

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E PRODUÇÃO ANIMAL

MAITÊ VIDAL MENDONÇA

**Inclusão de diferentes fontes de cobre e zinco na dieta de suínos de
crescimento e terminação**

Pirassununga

2021

MAITÊ VIDAL MENDONÇA

Inclusão de diferentes fontes de cobre e zinco na dieta de suínos de crescimento e terminação

Tese 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 Doutora em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Dr^a Simone Maria Massami Kitamura Martins

Pirassununga
2021

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. 4114 FMVZ	Mendonça, Maitê Vidal Inclusão de diferentes fontes de cobre e zinco na dieta de suínos de crescimento e terminação / Maitê Vidal Mendonça. – 2021. 86 f. : il. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2021. Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal. Área de concentração: Nutrição e Produção Animal. Orientadora: Profª. Dra. Simone Maria Massami Kitamura Martins. 1. Atividade antioxidante. 2. Desempenho. 3. Hidroxicloreto de cobre. 4. Hidroxicloreto de zinco. 5. Qualidade da carne. I. Título.
-----------------	--

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade de São Paulo

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "INCLUSÃO DE DIFERENTES FONTES DE COBRE E ZINCO NA DIETA DE SUÍNOS DE CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO", protocolada sob o CEUA nº 4110030918 (ID 005882), sob a responsabilidade de **Simone Maria Massami Kitamura Martins e equipe; Maitê Vidal Mendonça** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 12/12/2018.

We certify that the proposal "INCLUSION OF DIFFERENT COPPER AND ZINC SOURCES IN DIET OF GROWING AND FINISHING PIGS", utilizing 256 Swines (males and females), protocol number CEUA 4110030918 (ID 005882), under the responsibility of **Simone Maria Massami Kitamura Martins and team; Maitê Vidal Mendonça** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 12/12/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **10/2018** a **04/2019**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga**

Espécie: **Suíños**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **70 a 155 dias**

N: **256**

Linhagem: **híbrido comercial**

Peso: **25 a 100 kg**

Local do experimento: Suinocultura da Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga

Comentário da CEUA: O projeto contemplará 256 leitões provenientes da Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga. Os números de patrimônio das porcas progenitoras foram apresentados. Esses leitões serão submetidos a diferentes dietas, porém sem jejum.

São Paulo, 02 de março de 2021

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor (a): MENDONÇA, Maitê Vidal

Título: Inclusão de diferentes fontes de cobre e zinco na dieta de suínos de crescimento e terminação

Tese 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 Doutora em Ciências

Data: _____ / _____ / _____

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico à minha mãe Maria Eunice e ao meu irmão Giovanni

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Simone, pela orientação, ensinamentos, confiança e disponibilidade irrestrita. Agradecimento que é extensivo ao Prof. Dr. André Furugen, pela oportunidade, ensinamentos pessoais e profissionais.

À minha mãe por toda a dedicação, amor e apoio durante toda a minha vida. Por ser meu exemplo pessoal e profissional, meu porto seguro e meu maior orgulho. Obrigada por tudo! Amo você!

Ao meu irmão Giovani, pela amizade, paciência, companheirismo e carinho. Muito obrigada pela acolhida em seu apartamento, por um período do meu doutorado, sempre com muita alegria e disposição.

Ao Paulo de Tarso, pelo carinho e conselhos sempre pertinentes.

Ao Ricardo, pelo amor, paciência, companheirismo e amizade.

Aos meus amigos de infância Adriana, Beatriz, Cássio e Jeanne pela amizade e momentos de descontração.

Aos pós-graduandos Denis e Cristian pela ajuda essencial na execução desta pesquisa. Agradeço em especial ao Denis por toda a ajuda inclusive em feriados e datas comemorativas sempre com paciência e amizade.

Aos meus amigos e colegas do grupo de pesquisa: Ana Carolina, Ana Paula, Cristian, Denis, Gisele e Marina pela convivência e troca de conhecimentos.

À Profa. Dra. Angélica Pereira pela ajuda fundamental neste trabalho e condução das alunas integrantes do Laboratório Ciência da Carne da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia que contribuíram com as análises.

À Profa. Dra. Mariza Pires de Melo e à Silvana Pugine, do Laboratório de Química Biológica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, pelos ensinamentos e ajuda com análises.

Ao Prof. Dr. Saulo Silva e orientada Mariane Beline pelo empréstimo fundamental do pHmêtro e ao Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda e orientada Carla Patrícia por possibilitarem o armazenamento das amostras.

Aos funcionários da Suinocultura da Prefeitura do Campus Administrativo Fernando Costa (USP - Pirassununga): Ademir, Adenilson e Anderson pela colaboração.

Aos estagiários que ajudaram na condução do experimento e também aos funcionários da Fábrica de Rações e do Abatedouro Escola da Prefeitura do Campus Administrativo Fernando Costa (USP - Pirassununga) por todo o trabalho e ajuda.

Ao João Paulo, secretário do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) por toda a atenção e trabalho.

À Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) e ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal (VNP), pela oportunidade.

À Dra. Karolina Von Zuben Augusto por toda a atenção, confiança e ajuda durante a minha pós-graduação.

À Trouw Nutrition pelo auxílio financeiro à pesquisa.

À CAPES pela bolsa concedida. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

In memoriam

Ao meu pai Ivo Mendonça, que certamente ficaria feliz de ver este trabalho concluído.

RESUMO

MENDONÇA, M. V. **Inclusão de diferentes fontes de cobre e zinco na dieta de suínos de crescimento e terminação.** [Inclusion of different sources of copper and zinc in the diet of growing and finishing pigs]. 2021. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

A inclusão dos minerais cobre (Cu) e zinco (Zn) advindos das fontes tradicionais como sulfato de cobre (CuSO₄) e óxido de zinco (ZnO), na dieta de suínos em crescimento e terminação, tem melhorado o desempenho e a qualidade da carne. A utilização de novas moléculas, conhecidas como hidroxiclreto de cobre (CHC) e hidroxiclreto de zinco (ZHC) pode ser tão ou mais eficaz que as tradicionais fontes inorgânicas (CuSO₄ e ZnO) por reduzirem o estresse oxidativo nos animais *in vivo* e na carne. Este estudo objetivou avaliar o efeito da cossuplementação de CHC e ZHC no desempenho, frequência de escore fecal normal, qualidade da carne e da carcaça e atividade antioxidante em comparação às fontes inorgânicas tradicionais (CuSO₄ e ZnO) na dieta de suínos em crescimento e terminação. Foram utilizados 256 suínos de 70 a 154 dias (d) de idade com $27,70 \pm 0,33$ kg, distribuídos em 4 tratamentos, com oito leitões por baía e oito repetições por tratamento. As dietas foram fornecidas aos suínos em crescimento dos 70 a 112 dias e na terminação dos 112-154 dias de idade. O Cu em baixo nível foi incluído em 100 mg/kg e 90 mg/kg, no crescimento e terminação, respectivamente, e 150 mg/kg em ambos os períodos como nível alto. O zinco foi cossuplementado na dieta em 80 mg/kg e 70 mg/kg, respectivamente, no período de crescimento e terminação. Os animais dos tratamentos T1 e T2 receberam a fonte inorgânica tradicional de ambos os minerais (CuSO₄ e ZnO) e os animais dos tratamentos T3 e T4 a fonte hidroxiclreto (CHC e ZHC). A flavomicina foi associada aos tratamentos com baixos níveis de Cu na inclusão de 50g/ton. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com medidas repetidas no tempo. Os animais foram blocados pelo peso e os dados foram submetidos à análise de variância (PROC MIXED) utilizando o SAS. O efeito de tratamento foi analisado pelo teste PDIFF e o nível de significância considerado foi $P < 0.05$, e $P \leq 0.10$ foi considerado como tendência. Os suínos alimentados com a fonte hidroxiclreto apresentaram maior peso vivo aos 154 d, ganho de peso médio diário dos 70 aos 154 d, peso de carcaça quente e fria e maior frequência de dias com fezes normais em comparação aos animais alimentados com alto nível de CuSO₄. Os animais que receberam alto nível de CHC apresentaram maior comprimento de carcaça em relação aos demais tratamentos. Não houve diferença entre os tratamentos para a qualidade da carne. Os suínos alimentados com alto nível

de CuSO_4 apresentaram maior atividade da superóxido dismutase do que os outros tratamentos. Animais alimentados com baixo nível de CHC apresentaram maior formação de malondialdeído em comparação aos demais tratamentos. Em conclusão, a cossuplementação de hidroxiclreto de cobre e de zinco na dieta de suínos de crescimento e terminação melhora o desempenho, as características de carcaça e aumenta a frequência de escore fecal normal.

Palavras-chave: Atividade antioxidante. Desempenho. Hidroxiclreto de cobre. Hidroxiclreto de zinco. Qualidade da carne.

ABSTRACT

MENDONÇA, M. V. **Inclusion of different sources of copper and zinc in the diet of growing and finishing pigs.** [Inclusão de diferentes fontes de cobre e zinco na dieta de suínos de crescimento e terminação]. 2021. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

The inclusion of copper (Cu) and zinc (Zn) minerals from traditional sources such as copper sulfate (CuSO₄) and zinc oxide (ZnO) in the diet of grower and finisher pigs has improved the growth performance and meat quality. The use of new molecules known as copper hydroxychloride (CHC) and zinc hydroxychloride (ZHC) can be as or more effective than traditional inorganic sources (CuSO₄ and ZnO) for reducing oxidative stress in animals *in vivo* and meat. This study aimed to evaluate the effect of CHC and ZHC co-supplementation on growth performance, normal fecal score frequency, meat and carcass quality, and antioxidant activity compared to traditional inorganic sources (CuSO₄ and ZnO) in the diet of grower-finisher pigs. A total of 256 pigs were used from 70 to 154 days (d) old with 27.70 ± 0.33 kg, distributed in 4 treatments, with eight pigs in each pen and eight replications per treatment. Diets were provided to grower pigs from 70 to 112 days of age and in the finisher 112-154 days of age. Cu was considered the low level at 100 mg Cu/kg and 90 mg Cu/kg, respectively, and 150 mg Cu/kg in both periods as high level in the grower and finisher periods. Zinc was co-supplemented in the diet at 80 mg/kg and 70 mg/kg, respectively, in the grower and finisher period. Animal from treatments T1 and T2 received the traditional inorganic source of both minerals (CuSO₄ and ZnO) and animals from treatments T3 and T4 received the hydroxychloride source (CHC and ZHC). The flavomycin was associated with treatments with low Cu levels in the inclusion of 50g/ton. The experimental design was in randomized blocks with repeated measures. The animals were blocked by weight and the data were submitted to analysis of variance (PROC MIXED) using the SAS. The treatment effect was analyzed by the PDIFF test and the significance level was considered to be $P < 0.05$, and $P \leq 0.10$ was considered as a trend. Pigs fed with the hydroxychloride source had higher live weight at 154 d, average daily weight gain from 70 to 154 d, hot and cold carcass weight and higher frequency of days with normal feces compared to animals fed with high content of CuSO₄. The animals that received treatment with high level of CHC had the longest carcass length in relation to the other treatments. There was no difference among treatments for meat quality. Pigs fed with high

level of CuSO_4 showed higher superoxide dismutase activity than the other treatments. Animals fed with low level of CHC showed greater formation of malondialdehyde compared to the other treatments. In conclusion, copper and zinc hydroxychloride co-supplementation in the diet of grower-finisher pigs improves growth performance, carcass characteristics and increases the frequency of normal fecal score.

Keywords: Antioxidant capacity. Copper hydroxychloride. Growth performance. Pork meat quality. Zinc hydroxychloride.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Alojamento dos suínos na unidade de crescimento e terminação	41
Figura 2 – Pesagens	44
Figura 3 – Avaliações da carcaça	46
Figura 4 – Avaliação da temperatura e do pH no músculo <i>Semimembranosus</i>	47
Figura 5 – Mensuração no músculo <i>Longissimus dorsi</i>	48
Figura 6 – Avaliação da espessura de gordura subcutânea no músculo <i>Longissimus dorsi</i>	48
Figura 7– Coleta de amostras do músculo <i>Longissimus dorsi</i>	49
Figura 8 – Avaliação da cor por meio de colorímetro portátil	50
Figura 9 – Avaliação da perda de água por gotejamento	50
Figura 10 – Avaliação da perda de peso por cocção	51
Figura 11 – Avaliação da força de cisalhamento.....	52
Figura 12– Peso individual (kg) dos animais dos 70 aos 154 dias de idade.....	56
Figura 13 – Frequência de dias com fezes normais (%) dos leitões dos 70 aos 154 dias de idade	59
Figura 14 – Valores de comprimento de carcaça e espessura de toucinho.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dietas fornecidas aos leitões durante o período experimental (Continua)	42
Tabela 2 – Desempenho dos leitões dos 70 aos 154 dias (Continua).....	57
Tabela 3 – Valores de peso das carcaças quente, fria e rendimento de carcaça.....	59
Tabela 4 – Valores de pH e de temperatura 1 hora e 24 horas após o abate	61
Tabela 5 – Avaliação da concentração de desoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina	61
Tabela 6 – Valores de área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea, profundidade de lombo e rendimento de carne magra.....	62
Tabela 7 – Avaliação dos componentes da cor, croma e tonalidade	62
Tabela 8 – Avaliação da perda de água por gotejamento, perda de peso por cocção e força de cisalhamento	63
Tabela 9 – Avaliação da superóxido dismutase (SOD, U/mg proteína), glutathione peroxidase (GPx, U/g proteína), catalase (CAT, U/g proteína) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, mg malondialdeído/kg carne).....	64

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 FUNÇÕES DO COBRE E ZINCO EM SUÍNOS	20
2.1.1 Cobre	20
2.1.2 Zinco	22
2.2 FONTES HIDROXI MINERAIS	24
2.3 ASSOCIAÇÃO DE COBRE E ZINCO	28
2.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	30
2.5 QUALIDADE DA CARNE	33
3. HIPÓTESES	37
4. OBJETIVOS	39
5. MATERIAL E MÉTODOS	41
5.1 LOCAL, INSTALAÇÕES E ANIMAIS	41
5.2 DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS NOS TRATAMENTOS E MANEJO ALIMENTAR	41
5.3 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO	44
5.4 FREQUÊNCIA DE DIAS COM ESCORE FECAL NORMAL	44
5.5 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA	45
5.5.1 Espessura de toucinho e comprimento de carcaça	45
5.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA CARNE	46
5.6.1 pH e temperatura	46
5.6.2 Avaliação da mioglobina	47
5.6.3 Área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e profundidade de lombo	48
5.6.4 Cor	49
5.6.5 Perda de água por gotejamento	50
5.6.6 Perda de peso por cocção	50
5.6.7 Força de cisalhamento	51
5.7 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE	52
5.8. ESPÉCIES REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)	53
5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
6. RESULTADOS	56

6.1 DESEMPENHO	56
6.2 FREQUÊNCIA DE DIAS COM ESCORE FECAL NORMAL	58
6.3 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA	59
6.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA CARNE.....	60
6.4.1 pH e temperatura.....	60
6.4.2 Avaliação da mioglobina.....	61
6.4.3 Área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e profundidade de lombo.....	61
6.4.4 Cor.....	62
6.4.5 Perda de água por gotejamento, perda de peso por cocção e força de cisalhamento.....	63
6.5 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E DETERMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)	63
7. DISCUSSÃO	66
8. CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS	76

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

De acordo com o Relatório Anual 2021 da ABPA, houve aumento de 10,22% na produção brasileira de carne suína do ano de 2019 para 2020 (de 3,983 para 4,436 milhões de toneladas). Espera-se que a produção brasileira de carne suína continue crescendo, com projeção de 5,1 milhões de toneladas produzidas nos próximos dez anos, conforme demonstrado pelo Fiesp-Outlook 2029 (2020). Assim, é necessário que as criações de suínos obtenham melhoras nos índices produtivos e na qualidade da carne. Uma maneira de melhorar esses índices produtivos é por meio de avanços no manejo, melhoramento genético, bem-estar animal, condições sanitárias e nutrição.

Nesse contexto, dentre as diversas alternativas a serem utilizadas na nutrição de suínos em fase de crescimento e terminação, tem sido destacada a inclusão de minerais na dieta. Dentre os minerais, o cobre (Cu) e o zinco (Zn) têm despertado maior interesse, pois além das inúmeras funções biológicas, ainda possuem ação antimicrobiana quando incluídos em níveis elevados (BERTOL; BRITO, 1995). Importante lembrar que a suplementação desses minerais é comumente realizada nas formas sulfato de cobre (CuSO_4) e sulfato de zinco ou óxido de zinco (ZnSO_4 ou ZnO).

Contudo, tem sido demonstrado que o uso de metais pesados como o ZnO e o CuSO_4 têm potencial de reduzir ou inibir a eficácia de outros nutrientes quando adicionados à uma pré-mistura ou à dieta completa, devido à sua ligação iônica altamente reativa e sua dissociação rápida quando exposta à água, indiferente do pH do meio (AGAPITO; SEYBOTH, 2017). Ademais, devido à ligação reativa e rápida dissociação das fontes inorgânicas tradicionais (óxido e sulfato), os animais têm baixa absorção e conseqüentemente, eliminação nas fezes. Por se tratar de metais pesados, esses minerais podem acumular no solo e poluir o meio ambiente. Outra preocupação com o uso dessas fontes inorgânicas tradicionais é com a resistência antimicrobiana, devido à capacidade delas em promover pressão seletiva sobre bactérias resistentes a antimicrobianos.

Pensando nisso, novas moléculas têm sido desenvolvidas com o intuito de tornar os minerais menos reativos, conhecidas como minerais hidroxicloreto. Essas moléculas permitem que os minerais atuem no local apropriado seja no trato gastrointestinal ou sistemicamente, em vez de estarem envolvidos em interações antagonicas. A fonte mineral inorgânica hidroxicloreto tem uma estrutura cristalina formada por ligações covalentes entre o íon metálico solúvel, vários grupos hidroxila e íons cloreto (CEMIN et al., 2017). Além disso, a baixa solubilidade em água e a alta solubilidade em soluções ácidas (CAO et al., 2000) os tornam

menos reativos com outros componentes da dieta (OLUKOSI et al., 2018). Deste modo, essa molécula mineral oferece maior estabilidade na ração, maior biodisponibilidade, além dos benefícios sobre o desempenho de suínos em comparação aos tradicionais minerais reativos (CROMWELL et al., 1998; ZHANG; GUO, 2007) e possível redução da preocupação ambiental e resistência antimicrobiana.

Além dos efeitos na melhora do desempenho dos animais (COBLE et al., 2017) e na redução da frequência de diarreia (BORAH; PAUL, 2018), o Cu e o Zn também podem atuar na redução do estresse oxidativo por serem cofatores de enzimas como a superóxido dismutase (responsável por reduzir a propagação de radicais livres e neutralizar o estresse oxidativo) (JONES; SUTTLE, 1981; GAUDRÉ, 2016) e a catalase (enzima que possui possíveis sítios de ligação dos íons Zn e Cu) (SILVA et al., 2007). É importante ressaltar que a suplementação desses microminerais na dieta de suínos de crescimento e terminação também pode melhorar a qualidade da carcaça e da carne (HERNANDEZ et al., 2008).

Nesse sentido, relata-se que o Zn compõe o grupo estrutural e funcional para algumas enzimas metabólicas lipídicas e desempenha papel fundamental na supressão de radicais livres e na inibição da peroxidação lipídica, resultando em mais carne magra e área de olho de lombo (ZHANG et al., 2014). Além do efeito na estabilidade oxidativa, o cobre também melhora a qualidade da carne ao aumentar a profundidade de lombo, porcentagem de carne magra e o peso de carcaça quente (COBLE et al., 2017).

Entretanto, poucos estudos avaliaram as características de carcaça, qualidade da carne e capacidade antioxidante em suínos cossuplementados com a fonte hidroxiclreto de Cu e de Zn em níveis elevados. Houve mais estudos com esses minerais separadamente, nos quais o Cu melhorou o desempenho dos animais de crescimento e terminação suplementados com 150 mg/kg (COBLE et al., 2017; ESPINOSA et al., 2020) e o Zn resultou em maior desempenho nos suínos suplementados entre 80-100 mg/kg (CARPENTER et al., 2016; VAN KUIJK et al., 2019) e com 150 mg/kg um aumento no rendimento de carcaça (CEMIN et al., 2019).

Com base na literatura, levantamos a hipótese de que, devido às propriedades químicas das fontes minerais, o desempenho e a qualidade da carcaça dos suínos de crescimento e terminação cossuplementados com a fonte hidroxiclreto de Cu e de Zn seriam superiores aos alimentados com as fontes inorgânicas CuSO_4 e ZnO . Portanto, o presente estudo objetivou avaliar a cossuplementação de hidroxiclreto de cobre e de zinco na dieta de suínos em crescimento e terminação sobre o desempenho, frequência de dias com escore fecal normal, características de carcaça, qualidade e capacidade antioxidante da carne.

REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

Nesta seção, encontram-se os temas que foram base para as hipóteses deste estudo.

2.1 FUNÇÕES DO COBRE E ZINCO EM SUÍNOS

2.1.1 Cobre

Os minerais são elementos necessários para a manutenção, o crescimento e a reprodução dos suínos (LIU et al., 2018) e constituem parte importante do organismo animal, representando de 2,8 a 3,2% do peso vivo dos suínos (BERTECHINI, 2004). A suplementação mineral aumentou nos últimos anos, por diversos motivos, dentre eles o melhoramento genético que tornou os animais mais exigentes nutricionalmente devido ao ganho de peso acelerado e ao maior tamanho de leitegada, redução no uso de farinhas de origem animal em decorrência de problemas sanitários e as utilizações de rações à base de ingredientes vegetais, pobre em minerais (REGINA; BERTECHINI, 2010).

É difícil determinar as exigências de minerais e muitas estimativas levam em consideração o nível mínimo exigido para suprir um sintoma de deficiência e não necessariamente com o intuito de promover a produtividade ou aumentar a imunidade (CLOSE, 2003). Contudo, os níveis dietéticos de cobre normalmente são suficientes para atender à exigência nutricional dos leitões de crescimento e terminação, sendo descritos na literatura valores de 3 a 6 mg/kg (NRC, 1998; NRC, 2012; BLAABJERG, POULSEN, 2017) e de 5,88 a 8,42 mg/kg (ROSTAGNO et al., 2017).

O cobre em níveis nutricionais é importante por atuar na reprodução, no crescimento, no desenvolvimento ósseo e de tecidos conectivos, na pigmentação do pelo, lã e plumas nas diferentes espécies animais, na formação do sangue e na formação de uma série de enzimas cúpricas (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999; GATTÁS; BARBOSA, 2004). E, ainda, está envolvido na respiração celular, funcionamento do sistema imune, metabolismo do colesterol e glicose e em diversas reações enzimáticas, sendo componente essencial de importantes metaloenzimas como a superóxido dismutase e a catalase (CORREA, 2010).

Nos animais monogástricos, em geral, o cobre é pouco absorvido, em torno de 15 – 30% do ingerido nos animais jovens e 5 – 10% nos animais adultos, sendo o duodeno o principal sítio de absorção (MCDOWEL, 1992). A absorção de cobre ocorre primariamente no duodeno

e na porção anterior do jejuno, e pode ser armazenado em pequenas concentrações nos diferentes tecidos como os rins, o coração e o cérebro, sendo o principal órgão armazenador o fígado, na forma de metaloproteína (REGINA; BERTECHINI, 2010).

Há mais de 40 anos, este elemento vem sendo estudado como promotor do crescimento, principalmente em leitões recém-desmamados, pois quando incluído em níveis farmacológicos, de 125 a 250 mg/kg, estimula o crescimento (DEBSKI, 2016), sendo descrito por Edmonds e Baker (1986) que o excesso de cobre, 650 mg/kg, resulta em prejuízo no ganho de peso e na conversão alimentar. O cobre pode causar toxicidade quando adicionado à dieta por extensos períodos e em níveis maiores que 250 mg/kg, no qual o acúmulo excessivo de cobre no fígado e outros órgãos vitais ocasiona icterícia e níveis reduzidos de hemoglobina (NRC, 2012).

A dose mais utilizada em estudos com cobre é a de 250 mg/kg, já que nessa dosagem o cobre parece modificar a composição da população bacteriana no trato gastrointestinal (DEBSKI, 2016). Em suínos de crescimento e terminação, a inclusão de cobre entre 100 a 250 mg/kg é eficaz como promotor de crescimento com atividade antibacteriana (HUANG et al., 2010). Conforme demonstrado em estudo de Prince et al. (1979), a adição de 250 mg/kg de sulfato de cobre (CuSO₄) aumentou a taxa de ganho de peso e eficiência alimentar de suínos em crescimento e terminação. Após avaliar os resultados de 55 estudos com inclusão de cobre na dieta de suínos, Sales (2014) verificou que a suplementação de cobre em nível superior a 200 mg/kg na dieta basal é necessária para se obter o crescimento máximo dos suínos desde o período pós-desmame até a fase de terminação.

Porém, de acordo com Coble et al. (2013), estudos com cobre durante o período de terminação ainda são limitados. O mecanismo de ação pelo qual os efeitos benéficos da suplementação do cobre em níveis farmacológicos ocorrem ainda é incerto (NRC, 2012; MA et al., 2015). Uma possível explicação seria o efeito antimicrobiano, com redução na carga microbiana e nos respectivos metabólitos produzidos no intestino, permitindo deste modo o maior aproveitamento dos nutrientes (JENSEN, 2016). E, também, atuação como agente antibacteriano ao modificar quantitativamente algumas populações bacterianas Gram-positivas no intestino (ZHAO et al., 2014). Outros autores afirmam que a ação poderia estar relacionada ao efeito sistêmico, no qual a injeção intravenosa de cobre estimula o crescimento dos leitões desmamados possivelmente ao causar impacto na população de bactérias no lúmen semelhante à suplementação dietética (ZHOU et al., 1994; ZHAO et al., 2014). Estudos desenvolvidos por Li et al. (2008) demonstraram que o cobre parece estimular o apetite, promovendo aumento na concentração de neuropeptídeo Y (NPY) e na expressão de RNA mensageiro de NPY em nível hipotalâmico em suínos suplementados com 125 e 250 mg/kg em comparação a 10 mg/kg de

sulfato de cobre na dieta, e, conseqüentemente, eleva o desempenho dos animais. Em concordância, Zhu et al. (2011) obtiveram aumento da ingestão de ração ao suplementarem a dieta de leitões desmamados por 21 dias com 250 mg/kg de sulfato de cobre, devido ao aumento dos níveis de expressão de RNAm de NPY no hipotálamo.

Outro efeito da adição do cobre é a melhora da consistência fecal dos leitões, que pode ser mediado por um efeito na atividade enzimática e na digestibilidade dos nutrientes (LUO; DOVE, 1996). A suplementação com altas concentrações de cobre na dieta pode levar à diminuição do nível de amins e, conseqüentemente, reduzir a incidência de diarreia (ZHANG et al., 2019), uma vez que o cobre pode atuar como cofator da enzima diamina oxidase, que é responsável por catalisar a oxidação de diaminas e putrescina a aldeídos (FESTA; THIELE, 2011; KIM et al., 2008). Em estudo de Bikker et al. (2016), leitões suplementados com 160 mg/kg de sulfato de cobre durante o período de creche obtiveram melhora do desempenho e da consistência fecal. A ocorrência de fezes menos pastosas é um efeito relevante por possibilitar a redução do uso de antimicrobianos como promotores de crescimento ou de uso terapêutico (BIKKER et al., 2016).

De acordo com Ma et al. (2015), o uso de cobre em níveis elevados pode inibir coliformes e possíveis agentes patogênicos (HØJBERG et al., 2005), pode contribuir na melhoria da saúde intestinal ao aumentar a altura das vilosidades e reduzir a profundidade da cripta, e conseqüentemente a proporção entre vilosidade e cripta no duodeno e no jejuno (ZHAO et al., 2007). Podendo, dessa maneira, especular que o cobre atua como agente antibacteriano, mas também modifica a morfologia intestinal para melhorar a saúde intestinal.

2.1.2 Zinco

A exigência nutricional de zinco para leitões na fase de crescimento e terminação segundo o NRC (1998; 2012; BLAABJERG, POULSEN, 2017) é de 50 a 80 mg/kg, e de acordo com Rostagno et al. (2017) é de 53,2 a 76,2 mg/kg. Contudo, a disponibilidade é influenciada por diversos fatores e conseqüentemente ocorre a inclusão de níveis maiores nas dietas. Assim, a adição de zinco é tipicamente até cerca de 150 mg/kg para suínos de crescimento e terminação (GAUDRÉ, 2016).

O zinco é um nutriente essencial que desempenha inúmeras funções em várias atividades enzimáticas, no metabolismo de lipídios e glicose (LI et al., 2016). O zinco também está envolvido no metabolismo das proteínas, dos carboidratos, dos nucleotídeos e da vitamina

A, sendo necessário na calcificação dos ossos e no desenvolvimento do sistema imunológico (YAGÜE, 2009) e também na produção e secreção de hormônios de crescimento, insulina e hormônios sexuais (LI et al., 2016). Ademais, o zinco ainda pode atuar como componente enzimático ou como agente catalítico nas reações enzimáticas (GAUDRÉ, 2016), está presente em mais de 200 metaloenzimas, incluindo a superóxido dismutase, enzima que possui efeito protetor e atuação antioxidante na peroxidação lipídica (WANG et al., 2010). Além disso, participa da regulação do apetite que pode envolver a expressão gênica, sendo observado, em leitões suplementados com zinco, o aumento na secreção de grelina gástrica, responsável por estimular o apetite (ZHANG; GUO, 2008).

Após a absorção do trato gastrointestinal, o zinco inorgânico entra nos enterócitos e pode permanecer nas células até ser ligado a uma proteína rica em cisteína conhecida como metalotioneína ou até passar por meio da membrana basolateral para o plasma (LEWIS; SOUTHERN, 2001; SCHMITT, 2018). Existem muitos fatores que podem influenciar a absorção de zinco, podendo ser considerados ativadores ou inibidores deste processo. Entre os ativadores da absorção estão o ácido picolínico, secretado pelo pâncreas, a vitamina B6 que aumenta a secreção de ácido picolínico, o citrato e aminoácidos como glicina, histidina, lisina e metionina. No grupo dos inibidores da absorção estão os ácidos: oxálico e fítico, os taninos, a fibra, o selênio, o ferro, o cobre e o cálcio em quantidades elevadas.

A toxicidade do zinco depende da fonte, nível da dieta, duração da alimentação e dos níveis de outros minerais na dieta. O nível alimentar máximo tolerável para suínos foi estabelecido em 1000 mg/kg, com sintomas de toxicidade começando a aparecer em 2000 mg/kg (NRC, 2012, GAUDRÉ, 2016).

O uso do zinco na forma inorgânica de óxido de zinco é comum em sistemas de criação de suínos como melhorador de desempenho, devido ao baixo custo e por ser eficiente no controle da diarreia pós desmame (MUNIZ et al., 2010). Para suínos de crescimento e terminação, Carpenter (2017) concluiu que o zinco beneficia o desempenho desses animais ao suplementar as dietas com níveis maiores (100 mg/kg) que os recomendados pelo NRC (2012) de 50 mg/kg.

Altas concentrações de zinco reduzem a incidência de diarreia, melhoram o desempenho dos leitões e desenvolvem melhor capacidade de resistência a doenças (BORAH; PAUL, 2018). Segundo os autores, o uso do zinco na dieta aumenta o desempenho dos animais ao ativar os vários sistemas enzimáticos essenciais para a divisão e proliferação celular.

De acordo com Carlson, Hill e Link (1999), à medida que se eleva a concentração de zinco na dieta, aumenta a quantidade de zinco ligado à metalotioneína intestinal, proteína

envolvida na homeostase desse mineral e nas alterações fisiológicas do trato gastrointestinal, conseguindo resultar em aumento da absorção dos nutrientes e alteração da morfologia do intestino, podendo, dessa forma, ser um possível mecanismo de ação responsável pelo aumento do desempenho dos leitões suplementados com doses farmacológicas de zinco. Soma-se a isso o fato de a metalotioneína induzida pelo acúmulo de zinco no tecido intestinal proteger o tecido do dano oxidativo (CHAI et al., 2014), devido às propriedades antioxidantes (KOURY, DONANGELO; 2003).

É provável que a adição do zinco em níveis farmacológicos afete não só a morfologia intestinal, mas também os mecanismos de defesa do hospedeiro (DEBSKY, 2016) e é possível que a absorção de zinco no intestino possa ocorrer por difusão passiva, e, indiretamente, eleve a função de barreira intestinal como mecanismo de proteção do epitélio. Além disso, a suplementação com óxido de zinco pode estabilizar a flora intestinal e manter a alta diversidade de coliformes, ocasionando competição ativa para colonizar os receptores de cepas diarreicas (KATOULI et al., 1999).

Em suma, de maneira geral, ambos os minerais (cobre e zinco) são importantes na nutrição animal por desempenharem papéis estruturais ou catalíticos em muitas proteínas de ligação a metais e metaloenzimas no organismo dos animais suplementados (JIAO et al., 2018).

2.2 FONTES HIDROXI MINERAIS

Fontes inorgânicas de cobre e zinco são geralmente adicionadas às dietas de suínos em crescimento e terminação para satisfazer os requerimentos de manutenção e crescimento (HERNANDEZ et al., 2008).

Na alimentação animal, o cobre pode ser encontrado na forma inorgânica como carbonato de cobre, óxido de cobre, sulfato de cobre, sulfato de cobre penta hidratado (REGINA; BERTECHINI, 2010), hidroxicloreto de cobre (SHELTON et al., 2011) também referido como cloreto de cobre tribásico e cloreto de cobre tri-hidroxil. A suplementação de cobre mais utilizada na dieta animal é na forma de sulfato de cobre (CuSO_4) (HUANG et al., 2010). No Brasil, o sulfato de cobre penta hidratado é o mais utilizado por ser considerado padrão ou com maior disponibilidade (GATTÁS; BARBOSA, 2004). Igualmente se verificam com o zinco nas formas de carbonato de zinco, óxido de zinco, sulfato de zinco (REGINA; BERTECHINI, 2010) e hidroxicloreto de zinco (ZHANG; GUO, 2007), também conhecido

como cloreto de zinco tetrabásico. O uso do zinco na forma inorgânica de óxido de zinco é comum em sistemas de criação de suínos, devido ao baixo custo (MUNIZ et al., 2010).

Fontes minerais de sulfato (35% Zn; 25% Cu) são as fontes minerais mais utilizadas na indústria de ração animal devido à sua alta solubilidade e custo relativamente baixo em comparação com o hidroxiclreto e fontes de minerais orgânicos. Os sulfatos são caracterizados por possuírem uma ligação molecular lábil que conecta o íon metálico ao grupo sulfato, permitindo alta solubilidade em água e soluções ácidas (VILLAGÓMEZ-ESTRADA et al., 2021).

Contudo, segundo Debski (2016), o uso de metais pesados como zinco e cobre causa grande preocupação em razão de seu uso prolongado possivelmente acumular no solo e poluir o meio ambiente (HEO et al., 2013), e também por promover pressão seletiva sobre bactérias resistentes a antimicrobianos, facilitando a manutenção da resistência antimicrobiana (SLIFIERZ; FRIENDSHIP; WEESE, 2014).

Estudos discutem a possibilidade de aumento da resistência à alguns microrganismos quando expostos por períodos prolongados a doses farmacológicas de zinco, como é o caso do *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA) (SLIFIERZ; FRIENDSHIP; WEESE, 2014; DEBSKI, 2016). Embora a MRSA raramente seja um patógeno clinicamente relevante em suínos, sua transmissão para seres humanos pode representar riscos para a saúde (CASEY et al., 2013) por ser causador de infecções cutâneas e de tecidos moles, pneumonia e bacteremia (SLIFIERZ; FRIENDSHIP; WEESE, 2014).

Esses fatores acima descritos motivaram a legislação europeia a atender apenas às exigências nutricionais dos animais, limitando a adição de óxido de zinco em apenas 150 mg de Zn/kg de ração (MILANI, 2016) para leitões desmamados. E, atualmente, com a crescente preocupação foi elaborada a proposta pelo Comitê dos Medicamentos para Uso Veterinário (CVMP) de banir o uso farmacológico do óxido de zinco em leitões desmamados na União Europeia nos próximos anos (WILCOCK et al., 2017).

Ademais, tem sido demonstrado que o uso de metais pesados como o ZnO e o CuSO₄ têm potencial de reduzir ou inibir a eficácia de outros nutrientes quando adicionados à uma pré-mistura ou à dieta completa, devido à sua ligação iônica altamente reativa e sua dissociação rápida quando exposta à água, indiferente do pH do meio (AGAPITO; SEYBOTH, 2017).

Assim, novas moléculas de microminerais menos reativas têm sido desenvolvidas, como por exemplo, o hidroxiclreto de zinco (ZHC) e o hidroxiclreto de cobre (CHC) (CORLESS et al., 2000). O hidroxiclreto de cobre foi introduzido na indústria de ração animal em 1995

(COHEN; STEWARD, 2014) seguido pela forma hidroxicloreto de zinco em 2014 (SCHMITT, 2018).

Tem sido observado que esses minerais formam uma ligação covalente suficientemente forte para limitar as reações antagonistas, mas suficientemente fraca para facilitar a absorção no local desejado, oferecendo maior estabilidade na ração, maior biodisponibilidade em comparação aos minerais inorgânicos, tais como o CuSO_4 e ZnO que são formados por ligações iônicas mais fracas e, portanto, mais reativos (ZHANG; GUO, 2007).

A fonte mineral hidroxicloreto tem uma estrutura cristalina formada por ligações covalentes entre o íon metálico solúvel, vários grupos hidroxila e íons cloreto (CEMIN et al., 2017). Além disso, a baixa solubilidade em água e alta solubilidade em soluções ácidas (CAO et al., 2000) tornam essa fonte mineral menos reativa com outros componentes da dieta (OLUKOSI et al., 2018).

Em estudo de Lu et al. (2010), foi observado que 200 mg Cu/kg como sulfato de cobre impactou negativamente a estabilidade da vitamina E na ração durante o armazenamento. Em contrapartida, 200 mg Cu/kg como hidroxicloreto de cobre não afetou negativamente a estabilidade da vitamina E, e, apresentou inclusive resultados próximos à ração controle com apenas 18 mg Cu/kg oriundo das matérias-primas da dieta.

Isto posto, os minerais hidroxicloretos são moléculas menos reativas, com excelente estabilidade na dieta, maior biodisponibilidade e benéficas para o desempenho dos suínos em comparação com as fontes minerais inorgânicos comumente utilizadas (CROMWELL et al., 1998; ZHANG; GUO, 2007). O hidroxicloreto de zinco e de cobre é uma fonte mineral inorgânica, não higroscópica e com baixa solubilidade em água, mas altamente solúvel em condições ácidas (ZHANG e GUO, 2007; CARPENTER et al., 2019).

Acrescente-se que por se tratar de uma fonte com maior biodisponibilidade e estabilidade, o hidroxicloreto de zinco é uma alternativa para ser utilizada em substituição ao banimento do óxido de zinco para leitões desmamados, com a possibilidade de ser utilizado em menores níveis de inclusão.

Espinosa et al. (2020) concluíram que a suplementação de hidroxicloreto de cobre na dieta melhorou o ganho de peso médio diário, a conversão alimentar e aumentou a quantidade de RNAm de genes envolvidos na captação, transporte e oxidação de ácidos graxos. Segundo os autores, é possível que o hidroxicloreto de cobre eleve o metabolismo da gordura, resultando em mais energia para os animais, o que poderia explicar as melhores taxas de conversão alimentar dos suínos.

Segundo Coble et al. (2017), a adição de CHC em substituição ao CuSO_4 pode ser vantajosa, pois o CuSO_4 possui maior solubilidade em comparação ao CHC (menos que 1% solúvel em água), a concentração de Cu no CHC é superior (58%) em comparação ao CuSO_4 (25,4%), e ainda, o CHC apresenta menos reações oxidativas durante o armazenamento. Além disso, os autores sugerem uma possível preferência dos suínos pela ingestão de dietas com CHC em comparação a dietas com CuSO_4 .

Após adicionarem 75 e 150 mg/kg de CuSO_4 e CHC na dieta de leitões de terminação, os mesmos autores observaram maior desempenho dos animais, profundidade de lombo, porcentagem de carne magra e peso de carcaça quente aos 111 dias, após inclusão de 150 mg/kg de ambas as fontes. Em contrapartida, no estudo de Hastad et al. (2001), não houve vantagem em usar o hidroxiclreto de cobre como substituto do sulfato de cobre.

Em estudo de Zheng et al. (2018), não houve diferença significativa no desempenho de suínos suplementados com dietas contendo 130 mg/kg de CuSO_4 ou CHC. Entretanto, a fonte CHC aumentou significativamente a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) sérica após 30 dias de suplementação em comparação à fonte sulfato.

Apesar de alguns resultados de estudos avaliando a inclusão do sulfato de cobre ou do hidroxiclreto de cobre em dietas para suínos de crescimento e terminação demonstrarem melhora no desempenho, ainda não está claro se a resposta ao uso dessas fontes difere e mais pesquisas são necessárias (SCHMITT, 2018).

Já a adição do hidroxiclreto de zinco pode ser vantajosa por apresentar biodisponibilidade relativa 20% maior do que a do óxido de zinco (CORLESS et al., 2000). Essa molécula mineral oferece maior estabilidade na ração em comparação aos minerais reativos, maior biodisponibilidade, além dos benefícios sobre o desempenho de suínos (ZHANG; GUO, 2007).

Em estudo realizado por Carpenter et al. (2016), ao utilizarem um arranjo fatorial 2 x 3 com duas fontes de zinco (sulfato de zinco ou hidroxiclreto de zinco) e três níveis de inclusão (50, 100 ou 150 mg/kg), os autores sugeriram que alimentação dos suínos com zinco proporcionou maior peso corporal final, ganho de peso médio diário, rendimento de carcaça e peso da carcaça quente. Destaca-se que os animais suplementados com a fonte hidroxiclreto apresentaram maior peso de carcaça quente em comparação aos suplementados com sulfato de zinco (ZnSO_4).

Segundo Schmitt (2018), embora haja algumas evidências de melhorias no consumo de ração, na eficiência alimentar e no aumento do peso de carcaça quente com a adição de ZHC na dieta de suínos, pesquisas avaliando os efeitos do ZHC são limitadas.

Estudos com a associação dos minerais cobre e zinco nas fontes hidroxiclreto para suínos não são muito comuns. Nesse contexto, a associação de cobre e zinco, nas fontes hidroxiclreto dos 0 aos 35 dias de idade para frangos de corte, foi mais eficaz do que a suplementação com as fontes sulfato em relação ao desempenho e rendimento de carne (OLUKOSI et al., 2018), sendo importante avaliar a obtenção de resultados semelhantes para suínos.

2.3 ASSOCIAÇÃO DE COBRE E ZINCO

Devido às ações potenciais de cobre e zinco, envolvidos como cofatores em uma variedade de sistemas enzimáticos metabólicos em suínos (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999, HERNANDEZ et al., 2008), a suplementação desses microminerais associados durante a fase de crescimento e terminação pode melhorar o desempenho, a carcaça e a qualidade da carne dos animais.

No estudo de Lauridsen et al. (1999), a adição de cobre à dieta inibiu a taxa de oxidação lipídica, mas os autores explicaram que ainda não está claro de que forma o cobre afeta o metabolismo lipídico. Além disso, o zinco foi relatado como um composto estrutural e funcional para algumas enzimas metabólicas lipídicas e desempenha um papel crucial na supressão de radicais livres, inibindo a peroxidação lipídica, levando a maior quantidade de carne magra e área de olho de lombo (ZHANG et al., 2014).

Além do efeito na estabilidade oxidativa, o cobre melhora o desempenho levando a um aumento no peso da carcaça quente, profundidade do lombo e porcentagem de carne magra (COBLE et al., 2017). Assim, demonstra-se que o cobre ou zinco isoladamente podem beneficiar o desempenho, a qualidade da carcaça e da carne em suínos de crescimento e terminação, reforçando a necessidade de estudar a associação de ambos os minerais.

A literatura tem mostrado estudos comparando diferentes fontes dos minerais cobre e zinco para suínos de crescimento e terminação (CARPENTER et al., 2016; COBLE et al., 2017; ZHENG et al., 2018), mas não em associação. Existem estudos sobre a associação de cobre e zinco na dieta de suínos, e a maioria deles é voltado para leitões na fase de creche (dos 21 aos 63 dias de idade) (HILL et al., 2000; HØJBERG et al., 2005; HEDEMANN et al., 2006; PÉREZ et al., 2011; SHELTON et al., 2011).

Dentre eles, Namkung et al. (2006) observaram que a adição de 3000 mg/kg de óxido de zinco associado a 250 mg/kg de sulfato de cobre à dieta melhorou o desempenho durante as

duas primeiras semanas após o desmame. Também Pérez et al. (2011) demonstraram que nos 4 experimentos realizados, houve efeito aditivo no desempenho dos leitões desmamados ao associarem cobre e zinco (3000 mg/kg de óxido de zinco associado tanto ao sulfato de cobre quanto ao complexo cobre-aminoácidos em 100, 250 ou 315 mg/kg). Os autores discutem que os efeitos aditivos do zinco e do cobre ocorrem por meio da soma de seus efeitos como promotores de crescimento: atuação de ambos no intestino ao disponibilizar mais nutrientes para o organismo, modo de ação sistêmico do cobre, aumento da estabilidade intestinal e redução de bactérias patogênicas.

Contudo, não há pesquisas que comparem o efeito da suplementação de zinco nas fontes óxido de zinco ou hidroxiclreto de zinco e/ou de cobre como hidroxiclreto de cobre ou sulfato de cobre no desempenho de leitões (CEMIN et al., 2017). Sugere-se que minerais inorgânicos em níveis elevados apresentem maior impacto negativo nos nutrientes da dieta em comparação aos minerais hidroxiclreto, por se tratar de fontes mais reativas. Consequentemente, mais nutrientes e energia podem se tornar disponíveis para o desempenho e desenvolvimento da carcaça em animais suplementados com as fontes hidroxiclreto (VAN KUIJK et al., 2019).

Poucos estudos avaliaram as características de carcaça, qualidade da carne e capacidade antioxidante em suínos cossuplementados com as fontes hidroxiclreto de Cu e de Zn. A combinação desses minerais hidroxiclreto nem sempre melhora o desempenho e as características da carcaça quando os suínos são suplementados com 125 mg Cu/kg e 150 mg Zn/kg (FELDPAUSCH et al., 2016). O efeito dos minerais varia dependendo da idade, nível e fonte, estado imunológico, tipo de ingredientes e interação de microelementos, podendo afetar a absorção e a biodisponibilidade de outros nutrientes.

Houve mais estudos com esses minerais separadamente, nos quais o Cu melhorou o desempenho em suínos suplementados com 150 mg/kg (COBLE et al., 2017; ESPINOSA et al., 2020), mas nenhuma diferença foi observada com 130 mg Cu/kg (ZHENG et al., 2018). Da mesma forma, o Zn mostrou um melhor desempenho quando os animais foram suplementados com 80-100 mg/kg (CARPENTER et al., 2016; VAN KUIJK et al., 2019), e com 150 mg/kg foi observado aumento na porcentagem de rendimento de carcaça (CEMIN et al., 2019).

Ressalta-se que faltam estudos sobre a associação de zinco e cobre na fase de crescimento e terminação, mesmo nas fontes inorgânicas mais utilizadas (óxido de zinco e sulfato de cobre) e ainda mais com outras fontes inorgânicas como os minerais hidroxiclreto. O presente estudo foi conduzido para avaliar a cossuplementação de hidroxiclreto de cobre e de zinco na dieta de suínos de crescimento e terminação sobre o desempenho, frequência de diarreia, qualidade da carcaça e da carne e capacidade antioxidante.

2.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

O cobre é um oligoelemento essencial em suínos e um cofator essencial para muitas enzimas celulares que podem aumentar a imunidade e a capacidade antioxidante (GAO et al., 2020).

A ingestão de zinco eleva os níveis de metalotioneína, sulfoproteína armazenadora de zinco envolvida na homeostase desse mineral e que apresenta propriedade antioxidante significativa. Além disso, o zinco é conhecido como um cofator essencial para a função de CuZn-superóxido-dismutase (SOD), que tem papel fundamental como antioxidante (BERGERON; GUAY, 2019).

De acordo com Zhu et al. (2017), a suplementação com ZnO melhora o estado redox do intestino delgado de leitões desmamados mediado pela enzima antioxidante GSH-Px ao elevar a proporção de glutatona reduzida (GSH) para glutatona oxidada (GSSG), prevenindo a apoptose no intestino delgado.

Assim, é possível que o cobre e o zinco atuem na redução do estresse oxidativo nos suínos por serem cofatores enzimáticos de enzimas como a superóxido dismutase - enzima que ajuda a reduzir a propagação de radicais livres - e, portanto, neutraliza o estresse oxidativo (JONES; SUTTLE, 1981; GAUDRÉ, 2016). Outro exemplo seria a enzima catalase que possui possíveis sítios de ligação dos íons zinco e cobre (SILVA et al., 2007).

A capacidade antioxidante do cobre e do zinco é importante para o organismo animal, pois o estresse oxidativo excede a capacidade do sistema antioxidante e conseqüentemente aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), ocasionando danos às proteínas, lipídios, ácidos nucléicos, tecidos e órgãos (LI et al., 2007), podendo induzir a oxidação e causar danos na membrana, inativação enzimática e danos no DNA, e pode até mesmo contribuir para o desenvolvimento de várias doenças (DU et al., 2010).

Segundo Bezerra et al. (2015), o estresse oxidativo pode desencadear alterações fisiológicas e comportamentais, reduzir o crescimento e desempenho dos animais, além de aumentar a susceptibilidade às doenças por estar envolvido em condições patológicas relevantes para a produção e bem-estar animal. Para combater o excesso de radicais livres produzidos na oxidação de proteínas e lipídios, os mamíferos possuem enzimas antioxidantes que atuam na proteção celular. Dentre essas enzimas destacam-se a superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx) e catalase (DU et al., 2010). A isoforma da SOD, conhecida como Cu/Zn-

SOD, é uma enzima caracterizada por um homodímero contendo cobre e zinco e compreende 90% do total de SOD (DU et al., 2010). Segundo Koury e Donangelo (2003), a SOD possui como centro ativo um íon cobre e um íon zinco, sendo o Zn um componente estrutural e catalítico. E, além disso, a SOD é uma das enzimas mais importantes dependentes do Cu e está associada funcionalmente ao Cu em diferentes tecidos (CHENG et al., 2011).

Além dos efeitos do estresse oxidativo *in vivo*, também é possível observar efeitos *post mortem*. O estresse oxidativo pode ser considerado como um dos principais mecanismos responsáveis pelas características indesejáveis da carne de baixa qualidade (LI et al., 2007). Em geral, a carne tem maior predisposição a sofrer processos de oxidação devido às suas estruturas complexas e composição, incluindo ácidos graxos insaturados, sistemas miofibrilares e pró-oxidantes (MONAHAN et al., 1993; HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2016). As formas mais comuns de deterioração química da qualidade da carne são a oxidação proteica e a oxidação lipídica (LEÃO et al., 2017), sendo as principais responsáveis pela redução da qualidade funcional, sensorial e nutricional de carnes e produtos cárneos (HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2016).

A oxidação proteica afeta significativamente a qualidade da carne e seus subprodutos, pois pode ocasionar mudanças funcionais na habilidade de formar géis, na capacidade de emulsificação, na solubilidade, na viscosidade e na capacidade de reter água (LEÃO et al., 2017). Estas alterações resultantes da oxidação de proteínas musculares se manifestam como comprometimento da qualidade da carne ao afetar a textura, cor, aroma, sabor, capacidade de retenção de água e funcionalidade biológica. Ademais, as proteínas oxidadas podem oferecer implicações negativas na saúde e segurança humana (ESTÉVEZ, 2011; HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2016).

Já a oxidação lipídica é um processo de deterioração dos ácidos graxos saturados e insaturados que resulta em aldeídos, alcanos e dienos conjugados (LEÃO et al., 2017), responsáveis por modificar o sabor da carne com o surgimento de rancidez, causar depreciação ou recusa da carne (SILVA et al., 1999; WATANABE et al., 2010), desenvolvimento de sabores estranhos, perdas por gotejamento, descoloração, perda de valor nutricional, redução do prazo de validade, e ainda, acúmulo de compostos tóxicos possivelmente prejudiciais à saúde dos consumidores (HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2016). Além disso, devido à oxidação lipídica ocorre aumento na formação de metamioglobina que, por sua vez, também aumenta a taxa de deterioração dos produtos (LEÃO et al., 2017).

A cor da carne de porco depende da quantidade de mioglobina e do conteúdo relativo de suas formas químicas - a forma oxigenada (oximioglobina - MbO₂), a forma oxidada

(metamioglobina - MetMb) e a forma reduzida (desoximioglobina - Mb) (KARAMUCKI et al., 2013). As espécies reativas de oxigênio e os radicais livres gerados pela oxidação lipídica podem promover a oxidação da mioglobina (SILVA, 2014). Quando há a oxidação da mioglobina, o ferro ferroso se converte em férrico formando a metamioglobina. O tecido que foi oxigenado possui cor vermelho brilhante comum, e, o tecido que foi oxidado possui cor marrom não desejável (ALVES, 2011).

De acordo com Mikkelsen, Juncher e Skibsted (1999), a taxa de acúmulo da metamioglobina resulta em descoloração marrom da carne e é dependente das taxas relativas de auto oxidação das formas de ferro (II) da proteína: a mioglobina roxa (desoximioglobina, MbFe(II)) e a oximioglobina vermelha (MbFe(II)O₂), juntamente com a taxa de redução da forma de ferro (III), a metamioglobina marrom (MbFe(III)).

Outro subproduto da oxidação lipídica é o malondialdeído (MDA), muito utilizado para mensuração da peroxidação lipídica. O MDA é o elemento mais importante da análise das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que é comumente realizada para detecção da oxidação lipídica em carnes (GARRINE, 2013). Produtos primários da oxidação lipídica são constituídos principalmente por hidroperóxidos, que são rapidamente decompostos em várias substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, particularmente carbonilas, sendo o MDA considerado o mais importante (CORREA, 2010). No estudo de Bergeron et al. (2014), embora a inclusão de zinco não tenha tido efeito sobre o desempenho, ela reduziu a oxidação lipídica mantendo concentrações mais baixas de malondialdeído (BERGERON et al., 2017).

Na pesquisa desenvolvida por Gonzales-Eguia et al. (2009), foram realizados dois experimentos com níveis de cobre nas fontes nano partícula de cobre e CuSO₄ em 50 mg/kg para leitões desmamados. Foi possível observar que a suplementação de nano partícula de cobre e CuSO₄ aumentou significativamente a atividade da SOD no soro sanguíneo dos leitões em comparação ao controle. Zheng et al. (2018) concluíram que a inclusão de 130 mg/kg de CHC resultou em maiores atividade da SOD em comparação ao CuSO₄.

Em relação ao zinco, Zhang et al. (2018) verificaram que a adição de complexo zinco-aminoácido (ZnAA) melhorou a atividade da SOD em leitões desmamados. A atividade da Cu/Zn-SOD nos suínos suplementados com 100 mg Zn/kg de ZnGly (zinco glicina quelatado) e ZnO foram maiores em comparação aos animais do grupo controle (WANG et al., 2010). Também foi observado maior atividade da SOD após utilizar ZnAA em comparação ao sulfato de zinco e ao utilizar cromo metionina isolado e associado ao ZnAA em suínos de crescimento e terminação (XU et al., 2017).

Apesar de alguns estudos demonstrarem benefícios na capacidade antioxidante com o uso de cobre e zinco, ainda não há estudos avaliando a atuação desses minerais associados ao estresse oxidativo dos suínos e à qualidade da carne. Além disso, minerais hidroxicloreto podem ter alguns efeitos diretos ou indiretos, por meio da estabilidade da vitamina E na ração, sobre o estresse oxidativo e a qualidade da carne (VAN KUIJK et al., 2019). A vitamina E foi descrita como protetora da oxidação da carne suína e por alterar o perfil de ácidos graxos na carne (GUO et al., 2006; VAN KUIJK et al., 2019). Dessa maneira, é fundamental que estudos utilizando cobre e zinco nas fontes inorgânicas tradicionais e inorgânicas hidroxicloreto sejam realizados.

2.5 QUALIDADE DA CARNE

A qualidade da carne pode ser definida como uma combinação das propriedades físicas e químicas da carne fresca e processada. Além do valor de pH, capacidade de retenção de água (perda por gotejamento), perda por cocção e cor serem considerados parâmetros de avaliação da qualidade da carne, a capacidade antioxidante também é importante (CHEN et al., 2012).

Os parâmetros de avaliação são fundamentais para classificarmos a carne nas seguintes categorias: carne ideal (RFN – “Reddish pink, firm, non-exudative”, avermelhada ou rosa, firme e não exsudativa); PSE (“Pale, soft and exudative”, carne pálida, flácida e exsudativa); RSE (“Reddish pink, soft, exudative”, carne avermelhada ou rosa, flácida e exsudativa) e DFD (“Dark, firm, dry”, carne escura, firme e seca) (ARAÚJO, 2009).

Carnes do tipo PSE e DFD, além de possuírem aspecto pouco atrativo para os consumidores, também são impróprias para a fabricação de produtos como presuntos cozidos e crus (carne PSE) e produtos curados como os salames (carne DFD) (ARAÚJO, 2009). A classificação da carne em PSE, SER, RFN ou DFD pode ser feita de acordo com os valores de pH 24 horas após o abate, valor de L* obtido na avaliação da cor e porcentagem da perda de água por gotejamento (FILHO et al, 2017).

Em busca de otimizar a qualidade nutricional da carne suína, a adição de vitaminas e minerais deve ser realizada nas dietas da fase de terminação (EDMONDS; ARENTSON, 2001). A inclusão dos minerais cobre e zinco pode influenciar parâmetros de qualidade da carne e carcaça.

Segundo Alves (2011), a inclusão de cobre na dieta pode melhorar a cor da carne, pois o cobre é componente da enzima ceruloplasmina, essencial na absorção e transporte de ferro necessários para a síntese de hemoglobina e por interferir na pigmentação da carne. Os

pigmentos heme são responsáveis pela cor da carne e apesar da mioglobina ser o principal pigmento, a proteína hemoglobina também é um dos pigmentos responsáveis pela coloração da carne.

A inclusão de zinco também pode beneficiar a qualidade da carne devido à atuação na produção e secreção de hormônios relacionados com os corticoides da adrenal com consequente interferência na glicogenólise (ALVES, 2011).

Segundo Hernandez et al. (2008), o estudo desenvolvido por eles foi o primeiro a avaliar o efeito do Cu e Zn quelatados na qualidade da carne suína, não sendo verificadas diferenças significativas no pH e cor da carne dos animais alimentados com as fontes sulfato ou quelatada e com diferentes níveis de inclusão. Porém, foi observado que suínos alimentados com os maiores níveis de Cu (156 mg/kg) e Zn (170 mg/kg) apresentaram maior rendimento de carcaça. Nesse estudo não foi avaliada a atividade das enzimas antioxidantes na carne.

Coble et al. (2017) verificaram que a inclusão de cobre, nas fontes sulfato de cobre e CHC, elevou o peso da carcaça quente em 2,4 kg com o aumento do cobre de 75 para 150 mg/kg. Também foi verificado maior profundidade de lombo e porcentagem de carne magra com o maior nível de cobre na dieta.

Em relação ao uso do zinco, Zhang et al. (2014) observaram mais carne magra, área de olho de lombo e espessura de toucinho nos leitões alimentados com 760 mg/kg de ZnO na dieta. Os autores discutem que o zinco é grupo estrutural e funcional para algumas enzimas metabólicas lipídicas com atuação no metabolismo lipídico celular. Segundo os autores, isso resultou em maior carne magra, área de olho de lombo e espessura de toucinho nos leitões alimentados com altos níveis de Zn na dieta, sugerindo que o zinco desempenha importante papel no metabolismo dos ácidos graxos.

Em estudo de Carpenter et al. (2016), o rendimento de carcaça aumentou com o aumento do nível de zinco na dieta. Os suínos alimentados com dietas contendo zinco hidroxicloreto apresentaram maior peso da carcaça quente em comparação com os animais que receberam a dieta com sulfato de zinco.

No estudo de Xu et al. (2017), ao utilizarem 50 mg/kg de ZnAA com 0,2 mg/kg de cromo metionina, foram obtidas melhoras nas características de carcaça (maior peso de carcaça quente, rendimento de carcaça) e na qualidade da carne (área de olho de lombo e pH 24 horas). Além disso, os autores observaram reduções nas concentrações séricas de malondialdeído e aumento da atividade da SOD.

Dessa forma, fica evidente que há necessidade de mais estudos que avaliem a qualidade da carne associada à atividade das enzimas antioxidantes em suínos de crescimento e terminação suplementados com a associação dos minerais cobre e zinco em diferentes fontes.

HIPÓTESES

3. HIPÓTESES

Com base na literatura apresentada, o experimento foi realizado com as seguintes hipóteses:

- 3.1 A cossuplementação de suínos com hidroxiclreto de cobre e de zinco na dieta, durante a fase de crescimento e terminação, melhora o desempenho;
- 3.2 Hidroxiclreto de cobre e de zinco cossuplementados na dieta de suínos de crescimento e terminação aumenta a frequência de dias com escore fecal normal;
- 3.3 A cossuplementação de suínos de crescimento e terminação com hidroxiclreto de cobre e de zinco promove maior estabilidade oxidativa no *Longissimus dorsi*, e melhora as características de carcaça e de qualidade da carne.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

Com base nas hipóteses estabelecidas, o presente estudo objetivou:

- 4.1 Averiguar se os suínos cossuplementados com hidroxiclreto de cobre e de zinco, nas fases de crescimento e terminação, apresentam melhora no desempenho em comparação àqueles que receberam as tradicionais fontes inorgânicas (sulfato de cobre e óxido de zinco);
- 4.2 Avaliar se a associação dos minerais cobre e zinco hidroxiclreto fornecida, na dieta de suínos de crescimento e terminação, aumenta a frequência de dias com escore fecal normal comparado àqueles que receberam as tradicionais fontes (sulfato de cobre e óxido de zinco);
- 4.3 Determinar se a cossuplementação de cobre e zinco hidroxiclreto, na dieta de suínos em crescimento e terminação, melhora as características de carcaça e a qualidade da carne em comparação àqueles que receberam as fontes tradicionais (sulfato de cobre e óxido de zinco);
- 4.4 Verificar se os suínos cossuplementados com hidroxiclreto de cobre e de zinco, na dieta durante as fases de crescimento e terminação, apresentam maior estabilidade oxidativa no *Longissimus dorsi* comparados àqueles que receberam as fontes tradicionais (sulfato de cobre e óxido de zinco).

MATERIAL E MÉTODOS

5. MATERIAL E MÉTODOS

Nesta seção, estão descritas as metodologias empregadas no presente trabalho.

5.1 LOCAL, INSTALAÇÕES E ANIMAIS

O estudo foi desenvolvido no Setor de Suinocultura da Prefeitura do Campus Administrativo Fernando Costa (PUSP-FC), da Universidade de São Paulo, em Pirassununga, SP, com prévia aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ, protocolo nº 4110030918). Os leitões foram alojados na unidade de crescimento e terminação constituída por baias equipadas com piso de concreto, fornecendo 1,25 m²/animal, comedouro de alvenaria e bebedouro tipo chupeta com acesso *ad libitum* à alimentação e à água. A iluminação e a temperatura ambiente eram naturais.

Figura 1 – Alojamento dos suínos na unidade de crescimento e terminação



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2018).

5.2 DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS NOS TRATAMENTOS E MANEJO ALIMENTAR

Foram utilizados 256 leitões [(Large White × Landrace) × Duroc] aos 70 dias de idade, oriundos da unidade de creche do próprio setor. Os suínos foram pesados individualmente, identificados por meio de brinco enumerado e distribuídos em um dos 4 tratamentos com base

no peso corporal ($27,70 \pm 0,33$ kg). As entradas dos lotes de animais foram semanais até completar o total necessário para o estudo. A baía foi composta por 8 leitões com 8 repetições por tratamento, totalizando 64 leitões por tratamento. As baias foram compostas por lotes mistos e dentre os 256 animais utilizados no estudo, 128 eram machos e 128 eram fêmeas.

As dietas experimentais foram isoproteicas e isoenergéticas e seguiram as recomendações do Rostagno et al. (2017), de acordo com as diferentes fases: crescimento 1 (dos 70 aos 91 dias), crescimento 2 (dos 91 aos 112 dias) e terminação (dos 112 aos 154 dias de idade). A formulação das dietas foi semelhante para todos os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1 – Dietas fornecidas aos leitões durante o período experimental (Continua)

Crescimento 1 (70-91 dias de idade)	T1*	T2	T3*	T4
Ingredientes, %				
Milho	63,95	63,93	63,97	63,96
Farelo de Soja	32,00	32,00	32,00	32,00
Núcleo ¹	4,00	4,00	4,00	4,00
CuSO ₄ ²	0,040	0,060	-	-
ZnO ³	0,011	0,011	-	-
CHC ⁴	-	-	0,019	0,028
ZHC ⁵	-	-	0,015	0,015
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Proteína bruta (%)	19,97	19,97	19,97	19,97
Energia metabolizável (kcal/kg)	3141	3141	3141	3141
Lisina (%)	1,150	1,150	1,150	1,150
Cálcio (%)	0,816	0,816	0,816	0,816
Fósforo disponível (%)	0,426	0,426	0,426	0,426
Cobre (mg/kg)	100,00	150,00	100,00	150,00
Zinco (mg/kg)	80,00	80,00	80,00	80,00
Crescimento 2 (91-112 dias de idade)	T1*	T2	T3*	T4
Ingredientes, %				
Milho	68,95	68,93	68,97	68,96
Farelo de Soja	28,00	28,00	28,00	28,00
Núcleo ⁶	3,00	3,00	3,00	3,00
CuSO ₄	0,040	0,060	-	-
ZnO	0,011	0,011	-	-
CHC	-	-	0,019	0,028
ZHC	-	-	0,015	0,015
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculados				
Proteína bruta (%)	18,40	18,40	18,40	18,40
Energia metabolizável (kcal/kg)	3180	3180	3180	3180
Lisina (%)	0,960	0,960	0,960	0,960
Cálcio (%)	0,702	0,702	0,702	0,702
Fósforo disponível (%)	0,347	0,347	0,347	0,347
Cobre (mg/kg)	100,00	150,00	100,00	150,00
Zinco (mg/kg)	80,00	80,00	80,00	80,00

Tabela 1 – Dietas fornecidas aos leitões durante o período experimental (Conclusão)

Terminação (112-154 dias de idade)	T1*	T2	T3*	T4
Ingredientes, %				
Milho	75,95	75,93	75,97	75,96
Farelo de Soja	22,00	22,00	22,00	22,00
Núcleo ⁷	2,00	2,00	2,00	2,00
CuSO ₄	0,036	0,060	-	-
ZnO	0,010	0,010	-	-
CHC	-	-	0,017	0,028
ZHC	-	-	0,013	0,013
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Níveis nutricionais calculadas				
Proteína bruta (%)	16,20	16,20	16,20	16,20
Energia metabolizável (kcal/kg)	3233	3233	3233	3233
Lisina (%)	0,800	0,800	0,800	0,800
Cálcio (%)	0,690	0,690	0,690	0,690
Fósforo disponível (%)	0,317	0,317	0,317	0,317
Cobre (mg/kg)	90,00	150,00	90,00	150,00
Zinco (mg/kg)	70,00	70,00	70,00	70,00

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2021)

T1 e T3 = Inclusão de flavomicina.

¹ Núcleo Bnubi VR 12000[®] (níveis por quilo de produto): cálcio 155 g, fósforo 36 g, flúor 360 mg, sódio 48 g, metionina 980 mg, lisina 15,5 g, treonina 985 mg, colina 800 mg, cobalto 10 mg, ferro 2.000 mg, iodo 25 mg, manganês 875 mg, selênio 11,25 mg, vitamina A 250.000 UI, vitamina D3 50.000 UI, vitamina E 625 UI, vitamina K3 55 mg, vitamina B1 50 mg, vitamina B2 112,5 mg, vitamina B6 62,5 mg, vitamina B12 625 mcg, niacina 750 mg, ácido pantotênico 450 mg, ácido fólico 62,5 mg, biotina 6,25 mg, B.H.T 2.500 mg, 6-fitase 25.000 u, endo-1,4-beta xilanase 288.125 u.

² Sulfato de cobre (25,2% de Cobre).

³ Óxido de zinco (72,5% de Zinco).

⁴ IntelliBond[®] C (54% de Cobre).

⁵ IntelliBond[®] Z (55% de Zinco).

⁶ Núcleo Bnubi VR 13000[®] (níveis por quilo de produto): cálcio 155 g, fósforo 23,1 g, flúor 231 mg, sódio 65 g, colina 582,5 mg, cobalto 10,67 mg, ferro 2.133,33 mg, iodo 26,67 mg, manganês 933,33 mg, selênio 12 mg, vitamina A 133.333,33 UI, vitamina D3 33.333,33 UI, vitamina E 413,33 UI, vitamina K3 66,67 mg, vitamina B1 40 mg, vitamina B2 113,33 mg, vitamina B6 66,67 mg, vitamina B12 583,33 mcg, niacina 583,33 mg, ácido pantotênico 333,33 mg, ácido fólico 10 mg, biotina 2,67 mg, B.H.T 2.000 mg, 6-fitase 33.333,33 u.

⁷ Núcleo Bnubi VR 14000[®] (níveis por quilo de produto): cálcio 235 g, fósforo 23,125 g, flúor 231,25 mg, sódio 97,67 g, colina 625,5 mg, cobalto 14 mg, ferro 2.800 mg, iodo 35 mg, manganês 1.225 mg, selênio 15,75 mg, vitamina A 150.000 UI, vitamina D3 37.500 UI, vitamina E 465 UI, vitamina K3 75 mg, vitamina B1 45 mg, vitamina B2 127,5 mg, vitamina B6 75 mg, vitamina B12 656,25 mcg, niacina 656,25 mg, ácido pantotênico 375 mg, ácido fólico 11,3 mg, biotina 3 mg, B.H.T 3.000 mg, 6-fitase 25.000 u.

No período de crescimento e terminação, 100 mg Cu/kg e 90 mg Cu/kg, respectivamente, foram considerados níveis baixos e 150 mg Cu/kg em ambos os períodos foi considerado como nível alto. O zinco foi cossuplementado na dieta em 80 mg/kg na fase de crescimento e 70 mg/kg na fase de terminação. Os animais dos tratamentos T1 e T2 receberam as fontes inorgânicas tradicionais de ambos os minerais (CuSO₄ e ZnO) e os animais dos

tratamentos T3 e T4, receberam a fonte hidroxiclreto (CHC e ZHC). O cobre e o zinco foram misturados com 10 kg de milho e após a homogeneização adequada, essa mistura foi usada para o preparo das dietas.

A flavomicina foi associada aos tratamentos com baixos níveis de Cu, na inclusão de 50 g/ton. Na fase de crescimento 1, a flavomicina foi adicionada à mistura com 10 kg de milho e os minerais cobre e zinco. Nas fases crescimento 2 e terminação, a inclusão de flavomicina foi via núcleo.

5.3 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO

As variáveis de desempenho (peso corporal, ganho de peso médio diário (GPD), consumo de ração médio diário (CRD) e conversão alimentar (CA)) foram avaliadas aos 70, 84, 91, 98, 112, 126, 140 e 154 dias por meio de pesagens, e o GPD, CRD e CA nos intervalos entre esses momentos (Figura 2).

Figura 2 – Pesagens



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

A) Pesagem individual do animal. B) Pesagem das sobras de ração.

5.4 FREQUÊNCIA DE DIAS COM ESCORE FECAL NORMAL

O escore fecal foi observado diariamente, no período da manhã (antes da limpeza das baias), dos 70 aos 154 dias de idade e classificado em: 1 = fezes sólidas, *normal*; 2 = fezes menos consistentes que normal, *pastosa* e 3 = fezes líquidas, *diarreia severa*, conforme Pascoal

et al. (2012) com modificações. O mesmo avaliador realizou a avaliação visual das fezes, e quando dois ou mais animais da baía apresentavam o mesmo escore, o avaliador anotava, prevalecendo o maior escore observado. Posteriormente, esse escore foi transformado em frequência de dias com fezes alteradas, considerando a somatória dos escores 2 e 3. As frequências foram transformadas em arco seno, de acordo com Banzatto e Kronka (1989).

5.5 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA

Aos 154 dias de idade (término do experimento), os 256 leitões foram insensibilizados por meio de eletranarose com choque elétrico de alta voltagem e baixa amperagem, seguido por sangria de no mínimo três minutos no Abatedouro Escola da Prefeitura do Campus Administrativo Fernando Costa (PUSP-FC), da Universidade de São Paulo, em Pirassununga (SP). Após a dessensibilização elétrica, sangria e evisceração, as carcaças foram pesadas e após o resfriamento por 24 horas em câmara de resfriamento a 0 °C, as mesmas foram pesadas novamente, possibilitando estimar o seu rendimento.

5.5.1 Espessura de toucinho e comprimento de carcaça

Após 24 horas do abate, foram realizadas as medidas de comprimento da carcaça (cm, Figura 3 - A) a partir da borda cranial da sínfise pubiana até a borda cranial da primeira costela com uso de trena (USDA, 1970; RAY, 2004). A espessura de toucinho (mm, Figura 3 - B) foi medida em 3 pontos da meia carcaça esquerda e, posteriormente, foi obtido um valor médio. As mensurações foram realizadas na última vértebra lombar, na última costela e na primeira costela (USDA, 1970; RAY, 2004) com o auxílio de paquímetro digital (Absolute Digimatic®, modelo CD-8" CX-B, Mitutoyo Sul Americana Ltda. São Paulo, Brasil).

Figura 3 – Avaliações da carcaça



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

A) Comprimento da carcaça. B) Espessura de toucinho.

5.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA CARNE

Dentre os 256 leitões, 10 animais de cada tratamento foram selecionados para a avaliação da qualidade da carne de acordo com o peso médio da baía, totalizando 40 animais. Foram utilizados 5 machos e 5 fêmeas por tratamento para as análises descritas a seguir:

5.6.1 pH e temperatura

A temperatura e o pH foram mensurados 1 hora após o abate (pH inicial) e 24 horas após o resfriamento a 2 ± 1 °C (pH final) (CHEN et al., 2010). A aferição foi feita no músculo *Semimembranosus* da meia carcaça esquerda com o auxílio de pHmetro portátil digital com eletrodo de inserção (Hanna Instruments Inc[®], modelo HI 99163, Woonsocket, RI, USA) calibrado com soluções de pH 4 e 7, conforme demonstrado na figura 4.

Figura 4 – Avaliação da temperatura e do pH no músculo *Semimembranosus*

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

5.6.2 Avaliação da mioglobina

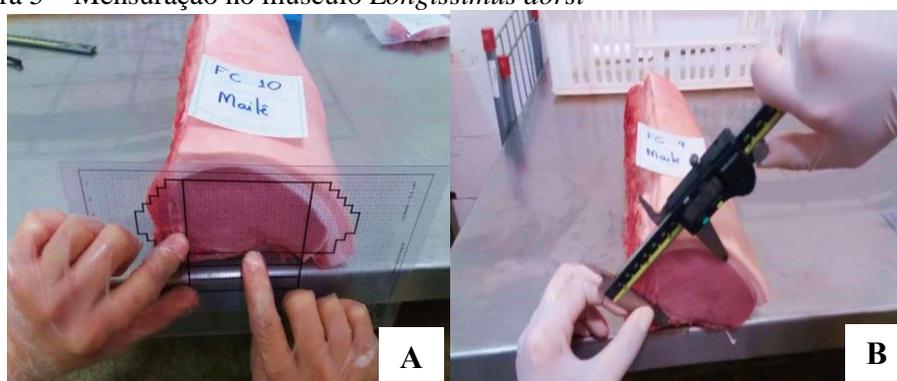
No dia do abate, amostras do músculo *Longissimus dorsi in natura* foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em gelo para análise da oximioglobina, desoximioglobina e metamioglobina, aproximadamente duas horas após o abate. A análise foi realizada no Laboratório de Química Biológica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo, em Pirassununga, SP.

Realizou-se a pesagem de 2 gramas de amostra em tubo cônico de 50 mL, posteriormente adicionaram-se 20 mL de tampão fosfato (Na^+/K^+ 0,04 mol/L, pH 6,8) e homogeneizou-se utilizando o homogeneizador (Turrax, IKA, modelo T18) a 28.000 rpm por 30 segundos. A solução obtida permaneceu em gelo e, após 1 hora em repouso, foi centrifugada a $8.170 \times g$ a 13°C por 30 minutos. O sobrenadante foi filtrado com filtro Whatman nº 1 (125 mm) e o volume foi completado com o mesmo tampão fosfato até obter 25 mL. Em seguida, a solução foi filtrada em membrana de 25 mm e $0,22 \mu\text{m}$ (Jet Biofil®) até a obtenção de 2 mL do filtrado. A determinação da oximioglobina, desoximioglobina e metamioglobina foi realizada utilizando o espectrofotômetro (Beckman Coulter®, modelo DU800) e as leituras foram realizadas nos comprimentos de onda de 525, 503, 557 e 582 nm. As análises foram realizadas em duplicatas e os conteúdos de desoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina foram calculados de acordo com as equações propostas por Krzywicki (1979), Tang et al. (2004) e de acordo com Lins et al. (2017).

5.6.3 Área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e profundidade de lombo

Após 24 horas de resfriamento a 2 ± 1 °C, no dia da desossa, o lombo foi removido e a área de olho de lombo (AOL) foi mensurada no músculo *Longissimus dorsi* entre as 11^a e 13^a costelas da meia carcaça esquerda (LI et al., 2015). Foi utilizada uma régua quadriculada ("grid") com escala em centímetros quadrados ($0,5 \text{ cm}^2$) (Figura 5 - A). A avaliação da profundidade de lombo (mm) foi realizada usando um paquímetro orientado a partir da extremidade do músculo perpendicularmente até o limite extremo oposto (Figura 5 - B).

Figura 5 – Mensuração no músculo *Longissimus dorsi*



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

A) Área de olho de lombo. B) Profundidade de lombo.

Sob a mesma superfície muscular exposta entre as 11^a e 13^a costelas, avaliou-se a espessura de gordura subcutânea (mm) com auxílio de paquímetro digital nas marcações de 4 cm, 6,5 cm e 10 cm (Figura 6). Com essas medidas, foi possível calcular o rendimento de carne e quantidade de carne de acordo com Bridi e Silva (2009).

Figura 6 – Avaliação da espessura de gordura subcutânea no músculo *Longissimus dorsi*



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Durante a desossa, três amostras consecutivas do músculo *Longissimus dorsi* foram retiradas entre a 11ª e a 13ª vertebra torácica, sendo 2 com 2,5 cm e 1 com 2 cm de espessura (Figura 7).

A primeira amostra foi destinada para a avaliação da cor e foi embalada individualmente a vácuo em sacos de polietileno (Cryovac®, Charlotte, NC, EUA) para posterior análise de perda por cocção e força de cisalhamento. A segunda amostra também foi embalada individualmente a vácuo em sacos de polietileno (Cryovac®, Charlotte, NC, EUA) como duplicata e mantidos em freezer a -20 ° C até a coleta de todas as amostras. A terceira e última amostra (de 2 cm de espessura) foi utilizada na avaliação de perda de água por gotejamento.

Figura 7– Coleta de amostras do músculo *Longissimus dorsi*



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

A) Mensuração da espessura para obtenção da amostra. B) Três amostras coletadas e C) Amostra embalada individualmente a vácuo.

5.6.4 Cor

A análise da cor foi realizada no músculo *Longissimus dorsi* (Figura 8) usando a amostra com 2,5 cm de espessura e após exposição ao oxigênio por 20 minutos, em temperatura ambiente. A mensuração foi realizada em três pontos distintos de cada amostra para a determinação dos componentes de cor L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) segundo o sistema CIELAB (1986), utilizando o colorímetro portátil (MiniScan EZ®, modelo CM2500d, Minolta Camera Co. Ltd., Osaka, Japão) (Figura 8). Os valores obtidos foram utilizados para o cálculo do croma (saturação da carne, indica a pureza da cor) e tonalidade (cor: atributo pela qual se identificam as cores violetas, azul, amarelo, laranja, vermelho e púrpura) (TEYE et al., 2006).

Figura 8 – Avaliação da cor por meio de colorímetro portátil

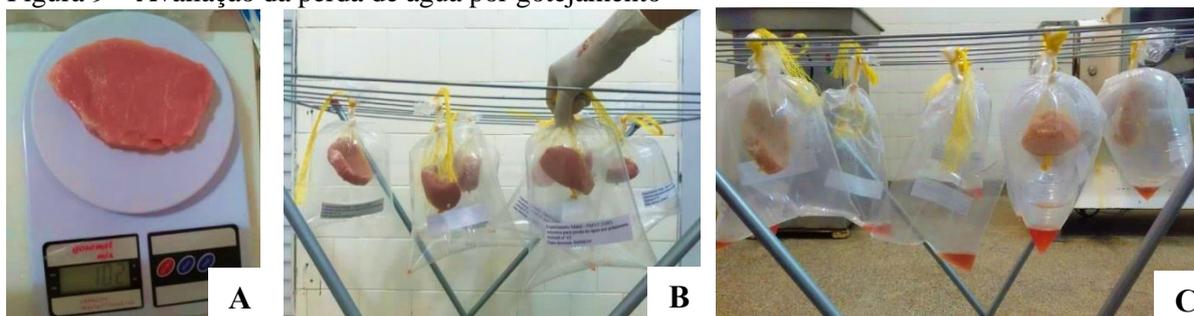


Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

5.6.5 Perda de água por gotejamento

Ao término da desossa, a amostra do músculo *Longissimus dorsi* de 2 cm de espessura (aproximadamente 100 g) foi pesada e colocada em rede de nylon suspensa dentro de saco plástico inflado, garantindo a ausência de contato entre a amostra e o saco plástico. Após o armazenamento por 48 horas em câmara fria a 2 °C, a amostra foi gentilmente seca utilizando papel toalha e pesada novamente para o cálculo da perda de água por gotejamento, seguindo o método descrito por Honikel (1998) (Figura 9).

Figura 9 – Avaliação da perda de água por gotejamento



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

A) Pesagem inicial, B) Amostra antes da entrada na câmara fria e C) Amostra após 48 horas em câmara fria.

5.6.6 Perda de peso por cocção

As amostras embaladas a vácuo foram mantidas no freezer -20 °C até término da coleta de todas as amostras. A análise foi realizada no Laboratório de Ciência da Carne da Faculdade

de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo em Pirassununga (SP). As amostras foram descongeladas em geladeira por 24 horas, a 7 °C. Posteriormente, as amostras foram pesadas e envolvidas em papel alumínio e colocadas em fôrma com grelha para serem assadas em forno elétrico pré-aquecido a 170 °C até atingirem a temperatura interna de 71 °C, conforme a recomendação da American Meat Science Association – AMSA (AMSA, 2015). As amostras foram assadas sem a adição de qualquer condimento e as temperaturas internas dos lombos foram monitoradas por meio de termômetros de perfuração digitais (termopares), inseridos nas amostras até seu centro geométrico. As amostras foram retiradas do forno ao atingirem 71 °C, resfriadas em temperatura ambiente e pesadas novamente para determinação da perda de peso por cocção, calculada de acordo com Honikel (1998), conforme figura 10.

Figura 10 – Avaliação da perda de peso por cocção



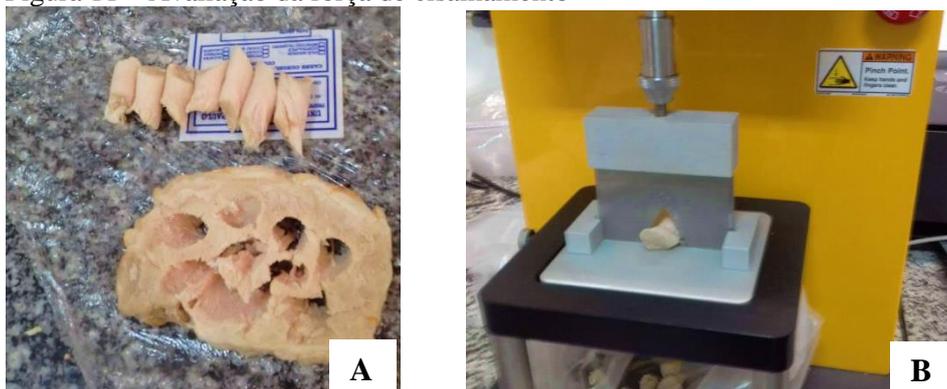
Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

A) Amostras descongeladas do músculo *Longissimus dorsi* identificadas e separadas após pesagem. B) Amostra envolvida em papel alumínio para ser assada no forno. C) Amostra após ser assada no forno.

5.6.7 Força de cisalhamento

Após a análise de perda por cocção, as amostras foram envolvidas em filme plástico e resfriadas em geladeira doméstica a 7 °C por 24 horas no Laboratório de Ciência da Carne (FMVZ-USP). De cada amostra foram retirados seis cilindros de 12,7 cm de diâmetro, paralelamente ao sentido das fibras musculares, utilizando-se um dispositivo de perfuração. Os cilindros foram cisalhados em texturômetro Brookfield® CT-3 Texture Analyser (Brookfield, USA), equipado com lâmina Warner-Bratzler Shear para determinação da força de cisalhamento (FC, Figura 11). O valor final da FC foi considerado como a média dos valores obtidos entre os 6 cilindros (WHEELER et al., 2005) e expresso em kgf.

Figura 11 – Avaliação da força de cisalhamento



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

A) Cilindros obtidos da amostra. B) Lâmina para determinação da força de cisalhamento.

5.7 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

No dia do abate, algumas amostras do *Longissimus dorsi* foram coletadas em triplicata, embaladas em papel alumínio e armazenadas em botijão de nitrogênio o mais rápido possível. Em seguida, as amostras foram armazenadas em freezer $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior análise da capacidade antioxidante. A atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx) e catalase (CAT) foram analisadas nas amostras do músculo *Longissimus dorsi* armazenadas à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. As análises foram feitas no Laboratório de Química Biológica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo em Pirassununga, SP.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada usando o método de Ewing e Janero (1995) com modificações. Foi utilizado 0,5 g do *Longissimus dorsi* em tubo cônico de 15 mL com a adição de solução tampão fosfato de sódio (10 mM pH 7,4) para posterior homogeneização (Turrax, IKA, modelo T18) a 28.000 rpm, por 10 a 30 segundos. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a $8.170 \times g$, a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos, o sobrenadante foi transferido para dois microtubos de 2 mL e o pellet foi descartado. Posteriormente, realizou-se o ensaio na microplaca com a adição de 200 μL do meio de reação (composto por tampão fosfato de sódio 50 mM contendo EDTA 0,1 mM, Nitro blue tetrazolium (NBT) e β -dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NADH)), 25 μL de amostra e 25 μL de Fenazina metossulfato (PMS). O sistema NADH/PMS foi utilizado como fonte de ânion superóxido e a SOD, presente na amostra, competiu pelo ânion superóxido, inibindo a taxa de redução do NBT. A atividade da SOD foi determinada de acordo com a taxa de redução do NBT pelo ânion superóxido a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos em espectrofotômetro (Thermo Scientific

Multiskan FC) na absorvância de 540 nm. O teor de proteínas de cada amostra foi determinado pelo método de Bradford (1976), e a curva de calibração da albumina foi utilizada para obter a curva padrão. A atividade da SOD foi expressa em U/mg de proteína.

As enzimas glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT) foram mensuradas pelo método de Paglia e Valentine (1967) e Beers e Sizer (1952), respectivamente, com modificações. Para a análise das enzimas GPx e CAT, 1 g do *Longissimus dorsi* foi pesado e adicionada em 5 mL da solução tampão fosfato de sódio (10 mM, pH 7,4) e homogeneizado por 10 a 30 segundos, velocidade de 28.000 rpm em homogeneizador (Turrax®, IKA, modelo T18). O homogenato obtido foi centrifugado a 8.170 x g, a 4 °C por 20 minutos, e o sobrenadante foi transferido para dois microtubos de 2 mL que foram utilizados para a leitura da GPx e da catalase.

A atividade máxima da GPx foi avaliada por meio do decréscimo da concentração de NADPH a 37 °C, no espectrofotômetro a 340 nm por 3 minutos (Beckman Coulter®, modelo DU800). Para os ensaios, foram utilizadas 3 cubetas de Quartzo de 1 mL, sendo 2 para a amostra e 1 para o controle (substituição da amostra por tampão) contendo: tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 contendo EDTA 3mM; glutathiona redutase; NADPH 20 mM em Tris HCl 10 mM, pH 7,0; glutathiona forma reduzida (GSH); azida de sódio; cumene hidroperóxido e a amostra (sobrenadante) ou o controle (tampão).

A atividade da catalase foi determinada de acordo com a taxa de redução do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em H₂O e O₂. A leitura do decaimento do H₂O₂ foi feita por espectrofotometria (Beckman Coulter®, modelo DU800) no ultravioleta a 240 nm, por 3 minutos em intervalos de 30 segundos a 25 °C. Foram utilizados 20 µL de homogenato adicionado ao meio de ensaio contendo 980 µL de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,0) e H₂O₂ 10 mM (NATORI et al., 2019).

O teor de proteínas de cada amostra foi determinado pelo método de Bradford (1976), e a curva de calibração da albumina foi utilizada para obter a curva padrão. A atividade da GPx e CAT foram expressas em U/g de proteína.

5.8. ESPÉCIES REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

A estabilidade oxidativa de amostras do *Longissimus dorsi* armazenadas à -80 °C foi avaliada pelo índice de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no Laboratório de Química Biológica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA). Cinco gramas da amostra foram homogeneizados em 15 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5% contendo EDTA 0,1% e propilgalato 0,1% por 60 segundos a 28.000 rpm em

homogeneizador (Turrax[®], IKA, modelo T18). Após isso, a amostra foi filtrada em papel filtro Whatman nº 1 (125 mm) em tubo cônico de 50 mL mantido em gelo. Após filtração do homogenato, foi pipetado 3 mL do filtrado para tubo de ensaio de vidro com tampa de rosca e foram adicionados 3 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M. Os tubos foram agitados em vórtex e foram incubados em banho-maria a 100 °C por 40 minutos (a tampa dos tubos de ensaio não ficaram totalmente rosqueadas para evitar turbidez das amostras). Após os 40 minutos, os tubos foram retirados do banho-maria, resfriados em gelo por 5 minutos e foram novamente agitados no vórtex para remoção de bolhas. Posteriormente, foi realizada a leitura das absorbâncias das amostras a 532 nm e 600 nm em espectrofotômetro (Beckman Coulter[®], modelo DU800). A absorbância da amostra foi considerada como a diferença entre a absorbância a 532 nm e 600 nm, que corrige possível turbidez da amostra. Os valores foram calculados a partir de curva de calibração TEP (1,1,3,3-tetraetoxipropano) 0,02 a 1,2 µg/mL, e expressos como mg de malondialdeído por kg de carne (LINS et al., 2017).

5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância (PROC MIXED), utilizando o software SAS (versão 9.3 - 2010), com verificação prévia da normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. O delineamento foi em blocos casualizados com medidas repetidas. O tratamento e o tempo foram considerados como efeito fixo, e os lotes foram considerados como efeito aleatório. A unidade experimental foi a baia com 8 animais cada para o consumo de ração, conversão alimentar e frequência de dias com diarreia. Para as demais variáveis, a unidade experimental foi o animal. Para o desempenho, a carcaça e a qualidade da carne foram consideradas o peso vivo inicial como covariável e, para a capacidade antioxidante, foi considerado o pH 1h como covariável. Os valores de frequência de diarreia foram transformados em arco-seno, e a diferença entre as médias dos tratamentos foi analisada pelo teste PDIFF. Em todas as análises estatísticas, o nível de significância considerado foi $P < 0.05$ e tendências foram discutidas quando $P \leq 0.10$. Todos os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

RESULTADOS

6. RESULTADOS

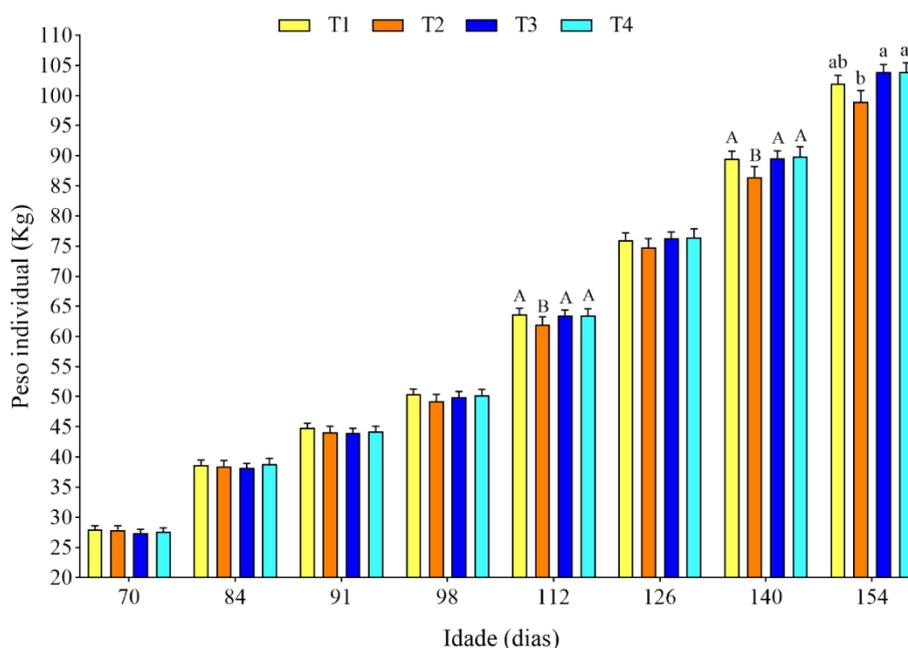
Nesta seção, estão descritos os resultados encontrados no presente trabalho.

6.1 DESEMPENHO

Não houve interação entre os tratamentos e os dias para nenhuma das características de desempenho ($P > 0,05$). Aos 112 dias ($P = 0,076$) e aos 140 dias de idade ($P = 0,059$), observou-se que os suínos que receberam a fonte hidroxicloreto (T3 e T4) e os que receberam baixo nível de sulfato de cobre associado a antimicrobiano (T1) tiveram peso similar entre eles, e os animais dos 3 tratamentos tenderam a ter peso superior comparado àqueles que receberam altos níveis de sulfato de cobre (T2, Figura 12).

Aos 154 dias de idade, os suínos que receberam a fonte mineral hidroxicloreto (T3 e T4) apresentaram peso corporal semelhante aos animais alimentados com baixo nível de CuSO_4 associado a antimicrobiano (T1) e peso superior àqueles que receberam alto nível de CuSO_4 sem antimicrobiano (T2, $P < 0,05$, Figura 12). Diferenças no peso não foram observadas entre os suínos que receberam a fonte CuSO_4 (T1 e T2), independentemente do nível ou da associação com antimicrobiano ($P > 0,05$, Figura 12).

Figura 12– Peso individual (kg) dos animais dos 70 aos 154 dias de idade



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

^{A,B}Letras maiúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, $P \leq 0,10$)

^{a,b}Letras minúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, $P < 0,05$)

Em relação ao ganho de peso no período de crescimento (70-112 dias de idade), os animais alimentados com a fonte hidroxicloreto (T3 e T4) tiveram ganho semelhante àqueles que receberam baixo nível de CuSO₄ associado ao antimicrobiano (T1), e os animais pertencentes a esses 3 tratamentos tenderam a ter um ganho superior àqueles alimentados com alto nível de CuSO₄ sem antimicrobiano (T2, $P = 0,051$, Tabela 2). E, no período total dos 70 aos 154 dias de idade, os animais alimentados com a fonte hidroxicloreto (T3 e T4) tiveram ganho similar àqueles que receberam baixo nível de CuSO₄ associado ao antimicrobiano (T1), e os animais dos 3 tratamentos tiveram ganho superior àqueles alimentados com alto nível de CuSO₄ sem antimicrobiano (T2, $P < 0,05$, Tabela 2).

Os tratamentos fornecidos aos leitões não influenciaram o consumo de ração e a conversão alimentar ($P > 0,05$, Tabela 2). Apenas para o consumo dos 140 aos 154 dias de idade, os animais que receberam a fonte hidroxicloreto (T3 e T4) tiveram consumo de ração similar àqueles que foram alimentados com baixo nível de CuSO₄ associado ao antimicrobiano (T1) e tenderam ao maior consumo comparado aos suínos que receberam alto nível de CuSO₄ sem antimicrobiano (T2, $P = 0,086$, Tabela 2). O consumo de ração foi semelhante entre os animais que receberam CuSO₄ independentemente do nível ou da associação ao antimicrobiano ($P = 0,086$, Tabela 2).

Tabela 2 – Desempenho dos leitões dos 70 aos 154 dias (Continua)

Item	Tratamento				P
	T1	T2	T3	T4	
GPMD (kg/d)					
70-84 dias	0,76±0,03	0,76±0,03	0,79±0,03	0,81±0,03	0,6184
84-91 dias	0,88±0,03	0,80±0,05	0,81±0,06	0,82±0,04	0,6239
91-98 dias	0,79±0,04	0,72±0,04	0,83±0,04	0,82±0,03	0,2609
98-112 dias	0,95±0,02	0,91±0,02	0,97±0,02	0,95±0,03	0,4899
70-112 dias	0,85±0,01 ^A	0,81±0,02 ^B	0,86±0,01 ^A	0,85±0,02 ^A	0,0510
112-126 dias	0,88±0,03	0,88±0,02	0,91±0,03	0,93±0,03	0,1554
126-140 dias	0,97±0,03	0,88±0,03	0,95±0,03	1,00±0,04	0,1864
140-154 dias	0,92±0,03	0,88±0,02	0,99±0,03	0,97±0,02	0,1954
70-154 dias	0,88±0,01 ^a	0,85±0,01 ^b	0,91±0,01 ^a	0,91±0,01 ^a	0,0009

Tabela 2 – Desempenho dos leitões dos 70 aos 154 dias (Conclusão)

CRMD (kg/d)					
70-84 dias	1,59±0,07	1,57±0,09	1,59±0,08	1,58±0,10	0,9152
84-91 dias	1,94±0,06	1,84±0,09	1,81±0,09	1,89±0,08	0,5112
91-98 dias	2,06±0,06	1,97±0,08	2,01±0,08	2,07±0,10	0,6581
98-112 dias	2,37±0,08	2,29±0,11	2,42±0,06	2,40±0,11	0,3924
70-112 dias	1,99±0,06	1,92±0,09	1,95±0,07	1,98±0,09	0,6426
112-126 dias	2,68±0,11	2,59±0,12	2,78±0,07	2,75±0,13	0,3907
126-140 dias	2,83±0,08	2,87±0,13	2,90±0,08	3,01±0,13	0,6872
140-154 dias	3,22±0,08 ^{AB}	3,07±0,10 ^B	3,34±0,06 ^A	3,29±0,13 ^A	0,0857
70-154 dias	2,38±0,06	2,32±0,09	2,41±0,06	2,43±0,10	0,4729
CA					
70-84 dias	2,20±0,24	2,16±0,17	2,17±0,24	2,10±0,24	0,9110
84-91 dias	2,31±0,18	2,45±0,23	2,50±0,23	2,59±0,28	0,5704
91-98 dias	2,66±0,13	2,79±0,20	2,54±0,15	2,60±0,18	0,5559
98-112 dias	2,50±0,11	2,53±0,09	2,38±0,13	2,54±0,11	0,9727
70-112 dias	2,35±0,08	2,36±0,06	2,28±0,10	2,32±0,07	0,7613
112-126 dias	3,10±0,15	2,95±0,07	3,10±0,12	3,03±0,20	0,9600
126-140 dias	3,00±0,21	3,33±0,12	3,01±0,10	3,01±0,08	0,2800
140-154 dias	3,68±0,18	3,48±0,17	3,38±0,19	3,57±0,21	0,3052
70-154 dias	2,71±0,05	2,73±0,04	2,65±0,08	2,69±0,06	0,6012

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, P ≤ 0,10)

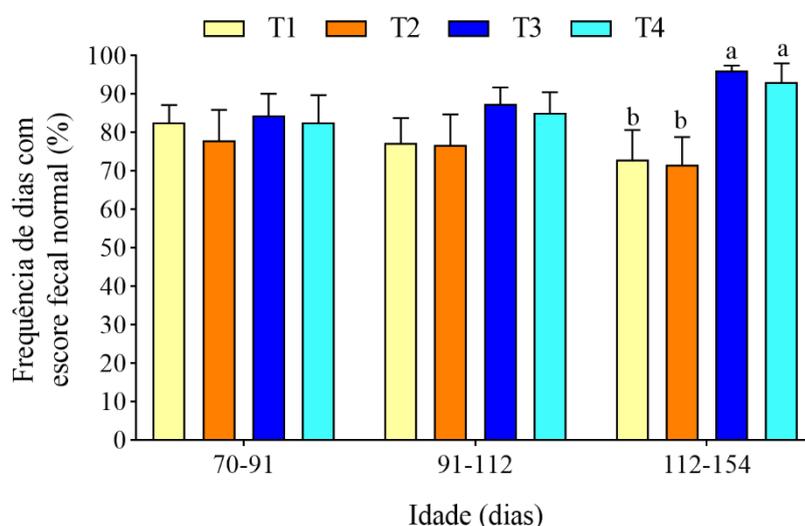
^{a,b} Letras minúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, P < 0,05)

GPMD, ganho de peso médio diário; CRMD, consumo de ração médio diário; CA, conversão alimentar.

6.2 FREQUÊNCIA DE DIAS COM ESCORE FECAL NORMAL

Não houve interação entre os tratamentos e os dias para a frequência de dias com escore fecal normal (P > 0,05). No período de terminação (112-154 dias de idade), os leitões que receberam a fonte hidroxicloreto (T3 e T4) apresentaram maior frequência de dias com escore fecal normal em comparação aos leitões que receberam a tradicional fonte inorgânica (sulfato de cobre, T1 e T2), independentemente do nível ou da associação ao antimicrobiano (P < 0,05, Figura 13).

Figura 13 – Frequência de dias com fezes normais (%) dos leitões dos 70 aos 154 dias de idade



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

^{a,b}Letras minúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, P < 0,05)

6.3 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA

Aos 154 dias de idade, os suínos que receberam a fonte hidroxicloreto (T3 e T4) e os que foram alimentados com baixo nível de CuSO₄ associado ao antimicrobiano (T1) tiveram maior peso de carcaça quente e fria comparado àqueles que receberam alto nível de CuSO₄ sem antimicrobiano (T2, P < 0,05, Tabela 3). Não foram observadas diferenças no rendimento de carcaça entre os tratamentos (P > 0,05, Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de peso das carcaças quente, fria e rendimento de carcaça

Item	Tratamento				P
	T1	T2	T3	T4	
Peso da carcaça quente (kg)	77,86±1,12 ^a	75,73±1,48 ^b	78,99±0,98 ^a	78,60±1,37 ^a	<,0001
Peso da carcaça fria (kg)	76,12±1,09 ^a	73,99±1,44 ^b	77,19±0,96 ^a	76,72±1,34 ^a	0,0036
Rendimento de carcaça (%)	76,41 ± 0,32	76,41 ± 0,23	76,01 ± 0,23	76,11 ± 0,25	0,953

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

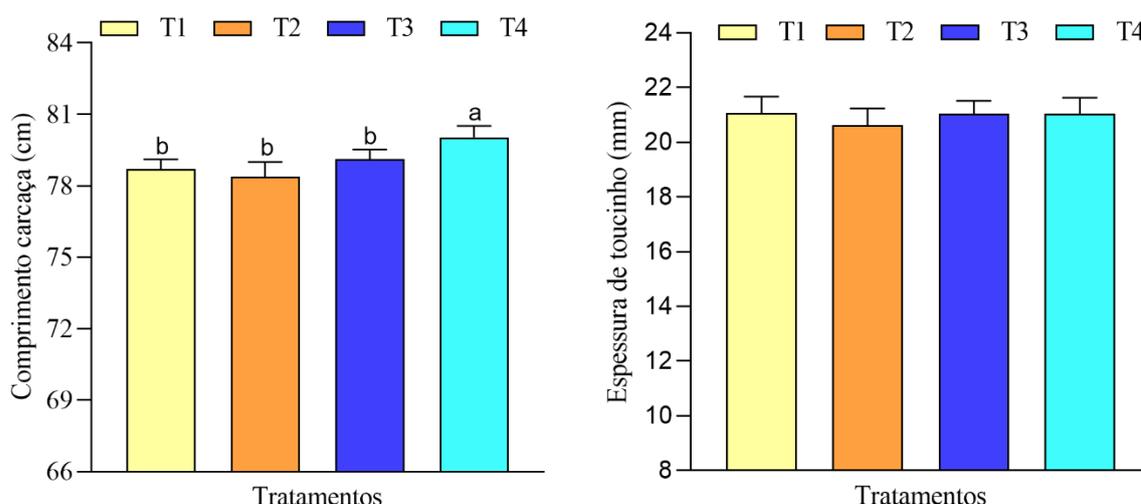
Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC;

Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

^{a,b}Letras minúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, P < 0,05).

Os animais que receberam alto nível de hidroxicloreto de cobre (T4) apresentaram maior comprimento de carcaça em comparação aos demais tratamentos (P < 0,05, Figura 14). Não foi evidenciada diferença na espessura de toucinho entre os animais, independentemente do tratamento fornecido (P > 0,05, Figura 14).

Figura 14 – Valores de comprimento de carcaça e espessura de toucinho



Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

^{a,b}Letras minúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, P < 0,05).

6.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CARNE

6.4.1 pH e temperatura

O pH e a temperatura mensurados 1 hora e 24 horas, após o abate dos animais, não diferiram entre as carcaças dos animais que receberam as fontes de cobre tradicional (CuSO₄) ou hidroxicloreto (CHC), independentemente do nível ou da associação com antimicrobiano (P > 0,05; Tabela 4).

Tabela 4 – Valores de pH e de temperatura 1 hora e 24 horas após o abate

Item	Tratamento				P
	T1	T2	T3	T4	
1 hora após abate					
pH	6,06±0,22	5,78±0,24	6,11±0,16	6,18±0,25	0,1567
Temperatura	35,38±0,51	36,73±0,49	35,08±0,55	34,70±1,19	0,5013
24 horas após abate					
pH	5,66±0,07	5,53±0,08	5,53±0,04	5,25±0,09	0,4711
Temperatura	9,96±0,66	10,37±0,38	10,15±0,52	9,92±0,97	0,3326

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

6.4.2 Avaliação da mioglobina

As concentrações de desoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina foram similares entre as amostras de *Longissimus dorsi* dos suínos que receberam as fontes de cobre tradicional (CuSO₄) ou hidroxicloreto (CHC), independentemente do nível ou da associação com antimicrobiano (P > 0,05, Tabela 5).

Tabela 5 – Avaliação da concentração de desoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina

Item	Tratamento				P
	T1	T2	T3	T4	
Desoximioglobina (%)	4,28±5,85	2,61±8,60	4,20±6,45	3,09±8,96	0,7444
Oximioglobina (%)	58,49±3,34	63,95±7,60	58,16±2,67	62,44±8,13	0,6959
Metamioglobina (%)	30,40±2,31	32,11±2,72	32,31±2,67	32,26±3,00	0,9036

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

6.4.3 Área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e profundidade do lombo

O *Longissimus dorsi* dos suínos alimentados com baixo nível de hidroxicloreto de cobre associado com antimicrobiano (T3) tenderam à maior área de olho de lombo em comparação aos demais tratamentos (T1, T2 e T4, P = 0,0590, Tabela 6). A espessura da gordura subcutânea

(EGS), a profundidade de lombo (PL) e rendimento de carne magra (RCM) foram similares entre os tratamentos ($P > 0,05$, Tabela 6).

Tabela 6 – Valores de área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea, profundidade de lombo e rendimento de carne magra.

Item	Tratamento				P
	T1	T2	T3	T4	
AOL (cm ²)	42,62±1,63 ^B	42,37±2,39 ^B	45,97±0,84 ^A	41,25±1,03 ^B	0,0590
EGS (mm)	11,63±0,67	10,94±1,31	11,29±0,65	10,70±1,20	0,6653
PL (mm)	65,50±2,09	66,87±2,46	69,23±1,91	65,35±1,44	0,4594
RCM (%)	59,10±0,82	60,11±0,80	60,51±0,37	59,91±0,82	0,5294

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

AOL, área de olho de lombo; EGS, espessura de gordura subcutânea; PL, profundidade de lombo; RCM, rendimento de carne magra.

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, $P \leq 0,10$)

6.4.4 Cor

Na avaliação da cor realizada no músculo *Longissimus dorsi*, os componentes de luminosidade (L*) e intensidade de amarelo (b*) não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$). O croma (saturação da carne) e a tonalidade também foram similares entre os animais dos 4 tratamentos ($P > 0,05$, Tabela 7).

A carne dos animais alimentados com CuSO₄ (T1 e T2) tenderam a ter maior intensidade vermelha (a*) do que a carne daqueles que receberam as fontes hidroxicloreto, independentemente do nível de cobre utilizado ou da associação com antimicrobiano ($P = 0,097$; Tabela 7).

Tabela 7 – Avaliação dos componentes da cor, croma e tonalidade

Item	Tratamento				P
	T1	T2	T3	T4	
Cor	25,87±0,38	26,37±0,95	25,56±1,34	26,11±0,18	0,4383
L*	57,19±0,93	58,11±0,36	56,54±0,32	58,29±0,38	0,2700
a*	6,69±0,31 ^A	6,79±0,36 ^A	6,35±0,32 ^B	6,22±0,38 ^B	0,0974
b*	13,74±0,13	14,20±0,44	13,77±0,27	13,80±0,64	0,8685
Croma (saturação)	15,29±0,20	15,75±0,01	15,19±0,02	15,15±0,01	0,9919
Tonalidade	1,12±0,02	1,13±0,12	1,14±0,48	1,15±0,33	0,5777

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, P ≤ 0,10)

6.4.5 Perda de água por gotejamento, perda de peso por cocção e força de cisalhamento

Diferenças não foram observadas no percentual de perda de água por gotejamento e na força de cisalhamento entre as amostras de carne dos animais dos quatro tratamentos (P > 0,05, Tabela 8). Os animais que receberam alto nível de CuSO₄ (T2) tenderam a maior percentual de perda de peso por cocção da carne do que aqueles que receberam baixo nível de CuSO₄ (T1) e também aqueles que receberam alto nível de hidroxiclreto de cobre (T3, P = 0,0891, Tabela 8). Percentuais de perdas similares foram observadas nas amostras dos suínos alimentados com alto nível de hidroxiclreto de cobre (T4) e os demais tratamentos (P = 0,089, Tabela 8).

Tabela 8 – Avaliação da perda de água por gotejamento, perda de peso por cocção e força de cisalhamento

Item	Tratamento				P
	T1	T2	T3	T4	
PAG (%)	8,96±1,15	9,71±1,18	9,70±0,99	10,44±0,79	0,8698
PPC (%)	25,25±0,99 ^B	28,74±1,02 ^A	25,75±0,39 ^B	26,08±0,93 ^{AB}	0,0891
FC (kgf)	5,28±0,40	5,38±0,28	5,20±0,28	5,28±0,40	0,9823

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

PAG, perda de água por gotejamento; PPC, perda de peso por cocção; FC, força de cisalhamento

^{A,B} Representa tendência e letras sobrescritas diferentes, diferem entre si (P > 0,05)

6.5 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E DETERMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos para glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT, P > 0,05, Tabela 9). A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi superior nos animais que receberam alto nível de CuSO₄ (T2) do que naqueles que foram alimentados com baixo nível de CuSO₄ (T1) e alto nível de CHC (T4), mas foi similar aos animais alimentados com baixo nível de CHC (T3, P < 0,05, Tabela 9).

A carne dos suínos alimentados com baixo nível de CHC tiveram maior valor de TBARS em comparação aos demais tratamentos ($P < 0,05$, Tabela 9).

Tabela 9 – Avaliação da superóxido dismutase (SOD, U/mg proteína), glutatona peroxidase (GPx, U/g proteína), catalase (CAT, U/g proteína) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, mg malondialdeído/kg carne)

Item	Tratamento				P
	T1	T2	T3	T4	
SOD	17,61±1,24 ^b	23,45±1,86 ^a	19,22±1,23 ^{ab}	17,50±1,31 ^b	0,0161
GPx	5,15±0,79	4,82±0,75	5,75±0,86	5,11±0,81	0,7016
CAT	3438,39±260,00	3814,36±402,87	3620,32±311,97	4164,40±436,28	0,6508
TBARS	0,12±0,01 ^b	0,13±0,02 ^b	0,18±0,02 ^a	0,13±0,01 ^b	0,0192

Fonte: MENDONÇA, M. V. (2019).

Crescimento 1 (70-91 d) e Crescimento 2 (91-112 d): T1: 100 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 80 mg/kg ZnO; T3: 100 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 80 mg/kg de ZHC; Terminação (112-154 d): T1: 90 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T2: 150 mg/kg CuSO₄ + 70 mg/kg ZnO; T3: 90 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC; T4: 150 mg/kg de CHC + 70 mg/kg de ZHC.

^{a,b}Letras sobrescritas diferentes, diferem entre si (PDIFF, $P < 0,05$).

DISCUSSÃO

7. DISCUSSÃO

Nesta seção, encontra-se a discussão dos resultados encontrados de acordo com a literatura.

A fonte mineral hidroxicloreto possui estrutura cristalina formada por ligações covalentes entre o íon metálico solúvel, vários grupos hidroxila e os íons cloreto (CEMIN et al., 2017). Além disso, a baixa solubilidade em água e alta solubilidade em soluções ácidas (CAO et al., 2000), torna essa fonte menos reativa com outros componentes da dieta (OLUKOSI et al., 2018).

No presente estudo, os suínos alimentados com as fontes inorgânicas hidroxicloreto obtiveram um aumento de 3,65% e 3,56% no peso da carcaça quente e fria, respectivamente, e também apresentaram comprimento de carcaça maior do que os alimentados com as fontes inorgânicas, ambos com alto nível de Cu. A melhora pode ser explicada pelos resultados obtidos de GPMD (6,59%) e peso vivo final (4,70%), associados à redução da frequência de diarreia (23,58%) no período de terminação. Ambos os minerais (Cu e Zn) em níveis farmacológicos podem atuar como antimicrobianos (PÉREZ et al., 2011), promotores de crescimento (ZHANG e GUO, 2007; COBLE et al., 2017) e reduzir a diarreia (HILL et al., 2000; ZHANG e GUO, 2007). Poucos estudos avaliaram as características de carcaça, a qualidade da carne e a capacidade antioxidante em suínos alimentados com cossuplementação de hidroxicloreto de Cu e de Zn em níveis elevados. O efeito dos minerais varia dependendo da idade, nível e fonte, estado imunológico, tipo de ingredientes e interação de microelementos, podendo afetar a absorção e biodisponibilidade de outros nutrientes.

O Cu e Zn podem atuar no desempenho dos suínos possivelmente por ação sinérgica no estímulo do apetite. O Zn atua estimulando o apetite por elevar a secreção de grelina gástrica (ZHANG e GUO, 2008), e o Cu aumenta a concentração do neuropeptídeo Y (LI et al., 2008). Contudo, no presente estudo, as concentrações de neuropeptídeo Y e grelina gástrica não foram avaliadas. Além disso, ambos os minerais (Cu e Zn) podem ter atividade antimicrobiana semelhante aos antibióticos em que a microbiota intestinal é alterada para reduzir a perda de nutrientes da fermentação e suprimir patógenos intestinais (HØJBERG et al., 2005; YAZDANKHAH et al., 2014). Possivelmente, a redução na frequência de dias com diarreia observada neste estudo, tenha ocorrido devido à atividade antimicrobiana do cobre e zinco semelhante aos antibióticos. Outrossim, os minerais hidroxicloreto de cobre e de zinco podem

afetar a digestão e absorção de nutrientes devido à maior biodisponibilidade, resultando em menor potencial de reação com vitaminas, enzimas e outros ingredientes da ração, maior disponibilidade de nutrientes do intestino para o organismo, devido ao aumento da estabilidade intestinal e redução de bactérias patogênicas com consequente aumento do desempenho.

Os resultados do presente estudo são parcialmente consistentes com os achados de Van Kuijk et al. (2019) que relataram, com base em uma meta-análise, que suínos alimentados com 80 mg de Zn/kg na forma hidroxiclreto associado a 15 mg de Cu/kg apresentam melhora no percentual de carne magra e também ao final do período de terminação, a CA e GPMD foram maiores em 3,9% em comparação com os animais que receberam as fontes sulfato. Villagómez-Estrada et al. (2021) também observaram que suínos alimentados com fontes hidroxiclreto apresentaram melhora de 0,75% no rendimento de carcaça e tenderam a um aumento de 5,94% no GPMD no final do período de terminação do que aqueles alimentados com sulfatos, independentemente do nível de Zn (20 ou 80 mg Zn/kg) associado a 15 mg Cu/kg como CuSO_4 em todos os tratamentos.

No entanto, não foram observadas diferenças nas características de carcaça com o fornecimento de Cu e Zn na forma de aminoácido proteinato quelato ou sulfato associado ao nível (baixo, 27 mg Cu/kg e 65 mg Zn/kg e alto, 156 mg Cu/kg e 170 mg Zn/kg). Apenas uma melhoria na CA, incluindo quelato de aminoácido proteinato (HERNÁNDEZ et al., 2008). A associação Cu e Zn também não melhorou o desempenho e as características de carcaça quando os suínos foram alimentados com 125 mg Cu/kg como CuSO_4 e 150 mg Zn/kg como ZnO (FELDPAUSCH et al., 2016). Em frangos de corte, Olukosi et al. (2018) relataram que níveis baixos (20 mg Zn/kg), independentemente das fontes (sulfato ou hidroxiclreto), aumentaram o peso vivo no período experimental, e as aves também apresentaram maior eficiência alimentar na fase de crescimento com as fontes hidroxiclreto. Ademais, foi observada maior porcentagem de peito no rendimento de carcaça das aves alimentadas com hidroxiclreto e em nível baixo separadamente.

O uso de Cu e Zn separadamente na dieta tem se mostrado eficiente na melhora do desempenho e redução da diarreia em suínos. Isso não significa que os animais tenham apresentado deficiência de um deles, pois os ingredientes e o premix podem fornecer esses minerais na dieta. Consideramos como suplementado apenas quando os autores relataram que havia adição desses minerais.

Nossos resultados foram parcialmente consistentes com os da pesquisa de Coble et al. (2017), mostrando que 150 mg/kg adicionais de Cu, nas fontes CuSO_4 ou CHC, melhoraram o

desempenho, levando ao aumento do peso da carcaça quente. Os suínos em crescimento, alimentados com CuSO_4 isolado ou com uma mistura 50/50 de CuSO_4 e complexo de aminoácidos Cu (Cu-AA), mostraram que, com a mistura 50/50 de Cu, os animais consumiram menos ração e melhoraram a eficiência alimentar com base no peso da carcaça quente, independentemente do nível (70 ou 130 mg/kg Cu) (CARPENTER et al., 2019). Espinosa et al. (2020) também observaram maior GPMD em suínos de crescimento suplementados com 150 mg/kg de CHC. Em contrapartida, Coble et al. (2018) mostraram que 150 mg/kg de CHC associado a subprodutos da dieta não influenciam o desempenho. Resultados semelhantes sobre o desempenho também foram relatados por Zheng et al. (2018) ao adicionarem 130 mg/kg de CHC para suínos.

A maioria dos estudos sugere que o Cu melhora o desempenho durante os períodos iniciais da fase de crescimento e terminação com pouca ou nenhuma resposta durante o período final da fase de terminação (HASTAD et al., 2001). Porém, em nosso estudo e em outras pesquisas, os resultados observados, ao final do período de terminação, demonstraram que o CHC pode ser mais eficaz em suínos com maior peso de mercado (COBLE et al., 2017; VILLAGÓMEZ-ESTRADA et al., 2021).

O zinco também tem sido usado para melhorar o desempenho dos suínos; a inclusão deste mineral traço na dieta é necessária para o desempenho, funções metabólicas e enzimáticas e capacidade antioxidante (KIM et al., 2018). Foi demonstrado por Carpenter et al. (2016) que a suplementação de 100 mg/kg de ZnSO_4 ou ZHC maximizou peso corporal e GPMD. Por outro lado, suínos alimentados com 150 mg/kg de ZHC não melhoraram o desempenho, mas aumentaram a porcentagem de rendimento de carcaça e o peso da carcaça quente (CEMIN et al., 2019).

Alguns estudos observaram melhora no desempenho dos leitões, provavelmente devido a um efeito aditivo de Cu e Zn com maior disponibilidade de nutrientes do intestino para o organismo, devido ao aumento da estabilidade intestinal e redução de bactérias patogênicas (NAMKUNG et al., 2006; PÉREZ et al., 2011). Ambos os minerais (Cu e Zn) podem ter atividade antimicrobiana na microbiota intestinal, reduzindo o número de coliformes (NAMKUNG et al., 2006), melhorando a saúde intestinal, levando ao aumento da integridade intestinal, o que pode afetar a digestão e absorção de nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho dos animais.

No que se refere à qualidade da carne, a mesma pode ser definida como uma combinação das propriedades físicas e químicas da carne fresca e processada (CHEN et al., 2012) com o

valor do pH, capacidade de retenção de água (perda por gotejamento) e cor da carne sendo considerados parâmetros de avaliação da qualidade da carne.

A inclusão dos minerais Cu e Zn pode influenciar parâmetros de qualidade da carne e carcaça devido à participação em diversos sistemas enzimáticos e processos metabólicos. De acordo com Alves (2011), o Cu é componente da enzima ceruloplasmina, essencial para a absorção e transporte de ferro necessário para a síntese de hemoglobina, o que interfere na cor da carne. Além disso, o zinco participa de diversos processos metabólicos, que podem interferir na taxa de glicogenólise, resultando em efeito benéfico para qualidade da carne (ALVES, 2011).

No presente estudo, a qualidade da carne foi semelhante entre os suínos suplementados com as fontes inorgânicas hidroxiclreto ou fontes inorgânicas tradicionais, independentemente do nível utilizado. Cabe destacar que não houve comprometimento ou prejuízo da qualidade da carne ao utilizar os minerais hidroxiclreto de cobre e de zinco para suínos em crescimento e terminação.

Suínos alimentados com baixo nível de Cu fonte hidroxiclreto apresentaram tendência ao aumento na área do olho do lombo e redução da porcentagem de perda por cocção. Esse resultado pode estar relacionado ao maior peso de carcaça quente e fria observado nesses animais. Além disso, a perda por cocção foi positiva, uma vez que está relacionada à menor quantidade de água presa nas estruturas proteicas resultante da desnaturação das proteínas durante o cozimento da carne de porco (HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2016).

Segundo Hernandez et al. (2008), o estudo desenvolvido por eles foi o primeiro a avaliar o efeito do Cu e Zn quelatados na qualidade da carne suína, não sendo verificadas diferenças significativas no pH e cor da carne dos animais alimentados com as fontes sulfato ou quelatada e com diferentes níveis de inclusão. Porém, foi observado que suínos alimentados com os maiores níveis de Cu (156 mg/kg) e Zn (170 mg/kg) apresentaram maior rendimento de carcaça.

No presente estudo também não foram verificadas diferenças significativas no pH e na cor da carne. Os resultados obtidos de pH inicial e final das amostras de carne suína apresentaram valores dentro da normalidade (pH inicial igual ou maior que 5,8 e pH final menor que 6,0) (BRIDI; SILVA, 2009). Em relação a cor da carne, os valores de L* ficaram entre 49 e 60, considerado dentro dos padrões de qualidade da carne suína (AMSA, 2001; DOURADO, 2013).

No estudo de Holen et al. (2018), o zinco adicionado na forma de Zn complexado com AA ou sulfato de Zn não teve efeito nas características de cor da carne e na perda por gotejamento. A cor da carne de porco depende da quantidade de mioglobina e do conteúdo

relativo de suas formas químicas (oximioglobina, metamioglobina e desoximioglobina), bem como da estrutura do tecido da carne. A quantidade relativa dessas formas de mioglobina influencia o L*, a*, b*, croma e matiz (KARAMUCKI et al., 2013).

Um *status* redox balanceado traz benefícios para os animais e melhora as características de qualidade da carne, como capacidade de retenção de água, estabilidade da cor e proteção contra a oxidação de lipídios e proteínas, características essenciais que os consumidores demonstram preocupação no momento da compra (ESTÉVEZ, 2015). A cor da carne está relacionada ao conteúdo total de mioglobina (Mb) e à proporção de Mb redox nas formas de oximioglobina (oxi), desoximioglobina (desoxi) e metamioglobina (met-Mb). Essas formas estão fortemente relacionadas ao estado oxidativo do tecido influenciado pelo consumo de oxigênio e pela capacidade antioxidante (FIGUEIREDO et al., 2008). Esta relação entre as formas de Mb e a atividade de enzimas antioxidantes não foi observada neste estudo, indicando que não houve condição de estresse oxidativo da carne com o uso das fontes inorgânicas hidroxicloreto.

Os valores de metamioglobina foram similares entre os tratamentos com minerais inorgânicos tradicionais e inorgânicos hidroxicloreto. Esse resultado foi positivo, pois a redução da qualidade da cor da carne pode ocorrer a partir da oxidação do ferro presente no grupo heme da proteína mioglobina, conduzindo a formação de metamioglobina em que o ferro está no estado férrico e resulta na coloração amarronzada da carne (SILVA, 2014). Além disso, foi observado erro padrão da média elevado para os resultados de desoximioglobina, conforme esperado devido à rápida oxigenação.

Relatos da qualidade da carne relacionados à suplementação de Cu e Zn em suínos são limitados na literatura, e comparações diretas não puderam ser feitas. De acordo com Bami et al. (2019), a presença de minerais traço na alimentação animal é necessária para muitos processos metabólicos, uma vez que são catalisadores de muitos sistemas enzimáticos e parte de centenas de moléculas envolvidas no metabolismo intermediário, secreção de hormônios, efeitos antibacterianos e sistemas de defesa imunológica (DIECK et al., 2003), conseqüentemente, influencia o desempenho, a qualidade da carne e o consumo de frangos de corte.

Ademais, a capacidade antioxidante da carne também é importante (CHEN et al., 2012) porque a oxidação é a principal causa não microbiana da deterioração da qualidade da carne (SCHWARZ et al., 2017). Além dos maiores problemas econômicos na indústria da carne, a oxidação compromete a qualidade nutricional, limita a vida útil, aumenta a toxicidade e diminui

o valor de mercado de carnes e derivados (SCHWARZ et al., 2017). O estresse oxidativo é caracterizado pela depleção de antioxidantes intracelulares e aumento de radicais livres com consequente inibição da atividade de várias enzimas que contribuem para o metabolismo e desintoxicação de espécies reativas de oxigênio, como glutathiona peroxidase, catalase e superóxido dismutase (JIAO et al., 2018).

Minerais hidroxidreto podem ter alguns efeitos diretos ou indiretos, por meio da estabilidade da vitamina E na ração, sobre o estresse oxidativo e a qualidade da carne (VAN KUIJK et al., 2019). A vitamina E foi descrita por proteger a carne suína da oxidação e por alterar o perfil de ácidos graxos na carne (GUO et al., 2006; VAN KUIJK et al., 2019). Em níveis mais altos, pode ser esperado maior impacto negativo com os minerais inorgânicos, enquanto os minerais inorgânicos hidroxidreto não causariam efeitos negativos. Consequentemente, mais nutrientes e energia podem se tornar disponíveis para o desempenho e desenvolvimento da carcaça (VAN KUIJK et al., 2019).

No presente estudo, suínos alimentados com altos níveis de CuSO_4 aumentaram a atividade de SOD e apresentaram atividade similar de GSH-Px e CAT em todos os animais. É provável que as amostras de *Longissimus dorsi* do tratamento com alto nível de cobre na fonte sulfato (T2) tenha apresentado uma maior indução da atividade da SOD, devido ao maior estresse oxidativo que ocorreu nesse tratamento. O estresse oxidativo pode desencadear alterações fisiológicas e aumentar a susceptibilidade às doenças por estar envolvido em condições patológicas. Situação esta, que foi evidenciada neste estudo como maior frequência de diarreia observada nos animais do T2 durante a fase de terminação.

Além disso, maior oxidação lipídica foi observada nos animais suplementados com baixo nível de Cu oriundo da fonte hidroxidreto, embora tenha sido observado um ligeiro aumento no nível de MDA a metamioglobina não foi alterada, indicando que não houve prejuízo na capacidade antioxidante.

A oxidação lipídica diminui as propriedades nutricionais da carne (uma vez que envolve a perda de ácidos graxos essenciais e a geração de compostos tóxicos como o malondialdeído), afeta os traços sensoriais essenciais de carnes e produtos cárneos, causando deterioração de sabor, textura e cor (ZHANG et al., 2016). O malondialdeído é o principal aldeído da decomposição lipídica e não ultrapassou 0,17 mg/kg de carne em todos os tratamentos desta pesquisa. Segundo Zhang et al. (2016), valores até 0,175 mg MDA/kg são considerados níveis de oxidação lipídica muito baixos para a carne suína, já que o valor TBARS variando de 0,202 a 0,664 MDA/kg pode ser definido como carne de porco fresca.

Talvez, se as amostras de carne tivessem sido armazenadas por um período prolongado (12 dias), conforme descrito por Godziszewska et al. (2017), a oxidação lipídica ficasse mais evidente. O grau de insaturação dos ácidos graxos à exposição à luz e ao calor, e à presença de oxigênio molecular, componentes pró-oxidantes e antioxidantes são fatores que afetam a estabilidade oxidativa dos lipídeos (LIMA JÚNIOR et al., 2013).

Em condições fisiológicas, até 5% do oxigênio reage aos ânions superóxidos. No músculo, o CAT e GSH-Px são as principais enzimas de remoção de peróxido, enquanto SOD protege contra danos por superóxido (FIGUEIREDO et al., 2008; CHEN et al., 2010; CHEN et al., 2012; SCHWARZ et al., 2017; JIAO et al., 2018). Na carne de peru, foi demonstrado um aumento das atividades das enzimas SOD e GSH-Px, mas sem alterações nas concentrações de MDA, indicam que a alta capacidade antioxidante do tecido impede um aparente aumento da oxidação lipídica (JANISCH et al., 2012).

A dieta dos animais pode alterar os níveis e atividade antioxidante, bem como as condições de armazenamento e embalagem da carne (GODZISZEWSKA et al., 2017). A intensidade da oxidação de lipídios e de proteínas no músculo *post mortem* depende de uma variedade de mecanismos endógenos (ferro livre, mioglobina e hemoglobina, enzimas antioxidantes, conteúdo e composição de lipídios) e também de fatores exógenos (exposição ao oxigênio e luz, a temperatura de armazenamento e processamento) (SOLADOYE et al., 2015; DOMÍNGUEZ et al., 2019).

CONCLUSÕES

8. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que:

- 8.1 A cossuplementação de suínos com hidroxiclreto de cobre e zinco na dieta, durante a fase de crescimento e terminação, melhora o desempenho, principalmente o ganho de peso médio diário e peso final;
- 8.2 Hidroxiclreto de cobre e zinco cossuplementados, na dieta de suínos de crescimento e terminação, aumenta a frequência de dias com escore fecal normal;
- 8.3 A cossuplementação de suínos de crescimento e terminação, com hidroxiclreto de cobre e zinco, não promove maior estabilidade oxidativa no *Longissimus dorsi* e qualidade da carne, mas apresenta melhora nas características de carcaça.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2021**. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf>. Acesso em: 19 jun. 2021.
- AGAPITO, G.; SEYBOTH, L. Hidroxi-Minerais – uma nova abordagem para uso de minerais em todas as espécies animais. **Avic. Ind.** n. 02, 2017.
- ALVES, L. R. **Qualidade de carne suína. 1. efeito do gene halotano sobre a deposição de gordura intramuscular. 2. efeito da suplementação com minerais no pré-abate**. 2011. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Uberlândia, Universidade de Uberlândia, Uberlândia, 2011.
- AMSA. **Meat Evaluation Handbook**. American Meat Science Association, Savoy, Illinois USA. 2001.
- AMSA. **Research Guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of meat**. 2. ed. Champaign, Illinois USA. 2015.
- ARAÚJO, A. P. **Manejo pré-abate e bem-estar dos suínos em frigoríficos brasileiros**. 2009. 139 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.
- BAMI, K.; AFSHARMANESH, M.; EBRAHIMNEJAD, H. Effect of dietary Bacillus coagulans and different forms of zinc on performance, intestinal microbiota, carcass and meat quality of broiler chickens. **Probiotics Antimicrob Proteins**, 2019.
- BANZATTO, A. D.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1989, 249 p.
- BEERS, R.F.; SIZER, J.W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **J. Biol. Chem.** v. 195, p. 133-140, 1952.
- BERGERON N. et al. Antioxidant status and inflammatory response in weanling piglets fed diets supplemented with arginine and zinc. **Can J Anim Sci**, v. 94, n.1, p.87-97, 2014.
- _____. Feed supplementation with arginine and zinc on antioxidante status and inflammatory response in challenged weanling piglets. **Anim Nutr.** v. 3, p. 236-246, 2017.
- BERGERON, N.; GUAY, F. Impact of zinc and arginine on antioxidant status of weanling piglets raised under commercial conditions. **Anim Nutr.** v. 5, p. 227–233, 2019.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA/FAEPE. p. 450, 2004.
- BERTOL, T. M.; BRITO, B. G. Efeito do óxido de zinco x sulfato de cobre com ou sem restrição alimentar, sobre o desempenho e ocorrência de diarreia em leitões. **R. Bras. Zootec.** v. 24, n. 2, p. 279-288, 1995.

- BEZERRA, B. M. O. et al. Impactos do estresse oxidativo na produção intensiva de suínos: desafios e perspectivas. Uma Revisão. **Rev. Bras. Hig. Sanid. Anim.** v. 9, n. 4, p. 699-715, 2015.
- BIKKER, P. et al. Dose-dependent effects of copper supplementation of nursery diets on growth performance and fecal consistency in weaned pigs. **J. Anim. Sci.** v. 94, p.181-186, 2016.
- BLAABJERG, K.; POULSEN, H. D. **The use of zinc and copper in pig production.** Nationalt Center for Jordbrug og Fødevarer, Aarhus University, Dept. of Animal Science, Foulum, 2017.
- BORAH, S.; PAUL, D. The six different roles of zinc in pigs. **Pig Progress**, 16 mar. 2018. Disponível em: <http://www.pigprogress.net/Health/Articles/2018/3/The-six-different-roles-of-zinc-in-pigs-260982E/?cmpid=NLC|pigprogress_focus|2018-03-16|The_six_different_roles_of_zinc_in_pigs>. Acesso em: 16 nov. 2020.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. **Anal Biochem.** v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRIDI, A. M.; da SILVA, C. A. **Avaliação da carne suína.** Londrina: Midiograf, 2009, 120 p.
- CAO, J., P. R. et al. Relative bioavailability of basic zinc sulfate and basic zinc chloride for chicks. **J. Appl. Poult. Res.** v. 9, p. 513–517, 2000.
- CARLSON, M. S.; HILL, G. M.; LINK, J. E. Early- and traditionally weaned nursery pigs benefit from phase-feeding pharmacological concentrations of zinc oxide: effect on metallothionein and mineral concentrations. **J. Anim. Sci.** v. 77, p.1199–1207, 1999.
- CARPENTER, C. B. et al. Effects of Increasing Zn from zinc sulfate or zinc hydroxychloride on finishing pig growth performance, carcass characteristics, and economic return. **Kansas Agric. Exp. Stn. Res. Reports.** v. 2, p. 1-13, 2016.
- CARPENTER, C. B. **Effects of increasing copper and zinc from two different sources and space allowance on nursery and finishing pig growth performance and carcass characteristics.** 2017. 63 p. Thesis (Master of Science) – Department of Animal Sciences and Industry College of Agriculture, Kansas State University, Manhattan, Kansas, 2017.
- CARPENTER, C. B. et al. Effects of increasing copper from tri-basic copper chloride or a copper-methionine chelate on growth performance of nursery pigs. **Transl. Anim. Sci.** v. 3, p. 369–376, 2019.
- CASEY, J. A. et al. High-density livestock operations, crop field application of manure, and risk of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection, Pennsylvania, USA. **JAMA Intern Med.** 173(21). p. 1980–1990, 2013.
- CEMIN, H. S. et al. Effect of zinc oxide, zinc hydroxychloride, and tri-basic copper chloride on nursery pig performance. **Kansas Agric. Exp. Stn. Res. Reports.** 2017.

- _____. Effects of zinc source and level on growth performance and carcass characteristics of finishing pigs. **Transl. Anim. Sci.** v. 3, p. 742–748, 2019.
- CHAI, W. et al. High-dose dietary zinc oxide mitigates infection with transmissible gastroenteritis virus in piglets. **BMC Vet. Res.** v. 10, n. 75, 2014.
- CHEN, T. et al. Phospholipase A2 and antioxidant enzyme activities in normal and PSE pork. **Meat Sci.** v. 84, p. 143–146, 2010.
- CHEN, W. et al. Q. Comparative Analysis on Antioxidative Ability of Muscle between Laiwu Pig and Large White. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** v. 25, n. 8, p. 1190-1196, 2012.
- CHENG, J. et al. Effects of different copper sources and levels on plasma superoxide dismutase, lipid peroxidation, and copper status of lambs. **Biol Trace Elem Res.** v. 144, p. 570–579, 2011.
- CLOSE, W.H. Trace mineral nutrition of pigs revisited: meeting production and environmental objectives. **Rec. Adv. Anim. Nutr. In Aust.** University of New England, NSW 14, p. 133-142. 2003.
- COBLE, K. F. et al. Effects of added zinc and copper on growth performance and carcass characteristics of finishing pigs fed ractopamine HCl. **Kansas Agric Exp Sta Res Rep.** 2013.
- _____. The effects of copper source and concentration on growth performance, carcass characteristics, and pen cleanliness in finishing pigs. **J. Anim. Sci.** v. 95, 2017.
- _____. Effect of diet type and added copper on growth performance, carcass characteristics, energy digestibility, gut morphology, and mucosal mRNA expression of finishing pigs. **J. Anim. Sci.** v.96, p.3288–3301, 2018.
- COHEN, J.; STEWARD, F. A. Hydroxy minerals - the newest development in mineral nutrition: feed science. **AFMA Matrix.** v. 23, p. 45-49, 2014.
- CORLESS, A. B., et al. Dietary factors affecting zinc bioavailability, and zinc bioavailability in tribasic zinc chloride. **Poultry Sci.** v. 79 (Suppl. 1):46. (Abstr.). 2000.
- CORREA, L. B. **Efeitos de diferentes fontes e níveis de cobre no desempenho, “status” de Cu, fermentação ruminal, metabolismo e oxidação de lipídios em bovinos.** 2010. 124 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.
- CROMWELL, G. L. et al. Tribasic copper chloride and copper sulfate as copper sources for weanling pigs. **J. Anim. Sci.** v. 76, p. 118–123, 1998.
- DEBSKI, B. Supplementation of pigs diet with zinc and copper as alternative to conventional antimicrobials. **Pol J Vet Sci.** v.19, n. 4, 917–924, 2016.
- DIECK, H. et al. Changes in rat hepatic gene expression in response to zinc deficiency as assessed by DNA arrays. **J Nutr.** v. 133, p. 1004–1010, 2003.

DOMÍNGUEZ, R. et al. A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. **Antioxidants**. v. 8, p. 429, 2019.

DOURADO, R. C. **Qualidade da carne de suínos submetidos a ambiente controlados e não controlados**. 2013. 50 f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2013.

DU, J. et al. CuZnSOD gene expression and its relationship with anti-oxidative capacity and pork quality. **S Afr J Anim Sci**. v. 40, n. 3, p. 265-272, 2010.

EDMONDS, M. S.; BAKER, D. H. Toxic effects of supplemental copper and roxarsone when fed alone or in combination to young pigs. **J. Anim. Sci**. v. 63, p. 533-537, 1986.

EDMONDS, M. S.; ARENTSON, B. E. Effect of supplemental vitamins and trace minerals on performance and carcass quality in finishing pigs. **J. Anim. Sci**. v. 79, p. 141–147, 2001.

ESPINOSA, C. D. et al. Effects of copper hydroxychloride on growth performance and abundance of genes involved in lipid metabolism of growing pigs. **J. Anim. Sci**. v. 98. 2020.

ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: a review. **Meat Sci**. v. 89, p. 259–279, 2011.

EWING, J.F.; JANERO, D.R. Microplate Superoxide Dismutase Assay Employing a Nonenzymatic Superoxide Generator. **Anal. Biochem**, v. 232, p. 243-248, 1995.

FELDPAUSCH, J. A. et al. Effects of dietary copper, zinc, and ractopamine hydrochloride on finishing pig growth performance, carcass characteristics, and antimicrobial susceptibility of enteric bacteria. **J. Anim. Sci**. v. 94, p. 3278–3293, 2016.

FESTA, R. A.; THIELE, D. J. Copper: an essential metal in biology. **Current Biology**, v. 21, p. 877–883, 2011.

FIESP. Outlook FIESP 2029. **Projeções para o Agronegócio Brasileiro**. São Paulo, FIESP 2020.

FIGUEIREDO, P. A. et al. The role of mitochondria in aging of skeletal muscle. **Biogerontology**. v. 9, p. 67–84, 2008.

FILHO, R. A. T. et al. Drip loss assessment by different analytical methods and their relationships with pork quality classification. **J Food Qual**. p. 1-8, 2017.

GAO, Y. et al. Advances in the mechanism of high copper diets in restraining pigs growth. **J Anim Physiol Anim Nutr**. v. 104, p. 667-668, 2020.

GARRINE, C. M. L. P. **Efeitos de dois níveis de sulfato de cobre e cobre metionina no metabolismo e oxidação de lipídios em ovinos**. 2013. 94 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

- GATTÁS, G.; BARBOSA, F. F. Cobre na nutrição de aves e suínos. **Rev. Eletrônica Nutritime**. v.1, n. 3, p. 117-133, 2004.
- GAUDRÉ, D. Nutritional zinc requirements in growing–finishing pigs: Are there options for reducing mineral-form dietary zinc?. **Revue R&D de la filière porcine française**, v. 3, n. 1, p. 9-18, 2016.
- GODZISZEWSKA, J. D. et al. Nutrient oxidation in pork loin is influenced by feed supplementation and packing methods. **J. Food Compos. Anal.** v. 56, p. 18–24. 2017.
- GONZALES-EGUIA, A. et al. Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets. **Livest Sci.** v. 126, p. 122–129, 2009.
- GUO, Q. et al. Effects of dietary vitamin E and fat supplementation on pork quality. **J. Anim. Sci.** v. 84, p. 3089–3099, 2006.
- HASTAD, C. W. et al. Evaluation of different copper sources as a growth promoter in swine finishing diets. **Kansas Agric Exp Sta Prog Rep.** v. 880, p. 111-117, 2001.
- HEDEMANN, M. S.; JENSEN, B. B.; POULSEN, H. D. Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs. **J. Anim. Sci.** v. 84, p. 3310–3320, 2006.
- HEO, J. M. et al. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **J Anim Physiol Anim Nutr.** v. 97, p. 207–237, 2013.
- HERNANDEZ, A. et al. Levels of copper and zinc in diets for growing and finishing pigs can be reduced without detrimental effects on production and mineral status. **Animal**, v. 2, p. 1763-1771, 2008.
- HERNÁNDEZ-LÓPEZ, S. H. et al. Antioxidant protection of proteins and lipids in processed pork loin chops through feed supplementation with avocado. **J Food Sci Technol.** v. 53, n. 6, p. 2788–2796, 2016.
- HILL, G. M. et al. Growth promotion effects and plasma changes from feeding high dietary concentrations of zinc and copper to weanling pigs (regional study). **J. Anim. Sci.** v. 78, p. 1010–1016, 2000.
- HØJBERG, O. et al. Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 71, p. 2267–2277, 2005.
- HOLEN, J. P.; RAMBO, Z.; HILBRANDS, A. M.; JOHNSTON, L. J. Effects of dietary zinc source and concentration on performance of growing–finishing pigs reared with reduced floor space. **Prof. Anim. Sci.** v. 34, p. 133–143, 2018.
- HONIKEL, K. O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Sci.** v. 49, n. 4, p. 447-457, 1998.

- HUANG, Y., et al. effect of dietary copper sources (cupric sulfate and cupric methionate) and concentrations on performance and fecal characteristics in growing pigs. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** v. 23, n. 6, p. 757-761, 2010.
- JANISCH, S.; WICKE, M.; KRISCHEK, C. Mitochondrial respiratory and antioxidative enzyme activities in turkey meat. **Animal.** v. 6, p. 346–352. 2012.
- JENSEN, B. B. Extensive literature search on the “effects of copper intake levels in the gut microbiota profile of target animals, in particular piglets”. **EFSA Supporting Publications.** v. 13, n. 5, p.1024, 2016.
- JIAO, L. F. et al. Influences of copper/zinc-loaded montmorillonite on growth performance, mineral retention, intestinal morphology, mucosa antioxidant capacity, and cytokine contents in weaned piglets. **Biol Trace Elem Res.** v. 185, p. 356–363, 2018.
- JONES, D. G.; SUTTLE, N. F. Some effects of copper deficiency on leucocyte function in sheep and cattle. **Res. Vet. Sci.** v. 31, p. 151-156, 1981.
- KARAMUCKI, T.; JAKUBOWSKA, M.; RYBARCZYK, A.; GARDZIELEWSKA, J. The influence of myoglobin on the colour of minced pork loin. **Meat Sci.** v. 94, p. 234–238, 2013.
- KATOULI, M. et al. The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs. **J Appl Environ Microbiol.** v.87, p.564-573, 1999.
- KIM, B. E. et al. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. **Nat. Chem. Biol.** v. 4, p. 176–185, 2008.
- KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev. Nutr.** v. 16, n.4, p. 433-441, 2003.
- KRZYWICKI, K. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. **Meat Sci.** v. 3, p. 1-10, 1979.
- LAURIDSEN, C. et al. Antioxidative and oxidative status in muscles of pigs fed rapeseed oil, vitamin E, and copper. **J Anim Sci,** v. 77, p. 105-115, 1999.
- LEÃO, L. L. et al. Uso de antioxidantes naturais em carnes e seus subprodutos. **Cad. Ciênc. Agra.** v. 9, n. 1, p. 94-100, 2017.
- LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. **Swine nutrition.** CRC press, Boca Raton, FL. p. 247-254. 2001.
- LI, L. L. et al. Intramuscular Administration of Zinc Metallothionein to Preslaughter Stressed Pigs Improves Anti-oxidative Status and Pork Quality. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** v. 20, n. 5, p. 761-767, 2007.
- LI, J. et al. Effect if high dietary copper on weight gain and neuropeptide Y level in the hypothalamus of pigs. **J Trace Elem Med Biol.** v. 22, p. 33–38, 2008.

- LI, Y. J. et al. Effects of dietary supplementation with ferulic acid or vitamin E individually or in combination on meat quality and antioxidant capacity of finishing pigs. **Asian Australas. J. Anim. Sci.** v. 28, p. 374-381, 2015.
- LI, M. Z. et al. Nanosize of zinc oxide and the effects on zinc digestibility, growth performances, immune response and serum parameters of weanling piglets. **Anim. Sci. J.** v. 87, p. 1379–1385, 2016.
- LIMA JÚNIOR, D. M. et al. Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina. **Acta Vet. Bras.** v. 7, p. 14–28, 2013.
- LINS, P. G.; SILVA, A. A; PUGINE, S. M. P.; ARCE, A. I. C.; COSTA, E. J. X.; MELO, M. P. Effect of exposure to pulsed magnetic field on microbiological quality, color and oxidative stability of fresh ground beef. **J. Food Process Eng.** v. 40, p. 1-9, 2017.
- LIU, Y. et al. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. **Anim Nutr.** p. 1-13, 2018.
- LU, L. et al. Effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on the growth performance, liver copper concentrations of broilers fed in floor pens, and stabilities of vitamin e and phytase in feeds. **Biol. Trace Elem. Res.** v. 138, p. 181-189, 2010.
- LUO, X. G.; DOVE, C. R.. Effect of dietary copper and fat on nutrient utilization, digestive enzyme activities, and tissue mineral levels in weanling pigs. **J. Anim. Sci.** v. 74, p.1888–1896, 1996.
- MA, Y. L., et al. Multitrial analysis of the effects of copper level and source on performance in nursery pigs. **J. Anim. Sci.** v. 93, p.606-614, 2015.
- McDOWEL, L. R. **Copper and molybdenum – minerals in animal and human nutrition.** Academy Press Inc. San Diego, Califórnia. p. 178-204, 1992.
- MIKKELSEN, A.; JUNCHER, D.; SKIBSTED, L. H. Metmyoglobin reductase activity in porcine m. longissimus dorsi muscle. **Meat Science.** v. 51, p. 155-161, 1999.
- MILANI, N. C. **Utilização de zinco, na forma de óxido de zinco nanoparticulado, em dietas para leitões recém-desmamados.** 2016. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.
- MONAHAN, F. J. et al. Catalysis of lipid oxidation in muscle model systems by haem and inorganic iron. **Meat Sci.** v. 34, p. 95–106, 1993.
- MUNIZ, M. H. B. et al. Fontes orgânicas e inorgânicas de zinco e cobre como melhoradores de desempenho em leitões desmamados. **R. Bras. Zootec.** v. 39, n.9, p. 1999-2005, 2010.
- NAMKUNG et al. Effect of pharmacological intakes of zinc and copper on growth performance, circulating cytokines and gut microbiota of newly weaned piglets challenged with coliform lipopolysaccharides. **Can. J. Anim. Sci.** v 86, p. 511–522, 2006.

- NATORI, M.M., et al. Oil blends with sesame oil in fish diets: oxidative stress status and fatty acid profiles of lambari. **R. Bras. Zootec.** v. 48, 2019.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine.** 10. ed. Washington, D.C.: National Academy, 1998, 189 p.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine.** 11. ed. Washington, D.C.: National Academy, 2012, 400 p.
- OLUKOSI, O. A.; VAN KUIJK, S.; HAN, Y. Copper and zinc sources and levels of zinc inclusion influence growth performance, tissue trace mineral content, and carcass yield of broiler chickens. **Poult. Sci.** v. 97, p. 3891–3898, 2018.
- PAGLIA, D.E; VALENTINE, W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase **J Lab Clin Med.** v. 70, p. 158-169, 1967.
- PASCOAL, L.A.F.; THOMAZ, M.C.; WATANABE, P.H. et al. Fiber sources in diets for newly weaned piglets. **Rev. Bras. Zootec.** v.41, p.636-642, 2012.
- PÉREZ, V. G. et al. Additivity of effects from dietary copper and zinc on growth performance and fecal microbiota of pigs after weaning. **J. Anim. Sci.** v. 89, p. 414-425, 2011.
- PRINCE, T. J. Effects of copper sulfate and ferrous sulfide on performance and liver copper and iron stores of pigs. **J. Anim. Sci.** v. 49, n. 2, p. 507-513, 1979.
- RAY, F. K. 2004. Pork Carcass Evaluation and Procedures. **Division of Agricultural Sciences and Natural Resources**, Oklahoma State University, 2004. Disponível em: <<http://osufacts.okstate.edu>>. Acesso em: 02 abr. 2019.
- REGINA, R.; BERTECHINI, A. G. **Minerais. Nutrição animal, principais ingredientes e manejo de aves e suínos.** São Paulo: Fundação Cargill. p. 173-206, 2010.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017, 488p.
- SALES, J. Optimal dietary copper levels for pig growth. **Arch. Zootech.** v. 17, n. 2, p. 5-25, 2014.
- SAS: STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS:** software v. 9.3. Cary: SAS Institute, 2010.
- SCHIMITT, R. L. **The effects of zinc source and supplemental copper on growth performance, carcass characteristics, and morbidity and mortality of growing-finishing pigs raised under commercial conditions.** 2018. 87 f. Thesis (Master of Science in Animal Sciences) - Graduate College of the University of Illinois, Urbana-Champaign, 2018.
- SCHWARZ, C.; EBNER, K. M.; DULLER, S.; FURTNER, F.; WETSCHEREK, W.; WERNERT, W.; KANDLER, W.; SCHEDLE, K. Influence of high inorganic selenium and

manganese diets for fattening pigs on oxidative stability and pork quality parameters. **Animal**. v. 11, n. 2, p. 345–353, 2017.

SHELTON, N. W. et al. Effects of copper sulfate, tri-basic copper chloride, and zinc oxide on weaning pig performance. **J. Anim. Sci.** v. 89, p. 2440-2451, 2011.

SILVA, F. A. M. et al. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade oxidante. **Quím. Nova**. v.22, p. 94-103, 1999.

SILVA, J. G. et al. **Interação entre os íons Zn(II) e Cu(II) e a catalase, um estudo voltamétrico**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 7 p.

SILVA, A. A. **Efeito de condição sexual, tempo de confinamento, atmosfera modificada, metabolismo celulares e regiões anatômicas do músculo sobre a oxidação e outras características de qualidade da carne bovina maturada**. 2014. 72 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

SLIFIERZ, M. J.; FRIENDSHIP, R.; WEESE, J. S. Zinc Oxide Therapy Increases Prevalence and Persistence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Pigs: A Randomized Controlled Trial. **Zoonoses Public Health**. v.62, p.301–308, 2014.

SOLADOYE, O. P. et al. Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.** v. 14, p. 106–122, 2015.

TANG, J.; FAUSTMAN, C.; HOAGLAND, T.A. Krzywicki revisited: equations for spectrophotometric determination of myoglobin redox forms in aqueous meat extracts. **J Food Sci.** v. 69, n. 9, p. 717-720, 2004.

TEYE, G. A.; SHEARD, P.R.; WHITTINGTON, F.M.; NUTE, G.R.; STEWART, A.; WOOD, J.D. Influence of dietary oils and protein level on pork quality. 1. Effect on muscle fatty acid composition, carcass, meat and eating quality. **Meat Sci.** v. 73, p. 157–165, 2006.

VAN KUIJK, S. J. A. et al. The effect of hydroxychloride trace minerals on the growth performance and carcass quality of grower/finisher pigs: A meta-analysis. **J. Anim. Sci.** v. 97, p. 4619–4624, 2019.

VILLAGÓMEZ-ESTRADA, S. et al. Effects of two zinc supplementation levels and two zinc and copper sources with different solubility characteristics on the growth performance, carcass characteristics and digestibility of growing-finishing pigs. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)**. v. 105, p. 59–71. 2021.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. New York: CABI Publishing. p. 614, 1999.

USDA - **Grades for Pork Carcasses**. U.S. Department of Agriculture, Consumer and Marketing Service, 1970. Disponível em: <<https://play.google.com/books/reader?id=-8s5A-lnKTYC&hl=pt&pg=GBS.PT4>>. Acesso em: 21 jan. 2020.

- XU, X. et al. Effects of chromium methionine supplementation with different sources of zinc on growth performance, carcass traits, meat quality, serum metabolites, endocrine parameters, and the antioxidant status in growing-finishing pigs. **Biol Trace Elem Res.** v. 179, p. 70–78, 2017.
- WANG, Y. et al. Dietary zinc glycine chelate on growth performance, tissue mineral concentrations, and serum enzyme activity in weanling piglets. **Biol Trace Elem Res.** v. 133, p. 325–334, 2010.
- WATANABE, P. H. et al. Carcass characteristics and meat quality of heavy swine fed different citrus pulp level. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 62, n. 4. p. 921-929, 2010.
- WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. Shear Force Procedures for Meat Tenderness Measurement. Hasting,NE: **Agric. Res. Service.** p. 1–7, 2005.
- WILCOCK, P. et al. Zinc oxide ban: An alternative plan?. **Pig Progress**, 2017. Disponível em: <http://www.pigprogress.net/Nutrition/Articles/2017/2/Zinc-oxide-ban-An-alternative-plan-94377E/?cmpid=NLC|pigprogress_focus|2017-02-5|Zinc_oxide_ban:_An_alternative_plan?_>. Acesso em: 13 fev. 2021.
- YAGÜE, A. P. Normatização do uso de minerais na alimentação suína. **Suínos & Cia.** n. 32, p. 11-18, 2009.
- YAZDANKHAH, S.; RUDI, K.; BERNHOFT, A. Zinc and copper in animal feed - development of resistance and co-resistance to antimicrobial agents in bacteria of animal origin. **Microb. Ecol. Health Dis.** v. 25, p. 1-7, 2014.
- ZHANG, B.; GUO, Y. Beneficial effects of tetrabasic zinc chloride for weaning piglets and the bioavailability of zinc in tetrabasic form relative to ZnO. **Anim. Feed Sci. Technol.** v. 135, p. 75-85, 2007.
- _____. The growth-promoting effect of tetrabasic zinc chloride is associated with elevated concentration of growth hormone and ghrelin. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** v. 21, p. 1473-1478, 2008.
- ZHANG, H. B. et al. Supplementation dietary zinc levels on growth performance, carcass traits, and intramuscular fat deposition in weaned piglets. **Biol Trace Elem Res.** v. 161, p.69–77, 2014.
- ZHANG, J. et al. Effect of black pepper essential oil on the quality of fresh pork during storage. **Meat Sci.**, v. 117, p. 130–136, 2016.
- ZHANG, Y. et al. Effects of zinc sources and levels of zinc amino acid complex on growth performance, hematological and biochemical parameters in weanling pigs. **Asian-Australas J Anim Sci.** v. 31, n. 8, p. 1267-1274, 2018.
- ZHANG, F.; et al. Suhuai suckling piglet hindgut microbiome-metabolome responses to different dietary copper levels. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 103, p. 853–868, 2019.

- ZHAO, J. et al. Growth performance and intestinal morphology responses in early weaned pigs to supplementation of antibiotic-free diets with an organic copper complex and spray-dried plasma protein in sanitary and nonsanitary environments. **J. Anim. Sci.** v. 85, p. 1302-1310, 2007.
- ZHAO, J. et al. Effects of a Chelated Copper as Growth Promoter on Performance and Carcass Traits in Pigs. **Asian Australas. J. Anim. Sci.** v. 27, n. 7, p. 965-973, 2014.
- ZHENG, P. et al. The differences between copper sulfate and tribasic copper chloride on growth performance, redox status, deposition in tissues of pigs, and excretion in feces. **Asian-Australas J Anim Sci.** v. 31, n. 6, p. 873-880, 2018.
- ZHOU, W. et al. Stimulation of growth by intravenous injection of copper in weanling pigs. **J. Anim. Sci.** v. 72, p. 2395-2403, 1994.
- ZHU D. et al. Effect of high dietary copper on the expression of hypothalamic appetite regulators in weanling pigs. **J. Anim. Feed Sci.** v.20, p. 60–70, 2011.
- ZHU, C. et al. Dietary Zinc Oxide Modulates Antioxidant Capacity, Small Intestine Development, and Jejunal Gene Expression in Weaned Piglets. **Biol Trace Elem Res.** v. 175, p. 331–338, 2017.