

## MINERAIS ORGÂNICOS PARA AVES E SUÍNOS

FERNANDO RUTZ<sup>1</sup> e RICHARD MURPHY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, <sup>2</sup>European Bioscience Center Alltech-Ireland

As exigências nutricionais de minerais traço exibidas pelo NRC são criticadas por serem muito baixas para serem recomendadas para as linhagens de aves e suínos atuais. A maior parte destas exigências foram determinadas a algumas décadas ou simplesmente estimadas. Com isso, nutricionistas frequentemente utilizam níveis mais elevados de minerais, grande parte das vezes baseado em seu próprio conhecimento prático. Isto funciona, mas corre o risco de uma interação adversa entre minerais, bem como aumentar os níveis excretados dos mesmos (Leeson, 2008). Além disso, contaminação de fontes minerálicas inorgânicas com minerais pesados (arsênico, cádmio e chumbo) ou dioxina tem sido registradas (McCartney, 2008). Para amenizar o problema, e propiciar melhor metabolismo e desempenho dos animais, foram desenvolvidos os minerais orgânicos. A Association American Feed Control Oficial (2000), que define as normas e os padrões dos alimentos destinados a produção animal, estabeleceu a seguinte definição para minerais orgânicos: São ions metálicos ligados quimicamente a uma molécula orgânica, formando estruturas com características únicas de estabilidade e de alta biodisponibilidade mineral. Eles são melhor absorvidos, mais passíveis de propiciar um melhor desempenho, qualidade de carcaça, tempo de prateleira de produtos avícolas e suínícolas, entre outros. A sua eficiência, entretanto, pode variar conforme a maneira que é produzida.

Em uma revisão, Miles e Henry (2000) estabeleceram uma série de hipóteses, fizeram várias assertivas e levantaram uma série de questionamentos sobre minerais orgânicos:

- 1- A estrutura em anel protege o mineral de reações químicas indesejáveis no trato gastrointestinal.
- 2- Quelatos passam facilmente através da parede intestinal para a corrente sanguínea.
- 3- A absorção passiva é aumentada ao reduzir a interação entre minerais e outros nutrientes.
- 4- O mineral é oferecido ao animal da mesma forma que é encontrado no corpo.
- 5- Os quelatos são absorvidos através de vias diferentes da dos minerais inorgânicos.
- 6- Cada mineral no quelato facilita a absorção de outros minerais no quelato.
- 7- Os quelatos carregam uma carga negativa, de forma que são absorvidos e metabolizados mais eficientemente.
- 8- A quelação aumenta a solubilidade e o movimento através membranas celulares.
- 9- A quelação aumenta a absorção passiva ao aumentar a solubilidade do mineral na fase aquosa e lipídica.
- 10- A quelação aumenta a estabilidade a um baixo pH.
- 11- Os quelatos são absorvidos pelo mecanismo de transporte dos aminoácidos.

A partir da publicação de Miles e Henry (2000) supracitada, outras pesquisas foram desenvolvidas na área. Parte das assertivas foram confirmadas ou desfeitas, parte dos questionamentos foram respondidos, mas parte das perguntas ainda carecem de mais investigações.

### Minerais orgânicos

Existem várias formas de complexos metálicos disponíveis no mercado para fins de uso na alimentação animal. Estes são intitulados coletivamente de minerais orgânicos, devido ao fato de que o microelemento mineral em questão estar complexado ou, de outra forma, associado com moléculas orgânicas.

A química da complexação ou quelatação, como é comumente conhecida, tem criado muita confusão na indústria animal. Esta começa na tradução dos termos em inglês para os diversos minerais orgânicos para outros idiomas. Termos como complexos entre metais e aminoácidos, quelatos de aminoácidos com metais, complexos de polissacarídeos com metais e proteínatos são definições oficiais, mas vagamente esclarecedoras. Como exemplo, as várias definições de elementos traço orgânicos utilizadas, que foram propostas pela Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2000), estão ilustradas na tabela 1.

Tabela 1. Definições de minerais orgânicos pela AAFCO

Complexo entre aminoácido e metal	Produto resultante da complexação entre um sal metálico solúvel com aminoácido(s)
Quelato entre aminoácido e metal	Produto resultante da reação entre um íon metálico oriundo de um sal metálico solúvel com aminoácidos dentro de uma relação molar de um mole de metal para um a três moles de aminoácidos (preferencialmente dois) para formar ligações covalentes coordenadas. O peso médio de um hidrolisado de aminoácidos deve ser de aproximadamente 150 e o peso molecular de um quelato não deve exceder a 800.
Complexo entre polissacarídeos e metal	Produto resultante de um complexo entre um sal solúvel com uma solução de polissacarídeos
Proteínatos	Produto resultante da quelatação entre um sal solúvel com aminoácidos e/ou hidrolisado parcial de proteínas

Tendo em vista a vaga definição e a confusão envolvendo a natureza química e física precisa de minerais orgânicos, é necessário primeiro distinguir os termos complexo e quelato.

### Complexo ou Quelato

O termo complexo pode ser usado para descrever produtos formados pela reação de um íon metálico com uma molécula ou íon que contenha um átomo que possua um único par de elétrons. Tais íons metálicos em um complexo estão ligados através átomos tais como oxigênio, nitrogênio ou enxofre. Os ligantes com um único átomo doador são chamados de monodentados, enquanto que quando aparecem dois ou mais átomos doadores capazes de se

ligar a íons metálicos são chamados de bi, tri ou tetradentados. Estes produtos multi-doadores são chamados de polidentados.

Quando tais ligantes se unem a íons metálicos através de dois ou mais átomos doadores, o complexo formado contém um ou mais anéis heterocíclicos contendo um átomo metálico. Tais complexos são chamados de quelatos (do grego chele, que significa garras de caranguejo).

Aminoácidos são exemplos de ligantes bidentados que se ligam a íons metálicos através de um oxigênio do grupo carboxílico e do nitrogênio do grupo amino. Por outro lado, o ácido etilaminotetraacético (EDTA) é um exemplo de um ligante hexadentado, que contém seis átomos de carbono. Ele forma complexos altamente estáveis com a maioria dos íons metálicos, não sendo particularmente útil na formação de quelatos com minerais, tendo em vista a sua baixa biodisponibilidade.

Os quelatos podem ter 4, 5, 6 ou 7 anéis, mas aqueles que contém 5 anéis são os que apresentam maior estabilidade. É interessante lembrar que mesmo que todos os quelatos são complexos, nem todos os complexos são quelatos. Na realidade, mesmo que a teoria geral que envolve quelatação seja simples, existe um número de critérios que deve ser satisfeito para assegurar a geração de um quelato mineral estável. Um ligante deve conter dois átomos capazes de formar ligações com o íon metálico. O ligante deve formar um anel heterocíclico com um metal como o elemento de fechamento do anel. Deve ser estericamente (relativo ao arranjo espacial dos átomos) possível quelatar o metal. A relação do ligante para com o mineral deve atender requerimentos mínimos para a estabilidade. Estes quelatos apresentam uma estrutura em anel formada por ligação covalente coordenada entre o grupo amino e carboxílico e o do aminoácido e íon metálico.

Os quelatos são formados pela reação entre sais (contendo mineral), como por exemplo, misturas de aminoácidos ou peptídeos pequenos obtidos através de reação enzimática, sob condições controladas. Tais aminoácidos e peptídeos se ligam a metais em mais de um ponto, assegurando que o átomo de metal se torne parte de uma estrutura biologicamente estável. Aminoácidos e produtos da digestão protéica, tais como pequenos peptídeos, são ligantes ideais, porque eles têm pelo menos dois grupos funcionais (amino e hidroxila), permitindo a formação de uma estrutura em anel com o mineral. Somente os chamados minerais de transição, tais como o cobre, o ferro, o manganês e o zinco apresentam as características físico-químicas que possibilitam a formação de ligação covalente coordenada com aminoácidos e peptídeos e, desta forma, os complexos biologicamente estáveis.

Os quelatos formados com polissacarídeos e metais são produtos resultantes da combinação entre um sal metálico solúvel com uma solução de polissacarídeos. A matriz de polissacarídeos envelopa o mineral traço e dá alguma proteção física a degradação intestinal. Mais especificamente, é um produto resultante da complexação de um ou mais elementos minerais provenientes de sais solúveis com oligo e polissacarídeos fosforilados por processo fermentativo, e reações de quelação com peptídeos e aminoácidos mediante ligações covalentes. O metal e sua concentração devem ser declarados. O composto é um açúcar fosforilado (glicose-6-fosfato) + o metal (Zn, Cu, Fe, etc) em um meio aquoso (água) + aminoácido= resultando no complexo: carboaminofosfoquelato de micronutrientes minerais (ex. zinco, cobre, ferro).

### **Aminoácidos e Peptídeos como ligantes**

Existem muitas informações a respeito do mérito e sustentação sobre aminoácidos e peptídeos na formação de quelatos de minerais, com um número de argumentos relativos a chamada biodisponibilidade de tais produtos. Os principais aspectos necessários na formação de um quelato mineral biologicamente estável foi supra-mencionado. Entretanto, fatores adicionais devem ser considerados no processo de quelatação. Os principais aspectos incluem:

- 1- O equilíbrio relativo- envolve um íon metálico e o ligante.
- 2- A cinética de reações de substituição do íon metálico e os complexos.
- 3- Comportamento de oxi-redução do íon metálico e de seus complexos.
- 4- Reações envolvendo ligações coordenadas.

Naturalmente seria um erro tentar simplificar demasiadamente este fenômeno químico tão complexo. Teoricamente pode haver diferenças quanto a estabilidade entre quelatos formados a partir da ligação entre um mineral- aminoácido e mineral-peptídeos.

Quando um sal como o sulfato de cobre é dissolvido na água e um ligante bidentado tal como aminoácido é adicionado, uma série de complexos são formados, cada um tendo constantes de estabilidade que são dependentes do pH da solução.

A estabilidade de um complexo com minerais depende tanto do íon metálico, como do seu ligante. Em termos do efeito do íon metálico na estabilidade, aumento da carga iônica, redução do tamanho e aumento da afinidade de elétrons contribuem para o efeito de estabilização. O ligante apresenta várias características que influenciam a estabilidade dos complexos: 1) poder de base do ligante, 2) número de anéis de quelato com mineral por ligante, 3) tamanho de anel de quelato, 4) efeito estérico (relativo ao arranjo espacial dos átomos), 5) efeito de ressonância e 6) o átomo ligante. Tendo em vista que os compostos são formados a partir de reações de oxi-redução, onde o íon metálico é um ácido e o ligante é uma base, conclui-se que quanto mais básico o ligante, mais estável é o complexo. O tamanho do anel de quelato é um fator importante.

Para Richards e Dibner (2005), as vantagens que os minerais orgânicos tem são as de conferir estabilidade ao complexo no trato gastrointestinal superior, portanto, evitando a perda de mineral para antagonistas. Os minerais orgânicos devem resistir a dissociação no papo, proventrículo e moela, permitindo assim que o mineral seja oferecido ao epitélio absorptivo no intestino delgado. Segundo aqueles autores, um átomo de metal quelatado com duas moléculas de ácido 2-hidroxi-4 (metiltio) butanoico, um análogo da metionina, cumpre esta função.

Já para Murphy (2009), tendo em vista a grande número de combinações possíveis em caso de proteínatos (di, tri, tetrapeptídeos), então a estabilidade dos proteínatos em uma ampla variação de pH deveria, em teoria, ser maior que a de um quelato com aminoácido.

Já para os que defendem os complexos, usam o argumento de que a combinação entre um metal e um aminoácido específico e conhecido forma uma entidade química conhecida. Isto poderia conferir absorção e biodisponibilidades mais previsíveis por serem específicos.

### **Estabilidade biológica**

Os fatores discutidos acima contribuem para a estabilidade geral dos quelatos em condições práticas. Em termos relativos, entretanto, poderia se prever que proteínatos terão

propriedades físico-químicas que asseguram uma ampla constância em condições de alteração de pH.

Apesar das informações contraditórias que existem, a quelatação é um processo regido por alguns princípios químicos básicos. Em geral, podemos distinguir duas formas de minerais quelatados, cada uma com propriedades químicas e bio-físicas definidas. Ao considerar fatores importantes na quelatação mineral, pode-se fazer a distinção entre os produtos em base a estabilidade biológica e assim, biodisponibilidade biológica.

McCartney (2008) comenta que podem ocorrer falsos quelatos, ou seja, a simples mistura de minerais com aminoácidos ou derivados da soja. No passado este fato se constituía em tarefa difícil para o cliente diferenciar, pela precariedade dos métodos analíticos. Para aquela investigadora, em caso de dúvida, a solução mais fácil seria comprar de um fornecedor confiável.

### **Minerais orgânicos a partir de microorganismos: selênio e cromo**

A idéia central de formar um mineral orgânico de uma forma biossintética é a de que o importante não é somente a sua biodisponibilidade biológica, mas também a sua atividade biológica. Lyons (1993) indicou que a atividade biológica de um mineral pode ser aumentada. Isto está baseado no fato de que se o mineral foi previamente incorporado pelo microorganismo, é porque ele deveria ser biologicamente ativo. Com isso foi desenvolvida uma levedura rica em selênio (o mesmo serve para o cromo). Faremos alusão ao selênio.

A partir de uma perspectiva do microorganismo, o selênio se encontra no mesmo grupo que o enxofre na tabela periódica. Técnicas foram desenvolvidas para assegurar a incorporação de selênio oriundo de uma fonte inorgânica, em substituição ao enxofre. Ao colocar a cultura contendo levedura em um meio pobre em enxofre, foi observado que o selênio se acumulava na levedura. Concentrações de 1000 a 2000 ppm Se foram alcançadas. O selênio era encontrado na levedura em uma forma organicamente ligada que não poderia ser despreendida por lavagem ou qualquer outro método de lixiviação. Ao analisar o microorganismo, foi revelado que o selênio estava presente em uma proteína de alto peso molecular (superior a 700 Daltons), que era rica em seleno-metionina e seleno-cisteína (Lyons, 1993).

### **Biodisponibilidade**

Ammerman et al (1995) definiram a biodisponibilidade de um nutriente como sendo a fração do nutriente ingerido que é absorvido, ficando disponível a ser utilizados pelo metabolismo do animal. Desta forma, fatores físico-químicos que reduzem a absorção de minerais do lúmen intestinal influenciam a biodisponibilidade mineral (Dreosti, 1993). Dentre eles, podem ocorrer antagonismos entre nutrientes e ingredientes que afetam adversamente a absorção. Por exemplo, altos níveis de zinco reduzem a disponibilidade do cobre e o fitato é capaz de formar quelatos muito estáveis e muito insolúveis (Richards e Dibner, 2005).

Durante muitos anos, várias hipóteses foram desenvolvidas para explicar o mecanismo de absorção de minerais orgânicos na parede intestinal. A incorporação do mineral junto aos quelatos (ex. aminoácido ligado ao mineral) aumentaria a sua absorção, pois que o mineral seria absorvido como de “carona”. Este tipo de modelo é convincente com respeito ao tamanho ótimo do ligante para assegurar transporte intacto do mineral, mas ele geralmente ignora as interações e reações que ocorrem no microclima intestinal antes da absorção. Este microclima ali existente apresenta um efeito extremamente importante na absorção de nutrientes no nível do enterócito em si.

A interação entre mineral e microclima intestinal foi proposta por Power (2006) e será sumarizada a seguir. Inicialmente é preciso entender o destino dos minerais inorgânicos no trato digestivo. Interações negativas entre íons metálicos e fatores dietéticos sempre foram uma preocupação. Dentre estes fatores estão o ácido fítico, que complexa elementos traço, tais como o zinco, o cobre, o ferro, e o manganês, resultando em redução na absorção destes elementos chave. O antagonismo também ocorre entre os elementos cujas estruturas eletrônicas e estados são similares. Por exemplo, o ferro, o manganês e o cobalto são mutuamente antagonistas com respeito a absorção intestinal. Isto ocorre provavelmente devido a semelhança dos mecanismos de absorção. Entretanto, algumas das maiores interações adversas ocorrem em íons metálicos sujeitos a reações de hidroxipolimerização.

Os metais ingeridos podem ser subdivididos em duas categorias gerais: aqueles solúveis em uma ampla variação de pH no trato gastrointestinal, ex. sódio, cálcio e magnésio e aqueles susceptíveis a reação de hidroxipolimerização, como o alumínio, o manganês, o zinco, o cobre e o ferro. Eles são prontamente solúveis em ácido (ex. no estômago de monogástricos), mas em condições de alcalinização no intestino delgado, as moléculas de água as quais eles estão ligados perdem rapidamente seus prótons para formar compostos hidroximetálicos. Conforme a solução acídica se aproxima de pH neutro, outros prótons são liberados pelas moléculas de água coordenadas ao redor do metal numa tentativa de manter o equilíbrio. Isto pode levar a uma ampla polimerização dos hidróxi-metais e, por fim, precipitação, tornando o metal não disponível para a absorção.

Estes não são os únicos entraves na absorção dos minerais encontrados no trato digestivo. Durante a digestão, os nutrientes no lúmen (incluindo os minerais que não precipitam) são direcionados para a vilosidade do intestino delgado, mas primeiro deparam-se com uma camada de água com características não homogêneas. Esta mede em torno de 600  $\mu\text{m}$  de espessura. Logo abaixo, uma nova camada de muco, medindo 50-100  $\mu\text{m}$  de espessura, antes de chegar a membrana do enterócito, onde ocorre a absorção propriamente dita e a membrana mede nanômetros e não micrometros. Portanto, é evidente que antes que um íon metálico possa ser absorvido, ele não deve estar envolvido com a hidroxipolimerização, atravessar as barreiras e chegar ao enterócito. Na realidade, este é o caminho natural percorrido por qualquer nutriente até chegar ao enterócito. Esta etapa é usualmente ignorada na literatura e a atenção é dada somente aos mecanismos de transporte envolvidos no bordo em escova.

### **Camada de muco aderida a mucosa**

O muco é produzido e secretado pelas células caliciformes, presentes na mucosa, onde atuam como barreira de defesa e meio de transporte (Guth e Engelhardt, 1989). O muco é composto em grande parte por glicoproteínas (mucinas) que apresentam pesos moleculares até 20 milhões de Daltons. A mucina consiste em um núcleo central de proteína com cadeias de oligossacarídeos, ligados por N-acetil-galactosamina, serina ou treonina. A mucina contém uma alta densidade de grupos sulfatos e grupos carboxilatos, que conferem natureza negativa para a mucosa. Isto significa que a camada da mucosa apresenta uma alta afinidade e capacidade de se ligar a íons (cátions) trivalentes > divalentes > monovalentes (ex.  $\text{M}^{3+}$  >  $\text{M}^{2+}$  >  $\text{M}^{+}$ , onde M representa o íon metálico).

Obviamente que a capacidade dos íons metálicos passarem as camadas da mucosa para serem absorvidos depende em grande parte da sua mobilidade através das camadas. Isto é inversamente proporcional a força de ligação da camada em gel da mucosa e diretamente proporcional as ligações que se estabelecem. Realmente, a velocidade de passagem dos cátions pela camada da mucosa segue o padrão  $\text{M}^{3+}$  >  $\text{M}^{2+}$  >  $\text{M}^{+}$ . Esta ligação com os cátions

trivalentes explica a má absorção do íon férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) relativamente ao ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (Whitehead et al., 1996).

### **A camada de água não-homogênea**

Power (2006) explica que conforme os nutrientes se translocam em direção a mucosa, eles encontram camadas de água cada vez menos homogêneas. Esta camada não-homogênea de água (do inglês, “unstirred water layer”) é diferente daquela encontrada no lúmen e se localiza logo acima. Ela provavelmente forma a parte intrínseca da camada de muco que está aderida a mucosa. Juntas elas formam um pH (microclima) que é diferente do pH do lúmen e é mantido de forma constante. Embora o mecanismo exato de controle constante de pH não seja conhecido, ele provavelmente envolva secreções de bicarbonato a partir da mucosa e neutralização de  $\text{H}^+$  na mucosa. Este pH encontra-se ao redor de 7,0 ou levemente ácido. Tendo em vista que o pH afeta a carga e a solubilidade dos metais e de complexos contendo metais, o microclima intestinal possui outro papel adicional na regulação da absorção de íons a partir do trato intestinal.

### **Minerais traço protegidos**

Power (2006) explica que os minerais traços participam em várias funções bioquímicas no organismo, de forma que várias tentativas tem sido feitas para torná-los mais biodisponíveis, ao protegê-lo das condições do trato gastrintestinal. As primeiras tentativas de proteger os minerais traços foram feitas com o ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), que coordena os íons metálicos de transição via dois átomos de nitrogênio e quatro átomos de oxigênio. Estas tentativas falharam, tendo em vista que o EDTA não deixava o metal disponível, sendo praticamente todo excretado.

A falha do EDTA como um ligante prático para aumentar a biodisponibilidade dos metais indica que os ligantes devem ter alguns critérios. Um bom ligante deve impedir ou interferir com a hidroxipolimerização e talvez competir com a mucina para permanecer ligado ao metal. Ele não pode, por outro lado, se ligar tão forte de forma a impedir sua absorção e atuação metabólica. Para Power (2006), aminoácidos e pequenos peptídeos estão entre os ligantes que melhor protegem os metais de transição no trato digestivo. Quando aminoácidos são usados, a terminologia utilizada é complexo ou quelato de aminoácido e metal. Quando uma mistura de aminoácidos e pequenos peptídeos são usados, os quelatos são denominados de proteínatos.

Conforme sugerido por Power (2006), assim como existe a discussão sobre a definição correta de biodisponibilidade, não existe um consenso generalizado sobre o tamanho ideal do ligante e do resultante quelato com o mineral. Entretanto, a maior parte dos argumentos foram baseados na proposta de um tamanho determinado para o transporte intacto de nutrientes (e nutrientes complexados) pelo enterócito. Pela descrição de hidroxipolimerização, interação metal mucina, etc, torna-se claro que os eventos que ocorrem antes da absorção do metal apresentam o maior impacto na absorção do mineral a partir do trato gastrintestinal. Além disso, ao considerar a mucina como um poderoso quelatante, que tem pesos moleculares variando de 2 a 20 milhões de Daltons, argumentos como 500 vs 1500 Daltons passam a ter pouca importância.

O importante é que íons metálicos, protegidos daquela forma, são protegidos e não apresentam carga elétrica. Power (2006) menciona que isto resulta em várias implicações na absorção do metal em questão:

- 1) Ao não expor a carga elétrica no íon metálico hidrolítico, os ligantes impedem a hidroxipolimerização, portanto, permitindo a apresentação do metal a camada de

muco. A não exposição da carga do metal impede as interações negativas com fatores dietéticos, tais como o fitato e polifenóis presentes no lúmen intestinal.

- 2) O pH do microclima intestinal (pH~7) favorece a hidróxi-polimerização de íons metálicos hidrolíticos. Por outro lado, estes valores de pH representam ser os mais apropriados para a formação de complexos contendo ligações estáveis entre metais e aminoácidos e metais e pequenos peptídeos. Assim, os metais chegam na camada mucosa em uma forma não precipitada, bem protegida.
- 3) A taxa de passagem dos íons através da mucosa segue a seguinte ordem  $M^+ > M^{2+} > M^{3+}$ . Novamente, ao reduzir ou não expor a carga positiva no metal, o ligante pode acelerar a passagem do metal pela camada da mucosa negativamente carregada.
- 4) Tendo em vista que o mineral quelatado não compete com íons não protegidos por sítios de ligação na mucina, antagonismos como os observados entre cobre e zinco são evitados.

Alguns destes fatores são mais importantes do que outros em assegurar que o mineral chegue no seu destino final que é o enterócito. Entretanto, todas as evidências indicam para uma grande incógnita e que foi sempre estabelecida como a hipótese de eleição para a absorção de minerais orgânicos, que seria a de que o quelato (de aminoácido ou de peptídeo) seria absorvido através de um carreador intestinal e que o mineral seria absorvido junto de “carona”.

Tendo em vista o crescente conhecimento da topografia do microclima intestinal e a sua química, Power (2006) foi bastante enfático em afirmar que não é tão necessário o entendimento da absorção em si, mas o entendimento da maneira mais apropriada de apresentar a metal antes da absorção, o que representa a chave do aumento da biodisponibilidade de minerais traço essenciais.

### **Utilização de minerais orgânicos para aves**

Diversas pesquisas foram desenvolvidas com minerais orgânicos para aves. Dentre estes microelementos minerais, o maior número de trabalhos foi desenvolvido com o selênio orgânico. Durante muitos anos, vários estudos comprovaram o papel do selênio, na condição de componente da glutatona peroxidase, na prevenção do aparecimento da diátese exudativa, da atrofia pancreática, da distrofia muscular, da imunocompetência, entre outros. Entretanto, o papel do selênio na nutrição e reprodução de aves carece de mais estudos para esclarecer os mecanismos moleculares da ação do selênio a nível celular. Em particular, a descoberta e a caracterização de uma gama de novas seleno-proteínas, melhor entendimento da relação entre antioxidantes.

Segundo Surai (2006), a parte mais fascinante das pesquisas relacionadas ao selênio vem do entendimento das diferentes fontes de selênio na dieta. O sistema digestivo dos animais foi adaptado a alimentos contendo selênio na forma orgânica. Portanto, as formas inorgânicas (ex. selenito) não são as naturalmente encontradas. Isto resulta em que a assimilação, distribuição e acumulação de selênio nos tecidos depende da fonte de selênio. Além disso, o principal componente da seleno-levedura, a seleno-metionina, possui propriedades anti-oxidantes que podem ser benéficas durante a digestão (Surai et al., 2003; 2004). Por outro lado, o selenito tem características pro-oxidantes e, quando combinado com ferro e zinco poderia potencialmente estimular a peroxidação lipídica e causar danos ao enterócito e, como resultado, reduzir a eficiência de absorção de vários nutrientes, incluindo antioxidantes. Além disso, a forma natural de selênio, a selenometionina, contribui para as



reservas de selênio nos tecidos, portanto, permitindo uma melhor oportunidade para os animais responderem adequadamente a condições de estresse ao sintetizar seleno-proteínas adicionais.

A maior parte das pesquisas até hoje foram conduzidas com selênio inorgânico. Assim, a maior parte daquelas investigações que foram desenvolvidas com selênio inorgânico deveriam ser reavaliadas com selênio orgânico. Recentemente, trabalhando com matrizes pesadas, Reis et al (2009) compararam a transferência de selênio de origem inorgânica (selenito de sódio) ou orgânica (Zn-L-Se-metionina) para o ovo. Os autores concluíram que a deposição de selênio no ovo era superior quando as aves receberam selênio orgânico. Resultados semelhantes foram previamente observados por Paton et al (2002), trabalhando com selênio oriundo de Se-levedura. Este efeito contribui para o aumento do número de pintos por matriz recebendo selênio orgânico só ou combinado com zinco e manganês orgânicos (Rutz et al., 2003).

Dentre as pesquisas já desenvolvidas, Surai (2006) sumarizou as vantagens do selênio orgânico para matrizes como:

- 1) Melhora na fertilidade
- 2) Melhora na eclodibilidade
- 3) Melhora na qualidade do pintinho

Para frangos de corte, o selênio orgânico está associado com:

- 1) Maior ganho de peso
- 2) Melhora na conversão alimentar
- 3) Redução da mortalidade
- 4) Redução do gotejamento
- 5) Aumento do tempo de prateleira, por reduzir a peroxidação lipídica

Para poedeiras, Surai (2006) indica que o selênio orgânico quando oferecido a aqueles animais, em substituição ao selenito, aumenta a concentração daquele mineral em todas as partes do ovo (casca, membranas da casca, e membrana perivitelínica, clara e gema) A substituição de selenito de sódio por selênio orgânico para poedeiras resulta em:

- 1) Melhora na conversão alimentar
- 2) Melhora na qualidade da casca
- 3) Melhora no tempo de prateleira (ovos)
- 4) Enriquece o ovo com selênio (importante para o processo de comercialização de um ovo nutricionalmente diferenciado)

Uma revisão englobando estudos conduzidos nos Estados Unidos, Brasil, Rússia, Europa e Austrália, sobre a substituição de minerais inorgânicos por zinco, cobre e manganês orgânicos foi recentemente publicada por Tucker (2008). Naqueles trabalhos, o desempenho, a retenção tecidual, a resistência óssea foram analisados.

Estudos conduzidos com cobre na forma inorgânica propiciaram aumento de consumo, no desempenho, nos níveis hepáticos e na excreção deste mineral. Entretanto, quando o cobre foi oferecido na forma orgânica, reduziu a excreção de cobre, sem interferir

no desempenho. Ao examinar o metabolismo do cobre em frangos jovens (1-21 dias de idade), a retenção foi 35% superior em aves recebendo cobre orgânico, comparativamente as aves recebendo sulfato de cobre. O aumento de cobre na forma inorgânica, mas não na forma orgânica, propiciou a redução de zinco. Esta observação confirma estudos prévios que constatarem a interação entre minerais inorgânicos tanto na deposição tecidual como na sua absorção.

Richards e Dibner (2005) compararam diferentes formas de cobre na resistência intestinal e na resposta imunológica de frangos recebendo sulfato de cobre, proteinato de cobre, complexo lisina-cobre ou quelato de cobre com hidroxianálogo da metionina. Os animais foram vacinados com *E. acervulina* e desafiadas com *E. acervulina* e *E. tenella*. A resistência intestinal foi avaliada no íleo. Todas as formas de cobre melhoraram a resistência intestinal, mas aquelas que receberam os quelatos de cobre com hidroxianálogo da metionina apresentaram os melhores resultados. Já para a resposta imunológica, somente as aves que receberam quelatos de hidroxianálogo da metionina apresentaram melhor resposta imunológica.

Tucker (2008) menciona que frangos recebendo dietas contendo manganês na forma orgânica apresentam melhor desempenho que aqueles recebendo este mineral na forma inorgânica. Níveis de 30 ppm Mn não foram suficientes para sustentar o ganho de peso corporal. Aves recebendo manganês orgânico apresentaram maiores ganhos de peso (comparativamente aos que receberam 30 ppm Mn orgânico, ou 30 ou 60 ppm de Mn inorgânico).

Ainda na revisão de Tucker (2008) foi constatado que estudos conduzidos na Rússia comparando diferentes níveis de zinco propiciaram melhor ganho de peso e conversão alimentar quando as aves receberam zinco na forma orgânica. O desempenho de aves recebendo 50 ppm Zn ou mais foi semelhante às aves que receberam 70 a 100 ppm Zn. A exigência de zinco constatada foi de 70 ppm. O melhor desempenho de aves recebendo zinco orgânico pode estar ligado a sua maior biodisponibilidade. Tucker (2008b) relata um experimento conduzido na Universidade de Kentucky, onde a biodisponibilidade de zinco orgânico versus sulfato de zinco foi de 183% (baseado em desempenho) e 157% (baseado em deposição óssea, tomando a tibia como amostra).

Parâmetros produtivos melhoraram com a adição de zinco orgânico. Análise de curva-resposta indicou que a inclusão de 17,5 ppm Zn na forma orgânica propiciou desempenho máximo nas aves. Outros registros de exigência de zinco orgânico (7, 4 ppm e 12 ppm) também foram feitos em outros ensaios, de acordo com Tucker (2008). Por outro lado, Rossi et al (2007) indicaram que um nível mínimo de 45 ppm Zn orgânico adicionado a uma dieta contendo premix comercial (já com zinco inorgânico) propiciou melhor característica de carcaça (qualidade de pele), mas não no desempenho das aves. Outros estudos com zinco orgânico evidenciaram uma redução de *Escherichia coli* no plasma de perus (Kidd et al., 1994), e uma redução na celulite em frangos (Hess et al., 2000 e Downs et al., 2000).

Richards e Dibner (2005) compararam a resistência intestinal e a resposta imune de frangos recebendo dietas contendo sulfato de zinco, zinco-metionina ou zinco quelatado com hidroxianálogo da metionina. Comparativamente a um grupo controle que não recebeu zinco, todas as formas de zinco propiciaram melhora nas condições intestinais, mas aquela ligada ao hidroxianálogo foi a que propiciou os melhores resultados ao nível do duodeno e jejuno. Entretanto, o grupo controle e aquele que recebeu sulfato de zinco não diferiram significativamente. Já para a resposta imunológica, somente o grupo de aves que receberam zinco quelatado com hidroxianálogo da metionina responderam imunologicamente ao desafio.

### **Combinação de minerais**

Lippens e Huyghebaert (2006) concluíram que a combinação de 15 ppm de cobre orgânico e 60 ppm de zinco e manganês orgânicos resultava em maior ganho de peso em frangos aos 42 dias de idade. Já Lensing e van der Klis (2006) não encontraram diferença no desempenho de frangos aos 39 dias de idade recebendo dietas contendo baixos níveis de minerais orgânicos, mas registrou uma redução significativa (até 50%) na excreção mineral, comparado com dietas contendo minerais inorgânicos. Minerais orgânicos adicionados em níveis de até 30% da recomendação do NRC foram suficientes para manter o desempenho de frangos até 42 dias de idade. Nos Estados Unidos, os frangos recebendo níveis de até 25% do NRC, na forma de minerais orgânicos, apresentaram uma redução de até 34% na excreção mineral, sem afetar o ganho de peso.

Leeson (2008) conduziu um trabalho com frangos de corte recebendo dietas contendo minerais na forma inorgânica (100 ppm Zn, 90 ppm Mn, 30 ppm Fe e 5 ppm Cu), todos na forma de sulfato. Arbitrariamente foi considerada uma disponibilidade de 70% de minerais. O nível de inclusão de minerais orgânicos foi então determinado e reduzido para 80, 60, 40 ou 20%. O autor concluiu que mesmo as aves recebendo 20% de minerais orgânicos apresentaram desempenho semelhante ao do grupo controle. A saúde das aves e a mortalidade das aves não foram afetadas. A redução dos níveis de minerais orgânicos na dieta resultaram em diminuição dos níveis de minerais excretados, mas mantiveram o desempenho das aves.

### **Poedeiras**

Boruta et al (2007) compararam o desempenho de poedeiras recebendo minerais inorgânicos (100% NRC) com o de aves recebendo minerais orgânicos (8, 17 e 33% do nível do NRC). A resistência óssea aumentou e a excreção mineral reduziu em todos os grupos recebendo minerais orgânicos. Ao e Pierce (2006) alimentaram poedeiras em níveis mineralizados de 25, 50 e 100% o do NRC. Aves recebendo dietas contendo os menores níveis de minerais orgânicos apresentaram melhora na qualidade da casca dos ovos e na produção de ovos (2%) a 24 semanas de idade. Nunes et al (2007) concluíram que níveis de 33% de minerais na forma orgânica correspondiam ao mesmo desempenho do de poedeiras recebendo 100% da recomendação na forma inorgânica encontradas nos manuais da linhagem.

Leeson (2008) conduziu um ensaio com poedeiras Leghorn alimentadas com níveis recomendados de minerais inorgânicos (cobre, zinco e ferro) ou com 20% daquela recomendação com minerais orgânicos. Um terceiro tratamento contava com aves que não recebiam qualquer suplementação mineral. As dietas foram oferecidas durante 8 períodos de 28 dias, começando a 28 semanas de idade. A produção de ovos não foi afetada pelos tratamentos, mas uma tendência a uma redução na produção de ovos foi observada nas aves recebendo a dieta controle negativa. A qualidade da casca dos ovos não foi influenciada. Nas aves não recebendo minerais orgânicos havia uma notória perda no peso dos ovos.

Durante os primeiros 28 dias da investigação ocorreu uma redução de 1 grama no peso dos ovos. Este efeito permaneceu durante o restante do período experimental. A excreta foi examinada quando as aves contavam com 45 semanas de idade. Ao utilizar minerais orgânicos, ocorreu uma redução de 60-70% no conteúdo de zinco e manganês e de 11% de redução de cobre. Leeson ainda comenta que os níveis excretados pelas aves recebendo a dieta controle e a de minerais orgânicos foi similar.

### Utilização de minerais orgânicos para suínos

Assim como em outras espécies, o selênio apresenta papel importante no metabolismo dos suínos. A exigência de selênio nesta espécie varia (0,15-0,30 mg/kg) dependendo das condições ambientais. Aparentemente a matriz e o varrão são particularmente sensíveis a deficiência de selênio. Por outro lado, a resposta imunológica é especialmente dependente de níveis de selênio superiores as recomendações para o desempenho produtivo (ex. ganho de peso). Surai (2006) argumenta que o selênio orgânico na forma de seleno-levedura demonstrou ser uma importante solução natural para a indústria porcina. As vantagens do selênio orgânico sobre o inorgânico para suínos podem ser assim resumidas com melhor transferência de selênio da matriz para o feto via placenta, aumento de selênio no colostro e no leite. Isto pode ser interpretado como melhor desenvolvimento do sistema imune do leitão, resultando em melhor viabilidade do leitão, menor mortalidade pre-abate, melhor crescimento e melhora na qualidade da carne. Em caso de condições de estresse, quando as exigências de antioxidantes aumentam, o aumento das concentrações de selênio nos tecidos poderiam contribuir substancialmente para a proteção contra os radicais livres. Além disso, como o selênio orgânico é melhor retido que o inorgânico, a utilização da forma orgânica de selênio poderia contribuir para a redução da poluição ambiental. Além disso, vários trabalhos (Kim e Mahan, 2001a, 2001b) indicaram que o selênio na forma orgânica é muito menos tóxico para o suíno que o da forma inorgânica.

O papel do cobre (250 ppm) na forma de sulfato de cobre, como promotor de crescimento está bem documentado (Hill et al., 2000). Veum et al (2004) conduziram um experimento para avaliar se o fornecimento de níveis mais baixos (0, 25, 50, 100 ou 200 ppm) de cobre, na forma de proteinato de cobre para leitões pós-desmama poderiam sustentar o desempenho produtivo e reduzir a excreção de cobre semelhante ao de animais recebendo 250 ppm Cu, na forma de sulfato de cobre. Os autores concluíram que o desempenho de leitões pós-desmame foi aumentado quando os animais receberam dietas contendo 50 ou 100 ppm Cu, na forma de proteinato de cobre em um experimento, mas não no outro, comparativamente a suínos recebendo dietas contendo 250 ppm Cu, como sulfato de cobre. Entretanto, 50 ou 100 ppm Cu, como proteinato de cobre, propiciaram um aumento na absorção e na retenção (77%) e na excreção de cobre (61%), relativamente ao sulfato de cobre.

Poulsen (1995) registraram que altos níveis de zinco (2500 ou 4000 ppm Zn, como ZnO) na creche reduzem a incidência de diarreia pós-desmame, melhorando o desempenho pós-desmame (Hill et al., 2000). Carlson et al (2004) propuseram um trabalho para avaliar se níveis inferiores de zinco, na forma orgânica (polissacarídeos: 0 a 500 ppm Zn) ou (proteinato: 0 a 800 ppm Zn) propiciariam resultados semelhantes aos dos animais recebendo óxido de zinco (2000 ppm Zn) durante o período de creche. Os autores concluíram que as formas orgânicas não influenciaram o desempenho dos suínos. Entretanto, o fornecimento de zinco na forma orgânica resultou em redução dos níveis de zinco nas excretas.

Com exceção de leitões, as outras espécies alcançam suas exigências de ferro através da dieta. Entretanto, as fontes inorgânicas de ferro apresentam uma variação na disponibilidade de 10 a 100% (Ammermann et al., 1995). Por outro lado, a disponibilidade relativa de ferro oriundo dos quelatos de ferro podem variar de 125 a 185% (Henry e Miller, 1995). Close (1999) indicou um trabalho comparando proteinato de ferro com ferro inorgânico, onde foi observado que o fornecimento de ferro orgânico para porcas resultou em aumento no consumo e no peso dos leitões ao desmame. Em outro trabalho, Harmon et al (2000) concluíram que proteinato de ferro influenciava a sobrevivência dos leitões ao nascer, mas não parâmetros hematológicos quando oferecido a porcas no final da gestação e durante a lactação.

O manganês está envolvido com a manutenção do tecido conjuntivo e do crescimento ósseo, além do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas. Duas fontes de manganês comumente usadas são o óxido de manganês e o sulfato de manganês. Partindo do princípio de que a forma de sulfato é 100% disponível, o óxido é de 60-80% e o do carbonato é de 25-40% (McDowell, 1992). Entretanto, a disponibilidade do manganês nos proteínatos de manganês são superiores aos do sulfato (Henry, 1995).

### **Conclusão**

Pesquisas na área de microelementos minerais para aves e suínos não tem recebido a devida importância ao longo dos anos. A maior parte foi desenvolvida a 30 -40 anos atrás, utilizando muitas vezes dietas purificadas e seguramente animais com potencial genético completamente diferente do atual. Não se trata única e exclusivamente de uma questão de quantidade, mas de biodisponibilidade do mineral na devida fonte.

Há alguns anos foi desenvolvida uma nova fonte de minerais, os orgânicos. Eles se encontram na forma de produtos biossintéticos ou combinados com aminoácidos, proteínatos, polissacarídeos, hidróxi-análogo de aminoácidos (em forma de complexo ou quelato, conforme a sua natureza) e se caracterizam por serem mais biodisponíveis e, portanto, menos excretáveis pelos animais. Com isso, os animais podem potencialmente expressar melhor o seu genótipo. Este melhor desempenho indica um melhor benefício metabólico e fisiológico por parte do animal.

Cientistas são categóricos em afirmar que os minerais orgânicos diferem entre os fornecedores. Várias são as alternativas de aquisição no mercado. A qualidade entre os produtos pode variar. Resta aos nutricionistas testarem estes produtos e adquirirem aquele que lhes propicie maior confiança.

### **Bibliografia**

AAFCO, Association of American Feed Control Officials, 2000

Ammerman, C. B., D. B. Baker, A. J. Lewis. 1995. Bioavailability of Nutrients for Animals. Academic Press, New York.

Ao, T. e J. Pierce. 2006. Effects of different sources (inorganic vs Bioplex) and levels of minerals on egg production, eggshell quality and mineral content. Poster apresentado no 22º Simpósio Annual da Alltech, 2006. Lexington, Ky.

Boruta, A. e Swierczewska, K. Glebocka e L. Nollet. Organi Poster apresentado no 23º Simpósio Annual da Alltech, 2006. Lexington, Ky. c minerals (Bioplex) as total replacement of inorganic sources for layers – effect on productivity.

Carlson, M. S., C. A. Boren, C. Wu, C. E. Huntington, D. W. Bollinger e T. L. Veum. 2004. Evaluation of various inclusion rates of organic zinc either as polysaccharide or proteinate complex on the growth performance, plasma, and excretion of nursery pigs. J. Anim. Sci. 82:1359-1366.

Close, W. H. 1999. Organic minerals for pigs: an update. In: Under the Microscope. Focal points for the new millennium. Proceedings of Alltech's 15<sup>th</sup> Annual Symposium. (T. P. Lyons e K. A. Jacques, eds). Nottingham University Press, Nottingham, Leics, UK. Pp 51-60.

- Downs, K. M., K. M., J. B. Hess, K. W. Macklin e R. A. Norton. 2000. Dietary zinc complexes and vitamin E for reducing cellulitis incidence in broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 9:319-323.
- Dreosti, I. E. 1993. Recommended dietary intakes of iron, zinc and other inorganic nutrients and their chemical form and identity. *Nutrition* 9: 542-545.
- Guth, D. e W. Engelhardt. 1989. Is gastrointestinal mucus na ion-selective barrier? In: *Symposia of the Society for Experimental Biology*, No. XLIII, Mucus and related Topics (E. Chanter e N. A. Ratcliffe, eds). Cambridge Society for Experimental Biology, Cambridge, pg 117-121.
- Harmon, B. G., S. L. Barlow e M. E. Einstein. 2000. Bioplex iron vs Iron sulfate in estation/lactation diets fed sows: effects on piglet iron status and mortality. *J. Anim. Sci.* 82 (suplemento 2): 62.
- Henry, P. R. 1995. Manganese bioavailability. In: *Bioavailability of Nutrients for Animals* (C. B. Ammermann, D. H. Baker e A. L. Lewis, eds). Academic Press, New York, pp 239-256.
- Hess, J. B., R. A. Norton, K. M. Downs, K. S. Macklin, S. F. Bilgili. 2000. Pages 1-6 in trace mineral complexes found to reduce avian cellulitis levels in broiler studies. *Trace mineral focus*. Zinpro Corp., Eden Praire, MN.
- Hill, G. M., G. L. Cromwell, T. D. Crenshaw, C. R. Dove, R. C. Ewan, D. A. Knabe, A. J. Lewis, G. W. Libal, D. C. Mahan, G. C. Shurson, L. L. Southern, T. L. Veum. 2000. Growth promotion effects and plasma changes from feeding high dietary concentrations of zinc and copper to weanling pigs (regional study). *J. Animal Sci.* 78:1010-1016.
- Kidd, M. T., M. A. Qureshi, P. F. Ferket, L. N. Thomas. 1994. Blood clearance of *Eschericia coli* and evaluation of mononuclear-phagocytic system as influenced by supplemental dietary zinc-methionine in young turkeys. *Poult. Sci.* 73: 1381-1389.
- Leeson, S. 2008. Trace minerals in poultry nutrition-2. Copper and zinc – the next pollution frontier. *World Poultry* (3): 14-16
- Lensing, M. e J. D. van der Klis. 2006. Evaluation of the use of Bioplex trace minerals at very low dosages in a high performance broiler flock. Poster apresentado no 22º Simpósio Annual da Alltech, 2006. Lexington, Ky.
- Lippens, M. e G. Huyghebaert. 2006. Inorganic vs Bioplex trace minerals for broilers: effects on performance and mineral excretion. Poster apresentado no 22º Simpósio Annual da Alltech, 2006. Lexington, Ky.
- Lyons, T. P. 1993. Bioscience Centers: Forging links between industry and academia. In: *Biotechnology in the Feed Industry*. Proceedings of Alltech's 9<sup>th</sup> Annual Symposium. (Ed T. P. Lyons). Lexington, Ky. Pp1-26.
- McCartney, E. 2008. Trace mineral in poultry nutrition-1. Sourcing safe minerals, organically? *World Poultry* 24 (2): 14-15

- McDowell, L. R. 1992. In: Minerals in Animal and Human Nutrition (T. J. Cunha, ed). Academic Press, San Diego.
- Miles, R. D. e P. R. Henry. 2000. Relative trace mineral bioavailability. *Ciência Animal Brasileira* vol 1 (2): 73-93.
- Murphy, R. 2009. Chelates: clarity in the confusion. *Feed International* 30 (1):22-24.
- Paton, N. D., A. H. Cantor, A. J. Pescatore, M. J. Ford and C. A. Smith. 2002. Absorption of selenium by developing chick embryos during incubation. In: *Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's 18<sup>th</sup> Annual Symposium* (T. P. Lyons and K. A. Jacques. Eds), Nottingham University Press, Nottingham. UK, pp. 107-121.
- Poulsen, H. D. 1995. Zinc oxide for weanling piglets. *Acta Agric. Scand. Sect. A Anim. Sci.* 45:159-167.
- Power, R. 2006. Organic mineral absorption: molecular mimicry or modified mobility? In: *Recent Advances in Pet Nutrition*. Nottingham University Press. Ed. by Laue, D. K. and L. A. Tucker. Nottingham.
- Reis, R. N., S. L. Vieira, P. C. Nascimento, J. E. Pena, R. Barros, C. A. Torres. 2009. Selenium contents of eggs from broiler breeders supplemented with sodium selenite or zinc-L-selenium-methionine. *J. Appl. Poult. Res.* 18:151-157.
- Richards, J. e J. Dibner. 2005. Organic trace minerals are not all equally effective. *World Poultry* vol 21 (9): 17-19.
- Rossi, P., F. Rutz, M. A. Anciuti, J. L. Rech, N. H. F. Zauk. 2007. Influence of graded levels of organic zinc on growth performance and carcass traits of broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 16:219-225.
- Rutz, F., E. A. Pan, G. B. Xavier, M. A. Anciuti. 2003. Meeting selenium demands of modern poultry: responses to Sel-Plex<sup>TM</sup> organic selenium in broiler and breeder diets. In: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. Proceedings of Alltech's 19<sup>th</sup> Annual Symposium* (T. P. Lyons and K. A. Jacques, eds), Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 147-161
- Surai, P. F. 2006. *Selenium in Nutrition and Health*. 1<sup>st</sup> ed. Nottingham University Press. Nottingham.
- Surai, K. P., P. F. Surai, P. F., B. K. Speake, N.H.C. Sparks. 2003. Antioxidant-prooxidant balance in the intestine: Food for thought. 1. Prooxidants. *Nutritional Genomics & Functional Foods*. 1: 51-70.
- Surai, K. P., P. F. Surai, B. K. Speake e N. H. C. Sparks. 2004. Antioxidant-prooxidant balance in the intestine: Food for thought. 2. Antioxidants. *Current Topics in Nutraceutical Research* 2:27-46.
- Tucker, L. 2008. Trace minerals in poultry nutrition-3 Redefining mineral nutrition- What we've learned so far. *World Poultry* 24 (4): 18-19.

- Veum, T. L., M. S. Carlson, C. W. Wu, D. W. Bollinger e M. R. Ellersieck. 2004. Copper proteinate in weanling pig diets for enhancing growth performance and reducing fecal copper excretion compared with copper sulphate. *J. Anim. Sci.* 82:1062-1070.
- Whitehead, M. W., R. P. H. Thompson, J. J. Powell. 1996. Regulation of metal absorption in the gastrointestinal tract. *Gut* 39:625-628.