JANAINA CRISTINA DA SILVA MACIEL DE SOUZA

**Níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado, treonina e zinco
quelatado sobre a composição química do ovo e o teor de
colesterol da gema**

Pirassununga

2017

JANAINA CRISTINA DA SILVA MACIEL DE SOUZA

Níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado, treonina e zinco quelatado sobre a composição química do ovo e o teor de colesterol da gema

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto

De acordo: _____

Orientador

Pirassununga
2017

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3551
FMVZ

Souza, Janaina Cristina da Silva Maciel de
Níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado, treonina e zinco quelatado
sobre a composição química do ovo e o teor de colesterol da gema. / Janaina
Cristina da Silva Maciel de Souza. – 2017.
85 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal,
Pirassununga, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto.

1. Aminoácidos. 2. Minerais orgânicos. 3. Poedeiras. 4. Qualidade dos ovos.
5. Albúmen. I. Título.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado, treonina e zinco quelatado sobre a composição química do ovo e o teor de colesterol da gema”, protocolado sob o nº1589/2009, utilizando 1920 (um mil novecentos e vinte) galinhas poedeiras (*Gallus gallus domesticus*), sob a responsabilidade dos Profs. Dr. Messias Alves da Trindade Neto e Dr. Ricardo de Albuquerque, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em 20/1/2010”.

São Paulo, 27 de junho de 2017

Denise Tabacchi Pantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SOUZA, Janaina Cristina da Silva Maciel

Título: Níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado, treonina e zinco quelatado sobre a composição química do ovo e o teor de colesterol da gema

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo, Johnny Maciel de Souza, por todo amor e carinho que me dedica e por estar ao meu lado mesmo diante de todas as dificuldades, sempre me incentivando a seguir meus sonhos.

Aos meus pais, que mesmo diante de tantas dificuldades lutaram para me fornecer uma educação digna.

AGRADECIMENTOS

Agradeço meu orientador Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto, pelos ensinamentos ao longo desses anos em que trabalhamos juntos, pela disposição em esclarecer minhas dúvidas, mostrando o melhor caminho para seguir.

Ao meu esposo, Johnny Maciel de Souza, pelo carinho e zelo que tem por mim, pelas incontáveis vezes que sempre me auxiliou, meu amado agradeço, pelo amor, pela força que me dá sempre demonstrando que posso ser uma pessoa melhor, por me fazer feliz.

Agradeço à todos os funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, pelo auxílio durante a realização de meu experimento.

Agradecimento especial para Renata Conti e Simi Aflalo, pela paciência e ensinamentos durante o período em que convivemos diariamente no laboratório.

À CAPES pela concessão da bolsa, para realização deste projeto.

Aos funcionários do VNP, Alessandra e João Paulo, dedicados à ajudar sempre que necessário.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), pela oportunidade da realização deste projeto.

À todos que de alguma forma me auxiliaram para realização deste projeto.

*“Frequentemente é necessário ter mais coragem
para ousar fazer certo do que temer fazer errado”
(Abraham Lincoln)*

RESUMO

SOUZA, J. C. S. M. **Níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado, treonina e zinco quelatado sobre a composição química do ovo e o teor de colesterol da gema.** [Dietary levels of methionine and chelated copper, threonine and chelated zinc on the chemical composition of the egg and the yolk cholesterol]. 2017. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

Na avicultura de postura, a associação dos aminoácidos e minerais quelatados pode afetar positivamente a composição química dos ovos e o colesterol da gema. Desta forma, em dois ensaios experimentais distintos, objetivou-se com avaliar a interação do nível dietético de metionina e cistina com o cobre quelatado e treonina e zinco quelatado sobre a composição química do ovo. Para tanto, foram utilizados em cada ensaio 320 poedeiras comerciais, distribuídas sob o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos, distribuídos aleatoriamente em quatro repetições, foram organizados em arranjo fatorial 5 x 4: sendo o primeiro fator teor de aminoácido e o segundo nível do mineral quelatado, constituindo 20 tratamentos, com quatro repetições e quatro aves por unidade experimentais. A parcela experimental era constituída de quatro aves com 48 semanas de idade. No primeiro ensaio os níveis totais de metionina+ cistina (met+cys) eram: 0,613, 0,631, 0,816, 0,918 e 0,955 % e os de cobre (Cu): 18, 44, 71 e 99 mg / kg. No segundo, eram: níveis totais de treonina (Thr) 0,614, 0,698, 0,875, 1,006, 1,055%; e. zinco (Zn): 31, 73, 104 e 121 mg / kg. Os níveis avaliados foram estabelecidos após análises laboratoriais. Em ambos os experimentos, foram avaliados: ovos e conteúdos, taxas diárias de deposição, composição química dos conteúdos na Matéria Natural (MN) e Matéria Seca (MS). Para as determinações da composição química PB%, EE%, MM%, H₂O% e colesterol dos ovos, foram colhidos dois ovos por parcela. Os dados foram analisados utilizando-se o procedimento SISVAR 5.6 e o nível de significância considerado foi de 5%. No ensaio 1, o efeito de interação ($P < 0,05$) entre Met + Cys*Cu, foi observado para maioria das variáveis avaliadas. Entretanto, foram observados efeito principal ($P < 0,05$) de Met+ Cys para as seguintes variáveis: peso de casca e gema; deposição de Nitrogênio (N), Extrato Etéreo no Albúmen (EE no Alb) e Cinzas, composição química do ovo nas Matérias Natural e Seca; Proteína Bruta (PB), Extrato Etéreo (EE) e Cinzas no Albúmen, ovo reconstituído e MS no

Alb, e para colesterol total. O efeito do aumento nos níveis de Met + Cys resultou em acréscimo de 18,17 % no teor de colesterol. Ensaio 2: Foi observado efeito de interação ($P < 0,05$) entre Thr* Zn, para maioria das variáveis analisadas. Todavia, foi observado efeito principal ($P < 0,05$) do aminoácido para as seguintes variáveis: pesos de casca e gema, na composição química do ovo na MN (EE na gema), onde o aumento nos níveis de Thr resultaram no aumento do EE na gema, para o colesterol total. Conclui-se que em ambos os experimentos a utilização mineral quelatado em dietas para poedeiras pode trazer benefícios para qualidade do ovo, melhorando alguns parâmetros da composição química do ovo.

Palavras-chave: aminoácidos. minerais orgânicos. poedeiras. qualidade dos ovos. albúmen.

ABSTRACT

SOUZA, J. C. S. M. **Dietary levels of methionine and chelated copper, threonine and chelated zinc on the chemical composition of the egg and the yolk cholesterol.** [Níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado, treonina e zinco quelatado sobre a composição química do ovo e o teor de colesterol da gema]. 2017. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

In laying hens production, an association of amino acids and chelated minerals can positively affect a chemical composition and yolk cholesterol of the eggs. Thus, the objective was to evaluate the interaction of the dietary level of methionine and cystine with the chelated copper and chelated threonine and zinc on the chemical composition of the egg, in two different experimental trials. For this, 320 commercial layers were used in each experiment, distributed under a completely randomized design. The treatments, were randomly distributed in four replications, in a 5 x 4 factorial arrangement of treatments, with five levels of the factor amino acid content and four levels of the factor chelated mineral concentration, constituting 20 treatments, with 4 replicates and 4 layers per experimental unit. The experimental plot consisted of four birds with 48 weeks of age. In the first trial, the total methionine + cystine (Met + Cys) levels were: 0.613, 0.631, 0.816, 0.918 e 0.955% and copper (Cu): 18, 44, 71 e 99 mg / kg. In the second trial, the total threonine (Thr) levels were: 0.614, 0.698, 0.875, 1.006, 1.055%, and zinc (Zn): 31, 73, 104 e 121 mg / kg. The levels assessed were established after laboratory analysis. In both experiments, were evaluated: eggs and contents, daily rates of deposition, chemical composition of contents in natural matter (NM) and dry matter (DM). For the determinations of the chemical composition (PB%, EE%, MM%, H₂O% and cholesterol of the eggs), two eggs were collected per plot. Data were analyzed using the SISVAR 5.6 procedure and the level of significance considered was 0.05. Experiment 1: the interaction effect ($P < 0.05$) between Met + Cys*Cu was observed for most of the evaluated variables. However, the main effect of Met + Cys was observed ($P < 0.05$) for the following variables: egg shell and yolk weight; deposition of nitrogen (N), ether extract (EE) in albumen and ash; chemical composition of the egg in natural and dry matter (CP, EE and Ash in the albumen, reconstituted egg and DM in albumen) for the total cholesterol. The effect of the increase in a Met + Cys levels resulted in an increase of 18.17% in the cholesterol content. Experiment 2: the interaction effect ($P < 0.05$)

between Thr* Zn was observed for most of the observed variables. However, the main effect ($P < 0.05$) of the amino acid was observed for the following variables: egg shell and yolk weights, in the chemical composition of the egg in the NM (EE yolk), where the increase in Thr levels resulted in increased of yolk EE, Therefore, it is concluded that in both experiments the chelated mineral utilization in laying diets can bring benefits to egg quality, improving some parameters of the egg chemical composition.

Keywords: amino acids. organic minerals. laying hens. egg quality. albumen.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nutrientes presentes no ovo de 60 g.....	19
Tabela 2 - Minerais presentes em um ovo de 60 g	19
Tabela 3 - Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais.....	30
Tabela 4 - Efeito dos níveis dietéticos Met +cys e cobre sobre o peso das frações do ovo e taxas diárias de deposição.....	35
Tabela 5 - Efeito dos níveis dietéticos metionina e cobre sobre a composição química do ovo, das frações em Matéria Natural, Matéria Seca e teor de colesterol dos ovos.....	36
Tabela 6 - Efeito dos teores de Metionina e concentrações de Cobre sobre a composição química dos ovos.....	40
Tabela 7 - Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais.....	588
Tabela 8 - Efeito dos níveis dietéticos de Treonina e Zinco sobre a composição química e taxas diárias de deposição	622
Tabela 9 - Efeito dos níveis dietéticos Treonina e Zinco sobre a composição química e teor de colesterol dos ovos	633
Tabela 10 - Efeito dos níveis dietéticos Treonina e Zinco sobre a composição química e teor de colesterol dos ovos	666

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS GERAIS	17
3	HIPÓTESES	18
4	REVISÃO DE LITERATURA	18
4.1	AMINOÁCIDOS DE INTERESSE ZOOTÉCNICO	19
4.2	AMINOÁCIDO SULFURADO	20
4.3	TREONINA	22
4.4	MICROMINERAIS QUELATADOS OU ORGÂNICOS	22
4.5	COBRE QUELATADO	24
4.6	ZINCO (Zn)	25
4.7	COLESTEROL EM GEMA DE OVOS	26
5	CAPÍTULO I - Associação dos níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado sobre a composição química dos ovos e o teor de colesterol da gema	27
5.1	INTRODUÇÃO	27
5.2	OBJETIVO	28
5.3	MATERIAL E MÉTODOS	28
5.3.1	Animais	29
5.3.2	Dietas	29
5.3.3	Composição química do ovo	31
5.3.4	Determinação do colesterol em gemas de ovos	31
5.3.5	Análise Estatística	32
5.4	RESULTADOS	33
5.4.1	Ovo e as taxas diárias das deposições químicas	33
5.4.2	Composição química do ovo e seus conteúdos	38
5.4.3	Colesterol total da gema e Concentração de Cu da gema	39
5.5	DISCUSSÃO	46
5.5.1	Ovo e as taxas diárias das deposições químicas	46
5.5.2	Composição química do ovo e seus conteúdos	47
5.5.3	Colesterol total da gema e Concentração de Cu da gema	49
5.6	CONCLUSÃO	50

5.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
6	CAPÍTULO II - Níveis dietéticos de treonina e zinco quelatado sobre a composição química dos ovos e o teor de colesterol da gema	55
6.1	INTRODUÇÃO	55
6.2	OBJETIVO.....	56
6.3	MATERIAL E MÉTODOS	56
6.3.1	Animais.....	56
6.3.2	Dietas.....	57
6.3.3	Composição química do ovo.....	57
6.3.4	Determinação do colesterol em gemas de ovos.....	59
6.3.5	Análise Estatística.....	60
6.4	RESULTADOS	61
6.4.1	Ovo e as taxas diárias das deposições químicas.....	61
6.4.2	Composição química do ovo e seus conteúdos.....	64
6.4.3	Colesterol total da gema	65
6.5	DISCUSSÃO	71
6.5.1	Ovo e as taxas diárias das deposições químicas.....	71
6.5.2	Composição química do ovo e seus conteúdos.....	72
6.5.3	Colesterol total na gema	73
6.6	CONCLUSÃO.....	73
6.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
	REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, no ano de 2016, produziu cerca de 39,1 bilhões de ovos, além de exportar 10,41 mil t. Diante desses números, o consumo de ovos no país ainda é considerado baixo, representando apenas 190 per capita (EMBRAPA, 2017), consequência de informações contraditórias em relação ao teor de colesterol presente no ovo dos benefícios e/ou malefícios que o consumo deste poderiam trazer a saúde.

O ovo é uma ótima alternativa para a alimentação saudável, por possuir baixa caloria, ser fonte de proteínas, possuir elevada digestibilidade, alto valor biológico e uma importante fonte de energia (BERTECHINI, 2003).

A casca representa cerca de 9,5%, a gema 24,0% e o albúmen 67,5% do peso total do ovo, estes dados correspondem ao peso de casca, gema e albúmen (SOUZA, 2017)¹.

De acordo Hafez; Hafez, (2004) a gema representa, aproximadamente, 33% da massa do ovo, cuja composição corresponde a 50% de água; 32% de lipídeos; e 16% de proteínas, possui vitaminas, proteínas de elevado valor biológico. Os nutrientes necessários ao desenvolvimento do embrião estão contidos na gema. A quantidade de colesterol presente numa gema de ovo varia de 215 à 275 mg, de acordo com o peso, um ovo grande, de 60.g, fornece cerca de 210mg de colesterol. É na fração lipídica da gema, que estão presentes triacilgliceróis, fosfolipídios e o colesterol (LEESON; SUMMERS, 2001; SPENCE et al., 2010).

O Albúmen (Alb), assim como a gema possui em sua composição várias proteínas com alto valor biológico, dentre as mais importantes estão a ovotransferrina e a ovoalbumina (LEESON; SUMMERS, 2005).

A presença dos microminerais na dieta das aves é importante para a qualidade dos ovos, assim, quando há deficiência deles haverá queda em sua qualidade (SECHINATO, 2003). Os minerais quelatados melhoram a biodisponibilidade dos microminerais (Carvalho, 2012), por exemplo o cobre (Cu) e o zinco (Zn). O uso de minerais quelatados como o Cu melhoram o peso dos ovos (LIM e PAIK, 2006). Além da sua função em processos de formação da casca,

¹ Dissertação de Mestrado; dados obtidos no presente estudo conforme tabela 4.

quando em deficiência o cobre afeta a qualidade da casca (BAUMGARTNER et al., 1978), além de essencial no metabolismo lipídico dos animais. Quando suplementado, poderia auxiliar na diminuição do colesterol dos ovos (PESTI e BAKALI, 1998; IDOUW et al., 2005).

O zinco tem características antioxidantes, atua na deposição do albúmen e na formação do ovo (REZENDE, 2016; MABE et al., 2003). Segundo Park et al. (2004), quando há deficiência do Zn ocorrem problemas ao mecanismo de defesa do organismo, uma vez que este mineral participa de funções no sistema imune.

Quando incluída na dieta a metionina (met) afeta positivamente o peso dos ovos. É considerado o primeiro aminoácido limitante para aves (LEESON; SUMMERS, 2005; KAKHKI et al, 2016). Os aminoácidos sulfurados metionina e cistina (Met + Cys) alteram a composição dos ovos (BARBOSA et al., 1999; BRUMANO et al., 2010; POLESE, 2011).

A treonina (Thr) é um aminoácido essencial para aves, tem funções importantes no metabolismo, participa de processos de síntese e catabolismo gerando o acetil - CoA, envolvido em produção de anticorpos (KIDD et al., 1996; PASTORE et al., 2016).

Maioria das pesquisas com o uso de aminoácidos e de minerais quelatados focaram efeitos isolados dos benefícios desses para ave e ovos. Entretanto, estudos com a associação de ambos e prováveis benefícios em poedeiras e nos ovos, são escassos. Dessa forma, a presente pesquisa foi desenvolvida com o intuito de avaliar o efeito da inclusão de níveis crescentes dos minerais quelatados e aminoácidos sobre a composição dos ovos.

2 OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se com a presente pesquisa, avaliar a possível interação do nível dietético de metionina e cobre quelatado, treonina e zinco quelatado sobre a composição química do ovo e o teor de colesterol da gema, em dois ensaios com galinhas poedeiras comerciais.

3 HIPÓTESES

Associação de Met+Cys ao Cu quelatado e Thr ao Zn quelatado, resulta em alterações benéficas da composição química do ovo e redução de colesterol da gema

4 REVISÃO DE LITERATURA

É possível alterar a composição dos ácidos graxos presentes nos ovos apenas alterando a composição da dieta das aves. Para Watson (2002), a dieta fornecida para a galinha poedeira, bem como sua linhagem, exercem influência sobre os níveis nutrientes presentes nos ovos.

Na composição da gema estão as proteínas, lipoproteínas de alta (HDL) e baixa densidade (LDL), as enzimas (catalase, protease, fosfatase e amilase), as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e hidrossolúveis (complexo B) e os componentes inorgânicos, Ca, Fe, Se, Cl, Na e P (BACILA, 2003). A qualidade da casca está diretamente relacionada ao ingrediente que ave recebe via dieta (LEESON; SUMMERS, 2005).

Dentre os aminoácidos indispensáveis, a metionina é considerada o primeiro aminoácido limitante, outro aminoácido essencial para aves é treonina. A L-treonina é a única forma de utilização, além de ser considerado o terceiro aminoácido mais limitante, principalmente em dietas formuladas com baixa proteína bruta (KIDD; KERR, 1996;). Segundo Matos (2009) para melhorar a qualidade dos ovos os níveis de lisina e treonina adicionados à ração das poedeiras devem ser de 700 e 500 mg/kg, respectivamente. Stefanello et al.(2014) constataram que o Zinco suplementar não teve efeito sobre produção dos ovos, entretanto, houve melhora na qualidade da casca com o nível de Zn de 60 mg / kg. Os componentes principais presentes nas frações dos ovos, os minerais estão presentes nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Nutrientes presentes no ovo de 60 g

Ovo (60 g)		Casca	Albúmen	Gema
Proteínas	(%)	3	11	17
	(g)	0,2	3,9	3,2
Lípidios	(%)	-	-	32
	(g)	-	-	6,0
Carboidratos	(%)	-	1,0	1,0
	(g)	-	0,4	0,2
Minerais	(%)	95	0,6	1,0
	(g)	5,7	0,2	0,2

Fonte: adaptado de Lesson e Summers, (2001)

Tabela 2 - Minerais presentes em um ovo de 60 g

Minerais (mg)	
Cálcio	30
Fósforo	130
Sódio	75
Potássio	80
Magnésio	7
Manganês	2
Ferro	1
Cobre	2
Zinco	1
Iodo	0,02
Cloreto	100
Selênio	0,01

Fonte: adaptado de Lesson e Summers, (2001)

4.1 AMINOÁCIDOS DE INTERESSE ZOOTÉCNICO

De interesse zootécnico existem 20 aminoácidos, dentre eles estão a Met + Cys e a Treonina os quais foram utilizados para o presente estudo. São unidades estruturais da proteína, os aminoácidos de importância para a nutrição animal são apenas os α -aminoácidos (DALIBARD et al., 2014).

As formas L e D dos aminoácidos são isômeros e diferenciam-se pela disposição das quatro ligações ao átomo de carbono, outra diferença entre eles é em relação às funções nos organismos dos animais. Em uma dieta em que se fornece os aminoácidos isômeros L e D em uma proporção 50:50, para conseguir participar do metabolismo o aminoácido D é convertido em L, processo ao qual

ocorre pela desaminação e posterior aminação do L- amino. As separações destes isômeros L e D não são necessárias já que para a Metionina nesse processo é bastante eficiente (DALIBARD et al., 2014).

Quando uma dieta está com baixo teor energético (deficiente), ocorre o processo de desaminação, onde o esqueleto carbônico entra no metabolismo energético para produzir energia sob a forma de ATP. Todos aminoácidos que foram absorvidos e não utilizados para síntese proteica também passam pelo processo de desaminação (HÄFFNER et al., 2000; DALIBARD et al., 2014).

O principal órgão responsável pelo controle dos níveis dos aminoácidos que são direcionados para circulação sistêmica é o fígado. Devido a este controle não há riscos de aminoácidos em excesso na circulação, por este motivo existem diferenças entre o perfil de aminoácidos que chegam no fígado e o da circulação sistêmica. Dietas formuladas com a quantidade inadequada de aminoácidos afetam diretamente os níveis dos aminoácidos limitantes nessa dieta, e com isso haverá maior inclusão dos aminoácidos limitantes no sistema porta hepático, concomitantemente queda do nível sanguíneo dos aminoácidos limitantes (BERTECHINI et al., 2004).

Aves poedeiras de alta produção, que recebem dietas a base de farelo de soja são menos afetadas ao excesso de aminoácidos (L - lisina, DL - metionina e L - treonina). A produção diária de ovos, total e a ingestão das aves não foi prejudicada pelo excesso de lisina, metionina, treonina e triptofano na dieta (KOELKEBECK et al., 1991).

4.2 AMINOÁCIDO SULFURADO

A metionina é um aminoácido considerado essencial e a cistina um semi-essencial e essa classificação pode variar de acordo com a espécie. Possui um papel importante no metabolismo, pois, participa das vias metabólicas de compostos como adrenalina e creatina. É componente chave na síntese de proteínas e em déficit a síntese será prejudicada, está presente na maioria dos tecidos dos animais (DALIBARD et al., 2014). Ambas metionina e proteína e exercem influência sobre o tamanho dos ovos (LEESON; SUMMERS, 2005). Em dietas cujo teor de energia

varia de alto a deficiente em metionina, o desempenho de poedeiras será afetado, pelo excesso de gorduras no ovário e fígado (BERTECHINI et al., 2004). Também participa da biossíntese de lipídeos, estando envolvida no transporte de lipídeos no sangue (PATTERSON; KUNG, 1988).

A DL-metionina é usualmente considerada o primeiro aminoácido limitante para aves. Quando há suplementação desse aminoácido na dieta das aves, o aproveitamento da proteína, do nitrogênio e o equilíbrio dos aminoácidos são melhorados (BUNCHASAK; SILAPASORN, 2005).

É possível ajustar os níveis de metionina para controlar o tamanho dos ovos de galinhas poedeiras de ciclo tardio Leeson e Summers (2005). De acordo com Summers et al. (1990), o uso da metionina numa dieta contendo 10% de proteína bruta permitiu aumento de 10% na massa dos ovos. Porém, Penz Jr e Jensen (1990) constataram baixo peso dos ovos e albúmen das aves que receberam dietas com apenas 13 % de PB.

O aumento da produção de ovos foi observado por Solarte et al. (2005) quando galinhas poedeiras receberam 0,684% de metionina-cistina (met+ cys). Segundo Gambaro (2014), aves que receberam dietas contendo 0,77% de met + cys apresentaram maiores pesos de ovos quando comparados as aves que receberam a dieta com apenas 0,66% de met + cys. Em Barbosa et al. (1999), o mesmo comportamento para peso de ovos foi observado, a inclusão de met + cys à dieta de poedeiras de ovos brancos e marrons.

De acordo com Brumano et al. (2010), o aumento no consumo de met + cys pelas poedeiras leves com 20 a 40 semanas de idade, resultou no aumento da porcentagem de gema. Para Polese (2011) com adição de crescentes níveis de met + cys a porcentagem de gema aumentou, o autor argumenta que o ocorrido foi consequência da síntese de colina seguida da formação das lipoproteínas presentes na gema.

4.3 TREONINA

Devido a incapacidade de síntese pelas aves, a treonina torna-se essencial na síntese proteica. Quando adicionado em dietas formuladas à base de milho e soja a Treonina(Thr) é o terceiro aminoácido essencial para poedeiras (KIDD; KERR 1996; FIGUEIREDO, 2008).

De acordo com Faure et al. (2005), a síntese de mucina é prejudicada quando há restrição no fornecimento da Thr em ratos. Segundo Rocha (2010), o aminoácido Thr está envolvido na proteção do intestino que ocorre através da síntese de mucina Para Wang et al. (2006), o aumento da produção de anticorpos na mucosa do jejuno decorreu da inclusão de níveis crescentes de Thr à dieta de suínos. Devido à especificidade das peptidases do trato gastrointestinal e o processo lento de hidrólise, o aproveitamento digestivo da Thr nas aves torna-se vagaroso (AUGUSTINI. 2010).

Segundo Umigi et al. (2007), a inclusão de Thr não afetou os componentes dos ovos. Para Figueiredo (2008), o extrato etéreo (EE) da gema não foi alterado com a inclusão de níveis crescentes (0,542 a 0,650%) de Thr à dieta de poedeiras comerciais. De acordo com Cupertino et al (2010), o consumo de 487 mg e 485 mg de treonina/ave/dia permitiram aumento na massa de ovos das poedeiras semipesadas.

Assim, a suplementação dos aminoácidos tem sido cada vez mais utilizadas na formulação de dietas para aves, a fim de reduzir a poluição causada pelos resíduos gerados e pela redução dos custos dessa produção Jenn-Chung Hsu et al.(1998).

4.4 MICROMINERAIS QUELATADOS OU ORGÂNICOS

Os quelatos são ligações entre íons metálicos a outras substâncias orgânicas, tornando-os mais biodisponíveis, demonstrando sua principal vantagem quando comparado ao mineral na forma inorgânica (SALDANHA 2008).

Segundo Leeson e Summers (2001), os três grupos de quelatos cumprem o seguinte papel:

I: Transporte e estoque de íons metálicos, quando o metal necessita de um ligante com propriedades físicas e químicas para ser absorvido, transportado pela corrente sanguínea e atravessar as membranas celulares, para posterior utilização. Nesse caso, a histidina e a cisteína, são agentes de ligação metálicos importantes para o transporte do mineral através do organismo.

II: Essenciais ao metabolismo, no organismo estão presentes uma série de quelatos, dispostos numa estrutura, onde o íon metálico está presente sob a forma de quelato. Estrutura essa, necessária para que o quelato exerça sua função no metabolismo. A cianocobalamina (B12) e a Hemoglobina são exemplos deste grupo.

III: Quando não possuem valor biológico e interferem no uso dos cátions essenciais ao organismo, um exemplo deste grupo é o fitato (quelato de Zn) que interfere no metabolismo do Zn, tornando-o indisponível.

Por muitos anos os minerais na forma inorgânica foram utilizados como fontes de baixo custo na dieta, mas estudos recentes (NUNES et al., 2013; ALVES et al., 2015; CARVALHO et al., 2016) ressaltaram que o uso de minerais orgânicos, em substituição aos inorgânicos, é mais viável, pois, são mais biodisponíveis e suas excreções são menores, reduzindo a poluição ambiental.

Os minerais orgânicos (Cu e Zn) estão envolvidos na formação da membrana das cascas dos ovos (BAUMGARTNER et al., 1978) participam das atividades enzimáticas, são importantes para a saúde do animal (MABE et al., 2003; RICHARDS et al., 2010; SCOTTÁ et al., 2014; REZENDE, 2016). Para Mabe et al. (2003) a suplementação de Cu e Zn orgânicos em dietas de galinhas poedeiras alterou o mecanismo de formação da casca, provavelmente, pela interação com o carbonato de cálcio, modificando a textura da casca.

De acordo com Alves et al. (2015) algumas características externas dos ovos foram melhoradas com o uso de minerais orgânicos. A adição de minerais orgânicos, em substituição aos inorgânicos, pode aumentar o peso dos ovos, melhorar a qualidade da casca e a resistência óssea das galinhas poedeiras semi pesadas (NUNES et al., 2013). Para Carvalho et al. (2016) é possível substituir, em até 70%, microminerais de fontes inorgânicos por orgânicos, com melhora da qualidade da casca, sem afetar no desempenho das aves.

4.5 COBRE (Cu)

Em 1883 Boutigny demonstrou a existência de Cobre em tecidos animais. Porém, somente em 1920 foi comprovado em estudos realizados em ratos, que ferro e cobre eram necessários para formação da hemoglobina. O cobre não faz parte da hemoglobina, apenas está presente em proteínas plasmáticas envolvidas no processo de liberação do ferro para o plasma (LESSON; SUMMERS, 2001). Trata-se de mineral traço importante para as aves, necessário na formação de ossos, componente de enzimas extra e intracelulares como a citocromo oxidase. Em caso de deficiência o animal tem dificuldades para absorver o ferro, mobilizando este mineral dos tecidos (LESSON; SUMMERS, 2001; OLGUN et al., 2013). O Cu tem sua absorção é prejudicada pelo excesso de Ca, Fe e Zn na dieta, e sua deficiência produz nas aves anemia, falhas reprodutivas e fragilidade óssea (SCOTTÁ et al., 2014), e reduz atividade da lipoproteína lipase em tecidos extra-hepáticos de ratos (VALSALA; KURUP, 1987). De acordo com Baumgartner et al. (1978) a qualidade da casca dos ovos foi afetada com a deficiência de Cu na dieta. Porém, houve aumento no peso dos ovos, esses autores justificam, que esse aumento foi devido as mudanças ocorridas nas membranas do ovo e também pelo aumento do peso do albúmen.

A produção e a qualidade dos ovos de poedeiras, em fase de produtiva, pode ser influenciado pela concentração dietética de cobre, bem como a composição lipídica do ovo. Balevi e Coskun (2004) observaram que a adição de 150 mg/kg de Cu reduziu a concentração de colesterol na gema, sem afetar o desempenho das poedeira. Segundo Lim e Paink (2006), a suplementação de 100 mg/kg de Cu aumentou o peso dos ovos.

O uso de microminerais Cu, Zn e Mn na forma de quelato, associado à Met, resultaram na melhora da biodisponibilidade quando comparado à outros sulfatos adicionados à dieta das galinhas poedeiras (SUN et al., 2012). De acordo com Dobrzanski et al. (2008) a inclusão do cobre quelatado à dieta das poedeiras, resultou no aumento do Cu contido na casca dos ovos, sangue e penas, de aves que receberam a dieta contendo Cu quelatado, em comparação as aves que receberam cobre de fonte inorgânica.

4.6 ZINCO (Zn)

Os primeiros estudos sobre a relevância nutricional do zinco são datados de 1940, quando os pesquisadores Keilin e Mann isolaram e purificaram a enzima anidrase carbônica, catalisadora na degradação do ácido carbônico em CO₂ e H₂O. Essa metaloenzima contém 0,33% de zinco desempenha papel na calcificação dos ossos, também está envolvida no metabolismo de carboidratos e proteínas (LEESON; SUMMERS, 2001; LIM; PAIK, 2006.).

O Zn é um mineral traço ou oligoelemento, encontrado em todos os tecidos do corpo, tende acumular-se nos ossos e não no fígado, como ocorre com os demais nos microminerais (LEESON; SUMMERS, 2001). Carvalho (2012) revisando o assunto, relatou melhora da qualidade da casca dos ovos, das aves cuja dieta continha minerais orgânicos, quando comparado as galinhas poedeiras que receberam estes minerais na forma inorgânica.

A absorção duodenal do zinco conta com a ação da metalotioneína que controla sua homeostase no organismo animal. A absorção desse mineral também é influenciada pelos ingredientes adicionados à formulação, podendo torná-lo indisponível para o animal (PARK et al., 2004). Quando há desbalanço dos níveis de Ca e P na dieta fornecida as aves, as necessidades de Zn serão alteradas, tornando-se baixa quando a concentração de P está abaixo do recomendado, e alta quando o nível de Ca é alto. O fitato pode afetar a biodisponibilidade do Zn (SCOTTÁ et al., 2014; SCATOLINI, 2007).

A deficiência de Zn provoca alterações ósseas, paraqueratose, crescimento retardado e queda na produção de ovos Leeson e Summers, 2001; SCOTTÁ et al., 2014). De acordo com Mabe et al. (2003) observaram efeitos sobre a casca dos ovos, que correlacionaram ao minerais Cu, Mn e Zn utilizados na pesquisa, afirmaram também que estes podem interagir com a formação do carbonato de cálcio resultando na alteração na fase inicial da formação da casca dos ovos. Favero (2013) observou aumento na deposição de Zn na gema e albúmen quando as aves receberam dietas contendo fontes de Zn orgânico. Já Stanley et al. (2012) não observaram alterações para peso de gema com o uso de Zn orgânico, estes autores constataram queda no peso da casca com a adição de mineral orgânico. Segundo

Pacheco et al. (2010), a quantidade de Zn quelato necessária para suprir as necessidades de manutenção de aves com 48 a 60 semanas de idade é 137 mg/kg.

4.7 COLESTEROL EM GEMA DE OVOS

Segundo Lirette et al. (1993), manipular os níveis de energia e proteína bruta em dietas de poedeiras são os focos principais para compreender como reduzir o colesterol da gema dos ovos. Na fração lipídica do ovo encontram-se os ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados que representam, respectivamente, 8,7 g, 13,2 g e 3,4 g na gema, e 1120 mg de colesterol por 100 g de gema de um ovo fresco (HOLLAND et al., 1997).

O colesterol é produzido no fígado, está presente nas membranas celulares, é importante para a síntese dos hormônios esteróides, vitamina D e dos sais biliares (NOVELLO et al., 2006). Segundo Weggemans et al. (2001), os riscos associados ao surgimento de doenças cardiovasculares se devem ao consumo excessivo de colesterol, pois, aumentam-se os níveis de HDL. De acordo com McNamara (2000) o consumo dos ovos não tem relação direta com o aumento de colesterol sanguíneo (hipercolesterolemia), ainda enfatiza que os ovos contêm quantidade considerável de nutrientes para alimentação dos humanos e que não há justificativas científicas que esclareçam a quantidade exata de ovos à serem consumidos semanalmente para cada indivíduo.

Segundo Leeson e Summers (2005), existem indícios, de que as altas concentrações de Cu adicionadas na dieta, podem reduzir o teor de colesterol no ovo. Esses autores afirmaram também que a glutatona é responsável por regular a síntese de colesterol através do estímulo da metil glutaril co-A, e que concentrações elevadas de Cu diminuem a produção de glutatona pelo fígado.

5 CAPÍTULO I - Associação dos níveis dietéticos de metionina e cobre quelatado sobre a composição química dos ovos e o teor de colesterol da gema

5.1 INTRODUÇÃO

A qualidade e a composição dos ovos tem sido uma grande preocupação para os nutricionistas. Diversas pesquisas tem sido feitas para obter os melhores meios para modificar a composição química dos ovos, no que se refere a peso, qualidade de casca e colesterol da gema, através do uso de aminoácidos e ou minerais adicionados na formulação das dietas fornecidas as poedeiras (LEESON; SUMMERS, 2005; PINHEIRO et al., 2012; MIRANDA, 2013; GAMBARO, 2014; BENDEZU et al., 2015;).

Dentre todos os aminoácidos, os α -aminoácidos são os considerados importantes para nutrição animal (DALIBARD et al., 2014). Para Brumano (2009), a qualidade dos ovos está relacionada aos aminoácidos, além do fato de que o tamanho da gema, dos ovos e do albúmen são influenciados quando há deficiência de aminoácidos e proteínas.

A inclusão do aminoácido metionina (Met) à dieta afeta o tamanho dos ovos (Leeson; Summers, 2005), massa dos ovos, (SUMMERS et al., 1990), peso dos ovos (PINHEIRO, 2012) e conteúdo dos ovos (BUNCHASAK; SILAPASORN, 2005).

A utilização do aminoácido sulfurado met + cys resulta em, aumento do peso dos ovos (GAMBARO, 2014; BENDEZU et al., 2015; KAKHKI et al., 2016; BARBOSA), altera a porcentagem do conteúdo dos ovos gema, albúmen e casca (BRUMANO et al., 2010 POLESE, 2011), produção de ovos (SOLARTE et al., 2005) e minimiza os efeitos poluentes causados pela excreção de N (PAVAN et al., 2005).

Quando o Cobre (Cu) na forma de quelato é adicionado à dieta de poedeiras, influência na redução de colesterol da gema (LIEN et al., 2004; BALEVI; COSKUN, 2004; IDOWU et al., 2005), no peso dos ovos (LIM; PAIK, 2006), na qualidade da casca (MABE et al., 2003; MIRANDA, 2013 MACIEL et al., 2010), na deposição desse mineral no conteúdo dos ovos (CARVALHO et al., 2016) e pode

estar relacionado a melhora do sistema imunológico em monogástricos (RICHARDS et al., 2010).

Foram comprovados através de estudos citados anteriormente, a influência exercida pela inclusão de met +cys e do Cu na forma orgânica nas dietas de poedeiras. Entretanto estudos os quais trabalharam com a associação de ambos, são escassos. Dessa forma, a presente pesquisa foi desenvolvida com o intuito de avaliar o efeito da associação de níveis crescentes do Cu quelatado sobre a composição dos ovos.

5.2 OBJETIVO

Avaliar a associação dos níveis de metionina e cobre quelatado sobre a composição química do ovo e o teor de colesterol da gema.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação ocorreu ao termino do estudo de desempenho (20 – 48 semanas de idade, seguindo as orientações da Comissão de Ética. Desta forma, os procedimentos analíticos foram realizados nos Laboratórios de Bromatologia e Nutrição de Monogástricos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, SP.

5.3.1 Animais

Foram utilizados em cada ensaio 320 poedeiras comerciais, distribuídas sob o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos, distribuídos aleatoriamente em quatro repetições, foram organizados em arranjo fatorial 5 x 4: sendo o primeiro fator teor de aminoácido e o segundo nível do mineral quelatado, constituindo 20 tratamentos com quatro repetições e quatro aves por unidade experimental.

As aves, distribuídas em gaiolas, construídas em arame galvanizado, medindo 0,25 x 0,40 x 0,40 m, dispostas em linha, providas de comedouro de chapa galvanizada e bebedouros tipo “nipple”. Alimento e água foram fornecidos à vontade. O programa de iluminação artificial foi mantido constante durante os períodos de avaliação, de modo a assegurar 17 horas de luz a cada 24 horas.

5.3.2 Dietas

As dietas fornecidas são apresentadas nas Tabelas 3. Para as análises estatísticas foram adotados os valores analisados de Met + Cys (0,613, 0,631, 0,816, 0,918 e 0,955 %) e cobre (18, 44, 71 e 99 mg/kg). Foram utilizadas dietas à base de milho e farelo de soja, formulada para atender as recomendações mínimas propostas por Rostagno et al. (2005), excetuando-se a met + cys.

Tabela 3 - Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais

Ingredientes	Met + Cys Total (%) ⁴				
	0,613	0,631	0,816	0,912	0,955
	Met + Cys Digestível ¹				
	0,491	0,606	0,708	0,781	0,846
Milho em grão	61,028	61,094	61,231	61,105	60,767
Farelo de soja	23,299	23,063	22,813	22,827	23,024
Óleo de soja	1,893	1,895	1,839	1,800	1,800
L-Lisina HCl	0,109	0,117	0,125	0,125	0,119
DL – Metionina	0,060	0,214	0,368	0,519	0,669
L- Treonina	0,030	0,034	0,037	0,037	0,035
L- Triptofano	0,003	0,004	0,005	0,005	0,004
Sal	0,221	0,221	0,221	0,221	0,221
Calcáreo	11,314	11,314	11,314	11,314	11,314
Fosfato dicálcico	1,471	1,474	1,476	1,476	1,475
Cloreto de colina	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
Bicarbonato de sódio	0,279	0,279	0,279	0,279	0,279
Caolin ou Carboquelato de Cu -16% ⁵	0,063	0,063	0,063	0,063	0,063
Premix Vit ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix Min ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores analisados - % ³					
Matéria seca	89,30	89,88	89,47	89,80	89,22
Proteína bruta	16,52	16,19	16,54	16,47	15,63
Met + Cys	0,613	0,631	0,816	0,918	0,955
Metionina ³	0,313	0,373	0,536	0,635	0,702
Cistina	0,299	0,258	0,280	0,282	0,253
Lisina	0,914	0,840	0,887	0,917	0,870
Treonina	0,722	0,626	0,680	0,737	0,622
Arginina	0,964	0,788	0,835	0,878	0,861
Isoleucina	0,682	0,608	0,652	0,692	0,589
Leucina	1,545	1,411	1,479	1,561	1,337
Valina	0,762	0,681	0,760	0,798	0,699
Alanina	0,916	0,809	0,861	0,922	0,812
Histidina	0,437	0,377	0,384	0,417	0,408
Fenilalanina	0,876	0,802	0,833	0,910	0,780
Ácido aspartico	1,621	1,425	1,524	1,639	1,387
Ácido glutâmico	3,082	2,778	2,925	3,099	2,706
Glicina	0,634	0,615	0,626	0,669	0,573
Serina	0,851	0,751	0,798	0,864	0,739
Tirosina	0,650	0,606	0,619	0,652	0,559
Valores calculados - % ⁴					
Energia Metabolizável - kcal/kg	2763	2768	2770	2770	2,770
Cálcio	4,7	4,7	4,7	4,70	4,7
Fósforo disponível	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Sódio	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Cloro	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Ácido Linoléico	2,368	2,368	2,368	2,317	2,312
Triptofano Digestível	0,168	0,168	0,168	0,168	0,168
Met + Cys Digestível	0,500	0,650	0,800	0,950	1,100
Lisina Digestível	0,800	0,800	0,800	0,800	0,800
Treonina Digestível	0,560	0,560	0,560	0,560	0,560

¹ Estimado com base na análise laboratorial e na proporção média ponderada de 89,23% de digestibilidade, utilizado em relação ao total de Met + Cys dos ingredientes principais, de acordo com o NRC (1994). ² Fornecido por kg de ração: folato, 145 mg; pantotenato, 5,930 mg; niacina, 12 g; Vit.A 5,000,000 IU; B12 6,500 mcg; B2 2,000 mg; B6 300 mg; D3 1,850,000 IU; Vit.E 4,500 IU; Vit.K 918 mg. Se (selenato) 500 mg; Fe 55g , I 1.550mg; Mn 70 g; Zn (min.) 50 g. ³ Fornecido por kg de premix: Manganês, 88 g; ferro, 55g; Zinco, 88g; iodo, 1.7g; Selênio, 3g. ⁴ (Mat natural) Analizado por Ajinomoto Biolatín Industry & Com. Ltda. ⁵ Analizado por CBO Brasil - 100% cobre quelatado: N, 3.07%; Ala, 0.06%; Arg, 0.04%; Ácido aspartico, 0.02%; Gli, 0.10%; Ile, 0.02%; Leu, 0.05%; Ácido glutâmico, 0.12%; Lys, 0.00; Cys, 0.03%; Met, 0.01%; Phe, 0.03%; Tyr, 0.09%; Thr, 0.06%; Pro, 0.44%; Val, 0.05%; His, 0.00%; Ser, 0.04%; soma aminoácidos, 1.17%.

5.3.3 Composição química do ovo

Para as determinações da composição química PB%, EE%, MM%, H₂O% e colesterol dos ovos, foram colhidos dois ovos por parcela. As gemas e albumens foram colocados, em recipientes distintos, duas a duas, congeladas a 40 graus negativos, liofilizadas e reduzidas a pó, para posterior análise.

5.3.4 Determinação do colesterol em gemas de ovos

Foi realizada através da técnica de Saponificação direta conforme metodologia descrita por Mazalli et al. (2003). Para tanto, foram pesados 0,25 g de amostra de gema em tubos de ensaio, com tampa rosqueável de 70 ml, devidamente identificado. Em seguida, foram acrescidos 10 ml de solução de hidróxido de potássio (KOH) a 2% em álcool etílico PA (álcool absoluto). Os tubos contendo as amostras e solução, foram colocados em banho-maria a 50°C, com agitação por 2 horas. Posteriormente, foram adicionados 5ml de água destilada deixando que os tubos resfriassem. Para cada tubo, foram acrescidos 10ml de Hexano, posteriormente, foram agitados em vortex (agitador de tubos) por 1 minuto, para extração da fase hexânica (matéria insaponificável), depois essa fase foi transferida para outros tubos de ensaio com tampas rosqueável. Esse processo de extração da fase hexânica foi repetido duas vezes para cada tubo. Para o método de determinação do colesterol por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência), adaptada à metodologia descrita por (MAZALLI et al, 2003).

Foi feita uma solução (fase móvel) com acetonitrila e isopropanol numa proporção de 85:15. Em frascos com tampa rosqueável de 1,5 ml (Vials, Agilent Technologies®) devidamente identificados, os quais foram adicionados 0,5 ml da fase hexânica e levados ao liofilizador para secagem por 20 minutos. Em seguida foram adicionados aos frascos 1 ml da fase móvel e agitados no vortex por 1 minuto. Todo o conteúdo de cada frasco foi transferido para seringas de 5 ml com filtro (membrana com poros), posteriormente transferidos para novos frascos e levados ao aparelho de cromatografia líquida (HPLC) para análise

5.3.5 Análise Estatística

Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado utilizando-se o procedimento SISVAR 5,6. Significância é declarada à $P < 0,05$. As variáveis foram submetidas à análise de regressão por polinômios ortogonais, conforme o modelo abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ij} = constante associada a todas as observações

μ = media geral da variável;

A_i = efeito do nível do aminoácido i , sendo $i = 1, 2 \dots 5$;

B_j = efeito da concentração do micromineral quelatado j , sendo $j = 1, 2 \dots 4$;

AB_{ij} = Efeito da interação do Aminoácido e micromineral quelatado;

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação na observação k

5.4 RESULTADOS

5.4.1 Ovo e as taxas diárias das deposições químicas

Os resultados que caracterizam os efeitos dos níveis dietéticos de met + cys e Cu no ovo e seus conteúdos e nas respectivas taxas diárias das deposições químicas, são apresentados na Tabela 4. Não foram observados efeitos de interação dos fatores estudados. Todavia, observou-se efeito principal de met+ cys para as variáveis peso de casca e gema ($P = 0,0614$ e $P = 0,0049$), respectivamente (Tabela 4). A variação no peso da casca e peso de gema, em função dos níveis dietéticos de met + cys, indicaram aumento linear ($P < 0,05$), conforme Tabela 6.

Na ausência de interação, foram identificados efeitos isolados ($P < 0,02$) de met + cys que ocorreram nas deposições de N, EE e Cinzas no Albúmen, EE na gema e N total (Tabela 4). Nessas variáveis, o aumento do nível de met + cys da dieta coincidiu com a resposta quadrática positiva ($P < 0,01$) estimando-se $0,769 \pm 0,002\%$ de aminoácidos totais ou $0,686 \pm 0,002\%$ digestível (Tabela 6). A maior deposição de EE na gema deu-se com o teor estimado de met + cys total $0,839\%$, correspondendo ao estimado digestível em $0,749\%$. E, quando considerado o N Total, a maior deposição ($P = 0,003$) se deu no teor estimado de $0,772\%$ de met + cys total, equivalente a $0,689\%$ digestível (Tabela 6).

Foram identificados efeitos da interação ($P < 0,001$) dos níveis de met + cys e Cu nas taxas diárias das deposições de cinzas e Cu na Gema, EE total e cinzas totais no ovo sem casca. Segundo a deposição de cinzas, o aumento dos níveis de met + cys total dentro da dieta com 99 mg/kg de Cu maximizou ($P < 0,001$) no nível $0,778\%$ ou o equivalente $0,694\%$ digestível. No sentido inverso, quando foi variada a concentração de Cu nas dietas com $0,613$, $0,631$ e $0,955\%$ de met + cys, foram estimados ($P < 0,001$) 47 , 63 e 65 mg/kg de Cu ou 29 , 45 e 47 mg/kg de quelato suplementar, respectivamente (Tabela 6).

Quanto a deposição total de EE, o aumento do nível de met + cys na dieta contendo 44 mg/kg de Cu estimou em ($P < 0,01$) $0,785\%$ de aminoácidos totais. Do outro lado, quando foi aumentada a concentração de Cu dentro da dieta $0,816$ de met + cys, a deposição do EE tendeu ($P = 0,042$) a redução até 82 mg/kg .

A deposição de Cu na gema aumentou até o estimado em 0,841% de met + cys total, quando foi elevado o nível dos aminoácidos na dieta contendo 18mg/kg de Cu. Quanto ao aumento das concentrações de Cu, dentro das dietas com 0,631 e 0,816% de met + cys, houve aumento linear ($P < 0,046$) na deposição do mineral na gema (Tabela 6).

Ao considerar todo o conteúdo interno do ovo, foi observado nas cinzas totais um aumento quadrático ($P < 0,01$), quando o nível de met + cys foi estimado em 0,774%, dentro da dieta com 99 mg/kg de Cu. Das variações dos níveis de Cu dentro das dietas 0,613, 0,631 e 0,955% de met + cys, estimaram-se 47, 57 e 63 mg/kg ou 29, 39 e 45 mg/kg de Cu quelatado, respectivamente, para a deposição de cinzas (Tabela 6).

Tabela 4 - Efeito dos níveis dietéticos Met +cys e cobre sobre o peso das frações do ovo e taxas diárias de deposição.

Variáveis	Metionina+ Cistina%					EPM	Cobre(ppm)				EPM	Valor de p			
	0,613	0,631	0,816	0,918	0,955		18	44	71	99		Média	Met+cys ¹	Cu ²	Met*Cu ³
Ovo e seus conteúdos (g)															
Ovo	64,23	67,45	66,65	67,08	66,58	0,631	66,38	66,74	65,66	66,80	0,564	66,40	0,152	0,469	0,221
Casca	6,13	6,38	6,33	6,40	6,40	0,077	6,34	6,38	6,22	6,36	0,069	6,33	0,061	0,303	0,747
Gema	15,45	16,20	16,40	16,18	16,58	0,223	16,04	15,86	15,90	16,34	0,199	16,10	0,005	0,285	0,339
Albúmen	43,38	44,53	44	44,50	43,50	0,534	44,04	44,28	43,48	44,12	0,478	43,98	0,083	0,546	0,347
Taxas diárias de deposição (g)															
Dep N/dia Alb	0,70	0,85	0,85	0,94	0,71	0,041	0,88	0,80	0,80	0,77	0,036	0,81	0,004	0,680	0,168
Dep EE/dia Alb	0,47	0,63	0,62	0,61	0,47	0,027	0,59	0,55	0,59	0,51	0,024	0,56	0,001	0,103	0,154
Dep cinzas Alb/dia	0,18	0,20	0,21	0,20	0,17	0,009	0,20	0,19	0,19	0,18	0,008	0,19	0,012	0,483	0,365
Dep H2O no Alb/dia	36,55	37,38	36,98	37,48	37,70	0,461	36,66	37,52	36,90	37,78	0,412	37,22	0,455	0,212	0,193
Dep N/dia Gema	0,37	0,40	0,40	0,41	0,41	0,007	0,43	0,38	0,37	0,40	0,006	0,40	0,091	0,865	0,621
Dep EE/dia Gema	4,80	5,08	5,28	5,18	5,23	0,078	5,22	5,10	4,96	5,16	0,069	5,11	0,001	0,110	0,144
Dep cinzas Gema/dia	0,37	0,40	0,29	0,34	0,43	0,013	0,38	0,31	0,38	0,39	0,012	0,36	0,001	0,001	0,001
Dep H2O na Gema/dia	7,50	7,88	7,88	7,83	8,09	0,111	7,92	7,81	7,71	7,90	0,099	7,83	0,010	0,394	0,223
Dep N Total/dia	1,07	1,25	1,25	1,29	1,19	0,040	1,37	1,17	1,19	1,10	0,036	1,21	0,003	0,636	0,124
Dep EE Total/dia	5,28	5,75	5,89	5,79	5,70	0,077	5,80	5,66	5,57	5,69	0,069	5,68	0,001	0,145	0,032
Dep H2O Total/dia	44,08	45,25	44,83	45,28	45,78	0,496	44,60	45,28	44,60	45,68	0,444	45,04	0,165	0,244	0,175
Dep.Total-Ovo	57,33	60,00	59,50	59,88	59,47	0,602	59,06	59,52	58,69	59,68	0,534	59,24	0,013	0,571	0,224
Dep Cu /Gema- mg	0,05	0,07	0,08	0,08	0,09	2,948	0,07	0,07	0,08	0,08	2,637	0,07	0,001	0,037	0,001
Dep cinzas Totais/d s/ casca	0,54	0,60	0,50	0,55	0,60	0,017	0,58	0,51	0,57	0,57	0,015	0,56	0,001	0,005	0,001

¹Met +cys (metionina + cistina), ²Cu (cobre), ³Met+ cys*Cu (Interação metionina+cistina e cobre).

Tabela 5 - Efeito dos níveis dietéticos metionina e cobre sobre a composição química do ovo, das frações em Matéria Natural, Matéria Seca e teor de colesterol dos ovos.

(continua)															
Variáveis	Metionina (%)					EPM	Cobre (mg/kg)				EPM	Valor de p			
	0,613	0,631	0,816	0,918	0,955		18	44	71	99		Média	Met ¹	Cu ²	Met*Cu ³
Composição química do ovo (%)															
EE ovo	9,10	9,48	9,78	9,55	9,48	0,104	9,70	9,38	9,40	9,42	0,093	9,48	0,001	0,055	0,039
Cinzas no ovo	0,93	0,98	0,83	0,90	0,99	0,026	0,96	0,84	0,95	0,95	0,023	0,93	0,001	0,001	0,001
H2OOvo	75,85	74,45	74,35	74,70	75,60	0,396	74,56	75,10	75,06	75,24	0,354	74,99	0,005	0,242	0,038
Composição química dos conteúdos do ovo (%) ⁴															
N Alb ⁷	2,03	2,28	2,23	2,23	1,88	0,082	2,18	2,14	2,14	2,14	0,073	2,14	0,009	0,480	0,128
EE Alb	1,11	1,42	1,41	1,37	1,07	0,058	1,35	1,25	1,35	1,16	0,051	1,27	0,001	0,031	0,070
Cinzas Alb	0,41	0,46	0,47	0,45	0,38	0,021	0,46	0,44	0,43	0,41	0,019	0,43	0,024	0,350	0,388
N Gema	2,88	2,83	2,88	2,83	2,80	0,016	2,82	2,86	2,86	2,82	0,015	2,84	0,195	0,047	0,051
EE Gema	31,15	31,43	32,33	32,00	31,33	0,169	31,80	31,84	31,28	31,66	0,151	31,65	0,001	0,064	0,001
Cinzas Gema	2,37	2,42	1,79	2,13	2,57	0,079	2,29	1,95	2,39	2,39	0,071	2,26	0,001	0,001	0,001
N Total	1,31	1,47	1,45	1,45	1,30	0,059	1,42	1,42	1,40	1,36	0,053	1,40	0,011	0,401	0,115

¹Met +cys (metionina + cistina), ²Cu (cobre), ³Met+ cys*Cu (Interação metionina+cistina e cobre).

(conclusão)															
Variáveis	Metionina (%)					EPM	Cobre (mg/kg)				EPM	Média	Valor de p		
	0,613	0,631	0,816	0,918	0,955		18	44	71	99			Met¹	Cu²	Met*Cu³
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁵															
Ovo rec (g) ⁶	58,08	60,88	60,30	60,68	60,23	0,602	59,86	60,32	59,48	60,46	0,538	60,03	0,014	0,545	0,216
Gema (g)	26,58	26,80	26,98	26,73	27,70	0,339	27,4	26,64	26,78	27,0	0,303	26,96	0,164	0,286	0,672
Albúmen (g)	73,40	73,20	73,03	73,25	72,28	0,339	72,60	73,36	73,20	72,96	0,303	73,03	0,164	0,286	0,671
MS Alb	14,28	16,00	15,95	15,73	13,35	0,575	15,54	15,18	15,22	14,30	0,514	15,06	0,001	0,394	0,133
N Alb ⁷	14,30	14,12	14,13	14,24	14,26	0,054	14,14	14,24	14,21	14,24	0,049	14,21	0,075	0,446	0,132
EE Alb	7,75	8,93	8,80	8,75	7,98	0,238	8,64	8,16	8,84	8,12	0,213	8,44	0,002	0,042	0,010
Cinzas Alb	2,85	2,83	2,93	2,88	2,85	0,079	2,96	2,84	2,80	2,86	0,071	2,87	0,948	0,510	0,986
MS Gema	51,35	51,53	51,85	51,40	51,50	0,224	51,64	51,54	51,34	51,58	0,200	51,53	0,644	0,966	0,334
N Gema	5,56	5,49	5,47	5,43	5,47	0,148	5,44	5,51	5,54	5,43	0,132	5,48	0,004	0,001	0,001
MS Gema	51,35	51,53	51,85	51,40	51,50	0,224	51,64	51,54	51,34	51,58	0,200	51,53	0,644	0,966	0,334
EE Gema	60,60	61,00	62,38	61,98	60,80	0,204	61,54	61,74	60,74	61,38	0,182	61,35	0,001	0,002	0,001
Cinzas Gema	4,63	4,68	3,48	4,10	4,95	0,148	4,42	3,80	4,62	4,62	0,296	4,37	0,001	0,001	0,001
Coolesterol Total (gema - mg)															
Coolesterol Total Gema	189,53	209,78	228,23	231,63	227,90	3,530	220,32	214,92	218,46	215,94	3,157	217,41	0,001	0,618	0,154
Concentração de Cobre															
Cu na Gema	6,50	7,93	9,95	9,53	10,98	0,348	8,50	8,42	9,16	9,82	0,312	8,98	0,001	0,007	0,003

¹Met +cys (metionina + cistina), ²Cu (cobre), ³Met+ cys*Cu (Interação metionina+cistina e cobre).

⁴ Composição Matéria Natural

⁵ Composição na Matéria Seca

⁶ Ovo reconstituído

⁷ Correção sugerida do N para PB, fator de correção: 5,74 conteúdo do ovo e 5,68 para ovo inteiro (MARIOTTI et al., 2008)

5.4.2 Composição química do ovo e seus conteúdos

Os efeitos dos níveis dietéticos Met + Cistina e cobre sobre a composição química do ovo, dos conteúdos em Matéria Natural, Matéria Seca e teor de colesterol dos ovos, são apresentados na (Tabela 4). Na porcentagem de proteína foi observado apenas o efeito principal de met + cys ($P = 0,0114$) e teor estimado 0,762 % total (Tabela 6). Entretanto, nas variáveis EE, Cinzas e H₂O foram observados efeitos de interação ($P < 0,04$), conforme apresentado na Tabela 4.

De modo geral, o aumento de met + cys, dentro das dietas com Cu indicaram $0,779 \pm 0,012$ % met + cys, total ou $0,695 \pm 0,011$ % digestível, nas porcentagens de EE, Cinzas e H₂O ($P = 0,046$) do ovo. Enquanto, o aumento de Cu nas dietas com níveis crescentes do aminoácido met + cys, indicaram $57,00 \pm 11,00$ mg/kg ou a $39,00 \pm 11,00$ mg/kg do quelato suplementar.

A composição química dos conteúdos do ovo, na Matéria Natural, também indicou efeitos principais da met + cys. ($P < 0,024$) nos percentuais de N, Cinzas e EE no Alb (Tabela 4). O aumento dos aminoácidos na dieta propiciou respostas quadráticas ($P < 0,010$) e a estimativa média de $0,767 \pm 0,004$ % de met + cys total (Tabela 6).

Na composição da gema, nas porcentagens de EE e Cinzas tiveram os efeitos da interação ($P < 0,05$) de met + cys e Cu conforme Tabela 6. Quando foi aumentado o nível de met + cys dentro da dieta de maior concentração de Cu, houve decréscimo linear ($P = 0,003$) da porcentagem de N da gema. Em situação inversa, o aumento de Cu dentro da dieta 0,816% de met + cys, estimou-se- 59 mg/kg de Cu ou 42 mg/kg de quelato suplementar. No teor de EE e cinzas foi observado que o aumento dos aminoácidos dentro das dietas com 18 e 99 mg/kg de Cu estimou $.0,774. \pm .0,015$ % para o máximo valor. No sentido inverso, a variação da concentração de Cu dentro das dietas com os níveis de met + cys. 0,613 a 0,955% estimou $.58,00 \pm .6,95$ mg/kg de Cu.

Na composição química, expressa na Matéria Seca, foram identificadas interações ($P < 0,01$) de met + cys e Cu nas porcentagens de EE no Alb e composição da gema apresentadas na Tabela 4. Os resultados gerais mostram que o aumento dos aminoácidos sulfurados, nas dietas com diferentes

concentrações de Cu, estimou $0,784 \pm 0,021\%$ de met + cys total. Por outro lado, a variação da concentração do mineral nas dietas de diferentes níveis dos aminoácidos met + cys estimou $56,00 \pm 12,00$ mg/kg de Cu (Tabela 6).

5.4.3 Colesterol total da gema e Concentração de Cu da gema

Na avaliação do teor de colesterol total na gema houve efeito da met + cys. ($P = 0,001$), conforme apresentado na Tabela 5, o aumento desse aminoácido coincidiu com o seu decréscimo linear ($P < 0,001$), de acordo com Tabela 6.

A concentração de Cu na Gema teve o efeito da interação met + cys e Cu ($P < 0,01$), como apresentado na Tabela 6. O aumento de met + cys dentro das dietas com 18, 44 e 71 mg/kg de Cu coincidiu com acréscimos lineares ($P < 0,01$) na concentração de Cu na gema. Quando os teores de Cu variaram dentro das dietas com 0,631 e 0,955% de met+ Cys, também foram observados aumentos lineares ($P < 0,011$) na concentração de cobre na gema, (Tabela 6).

Tabela 6 - Efeito dos teores de Metionina e concentrações de Cobre sobre a composição química dos ovos

(continua)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Met+cys (%) ¹	Met + cys digestível (%) ³	Est Cu (mg/kg) ²	Cu quelato ⁴
Ovo (g)							
Casca							
FV Met	Y= 5,912+ 0,000522X	48%	0,037	linear	-	-	-
Gema							
FV Met	Y= 14,579 + 0,002026X	49%	0,006	linear	-	-	-
Taxas diárias de deposição (g)							
Dep N/dia Alb							
FV Met	Y= -2,038+ 8,032X - 5,231X ²	54%	0,004	0,768	0,685	-	-
Dep EE Alb/dia							
FV Met	Y= - 2,477+ 8,136X - 5,266X ²	53%	0,001	0,772	0,689	-	-
Dep Cinzas no Alb/dia							
FV Met	Y=- 0,567470+ 2,038834X- 1,323332X ²	69%	0,003	0,768	0,685	-	-
Dep EE Gema/dia							
FV Met	Y= 0,575058+ 11,195631X-6,671170X ²	71%	0,054	0,839	0,749	-	-
Dep Cinzas na Gema/dia							
Met dentro de Cu 99	Y= 4,372612 -10,584044X+ 6,800725X ²	70%	0,001	0,778	0,694	-	-
Cu dentro de Met 0,613	Y= 0,459515-0,007184X+0,000076X ²	97%	0,001	-	-	47,00	29,00
Cu dentro de Met 0,631	Y=0,190737+0,008877X-0,000073X ²	64%	0,001	-	-	63,00	45,00
Cu dentro de Met 0,955	Y= 0,898365-0,019736X+0,000158X ²	99%	0,001	-	-	64,00	46,00
Dep N Total/dia							
FV Met	Y= -1,697323+ 8,302774X+ 5,380464X ²	53%	0,003	0,772	0,689	-	-

(continuação)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Met+cys (%) ¹	Met + cys digestível (%) ³	Est Cu (mg/kg) ²	Cu quelato ⁴
Taxas diárias de deposição (g)							
Dep EE Total/dia							
Met dentro de Cu 18	$Y = -11,811622 + 46,304326X - 29,455743X^2$	99%	0,001	0,786	0,701	-	-
Met dentro de Cu 44	$Y = -6,290892 + 31,466842X - 20,039179X^2$	66%	0,004	0,785	0,700	-	-
Cu dentro de Met 0,816	$Y = 6,923865 - 0,032527X - 0,000199X^2$	91%	0,065	-	-	82,00	64,00
Cu dentro de Met 0,955	$Y = 5,387888 + 0,005306X$	84%	0,042	-	-	linear	-
Dep Cu Gema/dia							
Met dentro de Cu 18	$Y = -461,706769 + 1313,523352X - 781,201317X^2$	89%	0,003	0,841	0,750	-	-
Met dentro de Cu 44	$Y = -3,624809 + 93,51893X$	84%	0,001	linear	-	-	-
Met dentro de Cu 71	$Y = -14,107599 + 114,651896X$	88%	0,001	linear	-	-	-
Cu dentro de Met 0,631	$Y = 35,325638 + 0,540291X$	82%	0,001	linear	-	-	-
Cu dentro de Met 0,816	$Y = 95,639492 + 0,199280X$	82%	0,046	linear	-	-	-
Dep Cinzas Totais/dia sem casca							
Met dentro de Cu 99	$Y = 4,116664 - 9,472273X + 6,118253X^2$	64%	0,001	0,774	0,691	-	-
Cu dentro de Met 0,613	$Y = 0,631041 - 0,007192X + 0,000077X^2$	97%	0,001	-	-	47,00	29,00
Cu dentro de Met 0,631	$Y = 0,351499 + 0,011805X - 0,000103X^2$	81%	0,001	-	-	57,00	39,00
Cu dentro de Met 0,955	$Y = 1,079388 - 0,020282X + 0,000162X^2$	99%	0,001	-	-	63,00	45,00
Composição química do ovo (%)							
PB ovo							
FV Met	$Y = -11,760019 + 71,529807X - 46,942594X^2$	68%	0,005	0,762	0,680	-	-
EE ovo							
Met dentro de Cu 18	$Y = -5,169215 + 39,356683X - 25,206920X^2$	85%	0,007	0,781	0,697	-	-
Met dentro de Cu 44	$Y = -9,573029 + 49,701444X - 31,529980X^2$	79%	0,001	0,788	0,703	-	-
Cu dentro de Met 0,816	$Y = 10,475818 - 0,012460X$	88%	0,001	-	-	linear	-

(continuação)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Met+cys (%) ¹	Met + cys digestível (%) ³	Est Cu (mg/kg) ²	Cu quelato ⁴
Composição química do ovo (%)							
Cinzas no ovo sem casca							
Met dentro de Cu 99	$Y = 6,836171 - 15,537952X + 9,919471X^2$	60%	0,001	0,783	0,699	-	-
Cu dentro de Met 0,613	$Y = 1,119404 - 0,013615X + 0,000141X^2$	99%	0,001	-	-	68,00	50,00
Cu dentro de Met 0,631	$Y = 0,609631 + 0,017455X - 0,000150X^2$	78%	0,001	-	-	48,00	30,00
Cu dentro de Met 0,955	$Y = 1,825164 - 0,033637X + 0,000261X^2$	98%	0,001	-	-	64,00	46,00
H2O ovo							
Met dentro de Cu 18	$Y = 117,702153 - 113,727737X + 72,513451X^2$	94%	0,039	0,784	0,700	-	-
Met dentro de Cu 44	$Y = 135,718691 - 166,045826X + 109,642680X^2$	52%	0,002	0,757	0,675	-	-
Cu dentro de Met 0,631	$Y = 75,843690 - 0,105643X + 0,001109X^2$	86%	0,046	-	-	48,00	30,00
Cu dentro de Met 0,816	$Y = 72,087774 + 0,039090X$	92%	0,004	-	-	linear	-
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁵							
N Albumen⁵							
Fv Met	$Y = -3,769002 + 16,053507X - 10,526220X^2$	66%	0,004	0,763	0,681	-	-
EE Alb							
FV Met	$Y = -5,132509 + 17,209827X - 11,165331X^2$	59%	0,001	0,771	0,688	-	-
Cinzas no Alb							
FV Met	$Y = 1,105881 + 4,159891X - 2,711666X^2$	77%	0,004	0,767	0,684	-	-
N Gema							
Met dentro de Cu 99	$Y = 3,053719 - 0,317506X$	98%	0,003	-	-	linear	-
Cu dentro de Met 0,816	$Y = 2,677850 + 0,007115X - 0,000060X^2$	96%	0,009	-	-	59,00	41,00
Cu dentro de Met 0,955	$Y = 2,747214 + 0,005269X - 0,000054X^2$	95%	0,017	-	-	47,00	30,00

(continuação)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Met+cys (%) ¹	Met + cys digestível (%) ³	Est Cu (mg/kg) ²	Cu quelato ⁴
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁵							
EE Gema							
Met dentro de Cu 18	Y= - 5,325673+98,688396X- 63,433556X ²	73%	0,001	0,778	0,694	-	-
Cu dentro de Met 0,613	Y= 32,585720 - 0,024467X	78%	0,046	-	-	linear	-
Cu dentro de Met 0,918	Y= 34,174084-0,103255X+0,000896X ²	88%	0,001	-	-	58,00	-
Cinzas na Gema							
Met dentro de Cu 18	Y= 29,272804- 73,771049X+48,627208X ²	64%	0,001	0,758	0,676	-	-
Met dentro de Cu 99	Y= 25,220354- 59,946409X+38,091151X ²	64%	0,001	0,787	0,702	-	-
Cu dentro de Met 0,613	Y= 3,000968-0,046772X+ 0,000488X ²	94%	0,001	-	-	48,00	30,00
Cu dentro de Met 0,631	Y= 1,112897+ 0,056739X- 0,000464X ²	64%	0,001	-	-	61,00	43,00
Cu dentro de Met 0,955	Y= 5,300711- 0,111400X+ 0,000872X ²	98%	0,001	-	-	64,00	46,00
N total⁸							
FV Met	Y= - 1,690958+ 0,011506X 0,000008X ²	66%	0,005	0,719	0,642	-	-
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁶							
Ovo reconstituído⁷							
FV Met	Y= 57,414089 + 3,325104X	22%	0,087	linear	-	-	-
MS albúmen							
FV Met	Y= -29,7945+121,6962X-79,6563X ²	66%	0,002	0,764	0,682	-	-
EE albúmen							
Met dentro de Cu 44	Y= - 39,455938+ 124,810761X- 79,199093X ²	90%	0,001	0,788	0,703	-	-
Cu dentro de Met 0,613	Y= 10,780882-0,101130X+ 0,000664X ²	76%	0,047	-	-	76,00	58,00
Cu dentro de Met 0,631	Y= 8,005310+ 0,015760X	62%	0,050	-	-	linear	-
Cu dentro de Met 0,816	Y= 9,570471- 0,013866X	66%	0,084	-	-	linear	-

(continuação)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Met+cys (%) ¹	Met + cys digestível (%) ³	Est Cu (mg/kg) ²	Cu quelato ⁴
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁶							
N Gema⁸							
Met dentro de Cu 99	Y= 5,980792-0,695559X	83%	0,001	linear	-	-	-
Cu dentro de Met 0,613	Y=5,410733+ 0,002584X	63%	0,002	linear	-	-	-
Cu dentro de Met 0,816	Y= 5,169901+ 0,012188X - 0,000096X ²	99%	0,004	-	-	61,00	43,00
Cu dentro de Met 0,918	Y= 5,262059+ 0,009512X- 0,000091X ²	97%	0,007	-	-	52,26	34,00
Cu dentro de Met 0,955	Y= 5,248224+ 0,0112905X - 0,000122X ²	93%	0,001	-	-	53,00	35,00
EE Gema							
Met dentro de Cu 18	Y= - 3,588679+174,970238X-113,531792X ²	67%	0,001	0,771	0,688	-	-
Met dentro de Cu 99	Y=11,539764+126,255732X-77,443708X ²	62%	0,001	0,815	0,727	-	-
Cu dentro de Met 0,613	Y= 61,053895+ 0,042967X - 0,000684X ²	83%	0,017	-	-	31,00	13,00
Cu dentro de Met 0,816	Y=64,207304 - 0,071603X + 0,000542X ²	99%	0,056	-	-	66,00	48,00
Cu dentro de Met 0,955	Y= 57,033208 + 0,131721X - 0,000902X ²	100%	0,002	-	-	73,00	55,00
Cinzas na Gema							
Met dentro de Cu 18	Y=56,682921-142,687150X+93,963228X ²	64%	0,001	0,759	0,677	-	-
Met dentro de Cu 99	Y=49,885321-118,734471X+75,403491X ²	62%	0,001	0,787	0,702	-	-
Cu dentro de Met 0,613	Y=5,847602-0,092838X+0,000973X ²	95%	0,001	-	-	48,00	30,00
Cu dentro de Met 0,631	Y=2,168121+0,110985X-0,000915X ²	64%	0,001	-	-	61,00	43,00
Cu dentro de Met 0,955	Y=10,173084-0,212874X+0,001672X ²	99%	0,001	-	-	64,00	46,00

(conclusão)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Met+cys (%) ¹	Met + cys digestível (%) ³	Est Cu (mg/kg) ²	Cu quelato ⁴
Colesterol Total gema - mg							
Colesterol Total Gema							
FV Met	Y= 139,124- 99,695X	78%	0,001	linear	-	-	-
Concentração de Cobre							
Concentração de Cobre							
Met dentro de Cu 18	Y=0,047+10,760X	74%	0,001	linear	-	linear	-
Met dentro de Cu 44	Y=0,091+10,598X	88%	0,001	linear	-	linear	-
Met dentro de Cu 71	Y=-1,123+13,344X	89%	0,001	linear	-	linear	-
Cu dentro de Met 0,631	Y=4,201+ 0,064X	82%	0,001	-	-	linear	-
Cu dentro de Met 0,955	Y= 9,268+ 0,030X	76%	0,011	-	-	linear	-

¹ Estimado met + cys² Estimado cobre³ Correção para Met digestível (0,8923)⁴ Correção para Cu quelato (estimado Cu - 18)⁵ Composição Matéria Natural⁶ Composição na Matéria Seca⁷ Ovo reconstituído⁸ Correção sugerida do N para PB, fator de correção: 5,74 conteúdo do ovo e 5,68 para ovo inteiro (MARIOTTI et al., 2008)

5.5 DISCUSSÃO

A DL-metionina é, usualmente, considerada o primeiro aminoácido limitante para aves. Quando há suplementação desse aminoácido na dieta das aves, o aproveitamento da proteína, do nitrogênio e o equilíbrio dos aminoácidos são melhorados. O teor ou nível ou porcentagem de metionina em dietas de poedeiras está relacionado ao aumento do peso dos ovos (BUNCHASAK; SILAPASORN, 2005; BRUMANO, 2009; GAMBARO, 2014).

Segundo Leeson e Summers (2005), o colesterol dos ovos pode reduzir através de mudanças na formulação da dieta, destaca que em níveis crescentes o cobre adicionado à dieta pode reduzir o teor de colesterol.

5.5.1 Ovo e as taxas diárias das deposições químicas

Os conteúdos do ovo não apresentaram diferenças estatísticas, em resposta ao aumento dos níveis de Met + Cys e Cu. No entanto, o peso do ovo aumentou em 4,44% (64,23 - 67,08 g), quando os níveis de Met + Cys variaram de 0,613 a 0,918%. Efeitos semelhantes ocorreram nos pesos de casca e gema, quando os níveis de met+cys variaram entre 0,631 e 0,816%.

Sobre a qualidade de casca, para Miranda (2013), a qualidade da casca não sofreu alterações pela ausência da suplementação de minerais como o Cu em dietas de poedeiras comerciais de 40 a 60 semanas de idade.

A resposta observada no peso de ovo deste estudo concorda com as observações de Barbosa et al. (1999), quando avaliaram níveis de met + cys entre 0,434 e 0,734%, em galinhas poedeiras. Esses autores observaram que o aumento dos níveis de met + cys coincidiu com o acréscimo no peso de ovos em poedeiras semipesadas (67,08 g) e poedeiras leves (66,10 g). Porém, discorda de Bendezu et al. (2015), que observaram redução no peso de ovos, quando elevaram os níveis dietéticos de met + cys, para poedeiras no primeiro ciclo de produção.

Nas taxas de deposições químicas, o efeito do aumento de Met + Cys foi observado até o nível total de 0,816 %, elevando-se o EE e as cinzas no Albúmen. O

mesmo efeito foi identificado, quando os aminoácidos foram aumentados até o nível 0,918%, quando as deposições do EE na gema aumentou em 10,00 %, do N Alb em 25,53% e do N total em 20,56%. Todavia, tais resultados diferem das observações de Kakhki et al.(2016), que não constatarem diferenças na casca, gema e albúmen, quando as poedeiras aumentaram a ingestão de met + cys até 44 semanas de idade. Segundo os autores a dieta formulada com baixa proteína (140 g/kg de proteína) fornecida às poedeiras contribuíram para os resultados.

O aumento da concentração de Cu dentro das dietas de met + cys, em seus respectivos níveis, culminou com o acréscimo nas deposições químicas do EE total, Cu na gema e cinzas totais. O aumento em EE discorda das observações de Carvalho (2016), onde a porcentagem de EE diminuiu, com o uso de minerais orgânicos em dietas de galinhas poedeiras. Quanto ao aumento das cinzas no Alb, houve concordância com observação de Carvalho (2016) onde os níveis crescentes de minerais orgânicos resultaram no aumento das cinzas no albúmen.

5.5.2 Composição química do ovo e seus conteúdos

Referente à porcentagem de PB no ovo, o efeito de met+ Cys, resultou no acréscimo da composição, quando os níveis do aminoácido aumentaram até 0,816%. Os resultados obtidos nesta pesquisa estão de acordo ao reportado por Brumano et al. (2010) que observaram aumento das frações químicas dos ovos, quando elevaram os teores de met + cys nas dietas de poedeiras.

A interação observada na variável EE do ovo sugere que o aumento das concentrações de Cu dentro das dietas de met+ cys, reduziu o percentual de EE. No teor de cinzas, o aumento das dietas de met+ cys dentro da concentração 99 de Cu, houve decréscimo para a porcentagem de cinzas. O aumento nas concentrações de Cu dentro dos níveis 0,631 e 0,816% de met + cys, resultou em aumento na porcentagem de água no ovo. Quanto ao aumento de cinzas discorda das observações de Carvalho (2012), onde o percentual de cinzas foi maior em aves cujas dietas foram suplementadas com minerais orgânicos, quando comparado as porcentagens de cinzas provenientes das aves que não receberam esta dieta.

Na ausência de interação na composição química dos conteúdos do ovo, na Matéria Natural, sugere-se que o acréscimo dietético da met + cys acima de 0,816%, resultaria em decréscimo das porcentagens de EE no Alb e Cinzas no Alb.

A interação observada na N da gema demonstrou que as necessidades de Cu reduziram, quando as concentrações do mineral aumentaram nos níveis 0,816 e 0,955 % de met + cys, retratando um possível efeito antagônico. O efeito quadrático do Cu na PB na gema concorda com observações de Carvalho et al. (2016) quando constatou que a proteína na gema reduziu, nos ovos produzidos por aves que receberam dietas contendo diferentes níveis dos minerais orgânicos (Cu, Zn, Fe e Mn).

O aumento do teor de cinzas na gema ocorrido, na medida em que aumentaram os níveis de met + cys nas dietas com 18 e 99 mg/kg de Cu sugere que o aumento na concentração de cobre limitaria o aproveitamento dos aminoácidos sulfurados.

Na composição dos conteúdos do ovo expressos na Matéria Seca, a resposta isolada de met +Cys na reconstituição do ovo e MS do albúmen sugere efeito benéfico do acréscimo dos aminoácidos no aumento da massa do ovo. Para Summers et al. (1990) a inclusão de metionina, juntamente com proteína bruta, na dieta de poedeiras resultou no aumento da massa do ovo. Segundo Solarte et al. (2005), os crescentes níveis de met + cys totais, adicionados à dieta de poedeiras, resultou no aumento da massa de ovos. Os resultados sobre MS do Alb e reconstituição do ovo, discordam ao reportado por Polese (2011), onde os níveis crescentes de met+ cys não afetaram a massa dos ovos. Todavia o autor enfatiza que a deficiência ou excesso de met +cys afetou negativamente o peso dos ovos, demonstrando que os aminoácidos sulfurados estão relacionados aos efeitos sobre o peso do ovo.

Na interação, o aumento da concentração de Cu dentro de cada nível dietético de Met + cys mostrou estimativas variadas, de acordo com a característica da variável. As necessidades de mineral e aminoácido foram aumentadas, mostrando uma relação de dependência na composição química do ovo. De acordo com Wang et al. (1987), a demanda de Cu foi elevada nas dietas das aves, por influência do aumento das exigências de metionina, e concluíram que esse aumento foi benéfico para a ave.

5.5.3 Colesterol total da gema e Concentração de Cu da gema

Em relação ao teor de colesterol contido na gema, o efeito principal da met + cys resultou no acréscimo de 18,17 % do seu teor, sugerindo-se que aminoácidos sulfurados seriam favoráveis a síntese lipídica.

O aumento dos níveis de met + cys digestível resultam em maior porcentagem de gema pelo fato de estar relacionada à síntese de colina a partir de Met, que por sua vez compõem as lipoproteínas da gema juntamente com os fosfolípidos. O metabolismo lipídico no fígado da ave é responsável pelo carregamento dos lipídios até as células, para realizar a síntese de gorduras, enviando os ácidos graxos para posterior síntese da reserva lipídica, como ocorre na gema. (BERTECHINI et al, 2004; POLESE, 2011). Os resultados encontrados no presente estudo são contrários ao reportado por Kakhki et al. (2016), que não identificaram efeitos de met + cys na gema.

A ausência de efeitos do Cu sobre o colesterol da gema no presente estudo difere dos dados encontrados na literatura, provavelmente, devido a maior concentração utilizada 99 mg/kg. Resultados de Idowu et al. (2005) e Lien et al. (2004), indicando efeito do Cu na redução do colesterol da gema se deram quando a concentração do mineral foi elevada até 250 mg/kg. Balevi et al. (2004), ao analisarem o efeito do cobre sobre a produção e colesterol incluindo 150 mg/kg de Cu, observaram redução do colesterol da gema sem afetar o desempenho das aves. O mesmo efeito não foi observado por Lim e Paik (2006), quando concluíram que o Cu não exerceu efeito sobre o colesterol da gema dos ovos.

A interação mostrou que houve aumento na concentração de Cu na gema, com o aumento dos níveis de met + cys nas dietas em cada concentração de Cu. Quando os crescentes níveis de Cu variaram nas dietas com 0,631 e 0,955% de met+cys, também foi observado efeito similar. Estes resultados foram semelhantes aos reportados por Pesti e Bakalli (1998), ao observarem que o aumento do Cu na dieta elevou sua concentração na gema.

A importância do cobre na alimentação humana está relacionada aos efeitos deste mineral sobre o sistema imune, ação antioxidante e prevenção de doenças degenerativas. Entretanto, para Lien et al. (2004), os altos níveis de cobre fornecido via dieta as poedeiras aumentou a retenção de Cu no ovo, esses autores afirmam

que o consumo desse tipo de ovo com altas concentrações de Cu seria pouco saudável. Segundo Sahoo et al. (2016), em revisão sobre o assunto, a ingestão máxima diária desse Cu é de 10mg/dia para humanos. Esse mineral pode auxiliar na redução do LDL e da oxidação celular, acima dessa dosagem a captação de Zn pelo organismo seria prejudicada. No presente estudo a média de Cu na gema foi de 8,98 mg/kg, próximo ao reportado por (SAHOO et al., 2016).

5.6 CONCLUSÃO

A associação de metionina + cistina e cobre quelatado, alterou a composição química do ovo para algumas das variáveis estudadas, a resposta para teor de colesterol foi contrário ao esperado, pois os níveis crescentes de met+cys aumentaram o teor de colesterol contido na gema.

5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALEVI, T.; COSKUN, B. Effects of dietary copper on production and egg cholesterol content in laying hens. **British Poultry Science**, v5, p.530–4. 2004.

BARBOSA, B. A. C.; SOARES, P. R.; ROSTAGNO, H. S.; SILVA, M. A.; ALBINO, L. F. T.; GRAÇAS, A. S. Exigência nutricional de metionina+cistina para galinhas poedeiras de ovos brancos e marrons, no segundo ciclo de produção. 1. características produtivas. **Revista Brasileira de zootecnia**, v.28, n.3, p.526-533, 1999.

BENDEZU, H. C. P. et al. Response of laying hens to methionine + cystine intake by dilution technique. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 1, p. 15-21, 2015.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogátricos**. UFLA/FAEPE, 2004. p 450.

BRUMANO, G. Níveis de lisina e de metionina + cistina e proteína bruta para melhor qualidade de ovo e de carcaça de aves e de suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 3, p. 898 – 917, 2009.

BRUMANO, G. et al. Níveis de metionina + cistina digestível para poedeiras leves no período de 42 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 1984-1992, 2010.

BUNCHASAK, C.; SILAPASORN, T. Effects of Adding Methionine in Low-Protein Diet on Production Performance, Reproductive Organs and Chemical Liver Composition of Laying Hens under Tropical Conditions. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.5, p.301-308, 2005.

CARVALHO, L. C. C. **Desempenho produtivo e qualidade de ovos de galinhas poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com minerais orgânicos**. 2012. 70 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Medicina Veterinária, Uberlândia, 2012.

CARVALHO, L.S.S.; VILELA, D.R.; FAGUNDES, N.S.; SOUZA, Y.L.S.; FERNANDES, E.A. Egg quality and productive performance of laying hens in second cycle of posture fed with aminoacid chelated trace minerals. **Ciência animal brasileira**, Goiânia, v.17, n.4, p. 491-500, 2016.

DALIBARD, P.; HESS, V.; LE TUTOUR, L.; PEISKER, M.; PERIS, S.; PEROJO, A.G.; REDSHAW, M. **Amino acids in animal nutrition**. Fefana, 2014. p 51.

GAMBARO, D. V. **Nutrição proteica de poedeiras comerciais**. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2014

IDOWU, O.M.O.; KUYE, O.A.; OLADELE-OJO, V.O.; ERUVBETINE, D. The effects of dietary intake and dietary concentration of organic and inorganic copper supplements on egg and plasma cholesterol levels. **XI th European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products Doorwerth**, The Netherlands, 23-26 May 2005.

KAKHKI, R.A. M.; GOLIAN, A.; ZARGHI, H. Effect of digestible methionine + cystine concentration on performance, egg quality and blood metabolites in laying hens. **British Poultry Science**, v. 57, n. 3, p. 403-14, Jun 2016.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial Poultry Nutrition**. 3. Ed. Guelph, Ontario: University Books, 2005. p 394.

LIEN, T. F. et al. Effects of supplemental copper and chromium on the serum and egg traits of laying hens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 4, p. 535-9, 2004.

LIM, H. S.; PAIK, I. K. Effects of Dietary Supplementation of Copper Chelates in the Form of Methionine, Chitosan and Yeast in Laying Hens. **Asian-Australasia Journal of Animal Science**, v. 19, n. 8, p.1174 – 1178, 2006.

MABE, I.; RAPP, C.; BAIN, M. M.; NYS, Y. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v. 82, p. 1903–1913, 2003.

MACIEL, M. P.; SARAIVA, E. P.; AGUIAR, E. F.; ASSUNÇÃO, P.; RIBEIRO, P.; PASSOS, D. P.; SILVA, J. B. Effect of using organic microminerals on performance and external quality of eggs of commercial laying hens at the end of laying. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.39, n.2, p.344-348, 2010.

MARIOTTI, F.; TOME, D.; MIRAND, P. P. Converting nitrogen into protein--beyond 6.25 and Jones' factors. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 177-84, Feb 2008.

MAZALLI, M. R.; SALDANHA, T. BRAGAGNOLO, N. - Determinação de colesterol em ovos: comparação entre um método enzimático e um método por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.1, p.49 - 54, 2003.

MIRANDA, C. C. **Efeito de níveis e de fontes de microminerais na dieta de poedeiras comerciais de 40 a 60 semanas de idade**. 2013. 92f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Zootecnia, Botucatu, 2013.

PAVAN, A.C.; MÓRI, C.; GARCIA, E.A.; SCHERER, M.R.; PIZZOLANTE, C.C. Níveis de proteína bruta e de aminoácidos sulfurados totais sobre o desempenho, a qualidade dos ovos e a excreção de nitrogênio de poedeiras de ovos marrons. **Revista Brasileira de Zootecnia**., v.34, n.2, p.568-574, 2005.

PESTI, G. M.; BAKALLI, R. I. Studies on the Effect of Feeding Cupric Sulfate Pentahydrate to Laying Hens on Egg Cholesterol Content. **Poultry Science**, v.77, p.1540–1545, 1998.

PINHEIRO, S. G. **Suplementação de aminoácidos industriais nas rações de galinhas poedeiras**. 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Zootecnia, Areia-PB, 2012

POLESE, C. **Níveis nutricionais de metionina+cistina digestível para poedeiras semipesadas**, 2011. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Nutrição e Produção Animal, Marechal Cândido Rondon, 2011.

RICHARDS, J. D.; ZHAO, J.; HARRELL, R.J.; ATWELL, C. A.; DIBNER, J. J. Trace Mineral Nutrition in Poultry and Swine. **Asian-Australasia Journal of Animal Science**, v. 23, n. 11, p. 1527 – 1534, 2010.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**; composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV. Departamento de Zootecnia, 186p., 2005.

SAHOO, S.C.; KATARIA, R.; MEHTA, S.K. Copper and it complexes: A pharmaceutical perspective. In GRUYTER, W. **Chemical Drug desing** CPI books GmbH, Leck, 2016. p 215 – 236.

SOLARTE, W. N.; ROSTAGNO, H. S.; SOARES, P. R. ; SILVA, M. A.; VELASQUEZ, L. F. U. Nutritional Requirements in Methionine + Cystine for White-Egg Laying Hens During the First Cycle of Production. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.12, p.965-968, 2005.

SUMMERS, J.D.; ATKINSON, J.L.; SPRATT, D. Supplementation of a low protein diet in an attempt to optimize egg mass output. **Canadian Journal Animal Science**., v.71, p.211-220. 1990.

WANG, J.S.; ROGERS SR, PESTI GM. Influence of choline and sulfate on copper and toxicity and substitution of and antagonism between methionine and copper supplements to chick diets. **Poultry Science**., v. 66, n. 9, p. 500-7, 1987.

6 CAPÍTULO II - Níveis dietéticos de treonina e zinco quelatado sobre a composição química dos ovos e o teor de colesterol da gema

6.1 INTRODUÇÃO

Inúmeras pesquisas tem sido realizadas para modificar a composição química dos ovos, no que se refere a peso, qualidade de casca e colesterol da gema, através do uso de aminoácidos e ou minerais adicionados na formulação da dietas fornecidas as poedeiras (TRINDADE NETO et al.,2011; LIMA, 2012; FAVERO, 2013; PASTORE et al., 2016)

A treonina (Thr), além de participar em importantes processos metabólicos, a exemplo da síntese proteica, é encontrada em mucinas intestinais, favorecendo a proteção do epitélio, participa na formação de colágeno e pele. (PASTORE et al., 2016).

A inclusão de Thr à dieta de poedeiras pode influenciar, no peso dos ovos (LIMA, 2012), na deposição nos conteúdos do ovo (REZENDE, 2016), proteger o intestino contra ação de toxinas, uma vez que o muco que envolve o intestino é rico em treonina (ROCHA, 2010; FRUCHI et al., 2011; e está envolvida na produção de anticorpos em monogástricos (WANG et al., 2006; PASTORE et al., 2016).

O uso de Zn quelatado na formulação de dietas fornecidas às poedeiras influencia a deposição de Zn no ovo (FAVERO, 2013), formação e qualidade da casca (MABE et al., 2003; TRINDADE NETO et al.,2011; SCOTTÁ et al., 2014;), peso dos ovos (STANLEY et al., 2012).

Nos estudos citados anteriormente foi evidenciado a influência da adição de Treonina e do Zn na forma orgânica nas dietas de poedeiras. Todavia, estudos os quais o enfoque seria a associação de ambos são escassos. Dessa forma, a presente pesquisa foi desenvolvida com o intuito de avaliar o efeito da associação de níveis crescentes do Zn quelatado com a Thr sobre a composição dos ovos.

6.2 OBJETIVO

Avaliar a interação entre os níveis dietéticos de treonina e zinco quelatado sobre a composição química dos ovos e o teor de colesterol da gema.

6.3 MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação ocorreu ao termino do estudo de desempenho (20 – 48 semanas de idade), seguindo as orientações da Comissão de Ética. Desta forma, os procedimentos analíticos foram realizados nos Laboratórios de Bromatologia e Nutrição de Monogástricos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, SP

6.3.1 Animais

Foram utilizados em cada ensaio 320 poedeiras comerciais, distribuídas sob o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos, distribuídos aleatoriamente em quatro repetições, foram organizados em arranjo fatorial 5 x 4: sendo o primeiro fator teor de aminoácido e o segundo nível do mineral quelatado, constituindo 20 tratamentos, com quatro repetições e quatro aves por unidade experimental.

As aves, distribuídas em gaiolas, construídas em arame galvanizado, medindo 0,25 x 0,40 x 0,40 m, dispostas em linha, providas de comedouro de chapa galvanizada e bebedouros tipo “nipple”. Alimento e água foram fornecidos à vontade. O programa de iluminação artificial foi mantido constante durante os períodos de avaliação, de modo a assegurar 17 horas de luz a cada 24 horas.

6.3.2 Dietas

As dietas fornecidas são apresentadas nas Tabela 7. Para as análises estatísticas foram adotados os valores analisados de Treonina (0,614, 0,698, 0,875, 1,006, 1,055) e zinco (31 ,73, 104 e 121 mg/kg). Foram utilizadas dietas à base de milho e farelo de soja, formulada para atender as recomendações mínimas propostas por Rostagno et al. (2005), excetuando-se a Treonina.

6.3.3 Composição química do ovo

Para as determinações da composição química PB%, EE%, MM%, H₂O% e colesterol dos ovos, foram colhidos dois ovos por parcela. As gemas e albumens foram colocados, em recipientes distintos, duas a duas, congeladas a 40 graus negativos, liofilizadas e reduzidas a pó, para posterior análise.

Tabela 7 - Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais

Ingredientes	Treonina Total - % ³				
	0,614	0,698	0,875	1,006	1,055
	Treonina Digestível - % ¹				
	0,522	0,593	0,744	0,855	0,897
Milho em grão	64,435	64,282	64,506	64,732	64,956
Farelo de soja	21,949	21,954	21,615	21,276	20,936
Óleo de soja	1,151	1,158	1,096	1,034	0,972
L-Lisina HCl	0,210	0,210	0,220	0,231	0,242
DL – Metionina	0,358	0,358	0,362	0,365	0,368
L- Treonina	0	0,134	0,292	0,450	0,608
L- Triptofano	0,006	0,011	0,013	0,014	0,016
Sal	0,219	0,219	0,219	0,219	0,219
Calcáreo	9,179	9,179	9,179	9,178	9,178
Fosfato dicálcico	1,908	1,909	1,912	1,915	1,919
Cloreto de colina	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
Bicarbonato de sódio	0,281	0,281	0,281	0,281	0,281
Caolin ou Carboquelato de Cu -16% ⁵	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075
Premix Vit ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix Min ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100,00	100,00	100,000	100,000	100,000
Valores analisados - % ³					
Matéria seca	89,27	89,56	89,73	89,12	89,69
Proteína bruta	15,06	14,86	15,03	15,08	14,91
Metionina ³	0,568	0,506	0,515	0,526	0,514
Cistina	0,264	0,251	0,276	0,277	0,253
Met + Cys	0,833	0,757	0,791	0,803	0,797
Lisina	0,917	0,828	0,901	0,915	0,889
Treonina	0,614	0,698	0,875	1,006	1,055
Arginina	0,877	0,799	0,864	0,892	0,882
Isoleucina	0,627	0,571	0,626	0,584	0,592
Leucina	1,457	1,342	1,410	1,402	1,407
Valina	0,687	0,653	0,717	0,707	0,690
Alanina	0,883	0,783	0,812	0,801	0,819
Histidina	0,392	0,338	0,372	0,369	0,376
Fenilalanina	0,807	0,757	0,809	0,801	0,812
Ácido aspartico	1,447	1,354	1,425	1,437	1,383
Ácido glutâmico	2,756	2,613	2,743	2,680	2,707
Glicina	0,595	0,582	0,539	0,557	0,568
Serina	0,746	0,714	0,746	0,721	0,737
Tirosina	0,627	0,566	0,576	0,568	0,577
Valores calculados - % ⁴					
Energia Metabolizável - kcal/kg	2792	2795	2800	2800	2800
Cálcio	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Fósforo disponível	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
Sódio	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Cloro	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Ácido Linoléico	2,06	2,04	2,04	1,99	1,94
Triptofano Digestível	0,116	0,138	0,161	0,184	0,230
Met + Cys Digestível	0,500	0,650	0,800	0,950	1,100
Lisina Digestível	0,850	0,850	0,850	0,850	0,850
Treonina Digestível	0,550	0,650	0,800	0,950	1,100

¹ Estimado com base na análise laboratorial e na proporção média ponderada de 85,00% de digestibilidade, utilizado em relação ao total de Treonina dos ingredientes principais, de acordo com o NRC (1994). ² Fornecido por kg de ração. : Ácido fólico (mín.) 145,0 mg; ácido pantotênico (mín.) 5.930,0 mg; colina (mín.) 120,0 g; niacina (mín.) 12,0 g; selênio (mín.) 500,0 mg; Vit. A (mín.) 5.000.000,0 UI; Vit. B12 (mín.) 6.500,0 mcg; Vit. B2 (mín.) 2.000,0 mg; Vit. B6 (mín.) 250,0 mg; Vit. D3 (mín.) 1.850.000,0 UI; Vit. E (mín.) 4.500,0 UI; Vit. K3 (mín.) 918,0 mg. ³ Fornecido por kg de premix: Manganês, 88 g; ; ferro, 55g; Cobre, 40g; iodo, 1,7g; Selenio,3g. ⁴Analisado por Ajinomoto Biolatina Industry & Com. Ltda. .

6.3.4 Determinação do colesterol em gemas de ovos

Foi realizada através da técnica de Saponificação direta conforme metodologia descrita por Mazalli et al. (2003). Para tanto, foram pesados 0,25 g de amostra de gema em tubos de ensaio, com tampa rosqueável de 70 ml, devidamente identificado. Em seguida, foram acrescidos 10 ml de solução de hidróxido de potássio (KOH) a 2% em álcool etílico PA (álcool absoluto). Os tubos contendo as amostras e solução, foram colocados em banho maria a 50°C, com agitação por 2 horas. Posteriormente, foram adicionados 5ml de água destilada deixando que os tubos resfriassem. Para cada tubo, foram acrescidos 10ml de Hexano, posteriormente, foram agitados em vortex (agitador de tubos) por 1 minuto, para extração da fase hexânica (matéria insaponificável), depois foi transferida para outros tubos de ensaio com tampas rosqueável. Este processo de extração da fase hexânica foi repetido duas vezes para cada tubo.

Para o método de determinação do colesterol por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência), adaptada à metodologia descrita por (MAZALLI et al, 2003). Foi feita uma solução (fase móvel) com acetonitrila e isopropanol numa proporção de 85:15. Em frascos com tampa rosqueável de 1,5 ml (Vials, Agilent Technologies®) devidamente identificados, onde foram adicionados 0,5 ml da fase hexânica, levados ao liofilizador para secagem por 20 minutos. Em seguida foram adicionados aos frascos 1 ml da fase móvel e agitados no vortex por 1 minuto. Todo o conteúdo de cada frasco foi transferido para seringas de 5 ml com filtro (membrana com poros), depois foram transferidos para novos frascos e levados ao aparelho de cromatografia líquida (HPLC) para análise.

6.3.5 Análise Estatística

Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado utilizando-se o procedimento SISVAR 5,6. Significância é declarada à $P < 0,05$. As variáveis foram submetidas à análise de regressão por polinômios ortogonais, conforme o modelo abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ij} = constante associada a todas as observações

μ = média geral da variável;

A_i = efeito do nível do aminoácido i , sendo $i = 1, 2 \dots 5$;

B_j = efeito da concentração do micromineral quelatado j , sendo $j = 1, 2 \dots 4$;

AB_{ij} = Efeito da interação do Aminoácido e micromineral quelatado;

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação na observação k

6.4 RESULTADOS

6.4.1 Ovo e as taxas diárias das deposições químicas

Os resultados que caracterizam os efeitos dos níveis dietéticos de Thr e Zn no ovo e seus conteúdos, bem como as taxas diárias das deposições químicas, são apresentados na Tabela 10. Foi observado efeito isolado ($P = 0,05$) do aminoácido no peso de casca e gema.

A variação no peso da casca em função dos níveis dietéticos de Thr, indicaram resposta quadrática positiva ($P = 0,010$), conforme Tabela 10. No peso de gema foi observado aumento linear ($P < 0,001$) na medida que os teores de Thr eram elevados. No presente estudo, os esperados efeitos da interação, provenientes dos níveis dietéticos de Thr e Zn quelatado na composição química dos ovos ocorreram nas variáveis EE do albúmen, nitrogênio e cinzas na gema e cinzas totais do ovo sem casca (Tabela 8).

O aumento do nível de Thr na dieta com maior concentração de Zn, coincidiu com a redução quadrática ($P < 0,05$) na deposição de EE do albúmen, estimando-se como ótimo 0,928 % de aminoácido total (Tabela 10). No sentido inverso, quando as concentrações de Zn variaram dentro do nível 0,614 % de Thr houve resposta quadrática ($P < 0,02$) estimou-se 63,00 mg/kg ou equivalente 32,00 mg/kg do quelato suplementar.

Quanto à deposição de N na gema. O aumento de Thr nas dietas 73 e 121 mg/kg de Zn, coincidiu com aumento linear ($P < 0,02$) e para dieta 104 mg/kg de Zn mostrou resposta quadrática ($P < 0,05$) estimando-se 0,739% do aminoácido total. Porém quando aumentou a concentração de Zn na dieta contendo 1,006% de Thr houve decréscimo linear ($P < 0,001$) do N da gema.

Nas cinzas da gema e totais, o aumento de Thr nas dietas com 31 e 104 mg/kg de Zn mostrou resposta quadrática ($P < 0,054$) até o nível estimado $0,845 \pm 0,062\%$ de Thr total. Da mesma forma o aumento das concentrações de Zn dentro dos níveis de Thr 0,614, e 0,1006 %, coincidiu com decréscimo nas cinzas na gema e totais do ovo sem casca ($P < 0,053$), em cinzas totais para a dieta 0,698% estimou-se como ótimo 67,00 mg/kg de Zn conforme Tabela 9.

Tabela 8 - Efeito dos níveis dietéticos de Treonina e Zinco sobre a composição química e taxas diárias de deposição

Variáveis	Treonina%					EPM	Zinco(mg/kg)				EPM	Média	Valor de p		
	0,614	0,698	0,875	1,006	1,055		31	73	104	121			THR¹	Zn²	THR*Zn³
Ovo e seus conteúdos (g)															
Ovo	67,85	67,35	68,50	66,10	67,55	0,716	68,30	67,20	67,48	66,90	0,640	67,47	0,204	0,472	0,178
Casca	6,05	6,15	6,30	5,98	6,00	0,089	6,24	6,06	6,06	6,02	0,079	6,10	0,053	0,437	0,244
Gema	16,43	16,38	16,73	16,65	17,20	0,179	16,94	16,52	16,78	16,46	0,357	16,68	0,017	0,131	0,501
Albúmen	46,03	44,78	45,50	43,43	44,30	0,683	45,10	44,56	44,64	44,92	1,366	44,81	0,085	0,920	0,123
Taxas diárias das deposições químicas (g)															
N Alb ⁴	1,08	1,05	1,13	1,00	1,03	0,043	1,04	1,09	1,02	1,07	0,038	1,06	0,282	0,646	0,847
EE Alb	0,75	0,78	0,70	0,70	0,65	0,057	0,64	0,78	0,68	0,76	0,051	0,72	0,390	0,359	0,048
H2O no Alb	38,30	37,18	37,50	36,30	37,03	0,622	37,70	36,78	37,34	37,22	0,556	37,26	0,252	0,887	0,173
Cinzas no Alb	0,25	0,20	0,20	0,20	0,18	0,008	0,20	0,22	0,18	0,22	0,007	0,21	0,164	0,235	0,837
N Gema	0,45	0,43	0,48	0,45	0,50	0,007	0,48	0,44	0,46	0,46	0,006	0,46	0,000	0,068	0,000
EE Gema	5,18	5,23	5,40	5,40	5,30	0,080	5,46	5,20	5,36	5,18	0,071	5,30	0,201	0,054	0,384
H2O na Gema	8,13	8,08	8,13	8,00	8,43	0,106	8,24	8,22	8,14	8,00	0,094	8,15	0,140	0,248	0,737
Cinzas na Gema	0,43	0,35	0,30	0,33	0,38	0,020	0,38	0,34	0,32	0,38	0,018	0,36	0,028	0,071	0,000
N total	1,53	1,48	1,60	1,50	1,55	0,043	1,52	1,54	1,50	1,56	0,039	1,53	0,482	0,782	0,748
EE Total	5,93	6,00	6,08	6,03	5,83	0,098	6,00	5,9	6,04	5,94	0,088	5,97	0,492	0,646	0,131
H2O Total	46,40	45,23	45,68	44,28	45,45	0,624	46,00	44,96	45,5	45,16	0,558	45,41	0,209	0,624	0,096
Cinzas Totais	0,60	0,58	0,53	0,53	0,58	0,022	0,60	0,54	0,52	0,58	0,019	0,56	0,042	0,096	0,001
Total no Ovo	61,64	60,32	61,30	59,28	60,66	0,714	61,22	60,21	60,60	60,52	0,638	60,64	0,165	0,749	0,081

¹THR (treonina), ²Zn (zinco), ³Thr*Zn (interação treonina e zinco)⁴Correção sugerida do N para PB, fator de correção: 5,74 conteúdo do ovo e 5,68 para ovo inteiro (MARIOTTI et al., 2008)

Tabela 9 - Efeito dos níveis dietéticos Treonina e Zinco sobre a composição química e teor de colesterol dos ovos

Variáveis	Treonina%					EPM	Zinco(mg/kg)				EPM	Média	Valor de p		
	0,614	0,698	0,875	1,006	1,055		31	73	104	121			THR¹	Zn²	THR*Zn³
Composição química ovo (%)															
PB Ovo ***	12,78	12,78	13,35	12,87	13,26	0,331	12,86	13,20	12,72	13,23	0,295	13,01	0,654	0,481	0,749
EE ovo	9,53	9,73	9,80	9,85	9,53	0,154	9,72	9,66	9,70	9,66	0,137	9,69	0,084	0,841	0,219
H2O no ovo	74,50	73,98	73,38	73,65	73,88	0,446	74,06	73,82	74,04	73,58	0,399	73,88	0,701	0,720	0,865
Cinzas ovo sem casca	1,00	0,93	0,85	0,95	0,93	0,034	1,00	0,92	0,88	0,92	0,031	0,93	0,073	0,110	0,000
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁴															
Casca	8,90	9,15	9,23	9,08	8,85	0,132	9,10	9,02	9,00	9,04	0,118	9,04	0,318	0,946	0,605
EE Alb	1,63	1,83	1,50	1,60	1,48	0,113	1,50	1,72	1,52	1,68	0,101	1,61	0,323	0,230	0,054
N Alb	1,05	1,05	1,13	0,98	1,00	0,043	1,04	1,08	0,98	1,06	0,038	1,04	0,282	0,642	0,874
Cinzas no Alb	0,50	0,50	0,53	0,50	0,50	0,017	0,50	0,50	0,50	0,52	0,015	0,51	0,442	0,131	0,948
EE Gema	31,45	31,80	32,33	31,95	30,15	0,333	31,60	31,18	31,96	31,40	0,297	31,54	0,001	0,256	0,559
N Gema	0,45	0,43	0,48	0,45	0,50	0,007	0,48	0,44	0,46	0,46	0,006	0,46	0,000	0,068	0,006
Cinzas na Gema	2,40	2,05	1,85	2,00	2,20	0,118	2,30	2,02	1,94	2,14	0,105	2,10	0,023	0,098	0,000
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁵															
EE Albu	9,98	10,63	8,60	9,70	9,08	0,698	9,12	9,88	9,26	10,12	0,624	9,60	0,288	0,621	0,072
N Alb ⁶	13,97	13,82	14,16	13,97	14,09	0,112	14,11	13,94	14,06	13,90	0,100	14,00	0,228	0,581	0,078
MS Alb	16,73	16,88	17,53	16,38	16,45	0,573	16,32	17,44	16,24	17,16	0,513	16,79	0,623	0,263	0,885
Cinzas no Alb	3,03	2,93	2,90	2,98	2,83	0,049	2,94	2,92	2,90	2,96	0,044	2,93	0,084	0,554	0,895
EE Gema	62,10	62,63	63,03	61,38	59,15	0,335	61,66	61,86	62,06	61,04	0,299	61,66	0,000	0,091	0,000
N Gema	5,31	5,32	5,34	5,55	5,84	0,036	5,41	5,45	5,46	5,57	0,032	5,47	0,000	0,006	0,000
MS Gema	50,63	50,75	51,28	52,03	51,23	0,411	51,24	50,34	51,50	51,64	0,368	51,18	0,135	0,093	0,643
Cinzas na Gema	4,70	4,05	3,58	3,85	4,35	0,226	4,50	4,04	3,78	4,10	0,202	4,11	0,010	0,095	0,000
Colesterol Total na gema - mg															
Gema	221,55	224,50	220,43	232,20	231,73	3,743	229,14	218,46	231,22	225,5	3,348	226,08	0,077	0,147	0,204

¹THR (treonina), ²Zn (zinco), ³Thr*Zn (interação treonina e zinco)⁴Composição Matéria Natural; ⁵Composição na Matéria Seca⁶Correção sugerida do N para PB, fator de correção: 5,74 conteúdo do ovo e 5,68 para ovo inteiro (MARIOTTI et al., 2008)

6.4.2 Composição química do ovo e seus conteúdos

Os efeitos dos níveis dietéticos Thr e Zn sobre a composição química do ovo, dos conteúdos em Matéria Natural, Matéria Seca e teor de colesterol dos ovos, são apresentados na Tabela 9.

Na porcentagem de cinzas do ovo sem casca foi observado interação ($P < 0,001$). A variação dos crescentes níveis de Thr na dieta com 31 mg/ kg de Zn coincidiu com resposta quadrática ($P < 0,001$), estimando-se 0,869 % de Thr total. Entretanto, o aumento das concentrações de Zn dentro da dieta contendo 0,614 e 0,1006% de Thr, houve decréscimo linear ($P < 0,044$) das cinzas do ovo sem casca (Tabela10).

A composição química dos conteúdos do ovo, na Matéria Natural, também indicou interação para as variáveis EE do Alb, ($P = 0,054$), N e Cinzas na gema ($P < 0,001$) como apresentados na Tabela 9.

Foi observado efeito isolado do aminoácido apenas em EE na gema. Com o aumento nos níveis de Thr até 0,875%, foi observada resposta quadrática ($P < 0,010$), estimou-se 0,813 % de Thr para o máximo valor. (Tabela10).

A variação dos níveis de Thr dentro da dieta 121 mg/kg de Zn, houve decréscimo linear ($P < 0,010$) na porcentagem do EE do Alb. Em situação inversa, quando os níveis de Zn variaram dentro das dietas de Thr 0,614 e 0,698%, estimou-se $72,35 \pm 13,71$ mg/kg de Zn, conforme Tabela10.

Para a composição na gema, o aumento dos níveis de Thr nas concentrações 31 a 104 de Zn coincidiu, com respostas quadráticas ($P < 0,057$) para N e cinzas da gema estimando, $0,819 \pm 0,068\%$ de Thr total. Ainda sobre estas variáveis, no sentido inverso, quando variou níveis do mineral na dieta com 0,1006% de Thr também foram observadas respostas linear ($P < 0,010$) (Tabela10).

Na composição química, expressa na matéria seca, apresentadas na Tabela 9, foram identificadas interações ($P < 0,01$) de Thr e Zn nas porcentagens da composição da gema. A elevação dos aminoácidos nas dietas 31 a 104 mg/kg de Zn proporcionou respostas quadráticas ($P < 0,058$) para EE, e cinzas na gema com estimativa média de $0,693 \pm 0,032\%$ de Thr total, e para N na gema foram observados respostas lineares ($P < 0,010$). Em EE, quando os níveis de Zn variaram nas dietas 0,698 e 0,1006% de Thr, foi observado efeito quadrático ($P < 0,024$)

estimando como ótimo 63,00 e 65,00 mg/kg de Zn ou 32,00 e 34,00 mg/kg de quelato suplementar, respectivamente. Por outro lado, a variação dos níveis de Zn nas dieta 0,1006 indicou acréscimo linear ($P= 0,010$) para N decréscimo linear ($P=0,015$) para cinzas.

6.4.3 Colesterol total da gema

No presente estudo, o colesterol total da gema, não apresentou efeitos estatísticos pronunciados em resposta ao aumento de Thr e Zn (Tabela 9).

Tabela 10 - Efeito dos níveis dietéticos Treonina e Zinco sobre a composição química e teor de colesterol dos ovos

(continua)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Thr ³ (%)	Thr dig ¹	Est Zn (mg/kg) ⁴	Zn quel ²
Ovo (g)							
Casca							
FV Thr	$Y = 2,385339 + 9,568651X - 5,865510X^2$	82%	0,010	0,816	0,694	-	-
Gema							
FV Thr	$Y = 15,487048 + 1,411343X$	69%	0,004	linear	-	-	-
Taxas diárias das deposições químicas (g)							
Dep EE Alb/dia							
THR dentro de Zn 121	$Y = 5,600352 - 10,853953X + 5,848802X^2$	95%	0,043	0,928	0,789	-	-
Zn dentro de THR 0,614	$Y = 1,152757 - 0,020530X + 0,000164X^2$	67%	0,017	-	-	63,00	32,00
Dep N/dia Gema							
THR dentro de Zn 73	$Y = 0,326505 + 0,147710X$	61%	0,001	linear	-	-	-
THR dentro de Zn 104	$Y = 0,909778 - 1,278506X + 0,864128X^2$	87%	0,016	0,739	0,628	-	-
THR dentro de Zn 121	$Y = 0,323294 + 0,176208X$	86%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de THR 0,1006	$Y = 0,403681 - 0,000951X$	73%	0,001	linear	-	-	-
Dep Cinzas na Gema/dia							
THR dentro de Zn 31	$Y = 3,318979 - 6,925640X + 3,938994X^2$	67%	0,001	0,879	0,747	-	-
THR dentro de Zn 104	$Y = 1,456283 - 3,097786X + 2,001587X^2$	81%	0,054	0,774	0,658	-	-
Zn dentro de THR 0,614	$Y = 0,690,6980 - 0,003672X$	97%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de THR 0,1006	$Y = 0,433661 - 0,001203X$	68%	0,053	linear	-	-	-

(continuação)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Thr ³ (%)	Thr dig ¹	Est Zn (mg/kg) ⁴	Zn quel ²
Taxas diárias das deposições químicas (g)							
Dep Cinzas Totais/dia ovo sc							
THR dentro de Zn 31	$Y = 3,539977 - 6,904756X + 3,910709X^2$	72%	0,001	0,883	0,751	-	-
Zn dentro de THR 0,614	$Y = 0,912101 - 0,003437X$	94%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de THR 0,698	$Y = 0,732417 - 0,007229X + 0,000054X^2$	60%	0,043	-	-	67,00	36,00
Composição química ovo (%)							
Cinzas no ovo sem casca (sc)							
THR dentro de Zn 31	$Y = 6,070628 - 12,170185X + 6,997763X^2$	64%	0,001	0,869	0,739	-	-
Zn dentro de THR 0,614	$Y = 1,478176 - 0,005692X$	98%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de THR 0,1006	$Y = 1,085165 - 0,002107X$	71%	0,044	linear	-	-	-
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁵							
EE Alb							
THR dentro de Zn 121	$Y = 3,391749 - 1,996526X$	79%	0,001	-	-	linear	-
Zn dentro de THR 0,614	$Y = 2,346711 - 0,037344X + 0,000298X^2$	68%	0,028	-	-	63,00	32,00
Zn dentro de THR 0,698	$Y = 0,219416 + 0,046596X - 0,000284X^2$	76%	0,036	-	-	82,00	51,00

(continuação)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Thr ³ (%)	Thr dig ¹	Est Zn (mg/kg) ⁴	Zn quel ²
Composição química dos conteúdos do ovo (%)⁵							
EE gema							
FV Thr	$Y = 11,106723 + 52,722126X - 32,439821X^2$	72%	0,001	0,813	0,691	-	-
N Gema							
THR dentro de Zn 31	$Y = 0,891297 - 1,148932X + 0,738152X^2$	50%	0,039	0,778	0,661	-	-
THR dentro de Zn 73	$Y = 0,326505 + 0,147710X$	60%	0,001	linear	-	-	-
THR dentro de Zn 104	$Y = 0,909778 - 1,278506X - 0,864128X^2$	87%	0,016	0,705	0,599	-	-
THR dentro de Zn 121	$Y = 0,323294 + 0,176208X$	86%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de THR 0,1006	$Y = 0,403681 + 0,000951X$	73%	0,001	linear	-	-	-
Cinzas n gema							
THR dentro de Zn 31	$Y = 18,977114 - 39,462444X + 22,454981X^2$	63%	0,001	0,879	0,747	-	-
THR dentro de Zn 73	$Y = 10,722738 - 20,871621X + 12,035374X^2$	93%	0,045	0,867	0,737	-	-
THR dentro de Zn 104	$Y = 8,578149 - 17,884608X + 11,404626X^2$	73%	0,057	0,784	0,666	-	-
Zn dentro de THR 0,614	$Y = 4,095371 - 0,020764X$	98%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de THR 0,698	$Y = 2,800867 - 0,036424X + 0,000284X^2$	54%	0,044	-	-	64,00	33,00
Zn dentro de THR 0,1006	$Y = 2,623948 - 0,007518X$	71%	0,034	linear	-	-	-

(continuação)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Thr ³ (%)	Thr dig ¹	Est Zn (mg/kg) ⁴	Zn quel ²
Composição química dos conteúdos do ovo (%) ⁶							
EE Gema							
Thr dentro de Zn 31	$Y = 7,40,61400 + 137,967637X - 83,905616X^2$	93%	0,001	0,821	0,698	-	-
Thr dentro de Zn 73	$Y = 23,050236 + 101,741487X - 63,372502X^2$	57%	0,001	0,803	0,683	-	-
Thr dentro de Zn 104	$Y = 21,062110 - 111,972053X + 72,058867X^2$	97%	0,001	0,777	0,660	-	-
Zn dentro de Thr 0,614	$Y = 59,729846 + 0,034196X$	99%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de Thr 0,698	$Y = 60,426053 + 0,114535X - 0,000906X^2$	54%	0,024	-	-	63,00	32,00
Zn dentro de Thr 0,1006	$Y = 57,724059 + 0,176238X - 0,001358X^2$	99%	0,001	-	-	65,00	34,00
N Gema ⁷							
Thr dentro de Zn 31	$Y = 4,589640 + 0,000967X$	43%	0,001	linear	-	-	-
Thr dentro de Zn 104	$Y = 4,613881 + 0,000997X$	58%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de Thr 0,1006	$Y = 4,964787 + 0,007149X$	75%	0,001	linear	-	-	-
MS Gema	ns	ns	ns	ns	-	-	-
Cinzas na Gema							
Thr dentro de Zn 73	$Y = 22,745047 + 0,044876X - 0,000026X^2$	93%	0,025	0,863	0,734	-	-
Thr dentro de Zn 104	$Y = 16,422328 - 0,034077X + 0,000022X^2$	66%	0,058	0,774	0,658	-	-
Zn dentro de Thr 0,614	$Y = 8,021142 - 0,040233X$	99%	0,001	linear	-	-	-
Zn dentro de Thr 0,1006	$Y = 5,224240 - 0,016576X$	80%	0,015	linear	-	-	-

(conclusão)

Variáveis	Equações de Regressão	R ²	Valor de P	Est Thr ³ (%)	Thr dig ¹	Est Zn (mg/kg) ⁴	Zn quel ²
Colesterol Total gema - mg							
Colesterol da gema							
FV Zn	ns	ns	ns	ns	-	-	-

¹ Correção para Thr digestível 0,85² Correção para Zn quelato (estimado Cu - 31)³ Estimado Treonina⁴ Estimado Zinco⁵ composição Matéria Natural⁶ Composição na Matéria Seca⁷ Correção sugerida do N para PB, fator de correção: 5,74 conteúdo do ovo e 5,68 para ovo inteiro (MARIOTTI et al., 2008)

6.5 DISCUSSÃO

Estudos relacionados ao uso da treonina e do zinco na dieta de monogástricos, descrevendo benefícios ou malefícios de cada um, separadamente, sobre a espécie estudada são comumente encontrados (PARK et al., 2004; FAURE et al., 2005; CUPERTINO et al., 2010; SCATOLINI, 2007; UMIGI et al., 2007; FIGUEIREDO, 2008; ROCHA, 2010; MACIEL et al., 2010; CARVALHO, 2012; LIMA, 2012;). Entretanto, pesquisas as quais utilizaram ambos, afim de testar a ação conjunta sobre a composição de ovos são escassas.

6.5.1 Ovo e as taxas diárias das deposições químicas

No presente estudo, alguns dos resultados obtidos nos conteúdos do ovo não apresentaram diferenças estatísticas pronunciadas, em resposta ao aumento dos níveis de Thr e Zn. Entretanto, para peso de casca e gema, o aumento de Thr demonstrou efeito até o nível total de 0,875%, elevando os pesos em 4,13% (6,05-6,30 g) da casca e 1,82% (16,43 – 16,73 g) da gema. Os resultados obtidos no presente estudo discordam de Schimidt et al. (2010), ao relatarem que os componentes dos ovos não foram alterados quando as poedeiras receberam a dieta com o nível 0,360% de Thr. Da mesma forma, de Cupertino et al. (2010), quando variaram de 0,380 a 0,511% a Thr na dieta de poedeiras leves e semipesadas e não constataram influência significativa para o peso dos ovos, apesar de observarem diferenças de resultados entre as linhagens.

Os valores referentes ao peso de gema encontrados na presente pesquisa, foram próximos aos reportados (CUPERTINO et al., 2010) para linhagem semipesada. Segundo Lima (2012), ao trabalhar com níveis crescentes de Thr (0,660 a 0,860%) fornecidos via dieta para codornas japonesas, demonstrou que a Thr até o nível 0,780%, exerceu efeito sobre o peso dos ovos aumentando-os.

A interação identificada na deposição do EE do Alb se deu com o aumento dos níveis de Thr dentro da maior concentração de Zn, resultando no decréscimo da

variável. Nas demais, identificadas na deposição química de N na gema e cinzas totais, constatou-se que o aumento dos níveis de Thr dentro das dietas de Zn coincidiu com acréscimo ($P < 0,054$) nas deposições de N na gema e cinzas na gema. Por outro lado, com o aumento dos níveis de Zn nas dietas 0,614 e 0,1006% de Thr, observou-se decréscimo ($P < 0,053$) nas deposições de N na gema, cinzas na gema e cinzas totais. A respeito dos resultados descritos, em relação as deposições de cinzas na gema e totais, esses discordam do reportado por Trindade Neto et al. (2011), quando observaram que o aumento dietético do Zn coincidiu com o aumento na deposição mineral nos ovos. O mesmo foi reportado por Carvalho (2012), onde a inclusão de minerais orgânicos (Zn, Mn, Cu e Fe) à dieta de poedeiras, resultou no aumento das cinzas. E Maciel et al. (2010), quando foram adicionados 50% de minerais orgânicos (Cu, Mn Zn) em dietas das poedeiras e constataram aumento no peso dos ovos; o que refletiria nas deposições químicas.

6.5.2 Composição química do ovo e seus conteúdos

Na interação observada no ovo sem casca, sugere que o crescentes níveis de Thr dentro da concentração 31 mg/kg de Zn aumentou a porcentagem de cinzas. Para o aumento do Zn nas dietas 0,614 e 0,1006% de Thr, indicou decréscimo nas cinzas ovo sem casca.

Na composição química da gema na Matéria Natural, o efeito do nível de Thr, independentemente da concentração de Zn, elevou a porcentagem de EE. Resultados esses, discordam dos descritos por Figueiredo (2008), onde o aumento dos níveis de 0,542 a 0,650% de Thr não propiciou efeito sobre o EE na gema dos ovos de aves com 42 a 57 semanas de idade, alimentadas com esses níveis do aminoácido. Da mesma forma, Umigi et al. (2007), observaram que os níveis (0,65 a 0,80%) de Thr não influenciaram os componentes internos dos ovos de codornas japonesas.

O efeito da interação mostrou que o aumento nos níveis de Thr na dieta 121mg/kg de Zn, reduziu o EE do Alb até o nível 0,875% Por outro lado, o aumento do Zn nas dietas 0,614 e 0,698 aumentou a porcentagem de EE no Alb. Para N na gema, houve queda na demanda do aminoácido nas concentrações 31 a 104 mg/kg de Zn. Nas cinzas na gema, foi observado declínio em 12,12% nas necessidades de

Thr com os mesmos níveis de Zn, sugerindo um efeito antagônico entre o aminoácido e o mineral. Para o aumento das concentrações de Zn nos níveis 0,614 e 0,1006 de Thr, observou-se decréscimo na porcentagem para N e cinzas. Os resultados referentes à N na gema, concordam com o reportado por Carvalho (2012), onde a inclusão dos minerais orgânicos (Zn, Cu, Fe e Mn), à dieta de poedeiras, também reduziu a PB na gema.

A composição química dos conteúdos internos do ovo na Matéria Seca, mostrou decréscimo 5,67% e 11,50% para as exigências do aminoácido, independentemente da concentração de Zn, para as variáveis EE na gema e cinzas na gema, respectivamente. Apenas para N na gema observou-se a crescente demanda pela Thr. Contudo, o aumento de Zn nas dietas de Thr resultou no aumento do EE até o nível 0,875% de Thr. Para as demais variáveis foi observado decréscimo das porcentagens. Segundo Lima (2012) o aumento nos níveis (0,446 a 0,645%) Thr digestível fornecidos as poedeiras leves, não afetou a qualidade dos ovos.

6.5.3 Colesterol total na gema

A ausência de efeitos da associação de Thr e Zn sobre o colesterol da gema, se deu até os níveis máximos de utilizados 1,055% e 121 mg/kg, respectivamente.

6.6 CONCLUSÃO

A associação de treonina e zinco quelatado, alterou a composição química do ovo para algumas das variáveis. A variação decrescente do teor de colesterol contido na gema, com aumento das concentrações (31, 73, 104 e 121) de zinco, foi numérica, demandando novas avaliações de concentrações mais elevadas.

6.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, L. C. C. **Desempenho produtivo e qualidade de ovos de galinhas poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com minerais orgânicos.** 2012. 70 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Medicina Veterinária, Uberlândia, 2012.

CUPERTINO, E. S.; GOMES, P. C.; JUNIOR, J. G. V.; ALBINO, L. F. T.; SCHMIDT, M.; MELLO, H. H. C. Níveis nutricionais de treonina digestível para poedeiras comerciais durante o segundo ciclo de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.39, n.9, p.1993-1998, 2010.

FAURE, M. et al. Dietary threonine restriction specifically reduces intestinal mucin synthesis in rats. **Journal of Nutrition**, v. 135, n. 3, p. 486-91, Mar 2005.

FAVERO, A. **Desenvolvimento ósseo da progênie de reprodutoras pesadas suplementadas com fontes inorgânicas e orgânicas de Zinco, Manganês e Cobre.** 2013. 170 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Zootecnia, Porto Alegre, 2013.

FIGUEIREDO, G. O. **Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com diferentes níveis de lisina e Treonina digestíveis.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras- 2008, p 81.

FRUCHI, V.M.; ARAÚJO, L. F.; ARAÚJO, C.S.S.; ALBUQUERQUE, R.; FURLAN, J.J.M. Treonina na alimentação de frangos de corte criados em ambiente com desafio permanente. In SANTOS, M.V.; SILVA, L.F.S.; RENNÓ, F.P.; ALBUQUERQUE, R. **Novos desafios da Pesquisa em Nutrição e Produção Animal.** 5D: Pirassununga, 2011., p 1- 15.

LIMA, M. R. **Exigências nutricionais de treonina e triptofano para codornas japonesas e galinhas poedeiras leves em postura.** 2012. 133 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Paraíba, Zootecnia, Areia-PB, 2012.

MABE, I.; RAPP, C.; BAIN, M. M.; NYS, Y. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v. 82, p. 1903–1913, 2003.

MACIEL, M. P.; SARAIVA, E. P.; AGUIAR, E. F.; ASSUNÇÃO, P.; RIBEIRO, P.; PASSOS, D. P.; SILVA, J. B. Effect of using organic microminerals on performance

and external quality of eggs of commercial laying hens at the end of laying. **Revista Brasileira Zootecnia.**, v.39, n.2, p.344-348, 2010.

MARIOTTI, F.; TOME, D.; MIRAND, P. P. Converting nitrogen into protein--beyond 6.25 and Jones' factors. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 177-84, Feb 2008.

MAZALLI, M. R.; SALDANHA, T. BRAGAGNOLO, N. - Determinação de colesterol em ovos: comparação entre um método enzimático e um método por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.1, p.49 - 54, 2003.

PARK, S. Y.; BIRKHOLO, S. G.; KUBENA, L. M.; NISBET, D. J.; RICKE, S. C. **Review on the Role of Dietary Zinc in Poultry Nutrition, Immunity, and Reproduction. Biological Trace Element Research**, dezembro de 2004.

PASTORE, S. M. et al. Relação treonina: lisina digestíveis na dieta de poedeiras leves de 42 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 3, p. 438-447, 2016.

REZENDE, J. C. R. **Zinco na nutrição e saúde de frangos de corte**. 2016. 91 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Zootecnia, Botucatu, 2016.

ROCHA, T. C. **Relação Treonina-Lisina em rações para poedeiras leves no período de produção**. 2010. 64 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Zootecnia, Viçosa, 2010.

SCATOLINI, A. M. **Mn, Zn e Se associados a moléculas orgânicas na alimentação de galinhas poedeiras no Segundo ciclo de produção**. 2007. 65 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Zootecnia, Jaboticabal, 2007.

SCHMIDT, M.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; NUNES, R.V.; CUPERTINO, E.S. Exigências nutricionais de treonina digestível para poedeiras semipesadas no segundo ciclo de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.1099-1104, 2010.

SCOTTÁ, B.A.; VIEIRA, R.A.; GOMIDE, A.P.C.; CAMPOS, P.F.; BARROCA, C.C.; FORMIGONI, A.S. Influência dos minerais quelatados e inorgânicos no metabolismo,

desempenho, qualidade da carcaça e da carne de frangos de corte. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 9, ed. 258, Art. 1710, 2014.

STANLEY, V. G. P.; SHANKLYN, M. D.; GRAY, C.; VAUGHAN, V.; HINTON Jr, A.; HUME, M. Effects of Organic Selenium and Zinc on the Aging Process of Laying Hens. **Agrotechnol**, v. 1, p. 1 - 3, 2012.

TRINDADE NETO, M. A. et al. Dietary effects of chelated zinc supplementation and lysine levels in ISA Brown laying hens on early and late performance, and egg quality. **Poultry Science**, v. 90, n. 12, p. 2837-44, Dec 2011

UMIGI, R.T.; BARRETO, S.L.T.; DONZELE, J.L.; REIS, R.S.; SOUSA, M.F.; LEITE, C.D.S. Níveis de treonina digestível em dietas para codorna japonesa em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**., v.36, n.6, p.1868-1874, 2007.

WANG, X. et al. Effects of graded levels of true ileal digestible threonine on performance, serum parameters and immune function of 10–25kg pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 129, n. 3-4, p. 264-278, 2006.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, a utilização de Zinco quelatado e Treonina na dieta de poedeiras influenciou na composição dos ovos, alterando pesos de ovos, casca, gema e aumentando a concentração do micromineral cobre retido na gema. Tais alterações podem ser benéficas ao consumidor final, uma vez que o cobre pode auxiliar na redução da oxidação celular. Portanto, concluí-se que o uso de de Zinco quelatado e Treonina alteram a composição química do ovo.

Entretanto, é importante ressaltar a obscuridade sobre a interação desses nutrientes, que continua pouco clara, sugerindo a necessidade de novos estudos abordando este assunto, com o intuito de elucidar tais dúvidas.

REFERÊNCIAS

ALVES, M. G. M.; BASTOS-LEITE, S. C.; GOULART, C. C.; SILVA, J. D. B.; MEDEIROS, F. M. Substituição dos minerais inorgânicos por orgânicos e duas granulometrias de calcário na dieta de poedeiras comerciais leves. **Agropecuária Técnica**, v. 36, n. 1, p. 128 -135, 2015.

AUGUSTINI, M. A. B.; **Níveis de treonina digestível para poedeiras semipesadas**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do oeste do Paraná Campus Marechal Cândido Rondon-2010, p 72.

BACILA, M. **Bioquímica Veterinária** – 2ª edição. São Paulo: Robe Editorial. 2003. 582p.

BALEVI, T.; COSKUN, B. Effects of dietary copper on production and egg cholesterol content in laying hens. **British Poultry Science**, v5, p.530–4. 2004.

BARBOSA, B. A. C.; SOARES, P. R.; ROSTAGNO, H. S.; SILVA, M. A.; ALBINO, L. F. T.; GRAÇAS, A. S. Exigência nutricional de metionina+cistina para galinhas poedeiras de ovos brancos e marrons, no segundo ciclo de produção. 1. características produtivas. **Revista Brasileira de zootecnia**, v.28, n.3, p.526-533, 1999.

BAUMGARTNER, S. et al. Copper deficiency in the laying hen. **Journal of Nutrition**, v. 108, n. 5, p. 804-11, May 1978.

BENDEZU, H. C. P. et al. Response of laying hens to methionine + cystine intake by dilution technique. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 1, p. 15-21, 2015.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogátricos**. UFLA/FAEPE, 2004. p 450.

BERTECHINI, A.G. **Mitos e Verdades Sobre o Ovo de Consumo**. 2003. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/cet/trabalhos_versao_imprimir.php?codigo=64>. Acesso em: 24 nov. 2015.

BRUMANO, G. et al. Níveis de metionina + cistina digestível para poedeiras leves no período de 42 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 9, p. 1984-1992, 2010.

BRUMANO, G. Níveis de lisina e de metionina + cistina e proteína bruta para melhor qualidade de ovo e de carcaça de aves e de suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 3, p. 898 – 917, 2009.

BRUMANO, G.; GOMES, P.C.; DONZELE, J.L.; ROSTAGNO, H.S.; ROCHA, T.C.; ALMEIDA, R.L. Níveis de metionina+cistina digestível em rações para poedeiras leves no período de 24 a 40 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p.1228-1236, 2010.

BUNCHASAK, C.; SILAPASORN, T. Effects of Adding Methionine in Low-Protein Diet on Production Performance, Reproductive Organs and Chemical Liver Composition of Laying Hens under Tropical Conditions. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.5, p.301-308, 2005.

CARVALHO, L. C. C. **Desempenho produtivo e qualidade de ovos de galinhas poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com minerais orgânicos**. 2012. 70 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Medicina Veterinária, Uberlândia, 2012.

CARVALHO, L.S.S.; VILELA, D.R.; FAGUNDES, N.S.; SOUZA, Y.L.S.; FERNANDES, E.A. Egg quality and productive performance of laying hens in second cycle of posture fed with aminoacid chelated trace minerals. **Ciência animal brasileira**, Goiânia, v.17, n.4, p. 491-500, 2016.

CUPERTINO, E. S.; GOMES, P. C.; JUNIOR, J. G. V.; ALBINO, L. F. T.; SCHMIDT, M.; MELLO, H. H. C. Níveis nutricionais de treonina digestível para poedeiras comerciais durante o segundo ciclo de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.9, p.1993-1998, 2010.

DALIBARD, P.; HESS, V.; LE TUTOUR, L.; PEISKER, M.; PERIS, S.; PEROJO, A.G.; REDSHAW, M. **Amino acids in animal nutrition**. Fefana, 2014. p 51.

DOBZANSKI, Z.; KORCZYNSKI, M.; CHOJNACKA, K.; GORECKI, H.; OPALINSKI, S. Influence of organic forms of copper, manganese and iron on bioaccumulation of these metals and zinc in laying hens. **Journal of elementology**, v. 13, n. 3, p. 309 – 319, 2008.

EMBRAPA. **Desempenho da produção**. Disponível em: <www.embrapa.br>. Acesso em: 25 jul. 2017.

FAURE, M. et al. Dietary threonine restriction specifically reduces intestinal mucin synthesis in rats. **Journal of Nutrition**, v. 135, n. 3, p. 486-91, Mar 2005.

FAVERO, A. **Desenvolvimento ósseo da progênie de reprodutoras pesadas suplementadas com fontes inorgânicas e orgânicas de Zinco, Manganês e Cobre**. 2013. 170 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Zootecnia, Porto Alegre, 2013.

FIGUEIREDO, G. O. **Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais alimentadas com diferentes níveis de lisina e Treonina digestíveis**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras- 2008, p 81.

FRUCHI, V.M.; ARAÚJO, L. F.; ARAÚJO, C.S.S.; ALBUQUERQUE, R.; FURLAN, J.J.M. Treonina na alimentação de frangos de corte criados em ambiente com desafio permanente. In SANTOS, M.V.; SILVA, L.F.S.; RENNÓ, F.P.; ALBUQUERQUE, R. **Novos desafios da Pesquisa em Nutrição e Produção Animal**. 5D: Pirassununga, 2011., p 1- 15.

GAMBARO, D. V. **Nutrição proteica de poedeiras comerciais**. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2014.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. Reprodução em Aves: Macho e Fêmea. In: **Reprodução animal**. 7 ed. Barueri: Manole. 2004. p. 237-257.

HÄFFNER, J.; Kahrs, D.; Limper, J.; MOL, J.; Peisker, M.; Williams, P. Amino acids in animal nutrition. Agrimedia GmbH, 2000. p 61.

HOLLAND B ; WELCH. AA, UNWIN ID, BUSS DH, PAUL AA, SOUTHGATE DAT. **The composition of foods**. 5th ed. Cambridge: Redwood Books; 1997.

JENN-CHUNG HSU; CHUNG-YI LIN; PETER WEN-SHYG CHIOU. Effects of ambient temperature and methionine supplementation of a low protein diet on the performance of laying hens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 74, p. 289 – 299, 1998.

IDOWU, O.M.O.; KUYE, O.A.; OLADELE-OJO, V.O.; ERUVBETINE, D. The effects of dietary intake and dietary concentration of organic and inorganic copper supplements on egg and plasma cholesterol levels. **XI th European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products Doorwerth**, The Netherlands, 23-26 May 2005.

KAKHKI, R.A. M.; GOLIAN, A.; ZARGHI, H. Effect of digestible methionine + cystine concentration on performance, egg quality and blood metabolites in laying hens. **British Poultry Science**, v. 57, n. 3, p. 403-14, Jun 2016.

KIDD, M.T., KERR, B.J. L-threonine for poultry: A review. **Journal of Applied Poultry Research**. v.5, p.358-367, 1996.

KOELKEBECK, K. W., BAKER, D. H., HAN. Y.; PARSONS, C. M. Research note: effect of excess lysine, methionine, threonine or tryptophan on production performance of laying hens. **Poultry Science**, v.70, n.7, p. 1651-1653, 1991.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial Poultry Nutrition**. 3. Ed. Guelph, Ontario: University Books, 2005. p 394.

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

LIEN, T. F. et al. Effects of supplemental copper and chromium on the serum and egg traits of laying hens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 4, p. 535-9, 2004.

LIM, H. S.; PAIK, I. K. Effects of Dietary Supplementation of Copper Chelates in the Form of Methionine, Chitosan and Yeast in Laying Hens. **Asian-Australasia Journal of Animal Science**, v. 19, n. 8, p.1174 – 1178, 2006.

LIMA, M. R. **Exigências nutricionais de treonina e triptofano para codornas japonesas e galinhas poedeiras leves em postura**. 2012. 133 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Paraíba, Zootecnia, Areia-PB, 2012.

LIRETTE, A.; ROBINSON, A. R.; CROBER, D. C.; LAWSON, P. D.; FIRTH, N. L. Effect of oat bran, cotton seed hulls and guar gum on chicken egg and blood lipids during the early laying period. **Canadian Journal Animal Science**, v.73, p.673-677, 1993.

MABE, I.; RAPP, C.; BAIN, M. M.; NYS, Y. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper, and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poultry Science**, v. 82, p. 1903–1913, 2003.

MACIEL, M. P.; SARAIVA, E. P.; AGUIAR, E. F.; ASSUNÇÃO, P.; RIBEIRO, P.; PASSOS, D. P.; SILVA, J. B. Effect of using organic microminerals on performance

and external quality of eggs of commercial laying hens at the end of laying. **Revista Brasileira Zootecnia.**, v.39, n.2, p.344-348, 2010.

MARIOTTI, F.; TOME, D.; MIRAND, P. P. Converting nitrogen into protein--beyond 6.25 and Jones' factors. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 177-84, Feb 2008.

MATOS, M. S.; LEANDRO, N. S. M.; CARVALHO, F. B.; STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; LOPES, K. L. Níveis de lisina e treonina digestíveis na ração de poedeiras comerciais sobre a qualidade de ovos. **Acta Scientiarum Animal**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 25-29, 2009.

MAZALLI, M. R.; SALDANHA, T. BRAGAGNOLO, N. - Determinação de colesterol em ovos: comparação entre um método enzimático e um método por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.62, n.1, p.49 - 54, 2003.

MCNAMARA, D. J. The Impact of Egg Limitations on Coronary Heart Disease Risk: Do the Numbers Add Up. **Journal of the American College of Nutrition**, v.19, n.5, p.540S–548S, 2000.

MIRANDA, C. C. **Efeito de níveis e de fontes de microminerais na dieta de poedeiras comerciais de 40 a 60 semanas de idade**. 2013. 92f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Zootecnia, Botucatu, 2013.

NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D.A.; OST, P.R. Ovo: Conceitos, análises e controvérsias na saúde humana. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.56, n.4, p.315-320, 2006.

NUNES, J.K.; SANTOS, V.L.; ROSSI, P.; ANCIUTI, M.A.; RUTZ, F.; MAIER, J.C.; SILVA, J.G.C. Qualidade de ovos e resistência óssea de poedeiras alimentadas com minerais orgânicos. **Arquivo Brasileira Medicina Veterinária Zootecnia.**, v.65, n.2, p.610-618, 2013.

OLGUN, O.; YAZGAN, O.; CUFADAR Y. Effect of supplementation of different boron and copper levels to layer diets on performance, egg yolk and plasma cholesterol. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.27, p.132– 136, 2013.

PACHECO, B.H.C.; TRINDADE NETO, M.A.; ALBUQUERQUE, R.; SCHAMMASS, E.A. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.39, n.11, p.2447-2452, 2010.

PARK, S. Y.; BIRKHOOD, S. G.; KUBENA, L. M.; NISBET, D. J.; RICKE, S. C. **Review on the Role of Dietary Zinc in Poultry Nutrition, Immunity, and Reproduction. Biological Trace Element Research**, dezembro de 2004.

PASTORE, S. M. et al. Relação treonina: lisina digestíveis na dieta de poedeiras leves de 42 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 3, p. 438-447, 2016.

PATTERSON, J.A.; KUNG JR., L. Metabolism of DL-methionine and methionine analogues by rumen microorganisms. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.3292-3301, 1988.

PAVAN, A.C.; MÓRI, C.; GARCIA, E.A.; SCHERER, M.R.; PIZZOLANTE, C.C. Níveis de proteína bruta e de aminoácidos sulfurados totais sobre o desempenho, a qualidade dos ovos e a excreção de nitrogênio de poedeiras de ovos marrons. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.568-574, 2005.

PENZ JR, A. M.; JENSEN, L S. Influence of protein concentration, amino acid supplementation, and daily time to access to high- or low-protein diets on egg weight and components in laying hens. **Poultry Science**, Georgia, v. 70, n. 12, p.2460-2466, 1 dez. 1991.

PESTI, G. M.; BAKALLI, R. I. Studies on the Effect of Feeding Cupric Sulfate Pentahydrate to Laying Hens on Egg Cholesterol Content. **Poultry Science**, v.77, p.1540–1545, 1998.

PINHEIRO, S. G. **Suplementação de aminoácidos industriais nas rações de galinhas poedeiras**. 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Zootecnia, Areia-PB, 2012.

POLESE, C. **Níveis nutricionais de metionina+cistina digestível para poedeiras semipesadas**, 2011. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Nutrição e Produção Animal, Marechal Cândido Rondon, 2011.

REZENDE, J. C. R. **Zinco na nutrição e saúde de frangos de corte**. 2016. 91 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Zootecnia, Botucatu, 2016.

RICHARDS, J. D.; ZHAO, J.; HARRELL, R.J.; ATWELL, C. A.; DIBNER, J. J. Trace Mineral Nutrition in Poultry and Swine. **Asian-Australasia Journal of Animal Science**, v. 23, n. 11, p. 1527 – 1534, 2010.

ROCHA, T. C. **Relação Treonina-Lisina em rações para poedeiras leves no período de produção**. 2010. 64 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Zootecnia, Viçosa, 2010.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**; composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV. Departamento de Zootecnia, 186p., 2005.

SAHOO, S.C.; KATARIA, R.; MEHTA, S.K. Copper and it complexes: A pharmaceutical perspective. In GRUYTER, W. **Chemical Drug desing** CPI books GmbH, Leck, 2016. p 215 – 236.

SALDANHA, E. S. P.B. **Efeitos de minerais orgânicos no desempenho, qualidade de ovos e qualidade óssea de poedeiras semi-pesadas no segundo ciclo de produção**. 2008. 103 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Zootecnia, Botucatu, 2008.

SCATOLINI, A. M. **Mn, Zn e Se associados a moléculas orgânicas na alimentação de galinhas poedeiras no Segundo ciclo de produção**. 2007. 65 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Zootecnia, Jaboticabal, 2007.

SCHMIDT, M.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; NUNES, R.V.; CUPERTINO, E.S. Exigências nutricionais de treonina digestível para poedeiras semipesadas no segundo ciclo de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.1099-1104, 2010.

SCOTTÁ, B.A.; VIEIRA, R.A.; GOMIDE, A.P.C.; CAMPOS, P.F.; BARROCA, C.C.; FORMIGONI, A.S. Influência dos minerais quelatados e inorgânicos no metabolismo, desempenho, qualidade da carcaça e da carne de frangos de corte. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 9, ed. 258, Art. 1710, 2014.

SECHINATO, A. S. **Efeito da suplementação dietética com microminerais orgânicos na produção e qualidade de ovos de galinhas poedeiras**. 2003. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Nutrição e Produção Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SOLARTE, W. N.; ROSTAGNO, H. S.; SOARES, P. R. ; SILVA, M. A.; VELASQUEZ, L. F. U. Nutritional Requirements in Methionine + Cystine for White-Egg Laying Hens During the First Cycle of Production. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.12, p.965-968, 2005.

SPENCE, J.D.; JENKINS, D.J.A.; DAVIGNON, J. Dietary cholesterol and egg yolks: not for patients at risk of vascular disease. **Canadian Journal cardiology**, v.26, n.9, p.336-339, 2010.

STEFANELLO, C.; SANTOS, T. C.; MURAKAMI, A. E.; MARTINS, E. N.; CARNEIRO, T. C. Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v.93, p.104–113, 2014.

SUMMERS, J.D.; ATKINSON, J.L.; SPRATT, D. Supplementation of a low protein diet in an attempt to optimize egg mass output. **Canadian Journal Animal Science**, v.71, p.211-220. 1990.

SUN, Q.; GUO, Y.; LI, J.; ZHANG, T.; WEN, J. Effects of Methionine Hydroxy Analog Chelated Cu/Mn/Zn on Laying Performance, Egg Quality, Enzyme Activity and Mineral Retention of Laying Hens. **Journal Poultry Science**, v. 49, p. 20-25, 2012.

TRINDADE NETO, M. A. et al. Dietary effects of chelated zinc supplementation and lysine levels in ISA Brown laying hens on early and late performance, and egg quality. **Poultry Science**, v. 90, n. 12, p. 2837-44, Dec 2011.

UMIGI, R.T.; BARRETO, S.L.T.; DONZELE, J.L.; REIS, R.S.; SOUSA, M.F.; LEITE, C.D.S. Níveis de treonina digestível em dietas para codorna japonesa em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.1868-1874, 2007.

VALSALA, P.; KURUP, P. A.. Investigations on the mechanism of hypercholesterolemia observed in copper deficiency in rats. **Journal of Bioscience**, India, v. 12, n. 2, p.137-142, 28 abr. 1987.

WANG, X. et al. Effects of graded levels of true ileal digestible threonine on performance, serum parameters and immune function of 10–25kg pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 129, n. 3-4, p. 264-278, 2006.

WANG, J.S.; ROGERS SR, PESTI GM. Influence of choline and sulfate on copper and toxicity and substitution of and antagonism between methionine and copper supplements to chick diets. **Poultry Science**, v. 66, n. 9, p. 500-7, 1987.

WEGGEMANS, R. M., ZOCK, P. L., KATAN, M. B. Dietary cholesterol from eggs increases the ratio of total cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol in humans: a meta-analysis^{1–3}. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 885-891, 2001