exigência de ferro encontrada no trabalho representa aproximadamente 50% do nível de ferro recomendado pelo NRC (1994), 80mg de Fe/kg. Ma et al. (2016) observaram um valor de exigência de 118 mg de Fe/kg para maximização do ganho de peso, também superior ao encontrado no presente estudo.

Quando analisada a concentração de Fe nos tecidos, houve diferença entre os valores de exigências de Fe entre as duas fontes. As exigências de Fe, considerando a fonte $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, foram de 69,79, 95,22, 87,94 e 67,81 mg de Fe/kg em relação aos parâmetros Fe no peito, fígado, tíbia e ferro sérico; valores estes superiores a fonte ProFe na magnitude de 13, 29, 25 e 3%. Os menores valores de exigência de ferro para as aves foram obtidos com a suplementação dos níveis crescentes Fe proveniente de fonte

orgânica, na magnitude de 61.67, 73.81, 70.06 e 65.65 mg de Fe/kg para a concentração de Fe no peito, fígado, tíbia e ferro sérico, respectivamente. Ma et al. (2016) definiram as exigências de ferro de 136 e 97mg de Fe/kg em relação as concentrações de ferro no fígado e na tíbia, respectivamente, para frangos de corte alimentados com níveis crescentes de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Liao et al. (2017) encontraram valores para maximização da expressão e atividade da enzima citocromo c oxidase no coração de frangos de 110 e 104 mg de Fe/kg, respectivamente. O estudo mostrou que existe uma diferença entre a quantidade exigida do mineral ferro para obter ganhos em desempenho e respostas para a concentração do mineral em tecidos. Tal fato pode ser explicado pela capacidade do mineral ser estocado em tecidos, aumentando seu transporte e deposição. Entretanto, a suplementação com níveis crescente de um mineral pode resultar em relações de antagonismo com outros presentes no lúmen intestinal, uma vez que um grande número destas moléculas pode compartilhar os mesmos transportadores de membrana do enterócito (Gunshin et al., 1997). Assim, a resposta de desempenho fica limitada as interações entre os próprios minerais quando há inclusões acima das exigências, sendo objeto de estudo de um segundo trabalho desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa.

Foi esperado que a exigência de ferro determinada através dos níveis crescentes de suplementação do mineral proveniente de uma fonte orgânica, fosse menor em relação a uma fonte inorgânica. O experimento foi assim idealizado em razão da maior biodisponibilidade das fontes orgânicas de ferro (Ma et al., 2014; Zhang et al., 2016) devida a sua maior estabilidade como molécula e maior absorção intestinal. A força de quelatação (Q_f) das fontes de minerais orgânicas e seu comportamento sob condições fisiológicas tem sido sugerido como o ponto chave para a correlação entre as diferentes fontes de minerais e sua biodisponibilidade. O proteinato de ferro de força de quelatação moderada apresentou maior biodisponibilidade para frangos de corte em relação a fonte

inorgânica $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ nos parâmetros avaliados por Ma et al. (2014). O resultado é consistente com o estudo desenvolvido por Zhang et al. (2016) onde as fontes de Q_f moderado ou forte foram mais disponíveis em relação a fonte de ferro orgânica. Outros estudos com fontes orgânicas de zinco (Cao et al. 2000) e manganês (Li et al. 2004) de Q_f moderado, apresentaram maiores respostas de biodisponibilidades e reforçam que a estabilidade das moléculas orgânicas permitem que estas apresentem: a) maior solubilidade ainda que quimicamente estável; b) neutralidade química impossibilitando a formação de complexos insolúveis; c) manutenção da sua integridade estrutural no trato digestivo sugerindo que as moléculas cheguem no seu sítio absorptivo no intestino delgado intactas, absorvidas e metabolizadas com mais eficiência em relação a íons de metais provenientes de fontes inorgânicas (Brown & Zeringue, 1994).

Além da maior estabilidade da molécula, existem dois pressupostos básicos sobre os mecanismos de absorção de fontes orgânicas de minerais (Yu et al., 2017). O primeiro é que os elementos traços "complexados" ou "quelados" a moléculas orgânicas são absorvidos na sua forma intacta através de mecanismos de absorção intrínsecos relacionados com o ligante orgânico, O segundo é que os ligantes orgânicos podem evitar o efeito nocivo de ligantes competitivos, como fosfato, fitato e outros compostos, que podem ligar-se aos íons metálicos livres com carga e torna-los indisponíveis para absorção. Jia et al. (2015) observaram que a concentração de ferro no duodeno e jejuno de frangos a partir de duas fontes de ferro glicina quelato, Fe-Gly(II) e Fe-Gly(III), foram maiores em relação a fonte inorgânica. Pesquisas mostram que fontes de Q_f moderado e forte de zinco (Yu et al., 2010) e manganês (Ji et al., 2006) apresentaram o percentual de absorção maior em relação as fontes inorgânicas dos minerais para frangos de corte. Mesmo não havendo evidências fisiológicas sobre como os minerais de fontes orgânicas são captados a nível intestinal, é possível observar que há uma maior absorção de pelo

enterócito acompanhado de maior eficiência de utilização. Rostagno et al., (2017) desenvolveram um trabalho onde foi preconizado o nível de suplementação de ferro de 58,55 mg de Fe/kg de ração, para frangos de corte alimentados com fonte inorgânica do mineral. Entretanto, a recomendação do nível de suplementação de ferro a partir de uma fonte orgânica é de 25,38 mg de Fe/kg, valor 43% inferior ao primeiro. Isso mostra que, de fato, é possível trabalhar com níveis menores de microminerais quando os mesmos são fornecidos sob a forma de premixes orgânicos.

Em conclusão, a exigência de ferro foi estimada a partir dos níveis suplementados, uma vez que houve variação entre os valores calculados para as diferentes fontes do mineral, podendo provocar interpretação errônea dos dados. Considerando o valor de 29 mg da dieta basal, é possível observar que a exigência média de ferro em relação aos níveis crescentes do mineral é de 41,67 (70,67) mg de Fe/kg, considerando as respostas de desempenho. Analisando os mesmos parâmetros, a exigência média de ferro proveniente de uma fonte orgânica é de 43,23 (72,23) mg de Fe/kg de ração. Em relação a deposição de ferro nos tecidos e níveis de ferro séricos, a exigência média do mineral para os níveis crescentes de ferro é de 72,80 (101,80) mg de Fe/kg de ração. A exigência média de ferro proveniente de uma fonte orgânica (proteinato de ferro) do mineral é de 67,80 (96,80) mg de Fe/kg, valor 15% inferior em comparação a exigência média para o conteúdo de ferro nos tecidos de frangos alimentados com a fonte inorgânica do mineral, 80,19 (109,19) mg de Fe/kg de ração.

REFERÊNCIAS

Aoyagi, S., e D. H. Baker. 1995. Iron requirement of chicks fed a semipurified diet based on casein and soy protein concentrate. *Poult. Sci.* 74:412-415.

- Beard, J. L. 2001. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J. Nutr.* 131:568S-580S.
- Brown, T. F., K. Zeringue. 1994. Laboratory Evaluations of Solubility and Structural Integrity of Complexed and Chelated Trace Mineral Supplements. *J. Dairy Sci.* 77:181-189.
- Cao, J., P. R. Henry, R. Guo, R. A. Holwerda, J. P. Toth, R. C. Littell, R. D. Milles, C. B. Ammerman. 2000. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *J. Anim. Sci.* 78:2039-2054.
- Chausow, D. G. and G. L. Czamecki-Mauldin. 1988. The relative bioavailability of iron from feedstuffs of plant and animal origin to the chick. *Nutr. Res.* 8:175-185.
- Cobb-Vantress. 2013. Breeder Management Supplement. Cobb Vantress Inc., Siloam Springs, AR.
- Crichton, R. R. 2013. Iron. Pages 801-817 in *Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition*. M. H. Stipanuk and M. A. Caudill, 3rd ed., St. Louis, Missouri, the United States of America.
- Davis, P. N., L. C. Norris, F. H. Kratzer. 1962. Iron deficiency studies in chicks using treated isolated soybean protein diets. *J. Nutr.* 78:445-453.
- Davis, P. N., L. C. Norris, F. H. Kratzer. 1968. Iron Utilization and Metabolism in the Chick. *J. Nutr.* 94:407-417.
- Fritz, J. C, G. W. Pla, T. Roberts, J. W. Boehne, E. L. Hove. 1970. Biological availability in animals of iron from common dietary sources. *J. Agric. Food Chem.* 18:647-651.
- Garret, J. 2011. Organic Minerals Allow for Greater Absorption. *Feedstuff.* 83:1-2.

- Gunshin, H., B. Mackenzie, U. V. Berger, Y. Gunshin, M. F. Romero, W. F. Boron, S. Nussberger, J. L. Gollan, M. A. Hedlger. 1997. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*. 388(6641):482-488.
- Guo, R., P. R. Henry, R. A. Holwerda, J. Cao, R. C. Littell, R. D. Miles, C. B. Ammerman. 2001. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. *J. Anim. Sci.* 79:1132-1141, 2001.
- Hill, C. H., G. Matrone. 1961. Studies on copper and iron deficiencies in growing chicks. *J. Nutr.* 73:425-431.
- Ji, F., X. G. Luo, L. Lu, B. Liu. 2006. Effect of Manganese Source on Manganese Absorption by the Intestine of Broilers. *Poult. Sci.* 85:1947-1952.
- Jia, Y. F., M. M. Jiang, J. Sun, R. B. Shi, D. S. Liu. 2015. Studies on different iron source absorption by in situ ligated intestinal loops of broilers. *Biol. Trace Elem. Res.* 163:154-161.
- Kubena, L. F., J. D. May, F. N. Reece, J. W. Deaton. 1972. Hematocrit and hemoglobin of broilers as influenced by environmental temperature and dietary iron level. *Poult. Sci.* 51:759-763.
- Kwiecień, M., W. Samolińska, B. Bujanowicz-Haraś. 2015. Effects of iron–glycine chelate on growth, carcass characteristic, liver mineral concentrations and haematological and biochemical blood parameters in broilers. *J. Anim. Physiol. An.* N. 99:1184-1196.
- Leeson, S. 2009. Copper metabolism and dietary needs. *World Poultry Sci. J.* 65:353-366.

- Li, S., X. Luo, B. Liu, T. D. Crenshaw, X. Kuang, G. Shao, S. Yu. 2004. Use of chemical characteristics to predict the relative bioavailability of supplemental organic manganese sources for broilers. *J. Anim. Sci.* 82:2352-2363.
- Liao, X., C. Ma, L. Lu, L. Zhang, X. Luo. 2017. Determination of dietary iron requirements by full expression of iron-containing cytochrome c oxidase in the heart of broilers from 22 to 42 d of age. *Brit. J. Nutr.* 7:493-499.
- Ma, X. Y., S. B. Liu, L. Lu, S. F. Li, J. J Xie, L. Y. Zhang, X. G. Luo. 2014. Relative bioavailability of iron proteinate for broilers fed a casein-dextrose diet. *J. Anim. Sci.* 93:556-563.
- Ma, X., X. Liao, L. Lu, S. Li, L. Zhang, X. Luo. 2016. Determination of dietary iron requirements by full expression of iron-containing enzymes in various tissues of broilers. *J. Nutr.* 11:2267-2273.
- McNaughton, J. L., E. J. Day. 1979. Effect of Dietary Fe to Cu Rations on Hematological and Growth Responses of Broilers Chickens. *J. Nutr.* 109: 559-564.
- National Research Council. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Robbins, K. R.; H. W. Norton, D. H. Baker. 1979. Estimation of Nutrient Requirements from Growth data. *J. Nutr.* 109: 1710-1714.
- Robbins K. R., A. M. Saxton; L. L. Southern. 2006. Estimation of Nutrient Requirements using broken-line regression analysis. *J. Anim. Sci.* 84: 155-165.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto, and R. F. Euclides. 2011. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 3th Federal University of Viçosa, Minas Gerais.

- Rostagno, H. S. 2017. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 4th Federal University of Viçosa, Minas Gerais.
- Sáiz, M. P., M. T. Martí, M. T. Mitjavila, J. Planas. 1993. Iron absorption by small intestine of chickens. *Biol. Trace Elem. Res.* 36:7-14.
- Seo, S. H., H. K. Lee, H. J. Ahn, I. K. Paik. 2008. The Effect of Dietary Supplementation of Fe-methionine Chelate and FeSO₄ on the Iron Content of Broiler Meat. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21:103-106.
- Shinde, P. L., S. L. Ingale, J. Y. Choi, J. S. Kim, S. I. Pak, B. J. Chae. 2011. Efficiency of inorganic and organic iron sources under iron depleted conditions in broilers. *Brit. Poultry Sci.* 52:578-583.
- Paoli, M., Wright, J. M., A. Smith. 2002. Structure–function relationships in heme-proteins. *Dna Cell. Biol.* 21: 271-280.
- Tako, E., M. A. Rutzke, R. P. Glahn. 2010. Using the domestic chicken (*Gallus gallus*) as a in vivo model for iron bioavailability. 89:514-521.
- Vahl, H. A., A. TH. Van'T. Klooster. 1987. Dietary iron and broiler performance. *Brit. Poul. Sci.* 28: 567-576.
- Wang, W., X. M. Di, R. B. D'Agostinho Jr, S. V. Torti, F. M. Torti. 2007. Excess capacity of the iron regulatory protein system. *J. Biol. Chem.* 282: 24650-24659.
- Wessling-Resnick, M. 2000. Iron transport. *Annu. Rev. Nutr.* 20:129-151.
- Yu, Y., L. Lu, R. L. Wang, L. Xi, X. G. Luo, B. Liu. 2010. Effects of zinc source and phytate on zinc absorption by in situ ligated intestinal loops of broilers. *Poult. Sci.* 89:2157-2165.
- Yu, Y., L. Lu, R. L. Wang, L. Xi., X. G. Luo, B. Liu. 2010. Effects of Zinc Source and Phytate on Zinc Absorption by in Situ Ligated Intestinal Loops of Broilers. *Poult. Sci.* 89:2157-2165.

Yu, Y., L. Lu, S. F. Li, L. Y. Zhang, X. G. Luo. 2017. Organic zinc absorption by the intestine of broilers in vivo. *Brit. J. Nutr.* 1-9.

Zhang, L. Y., L. Lu, L. Y. Zhang, X. G. Luo. 2016. The chemical characteristics of organic iron sources and their relative bioavailability for broilers fed a conventional corn-soybean meal diet. *J. Anim. Sci.* 94:2378-2396.

APÊNDICE

Segue abaixo as análises de regressão aplicada aos níveis crescentes de ferro levando em consideração a fonte do mineral fornecida na dieta, sobre os parâmetros relacionados ao desempenho (tabela 7) e concentração do mineral nos tecidos e ferro sérico (tabela 8).

Tabela 1 – Composição da dieta pré inicial para os animais de 1 a 8 dias de idade ¹

Ingredientes	%
Milho	53,54
Farelo de soja	30,00
Glúten de milho	6,88
Óleo de soja	3,70
Amido	1,48
Fosfato de potássio ²	0,96
Carbonato de cálcio ²	1,70
NaCl ²	0,53
Lisina HCl, 79%	0,30
DL- Metionina, 99,7%	0,20
Cloreto de colina, 60%	0,37
Micronutrientes ³	0,34
Composição calculada	
EM, kcal/kg	3.138
PB ⁴ , %	21,89
Lisina digestível, %	1,25
Metionina digestível, %	0,53
Met + Cist digestível, %	0,84
Ca ⁴ , %	0,822
P total ⁴ , %	0,624
Fe ⁵ , mg/kg	122

¹ Todos os ingredientes e a composição nutricional estão expressos na matéria natural.

² Produto puro para análise.

³ 0,016% L-treonina (98%); 0,055% coccidiostático; 0,010% avilamicina; 0,01% BHT.

Mistura vitamínica suplementada por kg de ração: vitamina A - 7.500 UI; vitamina D₃ - 1.900 UI; vitamina E - 28 UI; vitamina B₁ - 2 mg; vitamina B₂ - 5 mg; vitamina B₆ - 1,2 mg; vitamina B₁₂ - 12 mcg; vitamina K - 1,5 mg; ác. nicotínico - 0,03 mg; ác. pantotênico - 0,01 mg; ác.fólico - 0,7 mg; biotina - 0,07mg. Mistura mineral suplementada por kg de ração: 8 mg de Cu; 40 mg de Fe; 1 mg de I; 60 mg de Mn; 0,3 mg de Se; e 40 mg de Zn.

⁴ Valor determinado por análise. Cada valor foi baseado em dez repetições.

⁵ O valor de 122 mg de Fe/kg foi obtido analisando a ração sem a adição da mistura mineral. O valor de ferro analisado da dieta após a adição da mistura com 40 mg de Fe/kg foi 164 mg de Fe/kg.

Tabela 2 – Composição da dieta basal semipurificada para os animais de 8 a 17 dias de idade ¹

Ingredientes	%
Milho	30,00
Caseína ²	4,00
Albumina ²	12,00
Isolado proteico de soja	4,00
Amido	13,40
Dextrose	13,40
Arroz quebrado	8,00
Óleo de soja	2,00
Celulose ²	4,00
Carbonato de cálcio ²	1,69
Fosfato de potássio ²	1,48
Cloreto de magnésio ²	0,65
Cloreto de potássio ²	0,47
Cloreto de colina, 60%	0,37
Fitato de sódio ²	1,02
Fitase	0,01
Mistura de aminoácidos ³	3,55
Micronutrientes ⁴	0,44
Composição calculada	
EM, kcal/kg	3.145
PB ⁵ , %	21,04
Lisina digestível, %	1,25

Metionina digestível, %	0,55
Met + Cist digestível, %	0,91
Ca ⁵ , %	0,65
P total ⁵ , %	0,75
Fe, mg/kg	29

¹ Todos os ingredientes e a composição nutricional estão expressos na matéria natural.

² Produto puro para análise.

³ 0,03% L-lisina (79%); 0,27% L-arginina (98,5%); 0,40% L-glicina (98,5%); 0,85% alanina; e 2,0% ácido glutâmico. Os aminoácidos alanina, glicina e ácido glutâmico foram adicionados para manter a relação de nitrogênio essencial: nitrogênio total em 50.

⁴ 0,055% coccidiostático; 0,010% avilamicina; 0,03% BHT. Mistura vitamínica suplementada por kg de ração: vitamina A - 7.500 UI; vitamina D₃ – 1.900 UI; vitamina E – 28 UI; vitamina B₁ – 2 mg; vitamina B₂ – 5 mg; vitamina B₆ – 1,2 mg; vitamina B₁₂ – 12 mcg; vitamina K – 1,5 mg; ác. nicotínico – 0,03 mg; ác. pantotênico – 0,01 mg; ác.fólico – 0,7 mg; biotina – 0,07mg. Mistura mineral suplementada por kg de ração: 8 mg de Cu; 1 mg de I; 60 mg de Mn; 0,3 mg de Se; e 40 mg de Zn.

⁵ Valor determinado por análise. Cada valor foi baseado em dez repetições.

Tabela 3 – Valores de ferro analisados nas dietas experimentais

	Níveis de Fe ¹ (mg/kg) analisado nas dietas				
Níveis de cobre	29	54	79	104	129
Fe inorgânico	46	56	77	96	117
Fe orgânico	32	61	83	110	146

¹ Os níveis de suplementação de ferro foram obtidos pela soma da quantidade do mineral na dieta semipurificada (29 mg de Fe/kg) somando as inclusões de 0, 25, 50, 75 e 100 mg de Fe/kg.

Tabela 4 – Desempenho de frangos de corte alimentados com dieta semipurificada e níveis crescentes de ferro proveniente de diferentes fontes do mineral de 10 a 20 dias de idade¹

Principais Efeitos ²	Peso Corporal (g)	Ganho de peso médio diário (g/ave/dia)	Consumo médio diário de ração (g/ave/dia)	Conversão Alimentar (g/g)
Níveis de ferro (mg/kg)				
0 ³	643,52	40,62	55,37	1,36
25	645,59	41,08	55,21	1,35
50	652,07	41,76	55,60	1,33
75	650,71	41,58	55,63	1,34
100	632,73	39,79	53,99	1,36
Fontes de ferro				
FeSO ₄ .H ₂ O	643,52	40,87	55,40	1,35
ProFe	646,23	41,10	54,92	1,34
SEM agrupado	21,43	2,12	2,41	0,06
ANOVA (p-valor)				
Fonte de Fe	0,5436	0,5322	0,3244	0,0883
Linear	0,2805	0,2754	0,1756	0,9815
Quadrático	0,0089	0,0087	0,1039	0,1415
Fe X Níveis de Fe	0,6111	0,5940	0,6141	0,8522

¹ Diferenças significativas foram consideradas quando P<0,05. E valores entre P<0,05 e P<0,10 como tendência.

² Cada valor representa a média de 10 gaiolas com 5 aves cada.

³ A dieta basal continha 29 mg de Fe/kg.

Tabela 5 - Conteúdo de cobre nos tecidos de frangos de corte alimentados com dieta semi purificada e níveis crescentes de cobre proveniente de diferentes fontes do mineral de 8 a 17 dias de idade¹

Principais efeitos ²	Peito (mg/kg)	Fígado (mg/kg)	Tíbia (mg/kg)	Ferro sérico (µg/dL)
Níveis de ferro (mg/kg)				
0 ³	14,28	88,18	101,64	19,11
25	18,40	140,38	178,36	62,44
50	18,75	191,82	188,24	63,55
75	18,15	199,25	189,60	61,55
100	18,36	197,35	201,80	62,16
Fontes de ferro				
FeSO ₄ .H ₂ O	17,57	162,53	171,35	54,80
ProFe	17,60	164,26	172,51	52,73
SEM agrupado	1,91	48,68	23,40	15,97
ANOVA (p-valor)				
Fonte de Fe	0,8679	0,8601	0,8067	0,5411
Linear	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Quadrático	<0,001	0,0030	<0,001	<0,001
Fe X Níveis de Fe	0,4655	0,8193	0,1212	0,9876

¹ Diferenças significativas foram consideradas quando $P < 0,05$. E valores entre $P < 0,05$ e $P < 0,10$ como tendência.

² Cada valor representa a média de 10 gaiolas com 5 aves cada.

³ A dieta basal continha 29 mg de Fe/kg.

Tabela 6 – Resposta máxima estimada pelo modelo polinomial quadrático (QP) de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de ferro de 10 a 20 dias de idade e diferentes fontes do mineral¹

Variáveis	Fonte de ferro	Equações de regressão ²	Resposta máxima, mg/kg ³	P-valor	R ²
PC	Níveis médios	$y = -0,0055x^2 + 0,482x + 641,37$	43,98	0,008	81,14
	ProFe	$y = -0,008x^2 + 0,6923x + 641,6$	43,27	< 0,01	83,57
GPMD	Níveis médios	$y = -0,0005x^2 + 0,048x + 40,656$	43,55	0,008	81,30
	ProFe	$y = -0,0008x^2 + 0,0692x + 40,684$	43,19	0,006	83,58
CMDR	ProFe	$y = -0,0003x^2 + 0,0285x + 55,15$	37,50	0,058	63,44
Fe peito	Níveis médios	$y = -0,001x^2 + 0,1306x + 14,807$	65,30	< 0,001	84,78
	ProFe	$y = -0,0010x^2 + 0,1295x + 15,063$	61,67	< 0,001	70,39
	FeSO ₄ .H ₂ O	$y = -0,0009x^2 + 0,1326x + 14,518$	69,79	0,003	93,76

Fe fígado	Níveis médios	$y = -0,0174x^2 + 2,8506x + 86,2$	81,96	< 0,001	99,00
	ProFe	$y = -0,0216x^2 + 3,1885x + 85,965$	73,81	0,001	97,41
	FeSO ₄ .H ₂ O	$y = -0,0132x^2 + 2,5138x + 86,435$	95,22	0,049	99,74
Fe tibia	Níveis médios	$y = -0,0157x^2 + 2,4004x + 110,4$	76,94	< 0,001	90,31
	ProFe	$y = -0,0197x^2 + 2,7602x + 108,3$	70,06	< 0,001	92,02
	FeSO ₄ .H ₂ O	$y = -0,0117x^2 + 2,0575x + 112,37$	87,94	< 0,001	85,78
Fe sérico	Níveis médios	$y = -0,0101x^2 + 1,353x + 24,069$	66,98	< 0,001	85,58
	ProFe	$y = -0,0105x^2 + 1,3914x + 22,723$	65,65	< 0,001	85,47
	FeSO ₄ .H ₂ O	$y = -0,0097x^2 + 1,3145x + 25,416$	67,81	< 0,001	85,30

¹ Diferenças significativas foram consideradas quando $P < 0,05$. E valores entre $P < 0,05$ e $P < 0,10$ como tendência.

² Equações de regressão obtidas usando os valores crescentes de ferro calculados em cada dieta experimental (0, 25, 50, 75 e 100 mg/kg de Cu).

³ Modelo polinomial quadrático $Y = \beta_1 + \beta_2 X Fe + \beta_3 X Fe^2$, onde Y é a variável dependente; β_1 o intercepto; β_2 o coeficiente linear; e β_3 o coeficiente quadrático. A resposta máxima para Fe é definida como $Fe = -\beta_2 \div (2 X \beta_3)$.

Tabela 7 – Efeitos lineares e quadráticos dos níveis crescentes de ferro para diferentes fontes sobre os parâmetros de desempenho¹

		Níveis de ferro					P-valor	
		0	25	50	75	100	Linear	Quadrático
PCF ²	Inorgânico	642,3	644,3	644,8	649,8	636,6	0,778	0,3099
	o	8	8	8	0	4	0	
	Orgânico	644,6	646,7	659,2	651,6	628,8	0,213	0,0070
GPM		6	9	6	2	2	6	
	Inorgânico	40,75	40,95	41,00	41,48	40,19	0,784	0,3142
	o						9	
D	Orgânico	40,99	41,20	42,45	41,68	39,40	0,204	0,0066
							5	
	Inorgânico	55,58	55,72	55,37	55,51	54,82	0,479	0,6856
CMD	o						8	
	Orgânico	55,16	54,69	55,84	55,75	53,16	0,225	0,0584
							3	
CA	Inorgânico	1,36	1,36	1,35	1,34	1,36	0,727	0,4112
	o						3	
	Orgânico	1,35	1,33	1,32	1,34	1,35	0,702	0,2066
							8	

¹ Efeitos significativos foram considerados a partir de $P < 0,05$, sendo $P < 0,05$ a $P < 0,10$ considerado tendência.

² PCF (peso corporal final, g); GPMD (ganho de peso médio diário, g/animal/dia); CMDR (consumo médio diário de ração, g/animal/dia); CA (conversão alimentar, g/g).

Tabela 8 – Efeitos lineares e quadráticos dos níveis crescentes de ferro para diferentes fontes sobre a concentração de cobre nos tecidos¹

		Níveis de Ferro					P-valor	
		0	25	50	75	100	Linear	Quadrático
Peito ²	Inorgânico	14,31	17,61	18,99	18,36	18,58	<0,000	0,0011
	Orgânico	14,24	19,19	18,51	17,94	18,13	0,0024	0,0003
Fígado	Inorgânico	86,94	139,7	182,4	197,1	206,8	<0,000	0,0495
	Orgânico	89,88	141,0	201,2	201,3	187,2	<0,000	0,0015
Tíbia	Inorgânico	103,2	173,6	189,0	179,6	211,1	<0,000	0,0004
	Orgânico	100,0	183,0	197,4	199,5	192,4	<0,000	<0,0001
Ferro no soro	Inorgânico	20,44	63,55	62,78	63,67	63,55	<0,000	<0,0001
	Orgânico	17,78	61,33	64,33	59,44	60,78	<0,000	<0,0001

¹ Efeitos significativos foram considerados a partir de $P < 0,05$, sendo $P < 0,05$ a $P < 0,10$ considerado tendência.

² Concentração de ferro (mg/kg) no músculo do peito, fígado, tíbia e ferro no soro ($\mu\text{g/dL}$) de frangos de corte.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO
CEUAP/UFV

Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-900 - Telefone: (31) 3899.3275 - e-mail: ceup@ufv.br - site: www.ceup.ufv.br

Viçosa, 08/01/15

CERTIFICADO

A comissão de ética no uso de animais de produção da universidade federal de viçosa certifica que o processo n° 111/2014, intitulado “Exigência e biodisponibilidade de diferentes fontes de microminerais para frangos de corte”, coordenado pelo prof(a). Melissa Izabel Hannas, está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em 17/Dez/2014.

CERTIFICATE

The ethic commission in use of production animals of universidade federal de viçosa certifies that the process number 111/2014, named “Requirement and bioavailability of different sources of trace minerals for broilers”, coordinated by prof(a). Melissa Izabel Hannas, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council of Animal Experimentation Control (CONCEA) and with actual Brazilian legislation, and was approved by this commission on Dec, 17th, 2014.

Mário Luiz Chizzotti
Coordenador da CEUAP/UFV