

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO**

**AVALIAÇÃO DO CONSUMO E DETERMINAÇÃO DA MOBILIDADE
MINERAL EM BOVINOS SUPLEMENTADOS COM FONTES
QUELATADAS E INORGÂNICAS DE MICROMINERAIS**

FILIPE AGUIAR E SILVA

**Belo Horizonte
2017**

FILIPPE AGUIAR E SILVA

**AVALIAÇÃO DO CONSUMO E DETERMINAÇÃO DA MOBILIDADE
MINERAL EM BOVINOS SUPLEMENTADOS COM FONTES
QUELATADAS E INORGÂNICAS DE MICROMINERAIS**

**Tese apresentada à Escola de Veterinária
da Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Zootecnia.**

Área de Concentração: Nutrição Animal.

**Orientador: Prof.^a Dr.^a Eloísa de Oliveira
Simões Saliba.**

Belo Horizonte

S586a Silva, Filipe Aguiar e. 1988-
Avaliação do consumo e determinação da mobilidade mineral em bovinos
suplementados com fontes quelatadas e inorgânicas de microminerais / Filipe Aguiar e
Silva. – 2017.
122 p. : il.

Orientador: Eloísa de Oliveira Simões Saliba
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

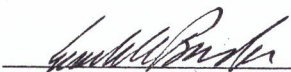
1. Bovino – Alimentação e rações – Teses. 2. Nutrição animal – Teses. 3. Suplemento
alimentar – Teses. 4. Digestibilidade – Teses. I. Saliba, Eloísa de Oliveira Simões.
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.208 5

Tese defendida e aprovada, no dia 06 de fevereiro de 2017, pela comissão examinadora constituída por:



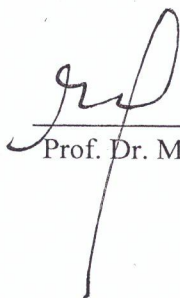
Prof.ª Dr.ª Eloísa de Oliveira Simões Saliba
(Orientadora)



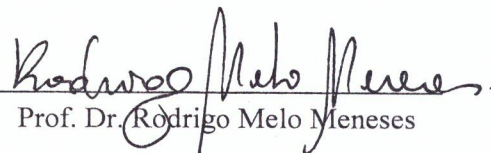
Prof. Dr. Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa



Prof. Dr. Décio Souza Graça



Prof. Dr. Maurício Batista do Carmo



Prof. Dr. Rodrigo Melo Meneses

AGRADECIMENTOS

A DEUS, através dele é que conseguimos conquistar todos os nossos objetivos e buscar a possibilidade onde achávamos que era impossível.

A minha esposa Cecília pelo apoio, colaboração e paciência durante esta caminhada.

Aos meus pais Heloisa (*in memoriam*) e Carlos Alberto, meu irmão Lucas, pela confiança, incentivo e compreensão.

A minha orientadora Dr^a Eloísa de Oliveira Simões Saliba pela oportunidade, confiança, paciência e ensinamentos depositados em mim.

Ao professor Dr. Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa pelo apoio, confiança, e por estar presente em todas as decisões.

Ao professor Dr. Décio Souza Graça, Maurílo Batista do Carmo e Rodrigo Melo Meneses, por fazer parte desta realização.

Ao Msc. Henrique Fonseca Lopes, pelo apoio e parceria na elaboração do trabalho;

Aos amigos da pós-graduação Andressa, Ludhiana e Hélio, pela força e colaboração durante a elaboração do trabalho.

Ao Sr. Gabriel e Toninho pelo auxílio durante o período experimental e durante as análises do laboratório.

Ao CNPQ, INCT e CAPES, pelo apoio na realização dos projetos.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

“Bem aventurado o homem que acha sabedoria, e o homem que adquire conhecimento. Os seus caminhos são caminhos de delícias, e todas as suas veredas, paz”.
(Provérbios 3: 13; 17)

Sumário

LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	12
RESUMO	14
ABSTRACT	15
CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA	16
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVO	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 Minerais	17
3.2 Utilização de suplementos minerais no Brasil.....	18
3.3 Função dos minerais	20
3.4 Classificação dos minerais	22
3.4.1 Localização no tecido de órgão específico	23
3.4.2 Caracterização relacionada à função vital no organismo	23
3.5 Quantificações dos elementos e sua relação com as deficiências dos minerais nos ruminantes	24
3.6 Importância dos minerais para os ruminantes	26
3.6.1 Biodisponibilidade e interação dos elementos minerais.....	26
3.7 Classificações dos minerais quelatados.....	28
3.7.1 Mecanismos de absorção dos elementos quelatados	31
3.7.2 Biodisponibilidade dos minerais quelatados	32
3.8 Uso de fontes complexadas de minerais em bovinos	33
3.8.1 Bovinos de leite	33
3.8.2 Bovinos de corte	39
3.9 Avaliação do consumo alimentar utilizando a técnica dos indicadores	41
3.9.1 Uso do LIPE®	42
3.9.2 Uso do NANOLIPE®	42
3.9.3 Uso do dióxido de titânio (TiO ₂).....	43
3.9.4 Utilização das frações indigestíveis dos alimentos	43
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE SUPLEMENTO MINERAL ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DOS INDICADORES DE PRODUÇÃO FECAL LIPE®, NANOLIPE® E DIÓXIDO DE TITÂNIO (TiO ₂) COMPARADOS A COLETA TOTAL DE FEZES	51
1 INTRODUÇÃO.....	52
2 OBJETIVOS.....	52
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
3.1 Local, animais e instalações	53
3.2 Tratamentos e delineamento experimental	53
3.2.1 Delineamento Experimental	54
3.3 Dietas experimentais.....	54
3.4 Variáveis analisadas	58
3.4.1 Pesagem dos animais.....	58

3.4.2 Alimentação.....	59
3.4.3 Consumo real.....	59
3.4.3.1 Consumo de água	60
3.4.4 Digestibilidade aparente e produção fecal real.....	60
3.4.5 Utilização dos indicadores na determinação da produção fecal, consumo e digestibilidade.....	60
3.4.5.1 Fornecimento dos indicadores externos	60
3.4.5.2 Obtenção do indicador interno FDNi	61
3.4.6 Análises Químicas	61
3.4.6.1 Cálculos para obtenção das respostas através dos indicadores.....	61
3.4.6.1.1 Produção Fecal	62
3.4.6.1.1.1 Produção fecal corrigida para matéria mineral fecal (P.F.M)	62
3.4.6.1.2 Consumo alimentar total.....	62
3.4.6.1.3 Digestibilidade total.....	62
3.4.6.1.4 Recuperação Fecal dos indicadores	62
3.4.6.1.5 Determinação da concentração do indicador FDNi.....	62
3.4.6.1.6 Obtenção da digestibilidade a partir da FDNi	63
3.4.6.2 Determinação dos consumos diferenciados.....	63
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.1 Consumo alimentar.....	65
4.2 Avaliações com indicadores	67
4.2.1 Recuperação fecal dos Indicadores.....	67
4.2.2 Produção Fecal	69
4.2.3 Produção fecal de minerais.....	70
4.2.4 Consumo total.....	72
4.2.5 Digestibilidade aparente da matéria seca.....	73
4.2.6 Avaliação do consumo diferenciado através da técnica do duplo indicador	75
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
6 CONCLUSÕES	79
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
CAPITULO 3 - DETERMINAÇÃO DA MOBILIDADE DE MICROMINERAIS EM NOVILHOS SUPLEMENTADOS COM FONTES INORGANCIAS E QUELATADAS DESTES ELEMENTOS.....	
1 INTRODUÇÃO.....	84
2 OBJETIVOS	84
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	85
3.1 Local, animais e instalações	85
3.2 Tratamentos e delineamento experimental	85
3.2.1 Delineamento experimental	85
3.3 Dietas Experimentais.....	86
3.4 Variáveis analisadas	90
3.4.1 Pesagem dos animais	90
3.4.2 Alimentação.....	90
3.4.2.1 Consumo de água	91
3.4.3 Coleta de Fezes	91
3.4.4 Coleta de urina.....	91

3.4.5 Coleta de Sangue	91
3.4.5.1 Período pré-experimental	91
3.4.5.2 Período experimental.....	91
3.4.6 Coleta de fígado.....	92
3.4.6.1 Fase pré-experimental.....	92
3.4.6.2 Fase experimental.....	92
3.4.7 Análise mineral do fígado, sangue e urina	93
3.4.8 Análises Químicas	93
3.4.9 Parâmetros ruminais	93
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
4.1 Consumo.....	94
4.2 Ambiente Ruminal.....	96
4.2.1 pH	96
4.2.2 Produção de amônia (N-NH ₃).....	97
4.2.3 Ácidos graxos voláteis.....	99
4.2.4 Mobilidade Mineral	103
4.2.4.1 Mineral no soro sanguíneo	103
4.2.4.2 Mineral no fígado	107
4.2.4.3 Excreção dos microminerais na urina.....	110
4.2.4.4 Excreção fecal dos minerais	113
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	116
6 CONCLUSÕES	117
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Produção total de rações e suplementos minerais (milhões de toneladas) no Brasil (2014-2015)	20
Tabela 2. Funções metabólicas mais importantes dos macrominerais	21
Tabela 3. Funções metabólicas mais importantes dos microminerais.....	22
Tabela 4. Exigências e níveis tóxicos de minerais para ruminantes.....	24
Tabela 5. Doenças causadas pela deficiência de minerais.....	25
Tabela 6. Principais minerais quelatados disponíveis no mercado	30
Tabela 7. Biodisponibilidade dos minerais complexados e inorgânicos	33
Tabela 8. Efeito da suplementação com mineral complexado (C) e inorgânico (I) na performance reprodutiva de vacas em duas lactações	34
Tabela 9. Efeito da suplementação com mineral complexado (C) e inorgânico (I) na produção de leite em duas lactações	34
Tabela 10. Efeito do Cu inorgânico dietético (Inorg.), orgânico (Org.) sem (-) ou com (+) S e Mo sobre o desempenho de vacas leiteiras	36
Tabela 11. Produção de leite, gordura do leite, proteína e lactose e CMS de vacas sem selênio suplementar ou que receberam doses crescentes de levedura selenizada em tratamentos de 2 a 4 (T2 a T4), e selenito de sódio no tratamento de 5 (T5)	37
Tabela 12. Concentração de selênio (Se) no sangue, leite, urina e fezes de vacas sem selênio suplementar ou que receberam levedura selenizada em tratamentos de 2-4 (T2 a T4) e selenito de sódio em tratamento (T5)	37
Tabela 13. Efeito da suplementação de Cu (a partir de Cu-glicina ou Sulfato de Cobre) sobre os índices de Cu em novilhos alimentados com dietas com Mo e S.....	40
Tabela 14. Análise de Variância.....	54
Tabela 15. Composição dos tratamentos, em ingredientes, com base na % de Matéria Seca (MS)	55
Tabela 16. Composição das dietas experimentais, em nutrientes, com base % de Matéria Seca .	56
Tabela 17. Composição mineral da dieta basal (silagem de milho, fubá de milho e farelo de soja), fornecida aos animais	57
Tabela 18. Composição mineral dos diferentes suplementos fornecidos aos animais	57
Tabela 19. Composição mineral da água fornecida aos animais.....	58
Tabela 20. Consumos totais e em (%PV), (g/kg ^{0,75}), consumo de suplementos, água e de nutrientes, nos diferentes tratamentos, durante o período 1	65
Tabela 21. Consumos totais e em (%PV), (g/kg ^{0,75}), consumo de suplementos, água e de nutrientes, nos diferentes tratamentos, durante o período 2	66
Tabela 22. Recuperação fecal ideal (%) e obtida pelos indicadores TiO ₂ , LIPE® e NANOLIPE®, nos períodos 1 e 2	68
Tabela 23. Produção fecal rela (PF) (kg/dia) e estimada pelos indicadores TiO ₂ , LIPE® e NANOLIPE®, no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos	69
Tabela 24. Produção fecal mineral aparente (PFM) (g/dia) e estimada pelos indicadores TiO ₂ , LIPE® e NANOLIPE®, no período 1 e 2 em função dos diferentes tratamentos	71

Tabela 25. Consumo real e estimado pelos indicadores TiO ₂ , LIPE® e NANOLIPE®, no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos.....	72
Tabela 26. Digestibilidade aparente (D.A.) (g/dia) e estimada pelos indicadores TiO ₂ , LIPE®, NANOLIPE® e FDNi, no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos	74
Tabela 27. Determinação do consumo diferenciado de volumoso, através dos indicadores FDNi, LIPE® e NANOLIPE®, e TiO ₂ no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos	76
Tabela 28. Determinação do consumo diferenciado de concentrado, através dos indicadores FDNi, LIPE® e NANOLIPE®, e TiO ₂ no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos	77
Tabela 29. Determinação do consumo diferenciado de sal mineral, através dos indicadores FDNi, LIPE® e NANOLIPE®, e TiO ₂ no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos	78
Tabela 30. Análise de Variância (Ensaio 1)	86
Tabela 31. Composição dos tratamentos, em ingredientes, com base na % de Matéria Seca (MS)	87
Tabela 32. Composição das dietas experimentais, em nutrientes, com base % de Matéria Seca .	88
Tabela 33. Composição dos microminerais, Cu, Co, Fe e Zn da dieta basal (silagem de milho, fubá de milho e farelo de soja), fornecida aos animais	89
Tabela 34. Composição dos microminerais Cu, Co, Fe e Zn dos diferentes suplementos fornecidos aos animais.....	89
Tabela 35. Composição mineral da água fornecida aos animais	90
Tabela 36. Consumos totais e em (%PV), consumo de suplementos, água e de nutrientes, nos diferentes tratamentos*.....	94
Tabela 37. Consumo total de suplementos e dos microminerais ingeridos em função dos diferentes tratamentos.....	95
Tabela 38. Efeito da suplementação mineral no pH ruminal em função dos horários após a alimentação.....	96
Tabela 39. Efeito das dietas contendo diferentes formas de suplementos minerais sobre a concentração de nitrogênio amoniacal (mg/ 100ml) em função dos horários após a alimentação	98
Tabela 40. Efeito das dietas contendo diferentes formas de suplementos minerais sobre a concentração de acetato no rúmen (mMol/ 100 mL) em função dos horários após a alimentação	100
Tabela 41. Efeito das dietas contendo diferentes formas de suplementos minerais sobre a concentração de nitrogênio amoniacal (mMol/ 100 mL) em função dos horários após a alimentação.....	101
Tabela 42. Efeito das dietas contendo diferentes formas de suplementos minerais sobre a concentração de butirato (mMol/ 100 mL) em função dos horários após a alimentação	102
Tabela 43. Avaliações dos níveis séricos de Co, Cu, Fe, e Zn expressos em mg/l em novilhos alimentados com diferentes fontes de minerais	104
Tabela 44. Avaliação Co hepático (ppm) através da biópsia de fígado em novilhos alimentados com microminerais sob diferentes formas, nos tempos (0, 21 e 42 dias).....	107
Tabela 45. Avaliação Cu hepático (ppm) através da biópsia de fígado em novilhos alimentados com microminerais sob diferentes formas, nos tempos (0, 21 e 42 dias).....	108
Tabela 46. Avaliação Fe hepático (ppm) através da biópsia de fígado em novilhos alimentados com microminerais sob diferentes formas, nos tempos (0, 21 e 42 dias).....	109
Tabela 47. Avaliação Zn hepático através da biópsia de fígado em novilhos alimentados com microminerais sob diferentes formas, nos tempos (0, 21 e 42 dias).....	109

Tabela 48. Avaliações das concentrações urinárias dos microminerais Co, Cu, Fe, e Zn expressos em mg/L em novilhos alimentados com diferentes fontes destes elementos	111
Tabela 49. Avaliações das concentrações fecais (ppm) dos microminerais Co, Cu, Fe, e Zn expressos em ppm em novilhos alimentados com diferentes fontes destes elementos	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Coleta de fragmentos do fígado	92
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH – Hormônio Adrenocorticotrófico
Al - Alumínio
As - Arsênio
ASBRAM - Associação Brasileira de Indústrias e Suplementos Minerais
ATP - Adenosina Trifosfato
B.M. - *Brow Midrib*
B12 - Cobalamina
BPF - Boas Práticas de Fabricação
Ca - Cálcio
CDMN - consumo de matéria natural
CEDAF - Centro de Desenvolvimento e Ensino de Florestal
CELi - celulose potencialmente indigestível
CIA – cinzas insolúveis em ácido
CIDA - cinzas insolúveis em detergente ácidos
Cl - Cloro
CMS - consumo de matéria seca
Co - Cobalto
CR - consumo real
Cr - Cromo
Cu - Cobre
F - Flúor
F.D.A. - *Food and Drug Administration*
F57 - *Filter bags 57*
FDA – fibra em detergente ácido
FDAi – fibra em detergente ácido indigestível
FDN – fibra em detergente neutro
FDNi – fibra em detergente neutro indigestível
Fe - Ferro
HCl - Ácido Clorídrico
I - Iodo
IgG - Imunoglobulina G
K - Potássio
LDA - lignina em detergente ácido
LIPE® - lignina purificada enriquecida
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Mg - Magnésio
MMC - Mistura Mineral Comercial
Mn – Manganês
Mo - Molibdênio
MS - matéria seca
MSi - matéria seca indigestível
Na - Sódio
NaCl - Cloreto de Sódio

Ni - Níquel
P - Fósforo
pbm - Partes por Bilhão
PF – Produção Fecal
PFA - Produção Fecal Aparente
ppm - Partes por Milhão
PTH - Paratormônio
rpm - Rotação por minuto
S - Enxofre
Se - Selênio
Si - Silício
SINDIRAÇÕES - Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal
Sn - Estanho
TiO₂ - Dióxido de titânio
TNT- Tecido não tecido
UV - Ultra violeta
V - Vanádio
Zn - Zinco

RESUMO

Uma das maneiras de verificar a eficiência de utilização dos minerais quelatados seria a estabilidade que os mesmos apresentam em ambiente ruminal, a forma com que são absorvidos e sua interação com outros compostos. Objetivou-se com este trabalho avaliar o consumo da suplementação quelatada e/ou inorgânica de elementos minerais, bem como a ingestão do alimento concentrado e volumoso através da utilização dos indicadores LIPE[®], NANOLIPE[®], Dióxido de Titânio (TiO₂) e a Fibra em Detergente Neutro indigestível (FDNi), comparando com a metodologia tradicional, coleta total de fezes em animais mestiços Holandês x Gir. Foram também avaliados o efeito da mobilidade de microminerais no fígado e sangue, suas excreções nas fezes e urina, e os parâmetros ruminais, sob diferentes situações, animais sem suplementação, suplementados com fontes inorgânicas, quelatadas e inorgânica/quelatada (juntas). Os resultados obtidos mostram que para a recuperação fecal, apenas o indicador NANOLIPE[®] foi semelhante a recuperação ideal (100%), nos dois períodos. Todos os indicadores foram capazes de estimar a produção fecal e o consumo de MS. O NANOLIPE[®] e a FDNi foram capazes de estimar a digestibilidade (68,12 e 65,46%) respectivamente quando comparados a digestibilidade aparente (68,17%) no período 1, no período 2, todos os indicadores foram semelhantes a digestibilidade aparente. Na determinação do consumo diferenciado, apenas a FDNi estimou resultados semelhantes na determinação do consumo de volumoso quando comparada ao consumo real para o período 1 (4,45 e 4,39 kg/dia) e período 2 (4,59 e 4,48 kg/dia), respectivamente. Para o concentrado, apenas a FDNi foi diferente ao consumo real. Na avaliação do consumo de suplemento mineral, apenas o NANOLIPE[®] foi semelhante a ingestão real de mineral. Os parâmetros ruminais, pH, N-NH₃, e a produção de AGV's não foram afetados pelos diferentes tratamentos. Não foram detectadas diferenças (P>0,05) na concentração sérica dos minerais entre os diferentes tratamentos. As formas quelatadas dos minerais apresentaram maiores concentrações no fígado. Foram observadas maiores excreções urinárias de Co oriunda das fontes quelatadas deste elemento. A excreção fecal de Zn foi maior nos animais que receberam as fontes quelatadas deste elemento.

Palavras-chave: concentrações séricas, fígado, novilhos, digestibilidade.

ABSTRACT

One of the ways to verify the efficiency of use of the chelated minerals would be the stability they present in ruminal environment, the way in which they are absorbed and their interaction with other compounds. The objective of this work was to evaluate the consumption of chelated and / or inorganic mineral supplementation as well as the intake of concentrated and bulky food using LIPE®, NANOLIPE®, Titanium Dioxide (TiO₂) and Fiber Indigestible Neutral Detergent (NDFI), comparing with traditional methodology, total collection of fecal in crossbred Hostein and Gir animals. The effect of micromineral mobility on liver and blood, excretions in fecal and urine, and ruminal parameters, under different conditions, animals without supplementation, supplemented with inorganic, chelated and inorganic / chelated sources (together) were also evaluated. The results show that for fecal recovery, only the NANOLIPE® indicator was similar to the ideal recovery (100%), in both periods. All indicators were able to estimate fecal production and DM intake. NANOLIPE® and FDNi were able to estimate digestibility (68.12 and 65.46%), respectively, when compared to the apparent digestibility (68.17%) in period 1, in period 2, all indicators were similar to apparent digestibility. In the determination of the differentiated consumption, only NDFI estimated similar results in the determination of the consumption of roughage when compared to the actual consumption for period 1 (4.45 and 4.39 kg / day) and period 2 (4.59 and 4.48 kg / day), respectively. For the concentrate, only the FDNi was different from the actual consumption. In the evaluation of mineral supplement intake, only NANOLIPE® was similar to actual mineral intake. The ruminal parameters, pH, N-NH₃, and the production of VFA were not affected by the different treatments. No differences (P> 0.05) were found in the serum concentration of the minerals between the different treatments. The chelated forms of minerals had higher concentrations in the liver. Major urinary excretions of Co from the chelated sources of this element were observed. Fecal excretion of Zn was higher in animals receiving the chelated sources of this element.

Key-words: serum concentrations, liver, steers, digestibility.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA

1 INTRODUÇÃO

A utilização de minerais nas formas complexadas a moléculas orgânicas ou quelatos em dietas para ruminantes não é recente, mas a maneira de interação destes minerais no trato digestivo e a forma como são absorvidos ainda não foi bem esclarecida. A teoria dos fabricantes é que a utilização destes minerais promove melhor desempenho animal, podendo ser fornecidos em menor quantidade que fontes inorgânicas, e que também são depositados nos tecidos de maneira mais eficiente, evitando sua maior excreção urinária e fecal, tendendo a reduzir o impacto ambiental.

Uma das maneiras de verificar a eficiência de utilização dos minerais quelatados seria a estabilidade que os mesmos apresentam no ambiente ruminal, a forma com que são absorvidos e sua interação com outros compostos, sejam eles minerais ou não, sendo a eficiência, o resultado da correlação entre a forma do mineral fornecido e absorvido, com as formas já encontradas no corpo do animal.

O *National Research Council* (NRC, 2001) para bovinos de corte reconhece sete macrominerais (enxofre, cálcio, fósforo, magnésio, potássio, sódio e cloro) e 16 microminerais (cobre, cobalto, molibdênio, zinco, ferro, flúor, selênio, silício, alumínio, cromo, vanádio, níquel, iodo, arsênico, estanho e manganês) como essenciais na nutrição de ruminantes.

Porém, relacionar a exigência mineral e o consumo destes elementos não é uma tarefa tão fácil. Na prática, existem diversas situações que influenciam o consumo de suplementos em diferentes propriedades rurais, destacando-se: nível tecnológico, a disponibilidade de cochos próprios para suplementação, a constância no fornecimento de suplementos, evitando disparidades no consumo e depreciação do mesmo, e a qualidade dos suplementos minerais comerciais disponíveis no mercado.

Frente a estas situações, torna-se imprescindível que a avaliação do consumo de suplementos minerais torne-se uma tarefa corriqueira na propriedade, negligenciando menos o uso de minerais e consequentemente evitando perdas econômicas e ambientais pela utilização desequilibradas destes suplementos.

Propondo uma união entre diversas técnicas de avaliação de consumo de dietas que já existem e são bem exploradas, a utilização de indicadores de consumo e digestibilidade pode ser uma ferramenta capaz de minimizar o impacto da disparidade de consumo de suplementos minerais.

Comparativamente com processos invasivos, os indicadores minimizam a interferência com os padrões de comportamento animal e simplificam os procedimentos, tendo em vista a não necessidade de utilização de cânulas reentrantes no trato digestivo, sacolas de coleta de fezes e

até mesmo esvaziamento do trato digestivo ou abate dos animais (Rodriguez et al., 2006). A técnica de utilização de indicadores se torna relevante principalmente em estudos de consumo e digestibilidade em animais alimentados em grupo e ou sob regime de pastagem.

2 OBJETIVO

Objetivou-se nesta revisão abordar a utilização de suplementos minerais em rebanhos bovinos no Brasil, bem como a qualidade dos minerais disponíveis, absorção, mobilidade e a utilização dos indicadores de consumo e digestibilidade LIPE[®], NANOLIPE[®] e Dióxido de Titânio (TiO₂) na avaliação do consumo destes suplementos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Minerais

Minerais são nutrientes fundamentais por participarem de diversas funções do metabolismo animal, compondo estruturas de biomoléculas, interferindo no crescimento e na manutenção de tecidos, participando como cofatores enzimáticos, ativando ações hormonais, regulando a pressão osmótica e equilíbrio ácido-base. Estes nutrientes representam cerca de 5% do peso total do corpo, mesmo assim, tem grande influência na produção do animal, acarretando acréscimos ou decréscimos na produtividade do sistema (Filappi et al., 2005).

A concentração e as formas de armazenamento dos minerais nos tecidos e fluidos do organismo podem sofrer alterações com a ingestão de dietas deficientes, desbalanceadas ou com excesso de minerais. Em alguns casos as funções fisiológicas são alteradas acarretando lesões e distúrbios estruturais, as quais variam de acordo com o elemento mineral, grau de duração da deficiência, toxicidade da dieta e fatores intrínsecos dos animais, como idade, sexo e espécie (Underwood & Suttle, 1999).

Os minerais podem ser classificados de várias formas levando em consideração seus requerimentos e funções. Aqueles necessários em grandes quantidades são denominados macrominerais, enquanto os que são exigidos em menores quantidades denominados microminerais ou minerais traços. Os macrominerais são requeridos em quantidades maiores que 100 ppm (partes por milhão) e frequentemente são mencionados como percentagem da dieta (ou g por kg), enquanto os microminerais são requeridos em quantidades menores que 100 ppm e expressos em ppm ou, muitas vezes, em ppb (partes por bilhão) (McDowell, 2003).

Grande número de elementos inorgânicos são essenciais para o crescimento e reprodução dos animais. Segundo Underwood & Suttle (1999) 23 minerais são considerados essenciais para a

vida dos animais, sendo sete classificados como macronutrientes minerais - cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg) e enxofre (S) e 16 elementos traços ou micronutrientes minerais - ferro (Fe), iodo (I), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn), cobalto (Co), molibdênio (Mo), selênio (Se), cromo (Cr), vanádio (V), flúor (F), silício (Si), níquel (Ni), arsênico (As), estanho (Sn) e alumínio (Al).

Os macrominerais são componentes estruturais importantes dos ossos e outros tecidos e constituintes dos fluidos corporais. São essenciais para manter o equilíbrio ácido-base, a pressão osmótica, o potencial elétrico entre as membranas e a transmissão nervosa. Já a concentração de microminerais, cobalto, cobre, iodo, ferro, manganês, molibdênio, selênio, zinco e talvez cromo e flúor que estão presentes em baixa concentração corporal, são utilizados como componentes das metaloenzimas e cofatores enzimáticos ou em hormônios (NRC, 2001).

3.2 Utilização de suplementos minerais no Brasil

Historicamente existem relatos que indicam o fornecimento de cloreto de sódio aos animais domésticos nos tempos de Plutarco – 40 a 120 anos A.C. Por mais incrível que possa parecer, no Brasil, milhares de anos depois, ainda se encontram pecuaristas com o mesmo propósito de suplementação mineral que existia no passado.

No cenário nacional, existem as seguintes situações: (1) Parte dos pecuaristas optam pela utilização de uma mistura mineral comercial (MMC); (2) Parte compra uma MMC formulada com base no pressuposto de que análises de solo e de forrageiras de sua propriedade possam determinar com exatidão a quantidade de minerais necessária a ser suprida aos animais; (3) Outra parte fornece apenas cloreto de sódio (NaCl); (4) Uma pequena parcela dos pecuaristas não fornece qualquer suplemento mineral ao rebanho.

Segundo a Associação Brasileira de Indústrias de Suplementos Minerais (ASBRAM), ao analisar o histórico da suplementação dos rebanhos, nota-se que até o ano de 1900 acreditava-se que a maioria dos elementos minerais estava em excesso na dieta dos animais domésticos, razão pela qual pouca atenção se dava a prática da suplementação mineral. Por exemplo, a relação entre osteofagia, isto é, o hábito do bovino em ingerir ossos, e a deficiência de Fósforo nos bovinos sob pastejo em áreas de baixa fertilidade, foi esclarecida somente por volta da década de 20. As enfermidades produzidas por deficiências minerais foram estudadas a partir de 1928, quando ratos apresentaram sinais de anemia devido a deficiência de cobre.

Segundo Baruselli (2000), a história da utilização dos suplementos minerais no Brasil pode ser dividida em seis fases distintas, onde:

1ª fase (década de 50): Por volta dos anos 50, a prática da suplementação mineral não havia sido difundida no Brasil. Neste período, os rebanhos, quando suplementados, recebiam apenas sal branco grosseiramente moído, disponibilizado por meio de instalações muito precárias, como troncos de árvores ou pneus velhos cortados ao meio.

2ª fase (década de 60): Neste período alguns fazendeiros utilizavam cinzas de árvores queimadas misturadas ao cloreto de sódio visando suplementar outros elementos minerais além do Na e do Cl. Esta prática foi muito comum no período de abertura de novas áreas pelo interior do Brasil onde florestas eram queimadas para dar origem às pastagens. Acreditava-se que, desta forma, tornava-se possível suplementar aos animais os minerais contidos nas cinzas, led o engano. Esta época também foi marcada pelo início da utilização de farinha de osso como fonte de cálcio e fósforo aos rebanhos mantidos a pasto.

3ª fase (década de 70): Na década de 70 a suplementação mineral no Brasil, devido a grande ocorrência de enfermidades nutricionais de origem mineral que afetavam rebanhos inteiros, como cara inchada, bócio, magrinha, perversão do apetite, mal da vaca caída, entre outras, passou a ser considerada pelos pecuaristas como uma eficiente prática de manejo, sendo capaz de sanar e prevenir diversas enfermidades de origem mineral. Nesta época, foi difundido o uso da suplementação mineral composta basicamente de cloreto de sódio, fosfato bicálcico como fonte de Ca e P de elevado valor biológico mais micro- minerais. Os suplementos minerais assim formulados eram então disponibilizados em cochos estrategicamente posicionados nas pastagens visando o consumo *ad libitum* por parte dos animais.

4ª fase (década de 80): Na década de 80 deu-se início uma nova visão da suplementação mineral que não abordava apenas o aspecto clínico da mesma, mas também o aspecto relacionado à produtividade zootécnica dos rebanhos corretamente suplementados. Nesta época difundiu-se a relação custo/benefício da suplementação mineral e vários aspectos zootécnicos e econômicos, como aumento do ganho de peso e da produção de bezerros. Foi também nos anos 80 que teve início a suplementação mineral – protéica, adotada principalmente no período da seca nas condições do Brasil central com o objetivo de suplementar não apenas minerais, mas também proteínas na forma de nitrogênio não protéico e fontes protéicas de origem vegetal. No final desta década, diversas categorias de suplementos minerais começaram a fazer parte das misturas minerais no país, como por exemplo, a utilização de minerais quelatados.

5ª fase (década de 90): Nos anos 90, a suplementação mineral de bovinos de corte ganhou uma nova face, evoluiu novamente e passou a ser utilizada de acordo com a categoria animal. Nesta época, programas nutricionais estratégicos passaram a ser implantados nas fazendas visando à otimização da suplementação mineral. Foi introduzido o conceito de suplementar de acordo com as necessidades específicas de minerais de cada fase da vida do animal. Desta forma surgiram suplementos minerais específicos para bezerros, suplementos para recria, suplementos para a engorda, entre outros. A segmentação da suplementação mineral com o objetivo de obter maiores respostas zootécnicas e uma melhor relação custo/benefício se intensificaram a partir dos anos 90.

6ª fase (Ano de 2000): Período do foco na qualidade de suplementos minerais. A partir deste período, muita atenção foi dada ao controle de qualidade de produção, embalagem e distribuição dos suplementos minerais. Fatores como certificação e garantia dos produtos passaram a ter significativa importância para toda a cadeia, seja de carne ou leite. Sistemas de produção de suplementos certificados e aprovados pelo MAPA – Ministério da Agricultura

Pecuária e Abastecimento, foram então obrigatórios, como as Boas Práticas de Fabricação – BPF que garantem a produção de suplementos seguros e de qualidade.

A partir de então, inúmeras indústrias produtoras de suplementos começaram a surgir, o que difundiu ainda mais o conceito de essencialidade da suplementação e facilidade de compra destas misturas por parte dos produtores.

Tabela 1. Produção total de rações e suplementos minerais (milhões de toneladas) no Brasil (2014-2015)

Produtos	Período		%
	2014	2015	
Ração	65,0	66,3	2,0
Sal Mineral	2,37	2,43	2,4

Fonte: SINDIRAÇÕES, 2016.

É de grande importância salientar que, os valores expressos na tabela 1, são resultados do controle realizado pelo MAPA e que são repassados as Associações como ASBRAM e SINDIRAÇÕES (Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal).

3.3 Função dos minerais

Segundo Underwood & Suttle (1999) os minerais desempenham quatro funções básicas no organismo: 1) estrutural, estritamente relacionadas ao tecido ósseo, ou como componentes de proteínas musculares; 2) fisiológica, encontra-se presente nos tecidos e líquidos corporais garantindo o equilíbrio osmótico, o balanço ácido-base e a permeabilidade das membranas; 3) catalítica, ou seja, atuam em atividades catalíticas de sistemas enzimáticos e hormonais como forma integral ou fazendo parte de estruturas como metaloenzimas; 4) reguladora, atuando nos processos de regulação na replicação e diferenciação celular. Nas tabelas 2 e 3, encontram-se as funções metabólicas mais importantes dos principais macros e microminerais, respectivamente.

Tabela 2. Principais funções metabólicas dos macrominerais

Mineral	Composição no Organismo (%)	Função
Cálcio	1-2	Mineralização óssea, regulação metabólica, coagulação sanguínea, contração muscular, transmissão de impulso nervoso.
Fósforo	0,7-1,2	Mineralização óssea, componente de DNA e RNA, parte de compostos de alta energia (ATP), regulação de enzimas alostéricas, componente dos fosfolipídios.
Potássio	0,3	Regulação da pressão osmótica, transmissão do impulso nervoso, regulação do equilíbrio ácido-base, contração muscular, controle do equilíbrio hídrico.
Enxofre	0,25	Componente de aminoácidos sulfurados, componente de biotina e tiamina, componente de mucopolissacarídeos, reações de desintoxicação.
Sódio	0,15	Regulação da pressão osmótica, condução nervosa, transporte ativo de nutrientes, regulação do equilíbrio ácido-base, contração muscular, controle do equilíbrio hídrico.
Cloro	0,15	Regulação da pressão osmótica, regulação do equilíbrio ácido-base, controle do equilíbrio hídrico, formação do ácido clorídrico no suco gástrico.
Magnésio	0,045	Cofator de mais de 300 enzimas, componente dos ossos, atividade neuromuscular.

Fonte: Adaptado de Spears (1999).

Tabela 3. Principais funções metabólicas dos microminerais

Mineral	Composição no Organismo (ppm)	Função
Ferro	80	Transporte e armazenamento de oxigênio (hemoglobina, mioglobina), transporte de elétrons, componente de enzimas (catalase, triptofano 5-monoxigenase, fenilalanina 4-monoxigenase, aconitase).
Zinco	30	Componente de mais de 70 enzimas (álcool desidrogenase, DNA polimerase, RNA polimerase, anidrase carbônica, carboxipeptidase, piruvato desidrogenase), expressão gênica, estabilidade das membranas.
Cobre	3	Componente de muitas enzimas (lisil oxidase, tirosinase, citocromo oxidase, superóxido dismutase).
Iodo	0,4	Componente dos hormônios tireoidianos
Manganês	0,3	Componente de enzimas (piruvato carboxilase, arginase, superóxido dismutase mitocondrial), ativador enzimático (glicosil transferases).
Cobalto	0,2	Componente da vitamina B12.
Molibdênio	1-4	Componente de enzimas (xantina oxidase, sulfito oxidase, aldeído oxidase).
Selênio	0,02	Componente de enzimas (glutation peroxidase, iodotironina deiodase tipo I).

Fonte: Adaptado de Spears (1999).

3.4 Classificação dos minerais

Segundo Georgievskii et al. (1982) os minerais são classificados adotando os seguintes critérios:

3.4.1 Localização no tecido de órgão específico

É levado em consideração a especificidade dos minerais, para os órgãos e tecidos. Ou seja, aqueles que estão localizados no tecido ósseo; no sistema retículo endotelial; e aqueles uniformemente distribuídos nos tecidos.

3.4.2 Caracterização relacionada à função vital no organismo

- Minerais essenciais

Mineral essencial é aquele que, em condições específicas de experimentação, uma vez retirado da dieta, provoca uma sintomatologia específica ou não, e uma vez reestabelecido seu favorecimento, cessam os referidos sinais clínicos (Underwood & Suttle, 1999).

- Não essenciais

São encontrados em concentrações relativamente indefinidas no organismo animal, é consequência da presença indesejável em alimentos que são utilizados na formulação de dietas, portanto quase sempre não desempenha papel fisiológico.

- Potencialmente tóxico

Todos os minerais apresentam capacidade de serem tóxicos, o que determina é o consumo, espécie, idade e animal. Lembrando que a toxicidade pode ocorrer de maneira natural ou pela contaminação de alimentos, água e ar. Na tabela 4 podem-se observar as exigências e níveis tóxicos de minerais para bovino.

Tabela 4. Exigências e níveis tóxicos de minerais para ruminantes

Minerais	Vacas de Corte			Vacas de Leite	
	Crescimento	Gestante	Lactação	Transição	Lactação
Cálcio (%)	0,40 - 0,80	0,16 - 0,27	0,28 - 0,58	0,44 - 0,48	0,53 - 0,80
Fósforo (%)	0,22 - 0,50	0,17 - 0,22	0,22 - 0,39	0,22 - 0,26	0,44 - 0,32
Magnésio (%)	0,10	0,12	0,20	0,11 - 0,16	0,18 - 0,29
Potássio (%)	0,60	0,60	0,60	0,51 - 0,62	1,00 - 1,24
Sódio (%)	0,06 - 0,08	0,06 - 0,08	0,10	0,10 - 0,14	0,19 - 0,34
Enxofre (%)	0,15	0,15	0,15	0,2	0,2
Cobalto (ppm)	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11
Cobre (ppm)	10	10	10	12 - 18	9 - 16
Iodo (ppm)	0,5	0,5	0,5	0,4 - 0,5	0,34 - 0,88
Ferro (ppm)	50	50	50	13 - 18	12,3 - 22,0
Manganês (ppm)	20	40	40	16 - 24	12 - 21
Selênio (ppm)	0,10	0,10	0,10	0,3	0,3
Zinco (ppm)	30	30	30	21 - 30	43 - 73
Níveis tóxicos (ppm)					
Cobre	115			80	
Ferro	30-100			30	
Manganês	6			6	
Selênio	5			5	
Zinco	500			500	

Fonte: Adaptado de McDowell (1992), NRC (1996), NRC (2001).

3.5 Quantificações dos elementos e sua relação com as deficiências dos minerais nos ruminantes

No início dos estudos com os elementos minerais, os ensaios experimentais baseavam-se no desempenho do animal que recebia a dieta já pré-determinada com o elemento mineral. Porém, o grande gargalo, era que as análises químicas não identificavam a forma química do elemento, ficando a biodisponibilidade comprometida.

Para a determinação da deficiência mineral é imprescindível que se avalie suas diversas manifestações, o problema é que na maioria das deficiências, e, principalmente quando elas não são severas, a determinação do quadro clínico, mesmo sendo necessário, não é suficiente.

Mendonça Júnior et al. (2011) relataram que o diagnóstico confiável das deficiências de minerais era determinado por dois caminhos: avaliações químicas de tecido animal, correlacionando com amostragens das pastagens e de solo; e pelos experimentos.

Baseado nas funções dos macro e micros minerais acredita-se que toda deficiência mineral (Tabela 5) capaz de produzir alterações na saúde e no metabolismo do animal, tende a interferir também, no desempenho produtivo e reprodutivo.

Tabela 5. Doenças causadas pela deficiência de minerais

Minerais	Doenças causadas por deficiências de minerais
Ca, P	Raquitismo; Osteomalácia; Abortos; Natimortos; Baixa produção de leite, hipocalcemia
P	Atraso da puberdade e estro pós-parto; moderada à baixa taxa de concepção; Nascimento de fetos fracos ou mortos.
Mg	Tetania.
Fe, Cu	Anemia.
Cu	Sintomas cardíacos; despigmentação da pele e dos pelos. Atraso no estro e baixa taxa de concepção; Ataxia neonatal.
Mn	Cio silencioso; Estro irregular; Infertilidade; Abortos; Redução na motilidade dos espermatozoides; Nascimento de animais deformados.
Se	Doença do músculo branco. Retenção de Placenta.
Co	Baixa taxa de concepção, caquexia e anemia.

Fonte: Adaptado de Mendonça Júnior et al. (2011).

As deficiências minerais são diagnosticadas pelos sinais clínicos ou pela identificação das lesões nos tecidos *post-mortem*. Mas a confirmação das deficiências geralmente requer verificação analítica sendo que a maioria tem mais de um sinal clínico ou lesão. Analisar materiais provenientes dos animais permite detectar as possíveis deficiências, evitando falhas no diagnóstico. Hall (2006) afirma que ossos e fígado, com uma pequena quantidade de amostra, permitem a realização de um diagnóstico preciso, relacionado à deficiência mineral.

3.6 Importância dos minerais para os ruminantes

Os minerais estão envolvidos em quase todas as vias metabólicas do organismo animal, com funções importantes no desempenho reprodutiva, na manutenção do crescimento, no metabolismo energético, na função imune entre outras tantas funções fisiológicas, não só para a manutenção da vida, como também para o aumento da produtividade animal (Lamb et al., 2008). Além das funções vitais correlacionadas com os minerais, estes exercem um importante papel na microbiota do rúmen. Segundo Pedreira & Berchielli (2006), o que se observa nas interações dos minerais com a microbiota simbiótica do trato gastrointestinal em ruminantes são as seguintes situações:

- Minerais necessários, tanto para o organismo animal, quanto para os microrganismos:

K: Essencial para o crescimento de certas espécies de microrganismos;

P: Essencial para os processos energéticos e reprodutivos da célula;

Mg, Fe, Zn e Mo: Ativadores de enzimas bacterianas.

- Essencial, principalmente ou exclusivamente para os microrganismos que produzem os metabólitos requeridos pelo organismo animal:

Co: Supre as necessidades de determinados grupos de bactérias produtoras da vitamina B12.

- Essencial tanto para o animal como para seu hospedeiro, sendo preferencialmente assimilado pelos microrganismos, na forma do fornecimento:

S: Digestão da celulose, assimilação do nitrogênio não proteico e síntese das vitaminas do complexo B.

- Essenciais nos processos metabólicos do organismo animal, além de participarem da criação de um meio ótimo para suporte dos microrganismos:

K, Na, Cl e P: Presentes no compartimento estomacal dos ruminantes, que é um sistema biológico fechado, mantém seu meio interno constante, em virtude da ação tampão, pressão osmótica e suas concentrações relativas de íons.

3.6.1 Biodisponibilidade e interação dos elementos minerais

A biodisponibilidade é definida como o valor estimado do mineral que realmente é absorvido e torna-se disponível para o metabolismo animal. Dessa forma, existem fatores que interferem na absorção no lúmen intestinal, como nível de consumo do mineral, forma química,

digestibilidade da dieta, tamanho da partícula, interações com outros minerais e nutrientes, agentes quelantes, inibidores, estado fisiológico do animal, qualidade da água, idade e a espécie animal (Pasa, 2010).

Embora forragens possam fornecer adequadas quantias de quase todos os minerais essenciais, em alguns casos, elementos são fornecidos em quantidades menores e a suplementação é requerida para garantir o desempenho e a saúde do animal. No caso de ruminantes, um fornecimento adequado de minerais deve ser feito para otimizar a atividade microbiana do rúmen e, assim, a utilização de forragens.

Fatores como o clima, tipo de solo, espécie forrageira, manejo, composição química das plantas forrageiras, que podem afetar a composição físico-química das plantas forrageiras, além dos fatores inerentes ao animal, como a idade, o pH dos conteúdos nos compartimentos do trato digestivo, a presença em excesso ou ausência de alguns minerais (sinergismo/antagonismo), o conteúdo de nutrientes orgânicos (proteína, carboidrato, vitamina), aspectos sanitários, podem influenciar a utilização dos nutrientes pelos animais.

Normalmente, os minerais envolvidos em vários processos metabólicos têm maior facilidade de se inter-relacionarem do que aqueles que estão envolvidos numa simples ou única função, dentre eles se destacam o zinco, cobre e o selênio por serem íons polivalentes.

Fatores físico-químicos afetam a entrada de nutrientes pelo lúmen intestinal e sua incorporação no complexo bioquímico dentro do ambiente celular. A forma química do elemento ou a presença de outro íon inorgânico, que compete pelo mesmo mecanismo de entrada, e outros fatores ligados à interação do nutriente mineral com seu carreador molecular podem aumentar a absorção via receptores específicos de mucosa ou outras moléculas orgânicas, podem reduzir esta absorção. Como exemplos incluem-se os fitatos, que diminuem a disponibilidade de Zn, Fe, Cu, Mn; certos açúcares diminuem a disponibilidade Cu; fosfatos diminuem Fe e Mn; polifenóis diminuem Fe; alguns aminoácidos aumentam a disponibilidade de Zn, Cu, Fe, Mn (Lee et al., 2002).

No rúmen, a disponibilidade dos minerais e a sua utilização metabólica, dependem da taxa de passagem e da interação com a população de microrganismos. Em condições normais de pastejo, o crescimento microbiano não é limitado pelos suprimentos de elementos traços essenciais (Lee et al., 2002).

No entanto, da mesma forma que a digestão microbiana pode contribuir para tornar os nutrientes mais disponíveis para os ruminantes, os microrganismos também complexam alguns minerais tornando-os indisponíveis. Quando os minerais são solubilizados ou liberados no rúmen, eles podem ser absorvidos, passar com a digesta ou serem incorporados nas células microbianas, dependendo de exigências intracelulares para enzimas e processos metabólicos (Mackie & Therion, 1984).

A inter-relação entre os vários elementos minerais no trato digestivo do animal pode ser tanto sinérgica quanto antagônica. Os íons minerais podem interferir entre eles entrando em competição seletiva a respeito dos sítios de absorção. Existem íons minerais capazes de reduzir a biodisponibilidade de um ou mais íons de outra natureza. Dessa forma, uma dieta com altos

níveis de um elemento pode bloquear a absorção de outros, levando os animais a um quadro de deficiências (Baruselli, 2000).

Baruselli (2000) ainda descreve que existem outros fatores capazes de interferir na absorção dos sais minerais, como por exemplo, álcool, a gordura e a fibra. Esse motivo se dá devido à formação de complexos insolúveis, os quais prejudicam o crescimento da microbiota ruminal e diminuem a digestibilidade dos elementos da dieta, e, portanto, a biodisponibilidade dos minerais.

3.7 Classificações dos minerais quelatados

Os elementos minerais em seu estado natural estão na forma inorgânica, e deste modo foram utilizados durante muito tempo para suplementar animais. Nos dias atuais, além de grandes progressos nas técnicas de criação, houve uma evolução muito grande nos animais, devido principalmente ao melhoramento genético, fazendo com que eles de forma acelerada, necessitando, portanto, de uma alimentação especial.

Os minerais quelatados ou orgânicos surgiram no final da década de 1970, sendo uma forma de suplemento mineral, que segundo Kiefer (2005), tem o potencial de melhorar o desempenho dos animais. Esta proposta era sustentada pelas indústrias com a afirmativa que as formas quelatadas ou complexadas de alguns microminerais apresentariam uma maior biodisponibilidade, estrutura química estável e seriam eletricamente neutros no trato digestivo, possibilitando a não participação em reações que poderiam resultar em complexos insolúveis indesejáveis (Mottin et al., 2013).

É bastante comum encontrar o termo “quelato”, até os dias atuais para identificar estes minerais de uma maneira generalizada, o que não é muito adequado, uma vez que “quelato” significa ligação, podendo ser entre um mineral e qualquer substância. As principais características dos quelatos de boa qualidade são: ter um peso molecular inferior a 800 Daltons para serem absorvidos intactos; ser eletricamente neutro para facilitar a absorção; ter uma constante de estabilidade adequada para não sofrer alteração no trato digestivo e possuir um ligante de fácil metabolização após a absorção.

Leeson & Summers (2001) afirmaram a existência de três grupos de quelatos que são reconhecidos pelo sistema biológico, os que servem de transportadores e de estoque para íons metálicos necessitando de um ligante para serem absorvidos, os quelatos essenciais ao metabolismo, como a hemoglobina e o último grupo são os quelatos que interferem na utilização de cátions essenciais e não possuem valor biológico.

Para regulamentar a utilização dos minerais orgânicos, a *American Association Feed Control Officials* (AAFCO, 2000) propuseram a classificação como: complexo metal aminoácido, ligação de um metal com um aminoácido qualquer; complexo metal aminoácido específico, ligação de um metal com um aminoácido específico; quelato metal aminoácido, ligação de um metal com um, dois ou três aminoácidos quaisquer; proteinado metal, ligação de

um metal com proteína parcialmente hidrolisada e por fim complexo metal polissacarídeo, ligação de metal com polissacarídeo.

Na formação do quelato, a ligação entre o metal e o ligante deve ser do tipo covalente, formando um anel heterocíclico. Ele é produzido pela atração entre cargas positivas de cátions polivalentes e quaisquer dois ou mais sítios de compostos com atividade eletronegativa, pertencentes a uma variedade de compostos químicos, conhecidos como ligantes. Os ligantes mais utilizados são os aminoácidos, segundo Spears (1999), para ser classificado como quelato o ligante deve conter no mínimo dois grupos funcionais (oxigênio, nitrogênio, amino ou hidróxi), cada um capaz de doar um par de elétrons para combinar (via ligação covalente coordenada) com um metal, formando uma estrutura de anel heterocíclico.

Em uma formulação mineral o elemento quelatado pode substituir integral ou parcialmente o elemento inorgânico. Além disso, o conjunto dos produtos disponíveis no mercado não é classificado só como minerais quelatados, sendo o grupo de complexos destes minerais classificados como transquelatos e carboaminofosfoquelatos, os mais comercializados. O que diferencia um composto do outro, além da complexidade do processo industrial, é o tamanho da molécula e a estrutura molecular na qual o mineral está ligado (Polizel Neto, 2007; Junqueira, 2008).

Atualmente, encontram-se disponíveis no mercado, vários minerais para uso na alimentação animal, os principais comercializados mundialmente estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Principais minerais quelatados disponíveis no mercado

Classificação	Tipo de Mineral
Quelato Metal Aminoácido	Cálcio
	Cobalto
	Cobre
	Ferro
	Zinco
Complexo Metal Aminoácido	Cobre
	Ferro
	Manganês
	Zinco
Complexo Metal Aminoácido Específico	Cobre Lisina
	Zinco Lisina
	Ferro Metionina
	Zinco Metionina
Metal Proteinado	Cálcio
	Cobalto
	Cobre
	Zinco
Complexo Metal Polissacarídeo	Cobre
	Ferro
	Zinco
	Magnésio

Fonte: AFFCO (2000).

Os carboaminofosfoquelatos, também conhecidos como complexo metal polissacarídeo, são compostos provenientes da reação de fosforilação. Podem ser conceituados como sendo um produto proveniente da lise enzimática de leveduras específicas (*Saccharomyces cerevisiae*) fermentadas sobre um substrato aditivado com fósforo e outros íons metálicos, formando complexos orgânicos muito ricos em metabólicos e de alta biodisponibilidade (Baruselli, 2005).

Os transquelatos ou metal proteinado podem favorecer alguns processos, uma vez que a relação mineral-aminoácido pode indicar o tipo de tecido no qual o mineral será introduzido. O aminoácido ligante do mineral funciona como um transportador, direcionando-o a receptores específicos em cada órgão alvo, visto que os aminoácidos atendem às necessidades específicas de tecidos e sistemas. Por esta razão, minerais proteinados contendo amplo espectro de aminoácidos,

são mais efetivos em algumas situações quando comparados a um simples aminoácido quelatado (Borges et al., 2003; Oliveira, 2004; Baruselli, 2005)

Zanetti (2014) cita que as utilizações dos minerais nas diferentes formas complexadas podem oferecer algumas vantagens quando comparados as fontes inorgânicas, como: biodisponibilidade superior, maior retenção nos tecidos, menor eliminação pelas fezes, baixa interação com outros elementos minerais, maior absorção por existir um mecanismo de absorção diferente.

Mottin et al. (2013) relataram que existem mais algumas atribuições referente à comparação dos minerais quelatados com os inorgânicos: por possuírem um mecanismo de absorção diferente, estes minerais apresentam-se em uma forma semelhante aos utilizados pelos animais, possuem carga negativa, ou seja, são metabolizados mais eficientemente, e o processo de quelação aumenta a absorção passiva, por aumentar a solubilidade em água e lipídeo. Visto a complexação destes minerais com moléculas orgânicas, os mesmos podem ser absorvidos por sítios diferentes de absorção.

3.7.1 Mecanismos de absorção dos elementos quelatados

A absorção dos minerais no intestino, segundo Pasa (2010) ocorre por difusão passiva ou transporte ativo. Para que os íons sejam absorvidos, chegando ao sangue e tecidos, eles precisam estar atrelados a um agente ligante ou molécula transportadora, quando estes íons não se ligam, são excretados. O potencial hidrogeniônico (pH) do meio, o conteúdo e principalmente a presença de outros minerais podem promover interações antagônicas influenciando a absorção. Por sua vez, Kiefer (2005) afirma que os minerais orgânicos apresentam absorção superior ao convencional, pois, geralmente, usam as vias de absorção das moléculas que os ligam, aumentando a possibilidade de não interagirem com outros minerais, mas nem sempre os resultados de alguns trabalhos conseguem explicar os mecanismos de como ocorre este melhor aproveitamento.

Na busca pelo aumento da disponibilidade mineral para o animal, uma suplementação extra de minerais pode causar efeitos prejudiciais, podendo levar a redução da biodisponibilidade de outros minerais, além de não melhorarem sua concentração no sangue e possivelmente excretar mais compostos inorgânicos no meio ambiente (Leeson & Summers, 1997).

Por sua vez, os minerais quelatados apresentam absorção superior ao convencional, pois, geralmente, usam as vias de absorção das moléculas quelatadas que os ligam, o que faz com que não tenham problemas de interações com outros minerais. A absorção dos minerais quelatados pode ocorrer sob duas formas: o mineral pode ser ligado à borda em escova intestinal sendo absorvido pela célula epitelial ou como ocorre na maioria das vezes onde o agente quelante é absorvido levando junto a si o metal (Kiefer, 2005).

No caso dos aminoácidos quelatados, o elemento mineral metálico na molécula é quimicamente inerte por causa da forma de ligação. Esta ligação é estável, não sofrendo dissociação das moléculas quando atingem o estômago.

No jejuno, o aminoácido do mineral quelatado, age como agente transportador, permitindo a passagem do mineral através da parede intestinal para a corrente sanguínea (diretamente para o plasma). A separação do aminoácido quelante dá-se no local onde o elemento mineral metálico será utilizado (Leeson & Summers, 1997). Alguns estudos têm demonstrado resposta positiva de quelatos quando comparados com fontes não quelatadas (McDowell, 1996).

Após a absorção, os minerais orgânicos devem ser liberados para serem utilizados pelo organismo animal, porém em alguns casos isto não ocorre de imediato, como o selênio. É importante destacar que o processo de produção do selênio orgânico é diferente e, portanto, proporciona um produto diferente dos demais. O selênio é incorporado na molécula do aminoácido no lugar do enxofre, produzindo selenocisteína ou selenometionina. Quando o animal utiliza estes aminoácidos para produzir uma proteína, como por exemplo, do leite ou da carne, estes produtos tornam-se ricos em selênio. Portanto, suplementar selênio orgânico aos animais é uma forma eficiente de enriquecer os seus produtos: carne e leite.

3.7.2 Biodisponibilidade dos minerais quelatados

Os minerais quando na forma quelatada possuem neutralidade elétrica, fator esse que contribui para aumentar sua biodisponibilidade quando comparados às fontes inorgânicas (Tabela 7). De acordo com Kiefer (2005), a disponibilidade dos minerais quelatados é superior, em muitas vezes, a 90%. Já os suplementos minerais que não têm molécula transquelatada, são absorvidos em média de 10 a 18% pelos animais. Embora os minerais quelatados apresentem maior biodisponibilidade, o seu uso onera o custo do sal mineral.

A ausência de carga faz com que sejam tolerados pelo organismo animal livrando-os das possíveis interferências dos demais componentes da dieta, que poderia torná-lo insolúvel. Além disso, os microminerais que chegam ao intestino delgado na forma quelatada não formam complexos insolúveis no lúmen intestinal e conseqüentemente são mais rapidamente absorvidos e liberados para a corrente sanguínea (Baruselli, 2000).

Tabela 7. Biodisponibilidade dos minerais complexados e inorgânicos

Elemento Mineral	Complexado	Inorgânico
Cálcio	92-96%	22-53%
Manganésio	85-94%	26-48%
Ferro	85-94%	26-48%
Zinco	87-94%	15-35%
Cobre	91-98%	15-29%
Cobalto	85-89%	30-36%
Manganês	83-87%	12-24%
Selênio	88-90%	9-26%

Fonte: Adaptado de Baruselli (2000).

3.8 Uso de fontes complexadas de minerais em bovinos

3.8.1 Bovinos de leite

Nocek et al. (2006) avaliando os parâmetros reprodutivos e produção leiteira de 550 vacas (tabela 8), verificaram que os animais suplementados com os complexos metais aminoácidos específicos, zinco-metionina (Zn-met), manganês-metionina (Mn-met), cobre-lisina (Cu-lis) e o cobalto (Co) na forma de glicoheptanato, em 75% das exigências estabelecidas pelo NRC (2001), não diferenciaram quando comparados aos minerais inorgânicos (sulfatos) suplementados com 100% das exigências estabelecidas pelo NRC (2001) no desempenho reprodutivo. Em relação à produção de leite (tabela 9), quando os animais foram suplementados com 100% e 75% das exigências de minerais com a forma complexada, apresentaram produção superior a suplementação mineral com 100% das exigências na forma inorgânica. Em relação à 2ª lactação, os animais apresentaram produção superior quando foram suplementados com os minerais em 100% das suas exigências na forma quelatada.

Tabela 8. Efeito da suplementação com mineral complexado (C) e inorgânico (I) na performance reprodutiva de vacas em duas lactações

Períodos	Tratamentos (% das exigências do NRC, 2001)			P
	75 C	100 I	100 C	
Lactação 1				
Primeiro serviço (d)	66	66	65	NS
Serviço/concepção	2,3	2,4	2,2	NS
Dias em aberto	120	118	115	NS
Lactação 2				
Primeiro serviço (d)	65	64	65	NS
Serviço/concepção	2,6	2,5	2,7	NS
Dias em aberto	129	132	135	NS

Adaptado de Nocek et al. (2006).

Não foram encontradas diferenças das médias avaliadas pelo teste Tukey ($P>0,05$).

Tabela 9. Efeito da suplementação com mineral complexado (C) e inorgânico (I) na produção de leite em duas lactações

Períodos	Tratamentos (% das exigências do NRC, 2001)			P
	75(c)	100 (I)	100 (C)	
Lactação 1 (kg/dia)	36,3 b	35,0 c	36,6 b	0,2
Lactação 2 (Kg/dia)	41,5 b	41,5 b	43,8 a	0,2

Adaptado de Nocek et al. (2006).

Médias seguidas pelas letras minúsculas na linha representam diferença pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Hackbart et al. (2012) em semelhantes avaliações, suplementaram vacas de leite dos 72 dias antes do parto, até 4 meses pós-parto, com os complexos metais aminoácido específico Zn-met, Mn-met, Cu-lis e o cobalto (Co) na forma de glicohexanoato, substituindo o zinco (Zn), manganês (Mn) e cobre (Cu) na forma de sulfatos e o Co como carbonato, objetivando melhorias na produção de leite e reprodução. Os minerais na forma de complexos aumentaram a produção de leite somente na 13^a e na 14^a semana. Crescimento folicular e desenvolvimento do embrião,

não foram afetados pelas diferentes fontes dos minerais, o que também ocorreu na concentração de minerais no fígado. Pode ser necessário maior tempo de adaptação dos animais as formas complexadas dos minerais para que os efeitos biológicos possam ser visualizados. Em relação aos processos reprodutivos, diferentes fatores podem estar associados e a suplementação, acima ou abaixo de um padrão fisiológico, pode não ser única fonte de efeito. Como não foram detectadas diferenças na concentração de minerais no fígado, avaliações dos minerais em outros tecidos, como a glândula mamária, podem explicar as diferenças relatadas na produção de leite, sendo a concentração e a forma dos minerais neste tecido, informações valiosas do aproveitamento pelos animais.

Uma das maneiras de testar a interação e mobilidade dos elementos minerais, sejam eles inorgânicos ou orgânicos, é a utilização de antagonistas de determinados elementos, como verificado por Sinclair et al. (2013) quando avaliaram o efeito do cobre inorgânico e do cobre proteinado, suplementados com ou sem adição de enxofre (S) e molibdênio (Mo), sobre o desempenho, de 56 vacas leiteiras, durante 16 semanas de avaliações. Dentro de cada uma das fontes suplementares de Cu, uma mistura antagonista foi adicionada contendo sulfato de amônio e molibdato de sódio. Houve interação ($P=0,025$), tabela 10, entre a fonte de cobre e seus antagonistas, observando um consumo de matéria seca (CMS) superior nos animais que foram suplementados com fonte inorgânica. A produção de leite foi 5% maior com um teor de gordura 6% menor ($P<0,05$) em vacas alimentadas com cobre inorgânico, não houve efeito ($P>0,05$) de fonte de Cu na concentração plasmática, e nenhum efeito ($P>0,05$) foi observado pelas diferentes fontes Cu nas concentrações plasmáticas de Mo. As atribuições feitas ao maior teor de gordura no leite, segundo os autores, podem ser relacionadas a uma maior concentração do cobre circulante oriundo da fonte proteinada.

Tabela 10. Efeito do Cu inorgânico dietético (Inorg.), orgânico (Org.) sem (-) ou com (+) S e Mo sobre o desempenho de vacas leiteiras

Itens	Tratamentos				P
	Inorg. (-)	Inorg. (+)	Org. (-)	Org.(+)	
CMS (kg/dia)	22,6 ^a	20,8 ^b	21,0 ^b	21,4 ^b	0,025
Leite (kg/dia)	36,1 ^a	36,5 ^a	34,9 ^b	34,2 ^b	0,044
Gordura (g/kg)	35,8 ^b	35,5 ^b	36,9 ^a	38,7 ^a	0,042
Proteína (g/kg)	30,7	30,5	31,8	30,9	0,11
Lactose (g/kg)	45,8	45,7	45,7	45,8	0,92
Peso Vivo (kg)	634	636	647	634	0,27
Ganho de peso (kg/dia)	0,16	0,08	0,35	0,20	0,056

Adaptado de Sinclair et al. (2013).

Médias seguidas pelas letras minúsculas na linha representam diferença pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Juniper et al. (2006) determinando os efeitos do selenito de sódio (SS) ou diferentes inclusões de levedura selenizada (SL) derivadas de uma cepa específica de *Saccharomyces cerevisiae*, no desempenho e suas concentrações no sangue, leite, fezes e urina de 20 vacas da raça Holandesa durante um período de 5 semanas. Foram utilizados cinco tratamentos, sendo o (T1) o controle, sem selênio suplementar, os demais T2, T3 e T4, oriundo do selênio levedura, continham 0,27; 0,33; e 0,40 mg/kg de SL, respectivamente. E o (T5) apresentava 0,25 mg/kg de SS. Não houve efeito dos tratamentos no CMS, na produção ou composição do leite, lactose, proteína e gordura (tabela 11). Em relação aos parâmetros sanguíneos, não houve efeito para as fontes ou concentração de selênio (tabela 12). A menor inclusão de SL aumentou sua concentração no leite de 27,8 µg/L em comparação com 20,8 µg/L para o SS. Os autores mostraram que a fonte de selênio na dieta não afetou significativamente a concentração de selênio nas fezes ou urina, mas o selênio encontrado no sangue e leite tinha o mesmo perfil do SL.

Tabela 11. Produção de leite, gordura do leite, proteína e lactose e CMS de vacas sem selênio suplementar ou que receberam doses crescentes de levedura selenizada em tratamentos de 2 a 4 (T2 a T4), e selenito de sódio no tratamento de 5 (T5)

Itens	Tratamentos				
	T1	T2	T3	T4	T5
CMS (kg/dia)	23,5	23,7	23,2	23,4	23,1
Leite (kg/dia)	31,3	31,5	30,4	31,0	30,6
Gordura (g/kg)	42,2	44,4	44,2	43,0	43,4
Proteína (g/kg)	35,4	35,0	35,4	35,4	34,9
Lactose (g/kg)	45,7	45,4	45,5	45,7	45,9

Adaptado de Juniper et al. (2006).

Não foram encontradas diferenças das médias avaliadas pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Tabela 12. Concentração de selênio (Se) no sangue, leite, urina e fezes de vacas sem selênio suplementar ou que receberam levedura selenizada em tratamentos de 2-4 (T2 a T4) e selenito de sódio em tratamento (T5)

Itens	Tratamentos				
	T1	T2	T3	T4	T5
Se no sangue $\mu\text{g/L}$	211	214	235	251	208
Se no leite $\mu\text{g/L}$	19,4c	27,8 b	40,3a	53,7a	20,8 b
Se na urina mg/L	0,02	0,05	0,08	0,14	0,06
Se nas fezes mg/kg	0,37	0,51	0,65	0,78	0,58

Adaptado de Juniper et al. (2006).

Médias seguidas pelas letras minúsculas na linha representam diferença pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

O Se que possui peso molecular de 78,96, e na tabela periódica é um metal de transição ao lado do S, portanto semelhantes, pode ser utilizado pelas leveduras na síntese dos aminoácidos sulfurados produzindo selenometionina e selenocisteína (Zanetti, 2014).

DeFrain et al. (2009) determinaram os efeitos da substituição do Zn, Mn, Cu, Co na forma de sulfatos com os mesmos minerais na forma de complexo aminoácidos específicos, na

lactação e fertilidade de 306 vacas holandesas. As alimentações com os minerais complexados não influenciaram a produção de leite corrigida para 3,5 % de gordura e tenderam a reduzir o teor de sólidos, porém ocorreu redução na contagem de células somáticas (CCS) do leite de 183.000 células/mL para 136.000 células/mL, das formas sulfatadas para as formas complexadas, respectivamente. Não houve diferenças de tratamento ($P>0,15$) para os dias ao primeiro serviço e taxa de concepção. A resposta para a redução na CCS pode estar no papel do Zn, Mn, Cu e na manutenção da função imunológica. O zinco exerce importante papel na resposta humoral imunológica e o manganês aumenta a capacidade de atividade de redução dos macrófagos. Além disso, Zn, Mn, e Cu, todos desempenham um papel chave na função reprodutiva e reparação dos órgãos reprodutivos, além da produção de hormônios.

Batista et al. (2012) realizaram um estudo utilizando minerais iônicos ou minerais na forma de carboquelatos de zinco, cobre, enxofre, manganês, cobalto e selênio no efeito da retenção de placenta de 135 vacas holandesas. Os animais foram alojados em piquetes 42 dias antes do parto, e a placenta considerada retida quando a expulsão não ocorreu até 12 horas após o parto. As concentrações de Zn no soro das vacas, nas semanas anteriores ao parto e no parto, não foram diferentes entre grupos. Já as concentrações de Cu foram maiores em todas as semanas avaliadas nos animais que receberam minerais complexados ($P<0,07$). A concentração de imunoglobulinas G (IgG) sérica não foram diferentes entre os grupos e não ocorreu interação grupo versus semana avaliada ($P>0,05$). A IgG no soro apresentou taxa de redução semanal até o parto de 2,74 mg/dL, sendo estas quedas consequência do transporte das imunoglobulinas para a glândula mamária na formação do colostro. Todos os partos ocorreram de forma normal e ocorrência de retenção de placenta e qualidade do colostro avaliada não foram diferentes nos animais que receberam a mistura com minerais complexados. As concentrações séricas de Cu foram alteradas, o que pode indicar diferenças no tempo de suplementação.

Carboquelatos de cobre, zinco e selênio comparados com fontes inorgânicas destes mesmos minerais foram testadas por Cortinhas et al. (2012), na avaliação do consumo, perfil metabólico do sangue, produção e composição do leite de 19 vacas holandesas durante 60 dias pré-parto até 80 dias pós parto. O CMS, não foi alterado pelas fontes testadas, porém o consumo médio de Zn dos animais no pré e pós-parto 497,6 e 762 mg/dia, respectivamente, foi menor do que as recomendações do NRC (2001). Ao contrário do Zn, o Se ingerido foi 9% superior no pré-parto e 15% superior no pós-parto, em relação às recomendações do NRC (2001). Não foram observadas diferenças no consumo de Cu. Em relação aos níveis séricos testados 0,67 µg/kg e 0,69 µg/kg de Zn; 0,77 µg/kg e 0,75 µg/kg de Cu e 0,07 µg/kg e 0,07 µg/kg de Se, foram encontrados respectivamente no grupo inorgânico e orgânico. Este resultado difere do Weiss et al. (2005) que relataram um aumento nas concentrações sérica de Se em vacas da raça Holandesa alimentados pela fonte orgânica quando comparadas a forma de sulfato. Os autores atribuíram à falta de avaliação da biodisponibilidade dos elementos complexados nos resultados expressados dos minerais no plasma, o que poderia explicar uma maior utilização das fontes complexadas nos sítios de atuação.

3.8.2 Bovinos de corte

Kropp (1993) avaliou a fertilidade de fêmeas de diferentes raças (Angus, Hereford, Brangus e Simental) que tiveram acesso a sal mineral contendo Zn, Mn, Cu e Co quelatados com aminoácidos comparados à fórmula contendo sais inorgânicos, por um ano. Este verificou que 77,4% das fêmeas que recebiam os quelatados apresentaram estro em relação a 42,1% das que recebiam sais inorgânicos. Destas, as que conceberam no primeiro serviço foram 71,4% das suplementadas com quelatos e 25% das com sal inorgânico. Assim o mesmo concluiu que a suplementação de microminerais quelatados, particularmente o Cu, teve influência positiva na melhoria do cio e taxa de concepção.

Avaliando interações entre minerais, Hansen et al. (2008) realizaram experimento com novilhos angus e Angus x Simental, sendo um grupo controle (sem suplementação de Cu) e outro grupo com dois níveis de suplementação, 5 e 10 mg/kg de matéria seca (MS), na forma de sulfato ou Cu-glicina, fornecendo 0,15% de enxofre e 2 mg de Mo na fase um e depois 6 mg de Mo e 0,15% de S na fase dois. O ganho de peso e a conversão alimentar melhoraram com a suplementação com cobre ($P=0,01$). Os níveis de ceruloplasmina, cobre hepático e cobre plasmático aumentaram com a suplementação, o cobre no soro, no fígado e a ceruloplasmina foi maior nos animais suplementados com 10 mg de Cu (tabela 13). A biodisponibilidade considerando os níveis de cobre no plasma, fígado e a ceruloplasmina na dieta com 2 mg de Mo e 0,15% de S foi de 140, 131 e 140% considerando o sulfato como 100%. Na fase dois, quando o Mo foi aumentado para 6 mg/kg, a biodisponibilidade da fonte orgânica foi ainda maior, 144, 150 e 157%, comprovando que a fonte orgânica do elemento mineral foi menos sujeita às interações. A biodisponibilidade do Cu em todas as fontes testadas foi superior a 100%, levando a uma conclusão que independente da origem do Cu, o mesmo irá circular no sangue. Porém, o Cu glicina, demonstrou uma maior disponibilidade, mas deve ser levado em consideração que o Mo exerce influencia da biodisponibilidade do Cu, o que pode levar a uma conclusão incerta sobre as diferenças na origem do cobre fornecido.

Tabela 13. Efeito da suplementação de Cu (a partir de Cu-glicina ou Sulfato de Cobre) sobre os parâmetros metabólicos de Cu em novilhos alimentados com dietas enriquecidas com Mo e S

Item	Controle	CuSO ₄ , mg/kg		Cu-Gli, mg/kg	
		5	10	5	10
Cu no Plasma (mg/L)	0,71c	0,90b	0,92a	0,87b	0,92a
Atividade da Ceruoplasmina (mg/L)	15,55c	19,8b	21,21a	19,7b	20,7a
Cu no fígado (mg/kg de MS)	93,66c	105,00b	111 ^a	104,33b	120,66a

Adaptado de Hansen et al. (2008).

Médias seguidas pelas letras minúsculas na linha representam diferença pelo teste de Tukey (P<0,05).

As interações negativas entre os elementos minerais, que são muitas, podem influenciar significativamente na suplementação. Não é raro encontrar excesso de um mineral na dieta, sem que isto seja motivo de preocupação. Muitas vezes o fornecimento do mineral em excesso é feito na forma indireta, dificultando o diagnóstico, como no trabalho de Arthington et al. (2002), no qual foi estudado durante dois anos o efeito da fertilização da pastagem com sulfato de amônia no metabolismo de cobre em gado de corte. Foi feita a adubação com 67 kg/ha/ano com sulfato de amônia, nitrato de amônia ou sem adubação. A fertilização com sulfato de amônia aumentou a concentração de S na pastagem (P<0,001), mas por outro lado, as vacas que consumiram os pastos adubados com sulfato de amônia tiveram uma redução no cobre hepático ao final do 2º ano (P<0,05). Foi realizado um segundo experimento com as novilhas deficientes em cobre (estavam na pastagem adubadas com sulfato de amônia), elas foram suplementadas durante três meses com 123 mg/dia com cobre inorgânico (sulfato) ou orgânico. As que receberam o cobre orgânico tenderam a ter maior nível de cobre hepático após a suplementação que durou 83 dias (P=0,09).

Nockels et al. (1993) realizaram um experimento comparando a absorção aparente e a retenção do zinco e do cobre orgânicos e inorgânicos, em bezerros cruzados Charolês, submetidos a estresse através da aplicação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Os bezerros que receberam cobre lisina apresentaram absorção aparente 53% maior e também aumentaram a retenção de cobre (P<0,05). Não foi observada diferença na absorção e na retenção do Zinco. A excreção de cobre e de zinco diminuiu durante o período de estresse (P<0,01), sendo que a retenção de zinco se tornou negativa durante o período de estresse. Há vários trabalhos na literatura que verificaram que em situações de estresse a suplementação de zinco é de extrema importância. No experimento de Salles et al. (2008), nos bezerros submetidos a estresse térmico,

a absorção aparente do zinco que era de 16% tornou-se negativa, assim como a retenção que era de 16,36 mg/dia passou para -12,66 mg/dia. Estes resultados são fundamentais para a suplementação mineral no nosso país, uma vez que temos várias regiões com temperaturas elevadas na maior parte do ano e, com certeza, tem-se problemas com a utilização de minerais devido ao estresse térmico.

Mandal et al. (2007) estudaram o efeito da suplementação a uma dieta basal com 32,5 mg de zinco/kg, com fonte inorgânica (sulfato) ou orgânico (propionato) na dose de 35 mg Zn/kg, no desempenho, conversão alimentar, digestibilidade, balanço de minerais e na resposta imune. Não houve efeito no desempenho, na conversão, na digestibilidade e no balanço dos minerais, a não ser na retenção do zinco, que foi maior para o grupo suplementado com o elemento orgânico. Os animais que receberam o zinco orgânico apresentaram maior resposta imune tanto mediada por células ($P<0,01$), quanto humoral ($P<0,05$). O zinco inorgânico não apresentou nenhum efeito. Como já foi afirmada, a resposta imune geralmente não tem efeito no desempenho animal, mas é de grande importância caso ocorra alguma doença.

3.9 Avaliação do consumo alimentar utilizando a técnica dos indicadores

Segundo Saliba et al. (2016) a correta estimativa do consumo permite o melhor balanceamento das dietas conforme as exigências das várias espécies e categorias animais, permitindo seu máximo potencial produtivo. No entanto, a predição da ingestão em ruminantes apesar de muito importante é muito difícil, devido também às interações que ocorrem entre o animal e a dieta.

Avaliar o consumo alimentar total dos animais não é uma tarefa fácil, e levar esta avaliação ao consumo de suplementos minerais, torna-se uma tarefa mais difícil ainda. Para tanto, a técnica mais difundida e precisa na avaliação de consumo e digestibilidade é a coleta total de fezes, que requer rigoroso controle da ingestão e excreção, que o torna trabalhoso e oneroso (Berchielli et al., 2000). Por isso, o uso de indicadores fecais vem se destacando na substituição à prática da coleta total de fezes e esta, por sua vez, tornando-se base de referência para validação do uso desses indicadores.

Indicadores são compostos de referência usados para monitorar aspectos químicos (como a hidrólise e síntese de compostos) e físicos da digestão (como a taxa de passagem) (Owens & Hanson, 1992), promovendo estimativas qualitativas ou quantitativas da fisiologia animal.

Tradicionalmente os indicadores são classificados em duas grandes categorias (Kotb & Lukey, 1972; Owens & Hanson, 1992). Indicadores internos são constituintes naturais das dietas e não são digeridos nem absorvidos pelo organismo animal, tais como sílica, lignina, nitrogênio fecal, cromogênio, n-alcanos, matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), cinza insolúvel em ácido (CIA) e cinza insolúvel em detergente ácido (CIDA). Enquanto que, os indicadores externos são adicionados à dieta ou fornecidos via oral ou ruminal aos animais, consistem numa variedade de compostos inertes como óxido crômico, dióxido de titânio, a Lignina Enriquecida e Purificada

(LIPE[®]), NANOLIPE[®] e os elementos conhecidos como terras raras (lantânio, samário, cério, yttrio, disprósium), rutênio, fenantrolina (Berchielli et al., 2005).

É importante salientar que, a utilização de indicadores na avaliação do consumo total de dietas é uma técnica bastante difundida, porém determinar o consumo mineral por esta mesma técnica, requer o completo conhecimento do que os restantes dos alimentos como a água e os vegetais fornecem de minerais, evitando a sub ou superestimava do consumo por parte dos indicadores.

3.9.1 Uso do LIPE[®]

O hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, o LIPE[®], é um indicador externo de digestibilidade que foi desenvolvido especificamente para pesquisas. Em pesquisas com ruminantes, fazendo-se o comparativo entre a coleta total de fezes e estimativas com o LIPE[®], em um ensaio avaliando o feno de Tifton 85 em dietas para ovinos, Saliba et al. (2003) verificaram os resultados obtidos mediante as duas formas de mensuração (indicador versus coleta total) resultaram em resposta semelhantes em termos de valores de coeficiente médio de digestibilidade de 63,23% e 64,78% e produção fecal de 365,39 g/dia e 383,07 g/dia, respectivamente.

Lima et al. (2008) em ensaio testando o óxido crômico e o LIPE[®] nas estimativas de consumo de matéria seca por bovinos de corte, recomendaram o LIPE[®] como opção mais confiável para determinação indireta do consumo de matéria seca em animais sob regime de pasto. Já Ferreira et al. (2009) avaliando indicadores em bovinos para estimativas de digestibilidade verificaram que o LIPE[®] estimou de maneira acurada a digestibilidade de semelhante ao método de coleta total de fezes.

Moraes (2007) em estimativas de produção fecal em caprinos alimentados com diferentes subprodutos agroindustriais utilizando o LIPE[®], concluiu que este indicador não apresentou diferenças em relação ao método de coleta total de fezes, na produção fecal, propiciando mensurações acuradas nas estimativas da digestibilidade aparente de nutrientes (Rodriguez et al., 2006).

Portanto, a maioria dos estudos em que o LIPE[®] foi avaliado para estimativas de produção fecal, digestibilidade e consumo em diferentes espécies mostrou-se eficaz, além de ser viável economicamente e de fácil de manuseio e determinação.

3.9.2 Uso do NANOLIPE[®]

A nanotecnologia está inserida dentro de diversas vertentes no desenvolvimento tecnológico. Um nanômetro equivale a um milionésimo de milímetro. A nanotecnologia manipula átomos e moléculas para realizar processos, construir coisas ou seres vivos. Ela funciona rearranjando a matéria na escala de átomos, que é a forma estrutural mais elementar de qualquer coisa ou de qualquer ser vivo.

Estudos usando a nanotecnologia têm sido conduzidos na Escola de Veterinária da UFMG, visando desenvolver um indicador externo de digestibilidade que funcione com propriedades de nano partículas, ou seja, se misture mais homoganeamente à digesta, de forma mais rápida, podendo reduzir, dessa forma, os períodos longos de adaptação do indicador à digesta e possibilitar maiores taxas de recuperação do mesmo. Esse indicador foi denominado de NANOLIPE[®], e tem sido usado para fins de pesquisa, visando obter sua validação e maior utilização em ensaios de digestibilidade e conseqüentemente respostas mais acuradas com o advento do uso da nanotecnologia.

Pesquisas com o NANOLIPE[®] ainda são recentes, mas sua eficiência já foi comprovada por Figueiredo et al. (2010) em ovinos, por Gonçalves (2012) em bovinos e por Nunes et al. (2011b) em suínos.

Figueiredo et al. (2010) e Nunes et al. (2011b) administraram na forma de cápsulas na dosagem de 500 mg/animal, por um período de adaptação de 2 dias e 2 dias de coleta de fezes. Já Gonçalves (2012) sugeriram que a melhor forma de amostragem das fezes, para as estimativas de consumo com NANOLIPE[®], baseia-se na coleta de alíquotas do bolo fecal, eliminado voluntariamente, por um período consecutivo de 12 horas, o qual deve iniciar 24 horas após a segunda, e última, aplicação do indicador.

3.9.3 Uso do dióxido de titânio (TiO₂)

O TiO₂ surge como alternativa ao óxido crômico (Cr₂O₃) por não possuir propriedades carcinogênicas e tem sido utilizado como indicador em estudos de digestibilidade em bovinos, suínos, aves e ratos (Myers et al., 2006). Outra vantagem do dióxido de titânio em relação ao óxido crômico é ser aprovado como aditivo dietético pelo FDA (EUA) (Lopes, 2007). O TiO₂ é geralmente encontrado em alguns produtos para alimentação humana e não apresenta limitação quanto à sua inclusão na dieta animal (Sampaio et al., 2011). Ademais, segundo Valadares Filho et al. (2006), outra vantagem competitiva do TiO₂ diz respeito ao seu custo.

Pina (2008) também encontrou boas estimativas de consumo de concentrado e digestibilidade, utilizando os indicadores óxido crômico e dióxido de titânio, trabalhando com novilhas Nelores alimentadas com cana de açúcar hidrolisada com diferentes teores de cal.

Glindemann et al. (2009) avaliaram o indicador TiO₂ em ovinos adultos alimentados com feno suplementado ou não com concentrado e relataram que a recuperação média do TiO₂ foi de 1,04. A recuperação do TiO₂ foi maior (P<0,001) em dietas de feno do que em dietas com feno e concentrado (1,08 e 0,99, respectivamente).

3.9.4 Utilização das frações indigestíveis dos alimentos

Ao utilizar um componente indigestível presente no alimento como indicador, sua concentração nas fezes é função dos diferentes eventos digestivos aos quais a digesta é

submetida, estabelecendo-se, portanto, relação causa/efeito entre o alimento e o trato gastrointestinal, condizente com o ambiente *in vivo* (Detmann et al., 2001).

Os principais indicadores internos relatados na literatura são a cinza insolúvel em ácido (CIA), a cinza insolúvel em detergente ácido (CIDA), a lignina, a cutina e os n-alcenos (Lopes, 2007). No entanto, a utilização de alguns desses indicadores foi limitada pelas baixas concentrações destes nos alimentos — ocorrendo um aumento no desvio-padrão — entre outros problemas, como a contaminação dos alimentos, fezes e sobras com areia e as dificuldades impostas pelos métodos analíticos empregados.

A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), a matéria seca indigestível (MSi), a lignina em detergente ácido (LDA) e a celulose potencialmente indigestível (CELi) são exemplos desses indicadores, dentre os quais, os três primeiros se destacam como os mais utilizados (Berchielli et al., 2000). Mas ao optar pela utilização da fibra indigestível como indicador interno, alguns fatores de variação devem ser considerados, tais como, a composição da fibra da dieta, o tamanho das partículas incubadas, o número de dias e de horários de coletas das fezes, o período de tempo e o modo de incubação (*in vitro* ou *in situ*).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTHINGTON, J. D.; RECHCIGL, J. E.; YOST, G. P. et al. Effect of ammonium sulfate fertilization on Bahia grass quality and copper metabolism in grazing beef cattle. *J. Anim. Sci.*, v. 80, p. 2507-2512, 2002.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIAL (AAFCO). Official Publication. Atlanta, 266 p., 2000.

BARUSELLI, M. S. Minerais orgânicos: o que são, como funcionam e vantagens do seu uso em ruminantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA, 2., 2000, Campo Grande. *Anais...* Campo Grande: Associação Brasileira de Buiatria, 2000.

BARUSELLI, M. S. Suplementos e co-produtos na nutrição de gado de corte. In: SIMPÓSIO SOBRE DESAFIOS E NOVAS TECNOLOGIAS NA BOVINOCULTURA DE CORTE, 1., Brasília, 2005. *Anais...* Brasília: UPIS, 2005. p. 7-22.

BATISTA, C. G.; COELHO, S. G.; LANA, A. M. Q. et al. Utilização de minerais iônicos ou complexos orgânicos de minerais no pré-parto de vacas Holandesas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, n.5, p.1232-1238, 2012.

BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C. L. et al. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 29, p. 830-833, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; CARRILHO, E. N. V. M. et al. Comparação de indicadores para estimativas de produção fecal e de fluxo de digesta em bovinos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.3, p.987-996, 2005.

BORGES, F. M. O.; SALGARELLO, R. M.; GURIAN, T. M. Recentes avanços na nutrição de cães e gatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 3, 2003, São Paulo. *Anais...* Campinas, 2003. p. 21-60.

CORTINHAS, C. S.; JÚNIOR, J. E. F.; NAVES, J. R. et al. Organic and inorganic sources of zinc, copper and selenium in diets for dairy cows: intake, blood metabolic profile, milk yield and composition. *Rev. Bras. Zootec.*, v.41, n.6, p. 1477-1483, 2012.

DeFRAIN, J. M.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J.; KLUTH, D. Effect of complexed trace minerals on the performance of lactating dairy cows on a commercial dairy. *J. Anim. Sci.*, v. 25, p.709-715, 2009.

DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. *Rev. Bras. Zootecn.*, v.30, p.1600-1609, 2001.

FERREIRA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I. et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. *Rev. Bras. Zootec.*, v.38, n.8, p.1568-1573, 2009.

FIGUEIREDO, M. R. P.; SALIBA, E. O. S.; REBOUÇAS, G. et al. Utilização da LIPE na avaliação da produção fecal e digestibilidade em ovinos comparada com a coleta total em dietas contendo diferentes fontes de fibra. In: VI CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 2010, *Anais...* Mossoró RN.

FILAPPI, A.; PRESTES, D.; CECIM, M. Suplementação mineral para bovinos de corte sob pastejo - revisão. *Vet. Not.*, v. 11, n. 2, p. 91-98, 2005.

GEORGIEVSKII, V. I.; ANNENKOV, B. N.; SAMOKHIN, V. T. et al. *Mineral nutrition of animals* – (Studies in the agricultural and food sciences). London, UK, 3 ed. 1982.

GLINDEMANN, T.; TAS, B. M.; WANG, C. et al. Evaluation of titanium dioxide as an inert marker for estimating faecal excretion in grazing sheep. *Anim. Feed Scienc. Techn.*, v.152, p.186-197, 2009.

GONÇALVES, N. C. *Validação do NANOLIPE como indicador para estimativa do consumo em bovinos leiteiros*. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012. 41p.

HACKBART, K. S.; FERREIRA, R. M.; DIESTSCHE, A. A. et al. Effect of dietary organic zinc, manganese, copper, and cobalt supplementation on milk production, follicular growth, embryo quality, and tissue mineral concentrations in dairy cows. *J. Anim. Scienc.*, v.88, p. 3856-3870, 2012.

HALL, J. O. Appropriate Methods of Diagnosing Mineral Deficiencies in Cattle. In: TRI-STATE NUTRITION CONFERENCE, 26., 2006, Fort Wayne. *Anais...* Indiana: 2006.p. 43-50.

HANSEN, S. L.; SCHLEGEL, P.; LEGLEITER, R. L. et al. Bioavailability of copper from copper glycinate in steers fed high sulfur and molybdenum. *J. Anim. Sci.*, v. 86, p. 173-179. 2008.

JUNIPER, D. T.; PHIPPS, R. H.; JONES, A. K.; ERTIN, G. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine, and feces. *J. Dairy Sci.*, v.89, n. 9, p. 3544–3551, 2006.

JUNQUEIRA, O. M. Nutrição animal – Quelatos na alimentação animal – Boletim técnico. 2008. Disponível em:<http://www.pedrovet.com.br/trabalhosC/Quelatos_na_Alimentacao.doc>. Acessado em: 20 dez. 2016.

KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. *Revista Eletrônica Nutritime*, Viçosa, 2005. Disponível em: <http://www.nutritime.com.br/arquivo_internos/023V2N3P206_220_MAI2005>. Acessado em: 20 dez. de 2016.

KOTB, A. R. & LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. *Nutr. Abstr. Rev.*, v.42, p.813-845, 1972.

KROPP, J. R. *The role of copper in beef cattle fertility*. In: ASHMEAD, H. D. (Eds.) The roles of amino acid chelates in animal nutrition. New Jersey: Noyes, 1993. p.154-169.

LAMB, G. C.; BROWN, D. R.; LARSON, J. E. et al. Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in superovulated Angus heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, v.106, p.221-231, 2008.

LEE, J.; KNOWLES, S. O.; JUDSON, G. J. *Trace element and vitamin nutrition of grazing sheep*. IN: FREER, M.; DOVE, H. (Eds.) Shepp a Nutrition. Carberra: CABI, 2002. p.285-311.

LEESON, S. & SUMEERS, J. D. *Commercial Poultry nutrition*. 2. ed. Guelph: University Books, 1997. p 57-58.

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

LIMA, J. B. M. P.; GRAÇA, D. S.; BORGES, A. L. C. C. et al. Uso do óxido crômico e do LIPE® na estimativa do consumo de matéria seca por bezerros de corte. *Arq. Bras. Med. Veter. e Zootecn.*, v. 60, n. 5, p.1197-1204, 2008.

LOPES, F. C. F. Consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação sob pastejo em sistemas intensivos de produção de leite. III SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E PRODUÇÃO DE GADO DE LEITE: Produção de leite em pasto. Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte (MG). 2007.

MACKIE, R. I. & THERION, J. J. Influence of mineral interactions on growth efficiency of rumen bacteria. In: GILCHRIST, F. M. C.; MACKIE, R. I. (Ed.). Herbivore nutrition in sub-tropics and tropics. *Craighall: Science Press*, 1984. p. 455-477.

MANDAL, G. P.; DASS, R. S.; ISORE, D. P. et al. Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (bos indicus X bos Taurus) bulls. *Anim. Feed Sci. and Technol.*, v. 138, p. 1-12, 2007.

McDOWELL, L. R. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Academic Press, New York, 1992. 524 p.

McDOWELL, L. R. Feeding minerals to cattle on pasture. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 60, n. 3/4, p. 247-271, 1996.

McDOWELL, L. R. *Minerals in animal and human nutrition*. 2 ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003. 644 p.

MENDONÇA JUNIOR, A. F.; BRAGA, A. P.; RODRIGUES, A. P. M. S. et al. Minerais: Importância de uso na dieta de ruminantes. *Agropec. Cient. no Semiárido*, v.07, 01-13, 2011.

MORAES, S. A. *Subprodutos da agroindústria e indicadores externos de digestibilidade aparente em caprinos*. 2007. 46p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária – UFMG, Belo Horizonte – MG.

MOTTIN, C.; PRADO, I. N.; CHEFER, D. M. et al. Suplementação com minerais quelatados em bovinos: uma revisão. *Revista Campo Digital*, Campo Mourão, PR, 2013. Disponível em: <<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital>>. Acessado em: 20 dez. 2016.

MYERS, W. D.; LUDDEN, P. A.; NAYIGHUGU, V. et al. Excretion patterns of titanium dioxide and chromic oxide in duodenal digesta and faeces of ewes. *Small Ruminant Research*, v.63, p.135-141, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 7. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 7. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.

NOCEK, J. E.; SOCHA, M. T.; TOMLINSON, D. J. The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, n. 9, v. 89, p. 2679-2693, 2006.

NOCKELS, C. F.; De BONIS, J.; TORRENT, J. Stress induction affects copper and zinc balance in calves fed organic and inorganic copper and zinc sources. *J. Anim. Sci.*, v. 71, p.2539-2545, 1993.

NUNES, A. N.; SALIBA, E. O. S.; DELLISOLA, A. T. P. et al. Validação do indicador NANOLIPE para estimativa de produção fecal em suínos. In: 48ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, *Anais...* Belém. 2011b. (Resumo).

OLIVEIRA, R. V. *Dinâmica da absorção, retenção e excreção de zinco nas formas orgânica e inorgânica em gatos*. 2004, 58 f., Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OWENS, F. N. & HANSON, C. F. Symposium: external and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *J. Dairy Scienc.*, v. 75, p. 2605-2617, 1992.

PASA, C. Relação reprodução animal e os minerais. *R. Bio.*, v. 9, n.1, p. 101-122, 2010.

PEDREIRA, M. S. & BERCHIELLI, T. T. Minerais. In: BERCHIELLI, T. T.; et al. (Ed) *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, 2006, 583p.

PINA, D. S. *Avaliação nutricional da cana-de-açúcar acrescida de óxido de cálcio em diferentes tempos de armazenamento para bovinos*. 2008. 104f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

POLIZEL NETO, A. *Suplementação mineral protéica com cromo orgânico sobre o desempenho produtivo e qualidade da carne de bovinos nelores e F1 brangus x nelore terminados em pastagem no centro-oeste do Brasil*. 2007. 63 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de medicina veterinária e zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

RODRIGUEZ, N. M; SALIBA, E. O. S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: 43ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006, João Pessoa. *Anais...* da 43ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. João Pessoa, 2006.

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; PILÓ-VELOSO, D. Utilization of purified lignin extracted from *Eucalyptus grandis* (PELI), used as an external marker in digestibility trials in various animal species. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9. 2003, Porto Alegre. *Proceedings...* Porto Alegre, 2003.

SALIBA, E. O. S.; PILO-VELOSO, D.; RODRIGUEZ, N. M. et al. Characterization of Lignin before and after Exposure to the Gastrointestinal Tract of Ruminants. *American J. of Analytical Chemistry*, 7, 748-753. 2016.

SALLES, M. S. V.; ZANETTI, M. A.; SALLES, F. A. Effect of monensin on mineral balance in growing ruminants reared under different environmental temperatures. *Anim. Feed Scienc. and Technol.*, v.141, p. 233-245. 2008.

SALLES, M. S. V.; ZANETTI, M. A.; ROMA JUNIOR, L. C. et al. Performance and immune response of suckling calves fed organic selenium. *Anim. Feed. Sci. and Technol.*, v. 188, p. 28-35, 2014.

SAMPAIO, C. B.; DETMANN, E.; VALENTE, T. N. P. et al. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *Rev. Bras. Zootecn.*, v.40, p.174-182, 2011.

SINCLAIR, L. A.; HART, K. J.; JOHNSON, D.; MACKENZIE, A. M. Effect of inorganic or organic copper fed without or with added sulfur and molybdenum on the performance, indicators of copper status, and hepatic mRNA in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.96, n. 7, p.4355–4367, 2013.

SINDIRAÇÕES – Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. Disponível em:<<http://sindiracoes.org.br/>>. Acessado em: 17 dez. de 2016.

SPEARS, J. W. 1999. Reevaluation of the metabolic essentiality of the minerals. Review. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.*, v. 12, p. 1002-1008.

UNDERWOOD, E. J. & SUTTLE, N. F. (Ed). *The mineral nutrition of livestock*. New York: CABI Publishing, 1999. 614 p.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA Jr.; V. R. et al. *Tabelas Brasileiras de composição de alimentos para bovinos*. 2.ed. Viçosa: DZO/UFV, 2006. 329p.

WEISS, W. P. & HOGAN, J. S. Selenium source effect of selenium status, neutrophil function, and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, n. 9, v.88, p.4366-4374, 2005.

ZANETTI, M. A. Efeitos dos minerais orgânicos na nutrição de bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6., 2014, São Pedro. *Anais...* São Pedro: [s.n.] 2014, p. 36-53.

CAPITULO 2 - AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE SUPLEMENTO MINERAL ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DOS INDICADORES DE PRODUÇÃO FECAL LIPE[®], NANOLIPE[®] E DIÓXIDO DE TITÂNIO (TiO₂) COMPARADOS A COLETA TOTAL DE FEZES

RESUMO – Foram avaliados o consumo do suplemento quelatado e/ou inorgânica de elementos minerais, bem como a ingestão do alimento concentrado e volumoso em dois períodos de avaliação, 1 (ingestão mineral à vontade) e 2 (ingestão mineral forçada) em novilhos mestiços Holandês x Gir. Para tanto, foram utilizados os indicadores LIPE[®], NANOLIPE[®], TiO₂ e FDNi. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com parcelas subdividas. Os resultados obtidos mostram que para a recuperação fecal, apenas o indicador NANOLIPE[®] foi semelhante a recuperação ideal (100%), nos dois períodos. Todos os indicadores foram capazes de estimar a produção fecal e o consumo de MS. O NANOLIPE[®] e a FDNi foram capazes de estimar a digestibilidade (68,12 e 65,46%) respectivamente quando comparados a digestibilidade aparente (68,17%) no período 1, no período 2, todos os indicadores foram semelhantes a digestibilidade aparente. Na determinação do consumo diferenciado, apenas a FDNi estimou resultados semelhantes na determinação do consumo de volumoso quando comparada ao consumo real para o período 1 (4,45 e 4,39 kg/dia) e período 2 (4,59 e 4,48 kg/dia), respectivamente. Para o concentrado, apenas a FDNi foi diferente ao consumo real. Na avaliação do consumo de suplemento mineral, apenas o NANOLIPE[®] foi semelhante a ingestão real de mineral.

Palavras-chave: alimentação, digestibilidade, novilhos.

ABSTRACT – The intake of chelated and/or inorganic mineral elements, as well as the intake of concentrated and roughage feed in two evaluation periods, 1 (mineral intake ad libitum) and 2 (forced mineral intake) were evaluated in crossbred steers Hostein x Gir. For this purpose, the LIPE[®], NANOLIPE[®], TiO₂ and FDNi markers were used. The experimental design was completely randomized with in split plots. The results show that for fecal recovery, only the NANOLIPE[®] marker was similar to the ideal recovery (100%), in both periods. All markers were able to estimate fecal production and DM intake. The NANOLIPE[®] and FDNi were able to estimate digestibility (68,12 and 65,46%) respectively when compared to apparent digestibility (68,17%) in period 1, in period 2, all markers were similar to apparent digestibility. In the determination of the differentiated intake, only FDNi estimated similar results in determining the of roughage intake when compared to the actual intake for period 1 (4,45 and 4,39 kg/day) and period 2 (4,59 and 4,48 Kg/day), respectively. For the concentrate, only the FDNi was different from the actual intake. In the evaluation of mineral supplement intake, only NANOLIPE[®] was similar to actual mineral intake.

Keywords: feed, digestibility, steers.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil persistem distintos sistemas de exploração em pecuária de corte e de leite. Em algumas regiões, os bovinos são criados em condições que nada ficam a dever às dos países desenvolvidos, já em outras, verifica-se um primitivismo muito grande na criação dos animais.

Portanto, frente à amplitude de sistemas de criações e conseqüentemente modelos de suplementações distintos, conhecer o consumo de misturas minerais é uma ferramenta importante para o *status* nutricional do rebanho.

A determinação direta da produção fecal, conhecida como coleta total de fezes *in vivo* é um processo dispendioso e requer controle rigoroso do consumo e produção fecal do animal. Apesar dos procedimentos *in vivo* terem suas limitações em alguns casos, os mesmos continuam como referência, tanto na avaliação dos alimentos, como na validação de métodos alternativos de determinação.

No sentido de desenvolver alternativas que possibilitem estimar a produção fecal, digestibilidade, e indiretamente o consumo, foram propostas às técnicas dos indicadores, que são monitores químicos segundo Owens & Hanson (1992) para determinação quantitativa e qualitativa de fenômenos fisiológicos e nutricionais.

Os indicadores podem ser classificados como internos representados por substâncias indigestíveis presentes naturalmente em algum componente da dieta, e externos, quando adicionados à dieta ou fornecidos via oral.

2 OBJETIVOS

Objetivou-se com este trabalho avaliar o consumo da suplementação quelatada e/ou inorgânica de elementos minerais, bem como a ingestão do alimento concentrado e volumoso para novilhos mestiços Holandês x Gir com a utilização de indicadores, comparando com a metodologia tradicional, coleta total de fezes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, animais e instalações

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Viçosa, campus Florestal (19° 53' 20"S 44° 25' 58"W), em Minas Gerais, a 60 km da capital, Belo Horizonte. O clima nessa região é considerado tropical de altitude. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais (LABNUTRI/EV-UFGM).

Foram utilizados 16 novilhos mestiços Holandês x Gir, de peso vivo médio inicial de 180 kg, mantidos em baias individuais do tipo *tie stall*, piso de concreto, cobertas, equipadas com bebedouros individuais automáticos, e cochos para o fornecimento da dieta.

As avaliações de consumo foram divididos em dois ensaios independentes, consistindo em ensaio 1, representado pelo consumo *ad libitum* da dieta e suplemento mineral e ensaio 2, representado pelo consumo *ad libitum* da dieta e ingestão forçada do suplemento mineral.

Cada ensaio teve duração de 21 dias sendo 16 dias para adaptação as dietas e indicadores, e os últimos cinco dias para coleta (fezes, alimentos oferecidos e sobras). Os animais foram pesados, identificados e vermifugados no início do experimento.

Para que os animais estivessem com peso médio no início do experimento de 180 kg, foi realizado um período pré-experimental com a finalidade de ajuste de peso, adaptação às instalações e eliminação do consumo de fontes minerais não providas da dieta.

3.2 Tratamentos e delineamento experimental

Os animais foram divididos em 4 tratamentos experimentais:

Tratamento 1 (T1): Animais recebendo apenas dieta basal (volumoso e concentrado), sem o fornecimento do suplemento mineral;

Tratamento 2 (T2): Animais recebendo suplemento minerais com fontes inorgânicas de Co, Cu, Fe e Zn e dieta basal;

Tratamento 3 (T3): Animais recebendo suplemento mineral com fonte quelatada de Co, Cu, Fe e Zn e dieta basal.

Tratamento 4 (T4): Animais recebendo suplemento mineral com fontes quelatadas e inorgânicas de Co, Cu, Fe e Zn na proporção aproximada de 1:1 e dieta basal.

Para destacar o efeito mineral presente na dieta, todos os alimentos oferecidos foram avaliados, quanto ao teor de minerais, levando em consideração a biodisponibilidade dos mesmos no momento da formulação das pré-misturas.

3.2.1 Delineamento Experimental

O modelo experimental adotado foi em delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, para o ensaio 1 e 2. (Tabela 14).

Tabela 14. Análise de Variância

Fontes de Variação	Grau de Liberdade
Dieta	3
Erro A	12
Total	15
Sub. (indicador)	2
Inter. Dieta x Indicador	6
Erro B	24
Total	47

Onde: $Y_{ij} = \mu + A_i + I_j + A_{ij} + e_{ij}$; μ = média geral; A_i = efeito do indicador; A_{ij} = interação dos efeitos do indicador com suplementação; E_{ij} = erro aleatório.

3.3 Dietas experimentais

Os diferentes tratamentos (T1, T2, T3 e T4) foram acompanhados por uma dieta basal, constituída pela silagem de milho (*Zea mays*, L.) como fonte volumosa e como fonte de alimento concentrado o fubá de milho e o farelo de soja, a fim de suprir os requerimentos nutricionais, segundo o NRC (1996), e balanceando-as para serem isonitrogenadas (14% PB), constituindo-se de volumoso e concentrado, na proporção 77:23 (tabela 15).

Tabela 15. Composição dos tratamentos, em ingredientes, com base na porcentagem de Matéria Seca (MS)

Ingredientes	Tratamentos *			
	T1	T2	T3	T4
Silagem de Milho	78,1	77,7	77,7	77,6
Fubá de Milho	14,84	14,75	14,71	14,71
Farelo de Soja	7,06	6,99	6,94	6,98
Suplemento Inorgânico	-	0,56	-	0,26
Suplemento Quelatado	-	-	0,66	0,35
Suplemento Quelatado e Inorgânico	-	-	-	0,61

* T1 – sem suplementação; T2 – Suplementação inorgânica; T3- Suplementação quelatada; T4 - Suplementação quelatada e inorgânica.

Na tabela 16 encontra-se a composição em nutrientes da dieta basal correlacionada a porcentagem (%) em que foi incluída em cada tratamento.

Tabela 16. Composição das dietas experimentais, em nutrientes, com base porcentagem de Matéria Seca

Nutrientes	Dietas			
	T1	T2	T3	T4
%Matéria Seca (105°C)	89,91	90,01	90,06	89,98
Proteína bruta (PB)	13,9	13,8	13,5	13,8
Fibra em detergente neutro (FDN)	51,3	50,8	50,6	50,84
Matéria Mineral (MM)	4,59	4,59	4,59	4,59
MM ¹	4,61	5,16	5,24	5,19
Extrato etéreo (EE)	2,7	2,6	2,53	2,6
Carboidratos não fibrosos ² (CNF)	29,02	30,01	31,03	30,05
Carboidratos totais ³ (CT)	78,2	78,3	78,5	78,35
Matéria seca (%MN)	31,5	31,8	31,94	31,68

¹ Matéria Mineral – % de mineral na dieta oferecida quando a dieta foi avaliada já com a inclusão do suplemento mineral.

² Carboidratos não Fibrosos: CNF = Matéria Orgânica – (PB+EE+%MM)

³ Carboidratos Totais: 100 – (%PB+%EE+FDNcp)

Na tabela 17 encontra-se a composição mineral da dieta basal, sem adição de suplemento mineral.

Tabela 17. Composição mineral da dieta basal (silagem de milho, fubá de milho e farelo de soja), fornecida aos animais

Minerais	Concentração na dieta
Macrominerais (g/kg)	
Cálcio	2,88
Fósforo	2,37
Magnésio	1,89
Microminerais (mg/kg)	
Cobre	10,04
Cobalto	0,07
Ferro	23,01
Zinco	26,51
¹ Outros Elementos (g/kg)	38,8

¹Outros elementos: É a diferença em gramas, dos minerais quantificados, pelos minerais totais determinados pela matéria mineral (Tabela 16), sem adição de suplemento mineral.

Na tabela 18 encontra-se a composição mineral dos diferentes suplementos, inorgânicos e quelatados.

Tabela 18. Composição mineral dos diferentes suplementos fornecidos aos animais

Minerais	Suplementos ¹			
	T1	T2	T3	T4
Macrominerais (g/kg)				
Cálcio	-	250,00	205,00	227,5
Fósforo	-	60,00	60,00	60,00
Magnésio	-	18,00	20,00	19,00
Microminerais (mg/kg)				
Cobre	-	850,00	700,00	775,00
Cobalto	-	20,00	15,00	17,5
Manganês	-	1450,00	1600,00	1525,00
Ferro	-	800,00	700,00	750,00
Zinco	-	2850,00	2500,00	2675,00

²Outros Elementos (g/kg) - 666,03 709,48 687,75

¹T1 – sem suplementação; T2 – Suplementação inorgânica; T3- Suplementação quelatada; T4 - Suplementação quelatada e inorgânica.

²Outros elementos – se refere a diferença entre os elementos quantificados pelo restante de elementos presentes nos suplementos.

Na tabela 19 encontra-se a composição mineral da água fornecida aos animais durante o período do experimento. Esta água foi coletada no período de avaliação de consumo (durante cinco dias consecutivos), a cada dia eram retiradas três amostras por bebedouro, cada amostra continha 100 mL.

Tabela 19. Composição mineral da água fornecida aos animais

Minerais	Concentração
Macrominerais (mg/L)	
Cálcio	2,45
Fósforo	-
Magnésio	1,44
Microminerais (mg/L)	
Cobre	<0,001
Cobalto	<0,001
Manganês	<0,001
Ferro	<0,001
Zinco	<0,001

3.4 Variáveis analisadas

3.4.1 Pesagem dos animais

Os animais foram pesados durante todo o período experimental. Durante a fase pré-experimental, na qual os animais passaram por adaptações as instalações e estabilidade de peso. Eles eram pesados a cada 10 dias com o objetivo de que todos os animais pudessem entrar no experimento com pesos semelhantes.

Após esta fase, os animais já com média de 180 kg, iniciou-se a fase experimental, onde os mesmos eram pesados a cada semana, a fim de ajustar as dietas para ganho de aproximadamente 1,0 kg/dia, segundo NRC (1996).

3.4.2 Alimentação

As dietas experimentais foram fornecidas duas vezes ao dia, às 08:00 da manhã e as 16:00 da tarde. Para tal fornecimento, a cada 24 horas, era realizada uma avaliação das sobras, incluindo a pesagem, permitindo que nos dois ensaios (1 e 2), 10% de sobras fossem encontrados sempre.

Em relação ao fornecimento dos suplementos minerais, no ensaio 1, os mesmos foram fornecidos em cochos separados, também permitindo 10% de sobras. Na segunda fase, os suplementos foram fornecidos aos animais em cápsulas de celulose, de modo que ocorresse uma ingestão total. Para tanto, o consumo médio registrado na primeira fase do experimento foi utilizado como parâmetro de fornecimento no ensaio 2.

3.4.3 Consumo real

As dietas fornecidas, bem como as sobras de cada animal, foram registradas diariamente antes da alimentação matinal. Uma amostra composta foi formada por novilho, em cada período, com base na matéria seca, das coletas diárias dos alimentos e sobras. O consumo diário de matéria seca (CMS) foi calculado multiplicando-se o consumo diário de matéria natural (CDMN) de cada alimento, entre o 16° e 21° dia de cada período, por seu respectivo teor de matéria seca, seguido de subtração da sobra de matéria seca, conforme a fórmula descrita abaixo:

$$\text{CMS} = (\text{CDMN} \times \% \text{MS}) - \text{MS (sobras)}$$

A ingestão diária de minerais por animal foi calculada multiplicando o oferecido de matéria seca de cada ingrediente por seu respectivo teor nutritivo. Para a ingestão de suplemento mineral, o mesmo padrão foi adotado e do total de minerais oferecidos, foi subtraída a sobra diária do mesmo mineral para cada animal.

No ensaio 2 a ingestão diária de mineral da dieta basal obedeceu ao mesmo princípio do ensaio 1, porém, a ingestão do suplemento mineral foi forçada, não permitindo sobras.

Durante o período de coleta, amostras dos volumosos, concentrados, minerais e das sobras de cada animal foram coletadas diariamente, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em *freezer* a -20°C. Ao final do período foram feitas amostras compostas, de cada animal com base no respectivo teor de matéria seca.

3.4.3.1 Consumo de água

Para a determinação do consumo total de água, inicialmente foi medido o volume do bebedouro, em seguida foi adicionado água até a marca do volume conhecido, e então a boia que realizava o controle automático da liberação de água era desativada.

A cada 24 horas era medido o consumo de água pela diferença do volume inicial com o volume final, este procedimento foi realizado durante o período de coleta total de fezes.

3.4.4 Digestibilidade aparente e produção fecal real

As digestibilidades dos alimentos foram determinadas por meio da coleta total de fezes, controle dos alimentos oferecidos e das sobras dos animais num período de cinco dias consecutivos, compreendidos entre o 16º e 21º dia de cada período. A cada 24 horas, a produção fecal obtida pela defecação espontânea de cada animal, foi pesada, homogeneizada e foram retiradas amostras de aproximadamente 200 g de fezes úmidas. Durante o período de coleta total, as fezes foram continuamente congeladas e uma amostra composta foi formada por novilho. A produção fecal média foi obtida através dos cinco dias de coleta.

3.4.5 Utilização dos indicadores na determinação da produção fecal, consumo e digestibilidade

Para determinação do consumo, produção fecal e digestibilidade foram utilizados como indicadores o LIPE[®], NANOLIPE[®] e o dióxido de titânio (TiO₂). Os mesmos indicadores foram avaliados quanto a suas capacidades em determinação do consumo de cada fração dos alimentos oferecidos (volumoso, concentrado e suplemento mineral). Além dos indicadores externos, o FDNi foi utilizado para a determinação da digestibilidade e na avaliação do consumo diferenciado de volumoso e concentrado.

3.4.5.1 Fornecimento dos indicadores externos

O indicador externo LIPE[®] foi fornecido na forma de cápsulas, na dose de 0,5 g por novilho diariamente, durante dois dias para adaptação e cinco dias de coleta, no total foram fornecidas sete cápsulas/animal/período.

O indicador NANOLIPE[®] foi fornecido na forma de cápsulas, na dose de 0,5 g por novilho diariamente, por dois dias, sendo um dia para adaptação e o outro para coleta, no total foram fornecidas duas cápsulas/animal/período.

O TiO₂ foi fornecido aos animais em cápsulas de celulose, na dose de 10g, via oral, uma vez ao dia durante sete dias de adaptação e cinco dias de coleta, totalizando 12 cápsulas.

3.4.5.2 Obtenção do indicador interno FDNi

Para a obtenção do indicador interno (FDNi), amostras da silagem, do concentrados, sobras e fezes foram incubadas no rúmen de um animal durante 264 horas conforme sugerido por Casali et al. (2008). Para realização da incubação ruminal (*in situ*), foram utilizados sacos de tecido não tecido (TNT), de densidade 100g/cm². As amostras dos alimentos oferecidos, sobras e fezes foram moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm, e acondicionadas nos sacos de filtragem TNT, em uma quantidade de 20 a 25 mg de matéria seca por cm² de superfície, aproximadamente 1 g de amostra, respeitando os dois lados dos recipientes. Após 264 horas de incubação *in situ*, os recipientes de filtragem foram retirados do rúmen e lavados com água corrente. Para a determinação da FDNi os recipientes foram lavados com solução de detergente neutro, depois secos em estufa, e por último foram pesados, sendo seu resíduo utilizado para determinar a fração indigestível da FDN.

3.4.6 Análises Químicas

As amostras dos alimentos foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais. As amostras foram pré-secadas em estufa a 55°C por 48 horas com ventilação forçada e moídas a 1 mm em moinho tipo Willey para se efetuar as análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), PB e EE segundo Detmann et al. (2012).

A análise de fibra em detergente neutro (FDN) foi realizada segundo a metodologia descrita por Van Soest (1994). Os carboidratos totais (CT) foram obtidos pela fórmula $100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$ e os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela fórmula: $CNF = MO - (PB + EE + FDNcp)$, em que FDNcp constitui a parede celular vegetal isenta de cinzas e de proteínas (Malafaia et al., 1998).

Os teores de Ca e P foram determinados a partir da digestão por via úmida, sendo que o P foi obtido por colorimetria e o Ca por oxidimetria, o Mg, Cu, Co, Fe, Mn e o Zn foram determinados por Espectroscopia de absorção atômica, conforme Silva & Queiroz (2002).

A análise do indicador LIPE[®] e NANOLIPE[®] foram realizadas por espectroscopia no infravermelho, em equipamento Varian-800[®] com transformada de Fourier (FT-IV) (Saliba, 2005 e 2015).

Para a determinação do TiO₂, foram realizados os procedimentos descritos por Myers et al. (2006) através da Espectroscopia no Ultravioleta (UV).

3.4.6.1 Cálculos para obtenção das respostas através dos indicadores

3.4.6.1.1 Produção Fecal

$$PF = \frac{\text{Indicador fornecido (g)}}{(\text{Indicador nas fezes} \times \text{MS fecal (105}^\circ\text{C)})}$$

3.4.6.1.1.1 Produção fecal corrigida para matéria mineral fecal (P.F.M)

$$PF = \frac{\text{Indicador fornecido (g)}}{(\text{Concentração do Indicador na MM}^* \text{ fecal})}$$

* Matéria mineral (g/g) total, encontrada na coleta de fezes em um período de 24 horas, durante cinco dias consecutivos.

3.4.6.1.2 Consumo alimentar total

$$\text{Consumo} = \frac{PF}{1 - \text{Digestibilidade}}$$

3.4.6.1.3 Digestibilidade total

$$\text{Dig MS (\%)} = 1 - (PF/CMS)$$

3.4.6.1.4 Recuperação Fecal dos indicadores

$$RI = 1/RF * 100$$

Onde:

RI= recuperação do indicador.

RF= recuperação de matéria seca fecal calculada dividindo-se a produção fecal estimada pela produção fecal real (Ideal).

3.4.6.1.5 Determinação da concentração do indicador FDNi

$$\text{Concentração da FDNi (g)} = \frac{\text{Excreção do indicador interno nas Fezes (g)}}{\% \text{ Indicador Interno no Alimento Ingerido}}$$

3.4.6.1.6 Obtenção da digestibilidade a partir da FDNi

$$\text{Digestibilidade} = 100 - 100 \times \left[\frac{\% \text{ Indicador no alimento}}{\% \text{ Indicador nas fezes}} \right]$$

3.4.6.2 Determinação dos consumos diferenciados

Os valores de consumo de concentrado, volumoso e suplemento mineral foram também calculados usando a técnica do duplo indicador, conforme sugerido por Marcondes et al. (2006). O princípio desta técnica consiste na utilização da produção fecal estimada por um único indicador multiplicado pela sua concentração nas fezes, e um outro indicador para a avaliação do consumo fracionado do alimento (volumoso, concentrado ou suplemento mineral). Para aplicação desta técnica foram utilizados os indicadores FDNi, LIPE[®], NANOLIPE[®] E TiO₂ da seguinte maneira:

- 1- NANOLIPE[®]: foi utilizado em todas as fórmulas na determinação da produção fecal e também para a determinação do consumo de volumoso, concentrado e suplemento mineral.
- 2 - FDNi: foi utilizado apenas na determinação do consumo de volumoso e concentrado.
- 3- LIPE[®]: foi utilizado na determinação do consumo de volumoso, concentrado e suplemento mineral.
- 4- TiO₂: foi utilizado na determinação do consumo de volumoso, concentrado e suplemento mineral.

As fórmulas a seguir representam a utilização dos diferentes indicadores:

Consumo de concentrado:

$$CC = (EF * If) / Ic$$

Onde:

CC = consumo de matéria seca de concentrado (kg).

EF = excreção fecal estimada por indicador NANOLIPE[®] (kg).

If = concentração do indicador NANOLIPE[®] (kg/kg).

Ic = concentração do indicador no concentrado (LIPE[®], NANOLIPE[®] ou TiO₂) (g/g).

Consumo de volumoso:

$$CV = (EF*If)-Ic/Iv$$

Onde:

CV = consumo de matéria seca de volumoso (kg).

EF = excreção fecal estimada por indicador NANOLIPE[®] (kg).

If = concentração de indicador NANOLIPE[®] nas fezes (kg/kg).

Ic = concentração de indicador (FDNi, LIPE[®], NANOLIPE[®] ou TiO₂) no concentrado (kg/kg).

Iv = concentração de indicador (FDNi, LIPE[®], NANOLIPE[®] ou TiO₂) no volumoso (kg/kg).

Consumo do mineral:

$$CS = (EF*If)/Ic$$

Onde:

CS = consumo de matéria seca do mineral (g).

EF = excreção fecal estimada por indicador NANOLIPE[®] (g).

If = concentração do indicador NANOLIPE[®] nas fezes (g/g).

Ic = concentração do indicador (LIPE[®], NANOLIPE[®] ou TiO₂) no suplemento mineral (g/g).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Consumo alimentar

Na tabela 20 e 21, estão representados o consumo total, consumo em função do peso vivo (%PV), consumo corrigido para o tamanho metabólico ($\text{g/kg}^{0,75}$), consumo de suplemento, ingestão de água e consumo de nutrientes, nos respectivos períodos 1 e 2.

Tabela 20. Consumos totais e em (%PV), ($\text{g/kg}^{0,75}$), consumo de suplementos, água e de nutrientes, nos diferentes tratamentos, durante o período 1

Consumos	Dietas				
	T1	T2	T3	T4	CV
Consumo Total kg/MS/Dia	5,38	5,69	6,06	5,84	27,82
Consumo (%PV)	2,35b	2,35b	2,65a	2,78a	4,65
Consumo ($\text{g /kg}^{0,75}$)	89,16	88,08	92,46	93,34	8,96
Consumo Total de Suplementos (g/dia)	-	80,0b	100,00a	83,00b	5,55
Consumo de água (L/dia)	23,9	24,00	25,1	23,6	4,35
Consumo de Nutrientes (kg/MS)					
Proteína bruta	0,139	0,14	0,134	0,137	2,35
Fibra em detergente neutro	0,511	0,50	0,5	0,5	1,89
Matéria Mineral	0,046c	0,056b	0,063a	0,063a	0,56
Extrato etéreo	0,028	0,026	0,025	0,026	1,24
Carboidratos não- fibrosos	0,29	0,29	0,3	0,3	2,56
Carboidratos totais	0,78	0,78	0,77	0,78	1,89

Matéria seca (%MN)	31,5	31,8	31,94	31,68	3,8
--------------------	------	------	-------	-------	-----

*(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica. Médias seguidas de letras distintas na linha representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

Tabela 21. Consumos totais e em (%PV), (g/kg^{0,75}), consumo de suplementos, água e de nutrientes, nos diferentes tratamentos, durante o período 2

Consumos	Dietas				
	T1	T2	T3	T4	CV
Consumo Total kg/MS/Dia	5,14c	5,8b	5,42bc	6,65a	27,82
Consumo (%PV)	2,44b	2,52b	2,90a	3,01a	4,69
Consumo (g /kg ^{0,75} (PM ¹))	93,79	95,91	97,48	98,56	8,96
Consumo Total de Suplementos (g/dia)	-	80,0b	100,00a	90,00b	5,55
Consumo de água (L/dia)	24,2	23,9	24,8	24,1	4,35
Consumo de Nutrientes (kg/MS)					
Proteína bruta	0,139	0,14	0,134	0,137	2,35
Fibra em detergente neutro	0,511	0,50	0,5	0,5	1,89
Matéria Mineral	0,054c	0,062b	0,075a	0,063b	0,56
Extrato etéreo	0,028	0,026	0,025	0,026	1,24
Carboidratos não- fibrosos	0,29	0,29	0,3	0,3	2,56
Carboidratos totais	0,78	0,78	0,77	0,78	1,89
Matéria seca (%MN)	31,5	31,8	31,94	31,68	3,8

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica. Médias seguidas de letras minúsculas na linha representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

Avaliando o período 1, não foram detectadas diferenças ($P>0,05$) no CMS, já em relação a % PV, os animais dos tratamentos T3 e T4, apresentaram médias superiores aos demais. Esta média pode ser influenciada pelo peso individual de cada animal e para corrigir esta diferença, o consumo foi corrigido para o $g/kg^{0,75}$, o qual não aparentou diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos.

Em relação à ingestão de suplementos, as diferenças registradas entre os tratamentos são explicadas pelas diferenças nas concentrações dos elementos entre as misturas minerais utilizadas, portanto, o ajuste foi necessário para que houvesse equilíbrio entre os minerais ingeridos, e conseqüentemente, pudessem atender as exigências descritas para animais em fase de crescimento, segundo o NRC (1996).

Não foram detectadas diferenças na ingestão de água entre os tratamentos, o que pode ser explicada pela condição experimental e da dieta basal semelhantes em que os animais se encontravam.

Em relação à ingestão de nutrientes, não foram detectadas diferenças para a maioria, exceto para a ingestão de minerais, expressos na forma de matéria mineral (MM), onde o T1, (sem suplementação) apresentou a menor média, seguida pelo T2, e o T3 e T4 apresentaram o maior consumo.

No período 2 (tabela 21), o CMS apresentou-se diferente ($P<0,05$), entre a maioria dos tratamentos, o T4 (6,65 kg/dia) foi o maior consumo registrado. O T2 e T3 apresentaram consumos semelhantes, e no T1, foram registrados os menores consumo.

O consumo em função da %PV, também foi superior para os tratamentos T3 e T4, registrando médias de 2,90 e 3,01%, respectivamente, porém o consumo em função do $g/kg^{0,75}$ foi semelhante em todos os tratamentos.

Em relação ao consumo de suplementos, no segundo período, a ingestão foi forçada, sendo observado o maior consumo no T3, e o T2 e T4, apresentaram médias semelhantes.

Também não foram detectadas diferenças no consumo de água, situação esta igual à encontrada no período 1. Em relação ao consumo de nutrientes, apenas a ingestão mineral foi diferente, no qual o T1, apresentou a menor média (54,0 g/kg) seguido pelo T2 e T4 (62,0 e 63,0 g/kg), e o T3 (75,0 g/kg), foi o que apresentou o maior consumo.

4.2 Avaliações com indicadores

4.2.1 Recuperação fecal dos Indicadores

A recuperação fecal ideal é estimada pelos indicadores TiO_2 , LIPE[®] e NANOLIPE[®], nos períodos 1 e 2, são apresentadas na tabela 22.

Tabela 22. Recuperação fecal ideal (%) e obtida pelos indicadores TiO₂, LIPE® e NANOLIPE®, nos períodos 1 e 2

Recuperação Fecal (%) – Período 1				
Tratamentos	Indicadores			
	RF*	TiO₂	LIPE®	NANOLIPE®
T1	100,00	112,01	98,11	94,35
T2	100,00	108,14	111,79	102,28
T3	100,00	107,77	135,18	103,95
T4	100,00	109,38	102,71	95,68
Médias	100,00 B	109,33 A	111,95 A	99,06 B
Recuperação Fecal (%) – Período 2				
Tratamentos	Indicadores			
	RF*	TiO₂	LIPE®	NANOLIPE®
T1	100,00	103,89	101,42	91,23
T2	100,00	108,95	98,83	99,10
T3	100,00	105,96	106,49	89,69
T4	100,00	105,33	99,12	95,01
Médias	100,00 AB	106,03 A	101,46 AB	93,76 B

*Recuperação Fecal.

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05). CV = 12,42.

Para que as respostas dos indicadores sejam eficientes, é necessário que os mesmos apresentem recuperação fecal próxima ao ideal (100%), pois esta situação indica a capacidade que o indicador tem em se distribuir no trato gastrointestinal não sendo absorvido e metabolizado (Saliba, 1998).

No período 1, o indicador NANOLIPE® apresentou-se eficiente em sua recuperação fecal, Saliba (2005), afirma que as nanopartículas são capazes de homogeneizar mais uniformemente na digesta em menor tempo. Esta capacidade foi relatada no presente estudo, pois os valores de recuperação para este indicador de 99,06%, foram estatisticamente semelhantes a recuperação ideal de 100%. O TiO₂ e o LIPE® superestimaram a recuperação fecal neste período.

Segundo Rodriguez et al. (2006), diversos fatores podem estar associados à capacidade que o indicador tem de expressar sua recuperação fecal, dentre elas, a taxa de passagem da dieta, permitindo excreções desuniformes ao longo das coletas. O que de fato ocorreu no período 1, grande parte dos animais apresentaram fezes mais líquidas, podendo ter influenciado diretamente a recuperação fecal do indicador.

No período 2, os comportamentos dos indicadores foram diferentes, todos não diferiram ($P>0,05$), da recuperação ideal (100%). Neste período, através da observação visual dos animais e das fezes durante o período experimental, foram detectadas excreções fecais mais homogêneas (mais pastosas), fator este que pode ter contribuído com a recuperação fecal dos diferentes INDICADORES.

Em estudo realizado por Sampaio et al. (2011) foram avaliadas a recuperação fecal dos indicadores dentre eles o TiO_2 , e não foram observados diferenças entre eles e a recuperação fecal, permanecendo próximo a 100%.

Figueiredo et al. (2010) trabalhando com ovinos observaram recuperação do NANOLIPE® de 99,1%, resultados muito próximos ao encontrados no presente trabalho, 99,06%.

4.2.2 Produção Fecal

A produção fecal real, resultado da coleta total de fezes, e estimada pelos indicadores TiO_2 , LIPE® e NANOLIPE®, no período 1 e 2, são apresentadas na tabela 23.

Tabela 23. Produção fecal real (PF) (kg/dia) e estimada pelos indicadores TiO_2 , LIPE® e NANOLIPE®, no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos

Produção Fecal (kg/dia) – Período 1					
Tratamentos	Indicadores				Médias
	PF	TiO_2	LIPE®	NANOLIPE®	
T1	1,46	2,09	1,50	1,40	1,61
T2	1,46	1,79	2,09	1,66	1,75
T3	1,74	2,06	2,17	1,80	1,94
T4	1,81	1,99	1,84	1,74	1,84
Médias	1,62	1,98	1,90	1,65	
Produção Fecal (kg/dia) – Período 2					
Tratamentos	Indicadores				Médias
	PF	TiO_2	LIPE®	NANOLIPE®	
T1	1,78	1,87	1,91	1,41	1,74
T2	1,50	2,07	1,47	1,55	1,65
T3	1,94	1,98	2,04	1,68	1,91
T4	2,00	2,34	1,98	1,78	2,02
Médias	1,81	2,07	1,85	1,60	

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey ($P<0,05$). CV = 32,4

A coleta total de fezes é a maneira mais segura em determinar a PF de um animal, sendo ela o procedimento padrão adotado nesta determinação. Os indicadores são ferramentas utilizadas

como o mesmo propósito, e apresentam a vantagem de serem uma metodologia mais viável economicamente. Porém, sua determinação requer um período de adaptação rigoroso, estando relacionadas com a excreção fecal.

Não foram detectadas diferenças ($P>0,05$) entre os indicadores e também entre os tratamentos em nenhum período de avaliação. As ausências destas diferenças podem ser explicadas pelo alto CV encontrado (32,4).

Mas diversos pesquisadores têm encontrados resultados semelhantes na avaliação da PF em ruminantes utilizando os mesmos indicadores. Saliba et al. (2003) comparando a coleta total de fezes e o LIPE[®], em um ensaio avaliando o feno de *Tifton* 85 em dietas para ovinos, verificaram resposta semelhantes para os valores de PF da coleta total e do LIPE[®] de 365,39 g/dia e 383,07 g/dia, respectivamente.

Paixão et al. (2007), avaliando a variação na excreção fecal de diversos indicadores, dentre eles o LIPE[®], comparados com a coleta total em novilhos, concluíram que este indicador pode estimar satisfatoriamente a PF, promovendo uma recuperação fecal próxima de 100%.

Titgemeyer et al. (2001), realizaram três experimentos com novilhos, avaliando a acurácia de alguns indicadores, dentre eles o TiO₂. O TiO₂ foi capaz de estimar valores de PF semelhantes aos obtidos da coleta total de fezes.

Marcondes et al. (2006a) utilizaram novilhas mestiças alimentadas à base de cana de açúcar e concentrado para avaliar o TiO₂ na estimativa da produção fecal obtida em três ou seis dias de coleta de fezes. Estes pesquisadores concluíram que apenas três dias o TiO₂ foi suficientemente capaz para estimar a coleta total quando comparadas a PF verdadeira.

Gonçalves (2012) trabalhando com novilhas alimentadas com silagem de milho, utilizaram o NANOLIPE[®] na determinação da PF, estes autores concluíram que este indicador foi capaz de estimar satisfatoriamente a produção fecal quando comparado à coleta total de fezes.

4.2.3 Produção fecal de minerais

A produção fecal mineral aparente e estimada pelos indicadores TiO₂, LIPE[®] e NANOLIPE[®], no período 1 e 2, são apresentadas na tabela 24.

Tabela 24. Produção fecal mineral aparente (PFM) (g/dia) e estimada pelos indicadores TiO₂, LIPE® e NANOLIPE®, no período 1 e 2 em função dos diferentes tratamentos

Produção Fecal Mineral (g/dia) – Período 1					
Tratamentos	Indicadores				Médias
	PFM	TiO₂	LIPE®	NANOLIPE®	
T1	140,3	70,6	91,0	91,2	98,27 b
T2	180,4	100,3	90,3	110,4	120,35 a
T3	200,1	120,6	91,5	110,0	130,55 a
T4	210,9	100,9	110,9	121,0	135,9 a
Médias	182,9A	165,1 B	175,9 A	178,15A	

Produção Fecal Mineral (g/dia) – Período 2					
Tratamentos	Indicadores				Médias
	CT	TiO₂	LIPE®	NANOLIPE®	
T1	161,5	82,1	82,0	109,0	108,65 b
T2	160,4	81,0	99,9	100,1	110,35 b
T3	190,2	91,5	91,0	111,0	120,9 a
T4	200,1	90,2	101,0	110,6	125,47 a
Médias	178,1	176,2	168,47	172,67	

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05). CV = 28,3

A produção fecal mineral (aparente) é toda matéria mineral produzida nas fezes, considerando os elementos advindos da dieta, água, suplemento mineral e também as perdas endógenas, por este motivo, consideradas como aparente.

Houve diferenças (P<0,05), entre os indicadores e os tratamentos nos diferentes períodos de coleta. No período 1, O TiO₂ não foi capaz de estimar a PFM quando comparadas a produção fecal mineral aparente

Em relação aos tratamentos avaliados, a menor média (98,27 g/dia), foi observada no T1, sem suplementação mineral, sendo os outros tratamentos, semelhantes.

No período 2, todos os indicadores foram eficientes quando comparados a PFR mineral. Em relação aos tratamentos, o T1 e T2, apresentaram médias inferiores, quando comparados ao T3 e T4.

A matéria mineral encontrada nas fezes é muito variável, dado o CV de 28, 3. Por mais que se tenha controle rigoroso da ingestão de minerais, as perdas endógenas contribuem muito para o aparecimento destes elementos via fezes, e corrigir a excreção fecal total para a excreção mineral pode não ser eficaz.

Alguns indicadores de produção fecal podem não se comportarem de maneira eficaz frente a situações distintas no trato digestivo dos animais (Rodriguez et al., 2006). No período 1, os animais apresentaram quadros de diarreia durante a coleta total de fezes, podendo ter influenciado diretamente a recuperação fecal do TiO₂. No período 2, os animais já estabilizados,

tiveram respostas semelhantes quanto a produção fecal mineral estimada pelos diferentes indicadores.

4.2.4 Consumo total

Na tabela 25 estão representados os consumos real (CR) das dietas totais e estimados através dos indicadores TiO₂, LIPE® e NANOLIPE® nos diferentes períodos avaliados, 1 e 2.

Tabela 25. Consumo real e estimado pelos indicadores TiO₂, LIPE® e NANOLIPE®, no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos

Consumo de Matéria Seca – Período 1					
Tratamentos	Indicadores				Médias
	CR	TiO₂	LIPE®	NANOLIPE®	
T1	4,84	7,04	5,00	4,66	5,38
T2	4,65	5,88	6,81	5,41	5,69
T3	5,39	5,88	6,81	5,59	6,06
T4	5,71	6,44	5,83	5,49	5,84
Médias	5,15	6,42	6,11	5,29	

Consumo de Matéria Seca – Período 2					
Tratamentos	Indicadores				Médias
	CR	TiO₂	LIPE®	NANOLIPE®	
T1	5,32	5,47	5,60	4,15	5,14 b
T2	5,29	7,81	5,20	5,20	5,88 ab
T3	6,28	5,35	5,47	4,56	5,42 ab
T4	6,50	7,75	6,39	5,95	6,65 a
Médias	5,85 AB	6,59 A	5,67 AB	4,97 B	

* CMS – Consumo de Matéria Seca

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Médias seguidas de letras distintas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05). CV = 27,82

Não houve interação entre os tratamentos e os indicadores, portanto, as discussões serão realizadas pelas médias marginais.

No período 1, não foram registradas diferenças (P<0,05) entre os consumos avaliados pelos diferentes indicadores, nem entre os consumos nos diferentes tratamentos.

A utilização de indicadores na determinação do CMS ocorre de maneira indireta, a partir da produção fecal. Para que um indicador apresente respostas seguras na determinação do consumo, é importante que se assemelhe ao consumo real (metodologia padrão e direta), como foi observado no período 1.

Os consumos registrados para CR, TiO₂, LIPE® e NANOLIPE®, foram 5,14; 6,43; 6,11 e 5,29 kg/MS, respectivamente. Apesar dos indicadores apresentarem valores numericamente

maiores que o CR, estes não diferiram estatisticamente. Levando em consideração o CV registrado de 23,75, Sampaio (2007) afirma que coeficiente de variação inferior a 30, se tratando de avaliações em animais, é aceitável.

Oliveira et al. (2005) relataram que o LIPE[®], administrado em dose única (15:00 h) em cápsulas contendo 0,5 g, mostrou-se ser um indicador externo capaz de estimar satisfatoriamente o CMS em novilhos da raça Nelore, manejados sob condição de pastejo em *Brachiaria brizantha* cv. Marandú.

Pina (2008) também encontrou semelhança entre o consumo de concentrado e digestibilidade utilizando os indicadores óxido crômico e TiO₂, quando comparados ao consumo real e a digestibilidade aparente. Para tanto, foram utilizadas novilhas Nelore alimentadas com cana de açúcar hidrolisada e diferentes teores de cal.

Gonçalves (2012) utilizando a Lignina Klason em combinação com o NANOLIPE[®], concluiu que estes indicadores também foram eficazes em estimar o CMS em bovinos recebendo dietas à base de silagem de milho.

No período 2 todos os indicadores foram semelhantes na determinação do consumo quando comparados ao CR. Já entre os indicadores, o NANOLIPE[®] quando comparado ao TiO₂, apresentou valores inferiores de consumo, 4,97 e 6,59 kg/MS, respectivamente. Mas é importante destacar que, o ideal, é comparar os indicadores sempre com a metodologia padrão, no caso o CR, e que neste trabalho tanto o TiO₂, quanto o NANOLIPE[®] foram semelhantes.

Em relação aos consumos nos diferentes tratamentos, foram registradas diferenças (P<0,05) entre o T1 e o T4, variações estas que pode ser explicada pela diferença média de peso encontrada entre os dois tratamentos, onde no T4, os animais ganharam mais peso durante o experimento que no T1.

4.2.5 Digestibilidade aparente da matéria seca

Na tabela 26 estão representados as digestibilidade aparente da dieta total (%) e estimada pelos diferentes indicadores, TiO₂, LIPE[®] e NANOLIPE[®] nos dois períodos, 1 e 2.

Tabela 26. Digestibilidade aparente (D.A.) (g/dia) e estimada pelos indicadores TiO₂, LIPE®, NANOLIPE® e FDNi, no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos

Digestibilidade (%) – Período 1						
Tratamentos	Indicadores					Médias
	D.A	TiO₂	LIPE®	NANOLIPE®	FDNi	
T1	69,1	57,3	69,7	71,1	70,1	67,46
T2	68,3	61,2	53,4	65,4	63,2	62,3
T3	67,1	61,1	57,1	66,8	62,08	62,83
T4	68,2	65,8	67,2	69,3	66,49	67,39
Médias	68,17 A	61,35 B	61,85 B	68,15 A	65,46 A	

Digestibilidade (%) – Período 2						
Tratamentos	Indicadores					Médias
	CT	TiO₂	LIPE®	NANOLIPE®	FDNi	
T1	66,4	65,3	63,2	73,2	62,4	66,1
T2	72,3	58,0	72,1	71,4	69,22	68,6
T3	63,1	68,4	67,02	72,2	68,23	67,79
T4	68,4	64,1	70,1	72,3	61,34	67,24
Médias	67,55 AB	64,0 B	68,10 AB	72,27 A	65,29 B	

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05). CV = 10,47.

A digestibilidade é a relação existente entre o alimento ingerido, as sobras e o que foi excretado via fezes. Seguindo o mesmo princípio do consumo, os indicadores podem determinar a digestibilidade de uma dieta indiretamente, devendo esta ser comparada a digestibilidade aparente (determinada pela coleta total de fezes), para avaliar a sua eficácia.

No período 1 foram observadas diferenças (P<0,05) nas digestibilidades determinadas pelos indicadores, quando comparadas à digestibilidade aparente, exceto para o NANOLIPE® e FDNi, que apresentaram valores semelhantes. Como observado nas avaliações de recuperação fecal, apenas o NANOLIPE® apresentou-se eficaz em sua avaliação, ou seja, ao associar a digestibilidade com a recuperação fecal do indicador, a taxa de passagem da dieta exerce uma influência direta entre eles (Saliba et al., 2003).

Não foram observadas diferenças significativas (P>0,05) da digestibilidade entre os tratamentos.

No período 2 os comportamentos dos indicadores foram diferentes, todos eles quando comparados a digestibilidade aparente apresentaram-se capazes em determinar a digestibilidade da dieta.

Saliba et al. (2003) verificaram que não houve diferença para digestibilidade da MS do feno de capim-tifton quando compararam os dados obtidos por meio de coleta total e LIPE® (63,23 vs 64,78%, respectivamente).

Ferreira et al. (2009) com o objetivo de avaliar os indicadores externo óxido crômico (Cr₂O₃), dióxido de titânio (TiO₂) e o LIPE® em dois esquemas de coleta total de fezes (3 ou 5 dias)

para estimativa da digestibilidade em bovinos, concluíram não haver quando comparados a digestibilidade aparente.

Ferreira et al (2009a) avaliaram o uso da FDNi na avaliação da digestibilidade e verificaram que independente da dieta usada (cana-de-açúcar ou silagem de milho), este indicador produziu estimativas semelhantes de digestibilidade de matéria seca quando comparadas àquelas estimadas pela coleta total de fezes.

4.2.6 Avaliação do consumo diferenciado através da técnica do duplo indicador

Nas tabelas 27, 28 e 29 estão apresentados os dados para consumo diferenciado utilizando a técnica do duplo indicador sugerida por Marcondes et al. (2006). É importante destacar que a utilização de diferentes indicadores para apenas uma resposta, (consumo de volumoso, concentrado ou suplemento mineral) esta passível em acumular erros advindos das diferentes técnicas analíticas, o que pode resultar em diferenças significativas quando comparados ao consumo real.

Mas alguns trabalhos comprovam a eficácia da utilização da técnica do duplo indicador na determinação do consumo diferenciado, como os trabalhos de Marcondes et al. (2006) e Ferreira et al. (2009b). Estes autores trabalharam com os indicadores FDNi e TiO_2 e tiveram resultados satisfatórios.

Em relação ao LIPE[®] e NANOLIPE[®], estes indicadores vem se destacando na determinação do consumo total de matéria seca, como nos trabalhos de Saliba (2005, 2008 e 2016), Gonçalves (2012) e Figueiredo et al. (2010), portanto utilizá-los para a estimativa do consumo diferenciado pode ser uma nova metodologia na utilização destes indicadores.

Tabela 27. Determinação do consumo diferenciado de volumoso, através dos indicadores FDNi, LIPE® e NANOLIPE®, e TiO₂ no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos

Consumo de Volumoso (kg/dia) Período 1					
Indicadores	Tratamentos				Médias
	T1	T2	T3	T4	
Consumo Real	4,2	4,18	4,7	4,5	4,39 b
FDNi	4,35	4,26	4,6	4,61	4,45 b
LIPE®	5,15	4,98	5,2	4,9	5,05 a
NANOLIPE®	4,88	4,53	4,99	4,82	4,8 a
TiO ₂	5,1	4,94	5,15	5,21	5,1 a
Consumo Volumoso (kg/dia) Período 2					
Consumo Real	4,01	4,56	4,21	5,16	4,48 b
FDNi	4,12	4,63	4,34	5,28	4,59 b
LIPE®	4,63	5,1	4,98	5,78	5,12 a
NANOLIPE®	4,45	4,89	4,76	5,64	4,93 a
TiO ₂	4,91	4,98	4,87	5,86	5,15 a

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

CV – 23,1.

Como sugerido por Marcondes et al. (2006) a técnica do duplo indicador pode ser utilizada na determinação diferenciada dos componentes da dieta, como o volumoso, o concentrado e o suplemento mineral. Mas é importante ressaltar que, um determinado indicador usado para avaliar a ingestão de volumoso, pode não ser adequado para determinar a ingestão de concentrado. Neste contexto, devem-se utilizar indicadores apropriados para tal finalidade (Saliba et al., 2003).

Avaliando os diferentes indicadores na determinação do consumo de volumoso nos períodos 1 e 2, nota-se um comportamento semelhante entre os dois períodos. Apenas o indicador FDNi foi capaz de determinar o consumo de volumoso de maneira semelhante ao consumo real. Os indicadores o NANOLIPE®, LIPE® e TiO₂, superestimaram tal avaliação.

Algumas atribuições podem estar associadas ao resultado encontrado, as frações indigestíveis da fibra, como a FDNi, apresentam a vantagem de já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem uniformemente distribuídos na digesta, o que lhes confere vantagens sobre os indicadores externos (Piaggio et al., 1991). Ferreira et al. (2009b) também trabalhando com as fibras indigestíveis, porém com a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), concluíram ser capazes de determinar o consumo de alimentos volumosos.

Tabela 28. Determinação do consumo diferenciado de concentrado, através dos indicadores FDNi, LIPE® e NANOLIPE®, e TiO₂ no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos

Consumo de Concentrado (kg/dia) Período 1					
Indicadores	Tratamentos				Médias
	T1	T2	T3	T4	
Consumo Real	1,17	1,17	1,31	1,26	1,23 b
FDNi	1,83	1,84	1,89	1,83	1,84 a
LIPE®	1,33	1,31	1,53	1,49	1,42 b
NANOLIPE®	1,21	1,29	1,37	1,46	1,33 b
TiO ₂	1,26	1,28	1,59	1,48	1,4 b
Consumo de Concentrado (kg/dia) Período 2					
Consumo Real	1,12	1,27	1,17	1,44	1,25 b
FDNi	1,94	1,92	1,69	2,02	1,89 a
LIPE®	1,29	1,33	1,43	1,34	1,34 b
NANOLIPE®	1,26	1,48	1,29	1,31	1,33 b
TiO ₂	1,31	1,45	1,39	1,57	1,43 b

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

CV – 17,4.

Avaliando o consumo de concentrado, apenas a FDNi, nos períodos 1 e 2, não apresentaram semelhanças com o consumo real. A homegeinidade da mistura do concentrado pode ter determinado uma maior precisão dos indicadores externos.

Marcondes et al. (2006) usando cana de açúcar como volumoso, Cr₂O₃ e o TiO₂ foram eficientes para estimar o consumo individual de concentrado. Ferreira et al. (2009b) em trabalho semelhante, dessa vez usando silagem de milho como volumoso, também verificaram a eficiência do Cr₂O₃ e do TiO₂ para estimar o consumo de concentrado.

Em relação ao indicador externo NANOLIPE®, Saliba (2005), afirma que as nanopartículas tendem a se homogeneizar melhor no trato digestivos dos animais, e por esta razão, são mais eficientes na sua recuperação fecal e posteriormente na determinação dos consumos.

Tabela 29. Determinação do consumo diferenciado de sal mineral, através dos indicadores FDNi, LIPE® e NANOLIPE®, e TiO₂ no período 1 e 2, em função dos diferentes tratamentos

Consumo de Sal Mineral (g/dia) Período 1					
Indicadores	Tratamentos				Médias
	T1	T2	T3	T4	
Consumo Real	-	80,00	100,00	85,00	88,3 b
LIPE®	-	113,0	121,00	107,0	113,6 a
NANOLIPE®	-	96,0	111,00	103,0	103,33 ab
TiO ₂	-	98,00	118,00	112,0	109,33 a
Consumo de Sal Mineral (g/dia) Período 2					
Consumo Real	-	80,00	100,00	90,00	90,00 b
LIPE®	-	109,00	119,00	110,0	112,6 a
NANOLIPE®	-	91,0	109,0	95,00	98,33 b
TiO ₂	-	107,00	123,00	117,00	115,66 a

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

CV – 9,45.

Utilizar indicadores na avaliação do consumo de suplemento mineral não é uma tarefa fácil, pois a recuperação do indicador ocorre via fezes, e no bolo fecal, diferentes fontes minerais estão incluídas, como suplemento, dieta oferecida, água e das perdas endógenas. Portanto, o correto conhecimento das fontes minerais que integraram o consumo, pode minimizar erros na sua estimativa.

No período 1, foram registradas diferenças (P<0,05) entre os indicadores e ingestão real de minerais. Com valores estimados de 103,33 g/dia, apenas o NANOLIPE® foi capaz de determinar a ingestão mineral semelhante ao consumo real.

No período 2, o comportamento foi semelhante, apenas o NANOLIPE® foi capaz de determinar o consumo de mineral, os outros indicadores LIPE® e TiO₂, superestimaram o consumo de suplemento quando comparados ao consumo real.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de indicadores para avaliação da produção fecal, consumo de matéria seca e digestibilidade uma é alternativa à técnica padrão, coleta total de fezes, porém as variações fisiológicas encontradas nos animais podem alterar a capacidade destes indicadores em expressar os resultados de maneira confiável.

Avaliar o consumo diferenciado dos componentes de uma dieta (volumoso, concentrado e suplemento mineral), através das técnicas dos indicadores, pode ser uma metodologia confiável, porém requer mais trabalhos para determinar qual o melhor indicador para determinado componente.

6 CONCLUSÕES

Os consumos totais de matéria seca e corrigidos para percentual do peso vivo foram diferentes entre os tratamentos, sendo o T3 e T4, os que apresentaram as maiores médias, porém quando comparados em função do ($\text{g/kg}^{0,75}$), todos os tratamentos se apresentaram semelhantes.

O indicador externo NANOLIPE® foi mais eficiente na sua recuperação fecal no período 1, já no período 2, todos os indicadores se mostraram eficazes.

A produção fecal determinada pelos diferentes indicadores foi semelhante à coleta total de fezes.

A produção fecal corrigida para a matéria mineral fecal estimada pelos diferentes indicadores foi semelhante quando comparadas a matéria mineral real encontrada nas fezes, exceto para o TiO_2 .

Com relação ao CMS, nos períodos 1 e 2, todos os indicadores, apresentaram-se semelhantes ao consumo real.

Na determinação da digestibilidade, no período 1, os indicadores Nanoliipe® e FDNi apresentaram semelhanças significativas quando comparado a digestibilidade aparente, já no período 2, todos os indicadores se mostraram eficientes.

Na avaliação do consumo diferenciado, apenas o indicador interno FDNi apresentou médias semelhantes ao consumo real de volumoso nos dois períodos.

O LIPE®, NANOLIPE® e TiO_2 foram eficazes na determinação do consumo de concentrado quando comparados ao consumo real.

Apenas o NANOLIPE® foi capaz de estimar o consumo de suplemento mineral quando comparado ao consumo real, os demais indicadores superestimaram o consumo destes elementos.

Os diferentes suplementos minerais não influenciaram as respostas dos indicadores em nenhum período.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. *Rev. Bras. Zootecn.*, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C. et al. *Métodos para Análise de Alimentos - INCT - Ciência Animal*. 1. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema. p.214, 2012.

FERREIRA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I. et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. *Rev. Bras. Zootecn.*, v. 38, n. 8, p. 1568-1573, 2009.

FIGUEIREDO, M. R. P.; SALIBA, E. O. S.; REBOUCAS, G. et al. Utilização da LIPE na avaliação da produção fecal e digestibilidade em ovinos comparada com a coleta total em dietas contendo diferentes fontes de fibra. In: VI CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 2010, *Anais...* Mossoró RN.

GONÇALVES, N. C. *Validação do NANOLIPE como indicador para estimativa do consumo em bovinos leiteiros*. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012. 41p.

MALAFAIA, P. A. M.; VALADARES FILHO, S. C.; VIEIRA, R. A. M. et al. Determinação das frações que constituem os carboidratos totais e da cinética ruminal da fibra em detergente neutro de alguns alimentos para ruminantes. *Rev. Bras. Zootec.*, v.27, p.790-796, 1998.

MARCONDES, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; BRITO, A. F. et al. Uso de diferentes indicadores para estimar a produção de matéria seca fecal e avaliar o consumo individual de concentrado e volumoso em novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. *Anais...*

MARCONDES, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; BRITO, A. F. et al. Uso de diferentes indicadores para estimar a produção de matéria seca fecal e avaliar o consumo individual de concentrado e volumoso em novilhas. In: 43ª REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. João Pessoa. *Anais...* SBZ, 2006a prelo (CD-ROM, Nutrição de ruminantes).

MYERS, W. D.; LUDDEN, P. A.; NAYIGHUGU, V. et al. Excretion patterns of titanium dioxide and chromic oxide in duodenal digesta and faeces of ewes. *Small Ruminant Research*, v.63, p.135-141, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 7. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996.

OLIVEIRA, A. P.; BERTIPAGLIA, L. M. A; MELO, G. M. P. et al. Desempenho de novilhas mantidas em pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu suplementadas durante os períodos de águas e secas. In: 42ª REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Goiânia. *Anais...* Goiânia, SBZ, 2005 (CD-ROM, Nutrição de ruminantes).

OWENS, F. N. & HANSON, C. F. Symposium: external and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *J. Dairy Scienc.*, v. 75, p. 2605-2617, 1992.

PAIXÃO, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I. et al. Variação diária na excreção de indicadores interno (FDAi) e externo (Cr 2O3), digestibilidade e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas contendo uréia ou farelo de soja. *Rev. Bras. Zootecn.*, v.36, n.3, p. 739-747, 2007.

PINA, D. S. *Avaliação nutricional da cana-de-açúcar acrescida de óxido de cálcio em diferentes tempos de armazenamento para bovinos*. 104f. 2008. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

PIAGGIO, L. M.; PRATES, E. R.; PIRES, F. F. et al. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra, em detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. *Rev. Bras. Zootecn.*, v.20, n.3, p.306-312, 1991.

RODRIGUEZ, N. M; SALIBA, E. O. S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: 43ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006, João Pessoa. *Anais...* 43ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. João Pessoa, 2006.

SALIBA, E. O. S. *Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja expostos à degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais*. 1998. 236 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal)- Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 1998.

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; PILÓ-VELOSO, D. Utilization of purified lignin extracted from *Eucalyptus grandis* (PELI), used as an external marker in digestibility trials in various animal species. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9. 2003, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre, 2003.

SALIBA, E. O. S. Uso de indicadores: passado, presente e futuro. In: Teleconferência Sobre Indicadores Em Nutrição Animal, 1., 2005, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, p. 4-22, 2005.

SALIBA, E. O. S.; COLODO, J. C. N.; COSTA, D. A. et al. Taxas de passagem em ovinos alimentados com dietas contendo feno de capim -Tifton 85 e diferentes níveis de concentrado. In: 45 Reunião Anual da SBZ, 2008, Lavras-MG. *Anais...* 45 Reunião Anual da SBZ. Lavras-MG: SBZ, 2008. v. 1. p. 1-3.

SALIBA, E. O. S.; FARIA, E. P.; RODRIGUEZ, N. M. et al. Use of Infrared Spectroscopy to Estimate Fecal Output with Marker Lipe. *Internat. J. Food Scienc., Nutrition and Dietetics*, v. 4, p. 1-10, 2015.

SALIBA, E. O. S.; PILO-VELOSO, D.; RODRIGUEZ, N. M. et al. Characterization of Lignin before and after Exposure to the Gastrointestinal Tract of Ruminants. *American J. of Analytical Chemistry*, 7, 748-753. 2016.

SAMPAIO, I. B. M. Estatística Aplicada à Experimentação Animal. 3 ed. Belo Horizonte, MG: Ed. FEP-MZV, 2007. 264p.

SAMPAIO, C. B.; DETMANN, E.; VALENTE, T. N. P. et al. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *Rev. Bras. Zootecn.*, v.40, p.174-182, 2011.

SILVA, D. J. & QUEIROZ, A. C. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3 ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

TITGEMEYER, E. C.; AMENDARIZ, C. K.; BINDEL, D. J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker in cattle. *J. Anim. Sci.*, v. 79:1059–1063. 2001.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. New York: Cornell University Press, 1994, 476p.

CAPITULO 3 - DETERMINAÇÃO DA MOBILIDADE DE MICROMINERAIS EM NOVILHOS SUPLEMENTADOS COM FONTES INORGANCIAS E QUELATADAS DESTES ELEMENTOS

RESUMO – Foram avaliados a mobilidade dos microminerais Cu, Co, Fe e Zn no fígado e sangue, suas excreções nas fezes e urina, e os parâmetros ruminais, sob diferentes tratamentos; sem suplementação, suplementados com fontes inorgânicas e/ou quelatadas, em animais mestiços Holandês x Gir. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com parcelas subdivididas. Os parâmetros ruminais, pH, N-NH₃, e a produção de AGV's não foram afetados pelos diferentes tratamentos. Não foram detectadas diferenças ($P>0,05$) na concentração sérica dos minerais entre os diferentes tratamentos. As formas quelatadas dos minerais apresentaram maiores concentrações no fígado. Foram observadas maiores excreções urinárias de Co oriunda das fontes quelatadas deste elemento. A excreção fecal de Zn foi maior nos animais que receberam as fontes quelatadas deste elemento.

Palavras-chave: concentrações séricas, fígado, novilhos.

ABSTRACT – The mobility of Cu, Co, Fe, and Zn in the liver and blood, their excretions in feces and urine, and ruminal parameters were evaluated under different treatments; without supplementation, supplemented with inorganic and/or chelated sources, in crossbred Holstein x Gir animals. The experimental design was a completely randomized design with subdivided plots. The ruminal parameters, pH, N-NH₃, the production of VGF's were not affected by the different treatments. No differences ($P>0,05$) were detected in the serum concentration of the minerals between the different treatments. The chelated forms of minerals had higher concentrations in the liver. There were higher urinary excretions of Co from the chelated sources of this element. Fecal excretion of Zn was higher in animals receiving the chelated sources of this element.

Keywords: liver, serum concentrations, steers.

1 INTRODUÇÃO

Uma das mais importantes limitações nutricionais do rebanho bovino nas regiões tropicais é a deficiência de minerais, uma vez que as forrageiras, geralmente, não atendem por completo a estas exigências. O conteúdo de mineral da forragem depende de vários fatores, como solo, clima e espécie forrageira e também a maturidade.

As doenças causadas por deficiências minerais existem a muito tempo, no entanto, antes do século XX existiam poucas informações sobre a natureza, função e origem dos minerais encontrados nos tecidos vegetais e animais.

O fornecimento de sal comum (cloreto de sódio) aos animais ocorre há bastante tempo, e ainda, nos rebanhos brasileiros é uma prática comum. A falta de um controle rigoroso no fornecimento dos elementos minerais é responsável pela baixa produção de carne e leite, problemas reprodutivos, crescimento retardado, abortos, fraturas e queda da resistência orgânica (Moraes, 2001).

Dentre as empresas rurais que suplementam o rebanho com misturas múltiplas, as fontes minerais que são fornecidas aos animais são basicamente compostas com sais inorgânicos, no entanto, nos últimos anos, tem surgido grande interesse no uso de minerais complexados a aminoácidos. Este interesse tem sido estimulado por melhores respostas relacionadas à absorção, aumento das taxas de crescimento, reprodução e sanidade do rebanho.

Existem inúmeras variáveis no trato digestivo que interferem na absorção dos minerais como, pH e o conteúdo do meio e, principalmente, a presença de outros minerais e suas interações antagônicas, que inibem a absorção destes elementos (Santos, 2006).

O mecanismo de ação dos minerais complexados é ainda desconhecido, mas supõe-se que apresentem maior biodisponibilidade pela maior solubilidade, estrutura química estável e natureza eletricamente neutra no trato digestivo, melhorando a absorção e o desempenho dos animais.

2 OBJETIVOS

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da mobilidade de microminerais no fígado e sangue, suas excreções nas fezes e urina, e os parâmetros ruminais, sob diferentes situações, animais sem suplementação, suplementados com fontes inorgânicas, quelatadas e inorgânica/quelatada (juntas), em animais mestiços Holandês x Gir.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, animais e instalações

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Viçosa, campus Florestal (19° 53' 20"S 44° 25' 58"W), em Minas Gerais, a 60 km da capital, Belo Horizonte. O clima nessa região é considerado tropical de altitude. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais (LABNUTRI/EV-UFGM).

Foram utilizados 16 novilhos mestiços de Holandês x Gir, de peso vivo médio inicial de 180 kg, mantidos em baias individuais do tipo *tie stall*, piso de concreto, cobertas, equipadas com bebedouros individuais automáticos, e cochos para o fornecimento da dieta.

A duração do ensaio foi de 45 dias, sendo o dia “zero”, o período em que foram realizadas as primeiras coletas para avaliação das concentrações dos minerais no organismo dos animais.

Para que os animais estivessem com peso médio inicial de 180 kg, foi realizado um período pré-experimental com a finalidade de ajuste de peso, adaptação às instalações e eliminação do consumo de fontes minerais não providas da dieta.

3.2 Tratamentos e delineamento experimental

Os animais foram divididos em 4 tratamentos experimentais:

Tratamento 1 (T1): Animais recebendo apenas dieta basal (volumoso e concentrado), sem o fornecimento do suplemento mineral;

Tratamento 2 (T2): Animais recebendo suplemento minerais com fontes inorgânicas de Co, Cu, Fe e Zn e dieta basal;

Tratamento 3 (T3): Animais recebendo suplemento mineral com fonte quelatada de Co, Cu, Fe e Zn e dieta basal.

Tratamento 4 (T4): Animais recebendo suplemento mineral com fontes quelatadas e inorgânicas de Co, Cu, Fe e Zn na proporção aproximada de 1:1 e dieta basal.

Para destacar o efeito mineral presente na dieta, todos os alimentos oferecidos foram avaliados, quanto ao teor de minerais, levando em consideração a biodisponibilidade dos mesmos no momento da formulação das pré-misturas.

3.2.1 Delineamento experimental

O modelo experimental adotado foi em delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas.

Tabela 30. Análise de Variância (Ensaio 1)

Fontes de Variação	Grau de Liberdade
Dieta	3
Erro A	12
Total	15
Sub. (coletas)	12
Inter. Dieta x Coletas	36
Erro B	144
Total	155

Onde: $Y_{ij} = \mu + A_i + I_j + AI_{ij} + e_{ij}$; μ = média geral; A_i = efeito das coletas; AI_{ij} = interação dos efeitos das coletas com suplementação; E_{ij} = erro aleatório.

3.3 Dietas Experimentais

Os diferentes tratamentos (T1, T2, T3 e T4) foram acompanhados por uma dieta basal, constituída pela silagem de milho (*Zea mays*, L.) como fonte volumosa e como fonte de alimento concentrado o fubá de milho e o farelo de soja, a fim de suprir os requerimentos nutricionais, segundo o NRC (1996) dos animais do presente estudo, e balanceando-as para serem isonitrogenadas (14% PB), constituindo-se de volumoso e concentrado, na proporção 77:23 (tabela 31).

Tabela 31. Composição dos tratamentos, em ingredientes, com base no percentual de Matéria Seca (MS)

Ingredientes	Tratamentos *			
	T1	T2	T3	T4
Silagem de Milho	78,1	77,7	77,7	77,6
Fubá de Milho	14,84	14,75	14,71	14,71
Farelo de Soja	7,06	6,99	6,94	6,98
Suplemento Inorgânico	-	0,56	-	0,26
Suplemento Carboquelatado	-	-	0,66	0,35
Suplemento Carboquelatado e Inorgânico	-	-	-	0,61

* T1 – sem suplementação; T2 – Suplementação inorgânica; T3- Suplementação quelatada; T4 - Suplementação quelatada e inorgânica.

Na tabela 32 encontra-se a composição em nutrientes da dieta basal correlacionada a porcentagem em que foi incluída em cada tratamento.

Tabela 32. Composição das dietas experimentais, em nutrientes, com base % de Matéria Seca

Nutriente	Dietas			
	T1	T2	T3	T4
%Matéria Seca (105°C)	89,91	90,01	90,06	89,98
Proteína bruta (PB)	13,9	13,8	13,5	13,8
Fibra em detergente neutro (FDN)	51,3	50,8	50,6	50,84
Matéria Mineral (MM)	4,596	4,596	4,596	4,596
MM ¹	4,61	5,16	5,24	5,19
Extrato etéreo (EE)	2,7	2,6	2,53	2,6
Carboidratos não fibrosos ² (CNF)	29,02	30,01	31,03	30,05
Carboidratos totais ³ (CT)	78,2	78,3	78,5	78,35
Matéria seca (%MN)	31,5	31,8	31,94	31,68

¹ Matéria Mineral – % de cinzas determinada quando a dieta foi avaliada já com a inclusão do suplemento mineral.

² Carboidratos não Fibrosos: CNF = Matéria Orgânica – (PB+EE+%MM)

³ Carboidratos Totais: 100 – (%PB+%EE+FDNcp)

Na tabela 33 encontra-se a composição mineral da dieta basal, sem adição de suplemento mineral.

Tabela 33. Composição dos microminerais, Cu, Co, Fe e Zn da dieta basal (silagem de milho, fubá de milho e farelo de soja), fornecida aos animais

Minerais	Concentração na dieta
Microminerais (mg/kg)	
Cobre	10,04
Cobalto	0,07
Ferro	23,01
Zinco	26,51
Outros Elementos (g/kg) ¹	45,90

¹Outros elementos: É a diferença em gramas, dos minerais quantificados, pelos minerais totais determinados pelas cinzas (Tabela 3), sem adição de suplemento mineral.

Na tabela 34 encontra-se a composição mineral dos diferentes suplementos, inorgânicos e carboquelatados.

Tabela 34. Composição dos microminerais Cu, Co, Fe e Zn dos diferentes suplementos fornecidos aos animais

Microminerais (mg/kg)	Suplementos			
	T1	T2	T3	T4
Cobre	-	850,00	700,00	775,00
Cobalto	-	20,00	15,00	17,5
Ferro	-	1800,00	1790,00	1810,00
Zinco	-	2850,00	2500,00	2675,00
¹ Outros Elementos (g/kg)	-	994,48	994,95	994,73

¹Outros elementos – se refere à diferença entre os elementos quantificados pelo restante de elementos presentes nos suplementos.

Na tabela 35 encontram-se a composição mineral da água fornecida aos animais durante o período do experimento. Esta água foi coletada uma vez por semana durante todo período de avaliação, foram retiradas três amostras/bebedouro de 100 mL, a cada dia de coleta.

Tabela 35. Composição mineral da água fornecida aos animais

Minerais	Concentração
Macrominerais (mg/L)	
Cálcio	2,45
Fósforo	-
Magnésio	1,44
Microminerais (mg/L)	
Cobre	<0,001
Cobalto	<0,001
Ferro	<0,001
Zinco	<0,001

3.4 Variáveis analisadas

3.4.1 Pesagem dos animais

Os animais foram pesados durante todo o período experimental. Na fase pré-experimento, os animais passaram por adaptações as instalações e estabilidade de peso, eles eram pesados a cada 10 dias.

Após esta fase, os animais já com média de 180 kg, iniciou-se a fase experimental, onde os mesmos eram pesados a cada semana, a fim de ajustar as dietas para ganho de aproximadamente 1 kg/dia, segundo NRC (1996).

3.4.2 Alimentação

As dietas experimentais foram fornecidas duas vezes ao dia, nos horários de 08:00 da manhã e as 16:00 da tarde. Para tal fornecimento, a cada 24 horas eram realizadas uma avaliação das sobras, incluindo a pesagem, permitindo que 10% de sobras fossem encontrados sempre.

Em relação ao fornecimento dos suplementos minerais, a mistura era oferecida à vontade no início do experimento permitindo o ajuste do consumo. Após a adaptação, o suplemento foi fornecido forçadamente através de cápsulas de celulose diretamente na cavidade oral.

3.4.2.1 Consumo de água

Para a determinação do consumo total de água, inicialmente foi medido o volume do bebedouro, em seguida foi adicionado água até a marca do volume conhecido, e então a boia que realizava o controle automático da liberação de água era desativada.

A cada 24 horas eram medidas o consumo de água pela diferença do volume inicial com o volume final, este procedimento foi realizado durante o todo período experimental.

3.4.3 Coleta de Fezes

As amostras de fezes foram coletadas durante um período de 24 horas em intervalos de 21 dias, totalizando duas coletas. A produção fecal obtida pela defecação espontânea de cada animal foi pesada, homogeneizada e foram retiradas amostras de aproximadamente 200g de fezes úmidas. Durante este período de coleta, as fezes foram continuamente congeladas a -20°C e uma amostra composta foi formada por novilho, a cada dia coletado.

3.4.4 Coleta de urina

As amostras de urina foram coletadas pela metodologia *spot*, quatro horas após a alimentação, conforme descrito por Chizzotti et al. (2006), em intervalos de quinze dias, totalizando 4 coletas. As amostras de urina foram armazenadas em ácido sulfúrico a 0,036N e congeladas a -20°C .

3.4.5 Coleta de Sangue

3.4.5.1 Período pré-experimental

Anteriormente ao início experimental (dia zero), foram coletadas amostras de sangue para fins de avaliação metabólica mineral dos animais, estas avaliações iniciais permitiram obter um diagnóstico das concentrações séricas destes elementos, anterior ao início dos tratamentos.

3.4.5.2 Período experimental

Durante o experimento, foram coletadas amostras de sangue respeitando a seguinte metodologia: Após antissepsia do local, com álcool iodado a 2%, amostras de 20 mL de sangue de todos os novilhos foram coletadas na veia jugular, em tubos de *vacutainer* com ativador de coágulo, para retirada de soro. Imediatamente após colheita, a amostra era centrifugada a 3.000

rpm por 10 a 15 minutos para obtenção do soro. Cada amostra de soro obtida foi dividida em seis alíquotas, identificadas pelo número do animal e congeladas em tubos *Eppendorfs* de 1,5 ml. As colheitas ocorreram a cada quinze dias para avaliar a concentração de minerais, no total foram coletadas 4 amostras/animal.

3.4.6 Coleta de fígado

3.4.6.1 Fase pré-experimental

Para avaliação inicial da mobilidade mineral no fígado dos animais, foram coletadas amostras no tempo “zero” de fragmentos de fígados.

3.4.6.2 Fase experimental

A cada 21 dias, uma amostra do fígado foi coletada para posterior análise dos minerais, no total foram coletadas três amostras/ tratamento. O acesso à cavidade abdominal foi realizado na região do 11° espaço intercostal direito, aproximadamente 15 cm abaixo dos processos transversos. Para a realização da biópsia, realizou-se sedação com xilazina (2,3%) na dose de 0,5 ml via intramuscular e infiltração local de 5-10 ml de lidocaína 2% sob a pele e musculatura. Posteriormente, realizou-se a incisão da pele em aproximadamente 1 cm e em seguida, inseriu-se a agulha do tipo Tru-Cut (figura 1), com disparador automático e fragmentos foram coletados até a obtenção de 0,5 g.



Figura 1. Coleta de fragmentos do fígado

Fonte: Arquivo pessoal.

3.4.7 Análise mineral do fígado, sangue e urina

As análises dos minerais no fígado, sangue e urina, foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais, para tal, foram realizadas aberturas das amostras por digestão Nitroperclorica com adaptações da metodologia sugerida pela Perkin-Elmer (1999).

3.4.8 Análises Químicas

As amostras dos alimentos foram analisadas nos Laboratórios de Nutrição Animal da Escola de Veterinária, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais. As amostras foram pré-secadas em estufa a 55°C com ventilação forçada por 48 horas e moídas a 1 mm em moinhos tipo Willey para se efetuar as análises de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), PB e EE segundo Detmann et al. (2012).

A análise de fibra em detergente neutro (FDN) foi realizada segundo a metodologia descrita por Van Soest (1994). Os carboidratos totais (CT) foram obtidos pela fórmula $100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$ e os carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pela fórmula: $CNF = MO - (PB + EE + FDN_{cp})$, em que FDN_{cp} constitui a parede celular vegetal isenta de cinzas e de proteínas (Malafaia et al., 1998).

Os teores de Cu, Co, Fe, e Zn foram determinados por Espectroscopia de absorção atômica, conforme Silva & Queiroz (2002).

3.4.9 Parâmetros ruminais

Foram realizadas amostragens individuais do líquido ruminal dos animais em todos os períodos de coletas nos tempos zero (imediatamente antes da alimentação matutina), 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16 e 24 horas após o fornecimento dos alimentos. O líquido ruminal foi coletado via sonda ruminal. Após filtração em tecido de algodão e homogeneização, foi feita a leitura do valor de pH, com auxílio de pHmetro Analion® modelo PM 608, calibrado com soluções padrão de pH 4,0 e 7,0 da marca Cinética®. A calibração com os padrões era repetida a cada duas aferições de pH. Amostras de líquido ruminal para análise de ácidos graxos voláteis (AGV) e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foram coletadas. O líquido ruminal foi filtrado em tecido de algodão homogeneizado, e, após aferição do pH, alíquotas de 5mL do líquido coletado foram adicionadas de 1mL de Ácido metafosfórico 25%, com o auxílio de seringas descartáveis. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos com tampa de rosca. Para determinação da concentração de N-NH₃, alíquotas de 50 mL de conteúdo ruminal também foram coletadas e adicionadas de 1 mL de solução de ácido sulfúrico 1:1 (6N). Estas amostras foram acondicionadas em frascos plásticos com tampas herméticas com lacre. Todas as amostras foram imediatamente congeladas a -10°C até as análises laboratoriais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Consumo

Na tabela 36 estão representados os resultados dos consumos totais das dietas em kg/dia, o consumo em função do peso vivo (%PV), o consumo por unidade de tamanho metabólico ($\text{g}/\text{kg}^{0,75}$), consumo de água (L/dia), e os consumos de nutrientes por kg/MS.

Tabela 36. Consumos totais e em percentagem do peso vivo, consumo de suplementos, de água e de nutrientes, nos diferentes tratamentos*

Consumos	Dietas				
	T1	T2	T3	T4	CV
Consumo Total kg/MS/Dia	5,08b	4,97b	5,94a	6,1a	19,34
Consumo (%PV)	2,4	2,43	2,77	2,8	4,21
Consumo ($\text{g}/\text{kg}^{0,75}$)	91,47	91,99	99,56	100,02	8,96
Consumo de água (L/dia)	24,05	23,95	24,95	23,85	7,58
Consumo de Nutrientes (kg/MS)					
Proteína bruta	0,139	0,14	0,134	0,137	2,42
Fibra em detergente neutro	0,511	0,50	0,5	0,5	1,83
Matéria Mineral	0,049b	0,059a	0,066a	0,063a	0,45
Extrato etéreo	0,028	0,026	0,025	0,026	1,38
Carboidratos não- fibrosos	0,29	0,29	0,3	0,3	2,3
Carboidratos totais	0,78	0,78	0,77	0,78	1,92
Matéria seca (%MN)	31,5	31,8	31,94	31,68	3,61

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica. Médias seguidas de letras distintas na linha representam diferença pelo teste Tuckey ($P < 0,05$).

Na tabela 37 encontram-se os consumos de suplementos minerais diários (g/dia) e os consumos de microminerais (mg/kg).

Tabela 37. Consumo total de suplementos e dos microminerais ingeridos em função dos diferentes tratamentos

Consumos	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
Ingestão de Suplementos Diária (g)	-	80,00b	100,00a	86,50b
Ingestão de Microminerais (mg/kg)¹				
Cobre	10,1b	23,34a	21,8a	21,0a
Cobalto	0,07b	0,39a	0,32a	0,31 ^a
Ferro	23,1c	50,84a	53,1a	48,2 ^a
Zinco	26,6c	72,35a	68,55ab	63,72b

¹ Ingestão de Microminerais – Ingestão total de elementos (mg/kg), via suplemento e dieta.

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na linha representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

CV (%)= 6,45.

Para discutir o consumo dos microminerais, é importante destacar que a composição mineral da água pode interferir significativamente a ingestão destes elementos, contribuindo positivamente ou negativamente no balanço mineral do organismo animal. Neste trabalho, em relação aos microminerais testados, Cu, Co, Fe e Zn, não foram detectados quantidades significativas destes elementos na água ingerida (tabela 6), portanto, as únicas fontes de fornecimento dos elementos minerais testados foram à dieta basal e os suplementos.

Em relação ao CMS total (tabela 1), houve diferença significativa (P<0,05) entre os tratamentos, sendo o T3 e T4, superiores ao T1 e T2, com as médias (6,1 e 5,94 kg/MS) e (5,08 e 4,97 kg/MS), respectivamente. Mas quando a avaliação do consumo é transformada para %PV e g/kg^{0,75}, não foram detectadas diferenças (P>0,05).

Avaliando o consumo de nutrientes foram observadas diferenças (P<0,05) apenas na ingestão mineral (representada pela matéria mineral ingerida), sendo os tratamentos T2, T3, e T4, superiores ao T1, fato este explicado pela isenção de suplemento mineral neste tratamento.

Na tabela 8, onde estão expressos os consumos total de suplementos e dos microminerais Cu, Co, Fe e Zn, foram observadas diferenças significativas (P<0,05) entre os tratamentos. Avaliando o consumo de suplementos, no T3, foram observados os maiores consumos em relação ao T2 e T4. Este maior consumo, é resultado das diferentes concentrações dos minerais nas

misturas comerciais usadas no experimento, portanto, foi necessário alterar e ajustar a ingestão diária de suplemento, o que fez aumentar a ingestão no T3.

Em relação ao consumo de Zn, onde foram observadas diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos, a maior ingestão deste elemento no T2 ocorreu devido a maior presença deste mineral na mistura comercial utilizada neste tratamento.

Sobre as exigências dos microminerais para bovinos em crescimento, os diferentes tratamentos buscaram suprir estas necessidades. Com exceção do T1 (que não recebeu suplemento), todos os outros tratamentos foram formulados para atender as exigências destes microminerais.

A exigência de Cu, segundo o NRC (1996), para animais em crescimento é de 10 mg/kg de MS, ou seja, todos os tratamentos atenderam estes requisitos. Para Co a exigência é de 0,1 mg/kg de MS, apenas o T1, ficou abaixo desta exigência, apresentando valores de 0,07 mg/kg de MS.

A mesma situação ocorreu com o Fe e Zn, onde o NRC (1996), recomenda 50,0 e 30 mg/kg de MS, respectivamente. Apenas o T1 ficou abaixo destas exigências. Esta ocorrência é consequência da falta de minerais suplementares para estes animais.

4.2 Ambiente Ruminal

4.2.1 pH

A tabela 38 apresenta o efeito das diferentes fontes de minerais sobre o pH do rúmen em novilhos mestiços Holandês x Gir.

Tabela 38. Efeito da suplementação mineral sobre o pH ruminal em função dos horários após a alimentação

Dietas	pH Ruminal									
	0h	2h	4h	6h	8h	10h	12h	16h	24h	Médias
T1*	6,85	6,71	6,4	6,59	6,6	6,35	6,39	6,57	6,8	6,58
T2*	6,88	6,69	6,5	6,68	6,69	6,31	6,35	6,68	6,86	6,62
T3*	6,71	6,25	6,24	6,8	6,65	6,33	6,3	6,63	6,78	6,52
T4*	6,81	6,23	6,25	6,63	6,66	6,36	6,29	6,52	6,73	6,50
Médias	6,81a	6,47b	6,34b	6,67a	6,65a	6,33b	6,33b	6,6a	6,79a	

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na coluna e na linha representam diferença pelo teste Tuckey ($P < 0,05$).

CV (%) = 14,65.

Os valores de pH ruminal não sofreram variações significativas ($P>0,05$) em relação aos tratamentos. Porém quando avaliou-se a variação do pH em função do tempo após a alimentação, foi observado diferença ($P<0,05$) entre as coletas. Hungate (1966) e Church (1979) admitem que as flutuações no pH do rúmen refletem as variações nas quantidades dos ácidos orgânicos que acumulam no conteúdo ruminal e da quantidade de saliva que é produzida. Dessa maneira, o pH ruminal geralmente atingirá o nível mais baixo de duas a seis horas após a alimentação, dependendo da natureza da dieta, e da rapidez com que é ingerida.

Os ruminantes mantem os níveis de pH do meio ruminal adequados, através da saliva, que é rica em bicarbonato de sódio e possui pH em torno de 8,1 (Berchielli et al., 2006)

Apesar da absorção mineral no rúmen ser significativa, a sua influência na variação do pH é limitada, deixando a carga das fontes volumosas e concentradas o papel mais expressivo nesta variação. Mas é importante salientar que a presença de minerais no ecossistema ruminal, favorece a síntese microbiana, e esta por sua vez tem influência direta no pH. No presente estudo, a utilização de uma dieta basal composta por silagem de milho, fubá de milho e farelo de soja, foram intencionalmente fornecidas, a fim de minimizar as variações existentes no pH do rúmen, permitindo assim a manutenção de um ambiente semelhante em todos os tratamentos.

Apesar da limitada influência da suplementação mineral no pH ruminal, o contrário é extremamente válido, pois a estabilidade do rúmen influencia diretamente a absorção mineral. Em ambiente ácido, ocorre o favorecimento da ionização de elementos, e se tratando de minerais nas formas quelatadas, os sítios de absorção podem ser alterados, limitando a chegada do elemento em seu local de atuação (Pasa, 2010).

4.2.2 Produção de amônia (N-NH₃)

Na tabela 39 encontram-se as diferentes concentrações de N-NH₃ (mg/100 mL), em função dos diferentes tempos de coletas e tratamentos.

Tabela 39. Efeito das dietas contendo diferentes formas de suplementos minerais sobre a concentração de nitrogênio amoniacal (mg/ 100ml) em função dos horários após a alimentação

Hora (h)	N-NH ₃ (mg/100mL) no líquido ruminal				Médias
	T1	T2	T3	T4	
0 ¹	12,26	12,31	13,09	12,18	12,46 a
2	14,32	13,39	12,44	12,43	13,14 a
4	13,32	12,70	13,57	12,67	13,06 a
6	11,55	11,16	11,25	11,55	11,37 b
8	11,64	11,56	11,86	11,88	11,73 b
10	13,27	12,07	11,33	11,28	11,98 b
12	11,05	10,83	11,38	10,56	10,95 c
16	10,31	10,16	11,54	11,29	10,82 c
24	12,16	13,03	12,47	12,51	12,54 a
Médias	12,20	11,91	12,1	11,81	

¹ Tempo de coleta em função do fornecimento da dieta.

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Médias seguidas de letras distintas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

CV (%)= 21,65.

A produção de amônia ruminal expressa em mg/100 ml pode ser observada na tabela 10. Não houve interação entre tratamento e tempo de coleta, portanto as avaliações serão realizadas utilizando as médias marginais.

A taxa de produção de N-NH₃ no rúmen reflete a solubilidade e a fermentabilidade da dieta, bem como a produção endógena de compostos nitrogenados (Huntington & Archibeque, 1999).

Não foi observada diferença significativa (P>0,05) entre os tratamentos para a concentração de N-NH₃ no líquido ruminal. Este resultado reflete a estabilidade encontrada neste ambiente, que pode ser consequência da dieta basal oferecida aos animais.

Em relação aos diferentes tempos de coleta, foram observadas diferenças (P<0,05) na concentração de N-NH₃ presente no rúmen, o que ocorreu de 6 a 8 horas pós-alimentação. A menor concentração de N-NH₃ pode indicar uma fermentação ruminal mais ativa, pois as maiorias das bactérias celulolíticas exigem amônia para o seu crescimento e, possivelmente, mais energia sendo absorvida na forma de AGV's, estando, assim, disponível para fins produtivos (Costa, 2010).

Associada a fermentação ruminal mais ativa, a baixa quantidade de N-NH₃ no líquido ruminal pode ser consequência da redução gradativa da disponibilidade do nutriente. Bactérias celulolíticas usam, praticamente, apenas nitrogênio amoniacal como fonte de nitrogênio e sua capacidade fermentativa é, consideravelmente, menor na ausência de N-NH₃, uma vez que sua capacidade de usar N na forma de aminoácidos e peptídeos é bastante reduzida (Tedeschi et al., 2000; Russel & Mantovani, 2002; Fox et al., 2004).

Mehrez et al. (1977) afirmaram que o máximo de atividade fermentativa ruminal foi obtido quando o N amoniacal alcançou valores entre 19 e 23 mg/100 mL de líquido ruminal. Porém, estes valores estão acima dos valores citados por Satter e Slyter (1974) – 5 mg/100 mL. Mas faz-se a ressalva de que, segundo Preston (1986), 5 mg de N-NH₃ /100 mL seria o mínimo para manter a síntese microbiana, enquanto que para otimizar efetivamente a fermentação, principalmente da fibra, seriam necessários de 15 a 29 mg de N-NH₃/100 mL. Levando em consideração os valores citados Preston (1986), as variações encontradas neste trabalho de 10,82 a 13,14 mg/100 mL, estão em conformidade.

4.2.3 Ácidos graxos voláteis

As concentrações em (mMol/100ml) dos AGVs, acetato, propionato e butirato encontram-se nas tabelas 40, 41 e 42, respectivamente.

Os ácidos graxos voláteis (AGVs) são os principais subprodutos da fermentação dos carboidratos, e são utilizados como fontes de energia para o metabolismo dos ruminantes (Baldwin, 1998; Olson et al., 1999; Berchielli et al., 2006). Segundo Van Soest (1994), os AGVs produzidos pelos microrganismos do rúmen através das suas vias metabólicas, suprem 85% das exigências de energia dos ruminantes.

Tabela 40. Efeito das dietas contendo diferentes formas de suplementos minerais sobre a concentração de acetato no rúmen (mMol/ 100 mL) em função dos horários após a alimentação

Hora (h)	Acetato (mMol/100 mL) no líquido ruminal				Médias
	T1	T2	T3	T4	
0 ¹	39,04	10,36	22,75	11,44	20,9 a
2	11,56	11,5	14,45	16,38	13,47 b
4	11,4	11,73	8,65	6,84	9,65 c
6	10,81	13,3	5,58	12,65	10,58 b c
8	6,87	7,01	8,74	10,49	8,27 c
10	16,23	6,06	8,17	6,93	9,34 c
12	11,05	10,83	11,38	10,56	8,23 c
16	7,92	6,22	8,27	10,5	6,62 d
24	5,92	8,09	6,44	6,05	5,5 d
Médias	12,82a	9,08b	9,74b	9,54b	

¹ Tempo de coleta em função do fornecimento da dieta.

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

CV (%)= 8,64.

Como demonstrado na tabela 40, houve diferença significativa (P<0,05), entre os tratamentos testados. No tratamento 1, onde não houve a inclusão de suplementos minerais, o valor de acetato de 12,82 mg/100ml, foi superior aos demais tratamentos. A não inclusão de fontes minerais proveniente de suplementos permitiu aos animais deste tratamento, uma dieta com proporções levemente superiores do alimento volumoso, proporcionando um aumento na ingestão de FDN (aumento este não significativo).

Regularmente, segundo Ítavo et al. (2000), as concentrações de AGV's total ou individual no rúmen são altamente influenciáveis e dependem da frequência de alimentação, tempo após a alimentação e composição da dieta. No presente estudo, o pH, não foi um fator determinante na concentração de acetato, pois não foi detectada fonte de variação significativa de pH entre os tratamentos.

Houve diferença significativa (P<0,05) entre os tempos de coleta e a produção de acetato, sendo observado que após o fornecimento da dieta, as concentrações de acetato caíram, indicando que a frequência de alimentação influenciou na produção de AGV, o que era de se esperar. A dieta era fornecida em sua totalidade, porém a presença de carboidratos altamente fermentáveis

advindos do milho, demonstram a facilidade de alteração nas concentrações de acetato no ambiente ruminal.

Segundo Mota et al. (2010) a degradação da celulose e hemicelulose produz maior proporção de acetato, enquanto a degradação dos carboidratos solúveis (amido e açúcares), eleva a produção de propionato, diminuindo a proporção de acetato e de butirato.

A diminuição na proporção de acetato em dietas com alto teor de carboidratos de rápida fermentação ocorre por conta da redução das bactérias fibrolíticas e dos protozoários (principais produtores de acetato), ocasionada pela diminuição do pH ruminal. Neste trabalho a diferença na ingestão de MS, não foi acompanhada pela diferença na ingestão de nutrientes, exceto os minerais, o que não pode ser utilizado para explicar as variações nas concentrações de acetato entre os tratamentos.

O propionato (tabela 41) apresentou um comportamento semelhante ao acetato nas variações encontradas nos tratamentos, apresentando valores de 3,62 mg/100 mL para o T1, 3,59; 3,26 e 3,76 mg/100 mL para T2, T3 e T4, respectivamente.

Tabela 41. Efeito das dietas contendo diferentes formas de suplementos minerais sobre a concentração de nitrogênio amoniacal (mMol/ 100 mL) em função dos horários após a alimentação

Hora (h)	Propionato (mMol/100 mL) no líquido ruminal				Médias
	T1	T2	T3	T4	
0 ¹	2,29	2,96	1,97	2,23	2,36 d
2	7,64	2,57	6,41	3,68	5,07 a
4	4,01	5,42	3,43	3,4	4,16 b
6	4,2	6,01	2,07	4,37	3,28 c
8	2,07	2,9	3,12	5,04	3,36 c
10	4,46	2,59	3,17	3,21	3,21 c
12	3,23	3,02	4,78	5,41	4,36 b
16	2,64	3,02	2,89	4,28	2,36 d
24	2,03	2,88	1,53	1,71	2,04 d
Médias	3,62b	3,59b	3,26b	3,7a	

¹ Tempo de coleta em função do fornecimento da dieta.

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

CV (%)= 4,26.

Os valores de propionato ficaram dentro do esperado de acordo com Silva & Leão (1979) segundo os quais as faixas de normalidade para as concentrações molares do propionato variam de 2,5 a 4,5 mMol/ 100 mL. Houve um pico na concentração de propionato no período de 2 a 4 horas após a alimentação, permitindo uma redução na relação entre acetato e propionato, como citado por Mota et al. (2010).

Tabela 42. Efeito das dietas contendo diferentes formas de suplementos minerais sobre a concentração de butirato (mMol/ 100 mL) em função dos horários após a alimentação

Hora (h)	Propionato (mMol/100 mL) no líquido ruminal				Médias
	T1	T2	T3	T4	
0 ¹	1,42	0,44	0,63	1,26	0,94 a
2	0,79	0,75	1,00	1,07	0,90 a
4	0,90	1,25	0,75	0,59	0,87 a
6	1,22	1,30	0,56	0,94	1,0 a
8	0,78	0,51	0,75	1,24	0,76 b
10	1,19	0,50	0,81	0,61	0,78 b
12	0,78	0,52	0,68	0,81	0,69 b
16	0,51	0,63	0,35	0,46	0,49 c
24	0,48	0,53	0,21	0,31	0,38 c
Médias	0,87a	0,72bc	0,63c	0,81b	

¹ Tempo de coleta em função do fornecimento da dieta.

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Médias seguidas de letras distintas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

CV (%)= 11,57.

O comportamento da concentração de butirato (tabela 13) não foi semelhante nas maiorias dos tratamentos como o acetato e propionato. Houve diferença significativa (P<0,05), entre os tratamentos e os tempos de coleta.

Nos tratamentos, o T1, foi superior aos demais grupos, seguindo pelo T4, T3 e T2, com valores de 0,87; 0,81; 0,72 e 0,63 mg/100 ml, respectivamente.

A suplementação mineral também não foi capaz de alterar positivamente a produção de butirato, portanto, apesar dos minerais atuarem diretamente no metabolismo dos micro-organismos ruminais, neste trabalho, relacionando apenas os minerais e produção de AGV, apenas os elementos minerais advindos da dieta basal foram suficientemente capazes de manter o padrão de fermentação.

4.2.4 Mobilidade Mineral

4.2.4.1 Mineral no soro sanguíneo

Na tabela 43 estão expressas as concentrações (mg/L) dos microminerais Co, Cu, Fe e Zn no soro sanguíneo dos animais submetidos aos diferentes tratamentos, T1 – sem mineral suplementar; T2- mineral suplementar na forma inorgânica; T3 – mineral suplementar na forma quelatada; T4 mineral suplementar na forma inorgânica e quelatada.

Tabela 43. Avaliações dos níveis séricos de Co, Cu, Fe, e Zn expressos em mg/l em novilhos alimentados com diferentes fontes de minerais

Cobalto (Co)					
Tratamentos	Tempo (dias)				Médias
	0	15	30	45	
T1	0,84	0,84	0,88	0,76	0,83
T2	0,79	0,8	0,81	0,73	0,78
T3	0,79	0,81	0,81	0,65	0,77
T4	0,73	0,72	0,82	0,7	0,74
Médias	0,79	0,79	0,83	0,71	
CV = 9,59					
Cobre (Cu)					
Tratamentos	Tempo (dias)				Médias
	0	15	30	45	
T1	0,29	0,28	0,27	0,27	0,28
T2	0,27	0,32	0,25	0,31	0,29
T3	0,25	0,24	0,27	0,28	0,26
T4	0,26	0,25	0,26	0,28	0,26
Médias	0,27	0,27	0,27	0,28	
CV = 19,52					
Ferro (Fe)					
Tratamentos	Tempo (dias)				Médias
	0	15	30	45	
T1	1,17	1,23	1,17	1,17	1,19
T2	1,07	1,17	1,11	1,20	1,14
T3	1,16	1,14	1,39	1,21	1,22
T4	1,15	1,22	1,24	1,20	1,20
Médias	1,14	1,19	1,14	1,19	
CV = 13,62					
Zinco (Zn)					
Tratamentos	Tempo (dias)				Médias
	0	15	30	45	
T1	1,73	1,62	1,91	1,55	1,70
T2	1,57	1,59	1,56	1,61	1,58
T3	1,53	1,53	1,61	1,48	1,54
T4	1,64	1,49	1,65	1,5	1,57
Médias	1,62	1,56	1,68	1,54	
CV = 11,64					

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas minúsculas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

Como pode ser observado, não houve diferença significativa ($P>0,05$), entre os tratamentos e entre os diferentes tempos de coleta, para todos os microminerais. A concentração dos elementos permaneceu estável durante todas as coletas, inclusive no tempo 0. Vários fatores podem estar associados à estabilidade sérica encontrada para todos os microminerais, porém é importante destacar que, antes dos animais ingressarem no experimento, foi necessário realizar uma fase pré-experimental, para que todos pudessem ingressar na fase experimental com 180 kg de PV, em média. Nesta fase, os animais receberam a mesma dieta basal constituída de silagem de milho, porém o concentrado era fornecido apenas para os animais que estavam abaixo do peso, não existia fonte de mineral suplementar para nenhum animal.

Com isto, ao observar a evolução das coletas em função do tempo, duas situações podem ser destacadas, a primeira indica que todos os animais já ingressaram no experimento com os mesmos níveis séricos dos microminerais, e a segunda situação indica que a suplementação, seja ela na forma inorgânica, quelatada ou inorgânica e quelatadas juntas, não foi suficientemente capaz de alterar os níveis séricos dos minerais quando comparadas a dieta sem suplementação mineral (T1). Mas é importante ressaltar que cada mineral apresenta um tecido preferencial que deve ser analisado para determinar seu *status* (Corah & Ives, 1991).

A condição de estabilidade sérica de um elemento, muitas das vezes se correlaciona com a deficiência deste elemento no organismo animal, ou seja, a presença do elemento, em qualquer tecido ou sangue do animal, se torna estável, quando o quadro de deficiência já se finalizou. Alguns minerais não obedecem a esta situação e diversos deles são influenciados de maneira imediata quando ingeridos, como é o caso do Cu (Underwood, 1983).

Analisar os microminerais de maneira isolada, em suas devidas concentrações, torna-se necessário para uma boa compreensão da estabilidade encontrada no soro sanguíneo dos animais no presente experimento.

A absorção de Co pelos ruminantes é pouco eficiente, se comparada com a absorção pelos monogástricos, com 3% apenas do Co convertido em vitamina B12 (McDowell, 1992). Apesar de ser amplamente distribuído pelo corpo, não há um tecido onde ocorra acúmulo excessivo de Co, sendo que as maiores concentrações do elemento se encontram no fígado, rins e ossos (Houser et al., 1976). O excesso de Fe pode prejudicar a absorção de cobalto, sendo o contrário, favorável à sua absorção. Níveis sanguíneos normais deste mineral são da ordem de 3,0 a 4,0 mg/L, sendo que valores abaixo de 2,50 mg/L são considerados deficientes (González, 2000), os animais apresentaram níveis séricos entre 0,74 a 0,83 mg/L, abaixo do considerado normal por este autor. É importante ressaltar que os animais de todos os tratamentos, exceto o T1, consumiram Co acima de suas exigências, segundo as recomendações no NRC (1996), que é de 0,1 mg/kg MS e o excesso de Fe, que poderia influenciar na absorção de Co, não foi registrado, pois ficaram próximos ao recomendado, 50 mg/kg de MS (NRC, 1996). As concentrações de cobalto entre os tempos coletados (0, 15, 30 e 45 dias) também não variaram. Corah & Ives (1991) sugerem a avaliação do tecido hepático para se determinar os níveis de cobalto.

O Cu é absorvido em todos os segmentos do trato gastrointestinal e na maioria das espécies a absorção acontece mais na porção anterior do intestino delgado (Kaneko, 1989). A

absorção do Cu em ruminantes é baixa (entre 1 - 10%), devido às complexas interações que ocorrem no ambiente do rúmen (Spears, 2003) em especial com o molibdênio. A determinação de ceruplasmina (proteína transportadora do cobre) e da enzima superóxido dismutase podem auxiliar a detectar níveis deficientes.

Os níveis de Cu encontrados no presente trabalho variaram de 0,26 a 0,29 mg/L entre os tratamentos, valores estes considerados abaixo do normal segundo McDowell (1992), o qual considera os valores entre 0,6 e 1,5 mg/L de Cu no soro como normais. As diferentes formas dos elementos minerais, não foram capazes de modificar as concentrações de Cu sérico nos animais. Como no caso do Co, a ingestão de Cu foi superior ao determinado pelo NRC (1996), que é de 10 mg/kg de MS, inclusive no T1, tratamento este que não recebeu suplementação.

Os teores médios de Fe encontrados entre os tratamentos foram de 1,19; 1,14; 1,22 e 1,20 mg/L para T1, T2, T3 e T4, respectivamente. McDowell (1992) afirma que teores abaixo de 1,1 mg/L são considerados deficientes deste elemento, o qual não ocorreu neste trabalho.

A absorção de Fe é maior em animais jovens que em adultos e também maior em animais deficientes que em animais suficientes em Fe, fator este que pode explicar constante concentração de Fe em todos os tratamentos, e sua absorção acontece por todo o trato gastrintestinal, sendo o principal local o duodeno (Underwood, 1983).

Fick et al. (1979) afirmaram que os valores séricos de Zn considerados normais variam de 0,5 a 1,2 mg/L, no presente trabalho, os valores encontrados foram superiores a normalidade determinada pela literatura, variando entre 0,16 mg/L a 0,17 mg/L. Em todos os tratamentos, exceto no T1, a ingestão de Zn foi superior ao recomendado pelo NRC (1996), o que pode ter contribuído para os valores superiores encontrados neste trabalho.

A absorção do Zn pode ocorrer no rúmen e no duodeno, variando devido à interação com outros componentes como, por exemplo, o ácido fítico, que leva a redução na absorção de Zn. Spears (2003) em um trabalho de revisão sobre biodisponibilidade de microminerais em ruminantes cita que a porcentagem de Zn absorvido diminui à medida que as quantidades de Zn na dieta aumentam.

Corroborando com os dados obtidos neste trabalho, a não variação do Zn presente no soro sanguíneo ao longo das coletas, foi também encontrada por Batista et al. (2012), onde realizaram um estudo utilizando minerais iônicos ou minerais na forma de carboquelatos de zinco, cobre, enxofre, manganês, cobalto e selênio no efeito da retenção de placenta de 135 vacas holandesas, eles não detectaram diferenças significativas ($P>0,05$) do Zn sérico nestes animais, ao longo das coletas, quando comparadas as formas iônicas.

4.2.4.2 Mineral no fígado

Foram avaliadas as concentrações hepáticas dos microminerais, os resultados são demonstrados nas tabelas 44, 45, 46 e 47. Devido às diferenças encontradas em todos os elementos minerais avaliados, a apresentação e discussão dos resultados ocorrerão por mineral.

Tabela 44. Avaliação Co hepático (ppm) através da biópsia de fígado em novilhos alimentados com microminerais sob diferentes formas, nos tempos (0, 21 e 42 dias)

Tratamentos	Cobalto (Co) ppm			Médias
	Tempo (dias)			
	0	21	42	
T1	0,137	0,152	0,136	0,142 a
T2	0,145	0,138	0,13	0,138 b
T3	0,152	0,151	0,129	0,144 a
T4	0,133	0,133	0,133	0,133 c
Médias	0,142 a	0,143 a	0,132 b	

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna representam diferença pelo teste Tuckey ($P < 0,05$). CV = 1,65

O fígado é um dos principais órgãos de estocagem dos elementos minerais, frente a esta importância, a avaliação mineral em sua constituição pode determinar com precisão a presença destes elementos no organismo animal. Mendes et al. (1982) determinaram satisfatoriamente em amostras de fígado, através de biópsia ou após o abate, teores de Fe, Cu, Zn, e Co.

Foram encontradas diferenças significativas ($P < 0,05$), entre os diferentes tempos de coleta e entre os tratamentos para a concentração de Co hepático nos animais.

Segundo Tokarnia et al. (1971) concentrações abaixo de 0,05 ppm de Co no fígado caracterizam deficiência severa; concentrações entre 0,05 e 0,12 ppm caracterizam deficiências marginais e acima de 0,12 ppm são adequadas. Avaliando-se os tratamentos e suas médias, as maiores concentrações de Co hepático ocorreram nos tratamentos 3 e 2 (0,144 e 0,142 ppm), respectivamente, seguido pelos tratamentos 2 e 4. Apesar das diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos, todos apresentaram concentrações satisfatórias deste elemento no tecido hepático. Supreendentemente, no T1, onde a ingestão de Co foi inferior a recomendada pelo NRC (1996), a concentração deste elemento junto ao T3, superior aos demais, demonstrou a capacidade de armazenamento e metabolismo dos nutrientes no fígado.

Hackbart et al. (2012), avaliando a substituição de fontes inorgânicas de Co por fontes quelatadas, não detectaram diferenças significativas da presença deste mineral no fígado entre as duas formas avaliadas. No presente estudo, a forma quelatada do Co, promoveu concentração superior deste elemento, quando comparada à forma inorgânica.

Em relação aos diferentes tempos de coleta, os animais mantiveram semelhantes às concentrações de Co entre as coletas do tempo 0 e 21, mas aos 42 dias, ocorreu uma queda na

concentração deste elemento no fígado. Esta queda não pode ser considerada uma deficiência, pois a concentração do Co permaneceu dentro dos valores considerados normais, ou seja, acima de 0,12 ppm. O que de fato pode ter ocorrido, seria uma estabilidade dos níveis hepáticos destes elementos, após um período de estocagem superior.

Tabela 45. Avaliação Cu hepático (ppm) através da biópsia de fígado em novilhos alimentados com microminerais sob diferentes formas, nos tempos (0, 21 e 42 dias)

Tratamentos	Cobre (Cu) ppm			Médias
	Tempo (dias)			
	0	21	42	
T1	78,07	31,12	37,55	48,91 c
T2	37,57	18,27	59,10	38,31 d
T3	137,27	151,15	50,90	113,1 a
T4	100,45	44,4	49,82	64,89 b
Médias	88,34 a	61,23 b	49,34 c	

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas minúscula na linha e maiúscula na coluna representam diferença pelo teste Tuckey ($P < 0,05$). CV = 0,63.

A concentração de Cu no fígado dos ruminantes é correlacionada com a biodisponibilidade na dieta, podendo ser afetada pelas necessidades fisiológicas (ex. crescimento e ganho de peso) (McDowell, 1992).

Foram encontradas diferenças significativas ($P < 0,05$), entre os diferentes tempos de coleta e entre os tratamentos para a concentração de Cu hepático nos animais.

As concentrações de Cu encontradas foram de 48,91; 38,31; 113,1 e 64,89 ppm, para T1, T2, T3 e T4 respectivamente. Segundo McDowell (1992), concentrações hepáticas de Cu entre 100 e 400 ppm são considerados normais para bovinos saudáveis. Apenas o T3 (minerais nas formas quelatadas) foi capaz de manter as concentrações normais de Cu, ou seja, 113,1 ppm. Zanetti (2014) cita que as utilizações dos minerais nas diferentes formas complexadas podem oferecer algumas vantagens quando comparados as fontes inorgânicas, como: biodisponibilidade superior, maior retenção nos tecidos, menor eliminação pelas fezes, baixa interpelação com outros elementos minerais, maior absorção por existir um mecanismo de absorção diferente.

Ao avaliar as médias da concentração de Cu nos diferentes tempos de coleta, observa-se uma queda significativa ($P < 0,05$) deste elemento ao longo dos dias de coleta. Como ocorreu baixa concentração deste elemento no soro e no fígado, na maioria dos tratamentos, fica claro que mesmo nas dietas onde os níveis de Cu estão adequados, às suas interações com outros minerais, principalmente o molibdênio, enxofre e ferro podem contribuir para a baixa concentração deste elemento no organismo animal (Underwood, 1983). Levando em consideração as concentrações de Fe ingeridas e séricas, não se pode afirmar que houve interação entre estes elementos, pois foram consideradas normais, conforme McDowell (1992).

Tabela 46. Avaliação de Fe hepático (ppm) através da biópsia de fígado em novilhos alimentados com microminerais sob diferentes formas, nos tempos (0, 21 e 42 dias)

Tratamentos	Ferro (Fe)			Médias
	Tempo (dias)			
	0	21	42	
T1	152,75	119,25	94,50	122,16 c
T2	121,00	143,95	107,47	124,14 c
T3	141,37	258,97	112,18	170,84 a
T4	184,05	120,45	99,80	134,76 b
Médias	149,79 b	160,65 a	103,49 c	

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica. Médias seguidas de letras distintas maiúscula na coluna e minúscula na linha representam diferença pelo teste Tuckey ($P < 0,05$). CV = 4,12.

O comportamento do Fe seguiu a mesma situação do Cu, em relação aos tratamentos. O T3, que apresentava a forma quelatada do Fe, foi superior ($P < 0,05$) aos demais tratamentos.

As concentrações de Fe encontradas variaram de 122,16 a 170,84 ppm, estes valores estão abaixo da variação normal citada por Mendes et al. (2010), que considera valores normais entre 180 a 340 ppm. Carência de Fe, em animais alimentados com forragens tropicais, não é muito comum, vistos concentrações elevadas deste elemento nestes vegetais. Em relação ao consumo de Fe, todos os tratamentos, exceto o T1, estavam com valores acima das exigências para este elemento, segundo o NRC (1996).

Em relação ao comportamento observado durante os diferentes tempos de coleta, a concentração de Fe foi superior no 21º dia, quando comparas ao tempo 0 e ao 42 (160,65; 149,79 e 103,49 ppm, respectivamente). Este comportamento poderia ser considerado normal se no 42º os valores fossem superiores, pois as forragens e o suplementos utilizados no Brasil, são ricos neste elemento, e suas deficiências nestas situações são raras.

Tabela 47. Avaliação de Zn hepático através da biópsia de fígado em novilhos alimentados com microminerais sob diferentes formas, nos tempos (0, 21 e 42 dias)

Tratamentos	Zinco (Zn)			Médias
	Tempo (dias)			
	0	21	42	
T1	79,25	68,52	53,25	67,10 b
T2	59,87	83,70	54,40	65,99 c
T3	114,57	81,60	55,75	83,91 a
T4	63,10	69,95	56,70	63,25 d
Médias	79,20 a	75,94 b	55,00 c	

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica. Médias seguidas de letras distintas maiúscula na coluna e minúscula na linha representam diferença pelo teste Tuckey ($P < 0,05$). CV = 0,23.

As concentrações de Zn encontradas entre os tratamentos, variaram de 63,25 a 83,91 ppm, sendo o maior valor encontrado no T3, (forma quelatada) o único resultado dentro das variações normais para bovinos, como citado por Fick et al. (1979), que considera o intervalo entre 83 e 132 ppm.

Mais uma vez, a forma quelatada de suplementação, quando avaliada em tecido hepático, mostrou-se mais eficaz em absorver os elementos minerais, em relação às outras formas.

A interação do Zn com outros elementos poderia ser a causa dos resultados inferiores encontrados nos tratamentos T2 e T4. Mesmo com os animais tendo as necessidades diárias de Zn supridas, como sugerido por Spears (2003), as interações com outros elementos minerais podem explicar esta situação.

Como os níveis séricos de Zn foram superiores aos encontrados na literatura, pode-se inferir que as concentrações hepáticas de zinco não são tão eficazes na sua mensuração. Segundo McDowell (1999) é preferível a utilização de teores plasmáticos do Zn para a determinação da sua deficiência.

4.2.4.3 Excreção dos microminerais na urina

A excreção de elemento mineral por conveniência pode ser dividida dentro do que não é absorvido e o que foi absorvido e, posteriormente, excretado. Os minerais que já estão presentes no organismo e que são posteriormente excretados são chamados excreção endógena. Todos os minerais não absorvidos são excretados em fezes. A maioria da excreção endógena de elementos minerais ocorre, também, pelas fezes e urina (Almeida Filho, 2016).

Tabela 48. Avaliação das concentrações urinárias dos microminerais Co, Cu, Fe, e Zn expressos em mg/L em novilhos alimentados com diferentes fontes destes elementos

Cobalto (Co)					
Tratamentos	Tempo (dias)				Médias
	0	15	30	45	
T1	0,37	0,32	0,36	0,45	0,38 b
T2	0,32	0,35	0,42	0,45	0,38 b
T3	0,59	0,55	0,47	0,49	0,52 a
T4	0,51	0,43	0,49	0,45	0,47ab
Médias	0,44	0,42	0,43	0,46	

CV = 21,71

Cobre (Cu)					
Tratamentos	Tempo (dias)				Médias
	0	15	30	45	
T1	0,18 a	0,16	0,16	0,12	0,16 a
T2	0,16 a	0,13	0,12	0,077	0,12 b
T3	0,11	0,093	0,11	0,082	0,098 b
T4	0,098	0,098	0,11	0,093	0,1 b
Médias	0,136 a	0,12 ab	0,12 b	0,093 c	

CV = 26,89

Ferro (Fe)					
Tratamentos	Tempo (dias)				Médias
	0	15	30	45	
T1	20,10	17,17	19,00	24,00	20,06
T2	26,07	15,64	15,56	15,42	18,17
T3	9,26	21,48	6,78	13,62	12,79
T4	12,68	14,87	13,68	13,10	13,58
Médias	17,03	17,29	13,75	16,53	

CV = 45,93

Zinco (Zn)					
Tratamentos	Tempo (dias)				Médias
	0	15	30	45	
T1	18,47	13,21	14,02	11,20	14,23
T2	17,53	12,16	10,30	10,70	12,67
T3	14,52	12,82	9,68	10,95	11,99
T4	11,83	11,17	11,68	14,63	12,33
Médias	15,59 a	12,34 ab	11,42 b	11,87 b	

CV = 28,27

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Médias seguidas de letras distintas maiúscula na coluna e minúscula na linha representam diferença pelo teste Tuckey (P<0,05).

As concentrações de minerais na urina apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$), para alguns elementos, o Co teve sua maior excreção urinária no T3, seguido pelo T4, com concentrações médias de 0,52 e 0,47 mg/L, respectivamente. Valores estes abaixo dos encontrados no soro sanguíneo (0,77 e 0,74 mg/L) e mais altos que no fígado (0,144 e 0,133 mg/L) para os mesmos tratamentos respectivamente. Segundo Corah & Ives (1991), a determinação do Co no tecido hepático é mais segura que em outros fluidos ou tecido do organismo animal. Frente a esta situação em que a excreção de Co foi maior que sua concentração no fígado, pode-se previamente destacar a carência deste elemento em todos os tratamentos. Mas levando em consideração que o procedimento adotado na amostragem de urina é usualmente utilizado na determinação do seu volume urinário, denominado “spot”, como descrito por Chizzotti et al. (2006), pode ter influenciado a concentração deste elemento, não representando de forma real sua excreção.

As excreções de Cu via urina apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$), entre os tratamentos e entre os tempos de coleta. No T1, foi registrado a maior excreção do elemento. De uma maneira geral, o Cu excretado foi numericamente inferior ao encontrado no soro e no fígado, sendo um ponto positivo para a biodisponibilidade das fontes em uma maneira geral. A absorção intestinal é influenciada pela forma química do Cu e por substancial número de interações com outros fatores dietéticos. Dietas com altos níveis de fitatos Ca, Fe, Zn, Cd ou Mo reduzem a absorção de Cu. O Mo, especialmente na presença de S, reduz depósitos de Cu no organismo e a síntese de ceruloplasmina, e, como resultado, aumenta a excreção urinária de Cu (Carvalho et al., 2003; NRC, 2005).

Ao avaliar a excreção do Cu em função dos tempos de coleta, no tempo 0, a sua excreção foi maior que os tempos 30 e 45 dias, e semelhante aos 15 dias de coleta. No tempo 0, em relação ao Cu hepático, a sua concentração também era superior, podendo demonstrar que a excreção de Cu acompanhou a sua concentração no organismo. A excreção urinária de Cu é pequena e relativamente constante em todas as espécies (McDowell, 1992).

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na excreção de Fe, tanto para os diferentes tratamentos, quanto para os diferentes tempos de coleta. O Fe do organismo é continuamente reciclado através de um eficiente sistema de reutilização desse metal, e praticamente não há perda no corpo, exceto em caso de hemorragia. O Fe é liberado da hemoglobina durante a quebra do eritrócito, sendo carregado para o fígado e secretado na bile. A maior parte do Fe biliar é reabsorvida e usada novamente para síntese de hemoglobina (Germano & Caniatti-Brazaca, 2002; Grotto, 2008), o que justifica a baixa absorção intestinal. A excreção de ferro é limitada e controlada pela absorção. O Fe é excretado pelas fezes e urina, além de perdas através do suor, pelos e cascos.

Para o Zn, os tratamentos também não influenciaram em sua excreção, mas em relação aos tempos de coleta, os dias 0 e 15, foram superiores em relação aos demais. O zinco, ao contrário dos demais elementos, não é estocado em grandes concentrações em nenhum órgão. Ele se constitui como "pool" móvel, comandado por uma proteína específica, que o mobiliza para um

tecido ou órgão de maior demanda (Moraes, 2001a; NRC, 2007). Underwood e Suttle (1999) afirmam que baixas concentrações de Zn são encontradas na urina.

É importante ressaltar que a excreção urinária dos elementos minerais é composta em sua grande maioria por elementos de origem endógena (Almeida Filho, 2016) e o tempo de avaliação e coleta de dados pode interferir diretamente nos valores encontrados. Talvez seja necessário um maior período de adaptação às diferentes formas dos suplementos.

4.2.4.4 Excreção fecal dos minerais

A relação existente entre o consumo de mineral, o que ficou retido e sua excreção via fezes e urina, confere aos elementos a sua biodisponibilidade. Mas inúmeros fatores podem estar associados à utilização do elemento por parte do animal, seja sua carência ou excesso, e estas situações podem promover respostas equivocadas quanto a biodisponibilidade do elemento (Pasa, 2010).

Na tabela 49 encontra-se a concentração dos elementos minerais (ppm) nas fezes dos animais, submetidos a diferentes fontes destes elementos.

Tabela 49. Avaliações das concentrações fecais (ppm) dos microminerais Co, Cu, Fe, e Zn expressos em ppm em novilhos alimentados com diferentes fontes destes elementos

Co			
Tratamentos	Tempo (dias)		Médias
	21	42	
T1	0,51	0,45	0,48
T2	0,57	0,66	0,61
T3	0,58	0,16	0,11
T4	0,52	0,6	0,56
Médias	0,54	0,83	
CV= 41,28			
Cu			
Tratamentos	Tempo (dias)		Médias
	21	42	
T1	0,24	0,12	0,17 b
T2	0,24	0,28	0,26 a
T3	0,21	0,20	0,21 a
T4	0,21	0,23	0,22 a
Médias	0,22	0,21	
CV = 34,11			
Fe			
Tratamentos	Tempo (dias)		Médias
	21	42	
T1	597,53	553,06	575,29
T2	623,10	618,13	620,61
T3	631,82	599,51	615,66
T4	617,60	606,78	612,19
Médias	617,51 a	594,37 b	
CV = 3,05			
Zn			
Tratamentos	Tempo (dias)		Médias
	21	42	
T1	97,07	55,90	76,48 c
T2	97,12	131,04	114,08 a
T3	89,76	96,47	93,11 b
T4	85,27	100,61	92,94 b
Médias	92,30	96,01	
CV = 19,10			

(T1) – Sem suplementação mineral; (T2) – Suplementação com minerais inorgânicos; (T3) – Suplementação com minerais na forma quelatada; (T4) – Suplementação com minerais na forma quelatada e inorgânica.

Medias seguidas de letras distintas maiúscula na coluna e minúscula na linha representam diferença pelo teste Tuckey ($P < 0,05$).

A excreção de minerais via fezes, corresponde principalmente aos elementos fornecidos via dieta e em menor quantidade, por contribuição endógena. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na excreção fecal de Co e Fe, entre os tratamentos e entre os diferentes tempos de coleta. Mas, os valores encontrados foram altos, a mesma situação encontrada na excreção de minerais via urina.

A maior parte do Fe presente nas fezes é de origem alimentar não absorvida; provavelmente menos de 3% seja excreção real de Fe. Em média, 10 a 15% do ferro ingerido são absorvidos (NRC, 2007; Grotto, 2008).

Em relação ao Cu, os diferentes os tratamentos T2, T3, e T4, foram superiores ($P < 0,05$) ao T1, o qual não recebeu suplementação mineral. A excreção do cobre ocorre em maior parte via fezes, sendo que a secreção biliar pode aumentar a reciclagem hepática durante a absorção (McDowell, 1992).

A principal via de excreção do Zn é pelas fezes, pois este elemento é secretado no suco pancreático, limitando em quase sua totalidade a excreção por outro fluido corporal. Houve diferença significativa na excreção de Zn, em função dos tratamentos. Sendo a maior excreção observada no T2, onde este elemento se encontrava na forma inorgânica.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A eficiência da suplementação mineral parece não está associada somente as fontes dos elementos minerais, mas sim ao equilíbrio dos elementos dentro da mistura. O atendimento aos requisitos minerais dos animais requer tempo, pois variações metabólicas podem influenciar diretamente a concentração destes elementos no organismo.

A própria eficácia das diferentes fontes minerais, sejam elas quelatadas ou inorgânicas podem estar relacionadas ao período de fornecimento aos animais, o que influenciara diretamente a sua concentração no organismo e a sua excreção via fezes e urina.

6 CONCLUSÕES

As diferentes formas de minerais suplementares, seja ela inorgânica, quelatada e inorgânica/quelatada, comparadas a dietas sem suplementações destes elementos, não foram capazes de influenciar os parâmetros ruminais, como pH e N-NH₃ e AGV's.

No fígado, as formas quelatadas dos minerais apresentaram maior concentração neste tecido, para todos os elementos testados.

Na excreção urinária, altas excreções de Co (oriundo das fontes quelatadas) e de Cu (do tratamento sem suplementação)

Nas fezes, foram observadas maiores excreções fecais de Zn dos animais que receberam fontes quelatadas deste elemento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA FILHO, S. L. *Minerais para ruminantes* / Sebastião Luiz de Almeida Filho. – Uberlândia: EDUFU, 2016. 138 p.: il.

BALDWIN, R. L. Use of isolated ruminal epithelial cells in the study of rumen metabolism. *J. of Nutrition, (suplement)*, v.128, p.293-296, 1998.

BATISTA, C. G.; COELHO, S. G.; LANA, A. M. Q. et al. Utilização de minerais iônicos ou complexos orgânicos de minerais no pré-parto de vacas Holandesas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, n.5, p.1232-1238, 2012.

BERCHIELLI, T. T.; GARCIA, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudos de nutrição. In: BERCHIELLI, T.T.; PIREZ, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.) *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.

CARVALHO, F. A. N.; BARBOSA, F. A.; MCDOWELL, L. R. Minerais. In: _____. (Eds.). *Nutrição de bovinos a pasto*. Belo Horizonte: PapelForm, 2003. p.157-368.

CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; CHIZZOTTI, F. H. M. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.35, n.4, p.1813-1821, 2006.

CHURCH, D. C. *Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants*. Vol. 1 - Digestive Physiology. 3. ed. Oxford Press Inc., 1979. p.350

CORAH, L. H. & IVES, S. The effects of essential trace minerals on reproduction in beef cattle. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice, Beef Cattle Nutrition*, v. 7, n. 1, p. 41-57, 1991.

COSTA, D. A. *Degradabilidade ruminal e parâmetros da fermentação em dietas contendo Silagem de cana-de-açúcar e caroço de algodão*. 2010. 53 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

DETMANN, E. SOUZA, M. A., VALADARES FILHO, S. C. et al. 2012. *Métodos para Análise de Alimentos* - INCT - Ciência Animal - 214p.

FICK, K. R.; McDOWELL, L. R.; MILES, P. H. et al. *Methods of mineral analysis for plant and animal tissues*. 2nd ed. Gainesville: University of Florida, 1979. 90p.

FOX, D. G.; TEDESCHI, L. O.; TYLUTKI, T. P. et al. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Anim. Feed Scienc. Technol.*, v. 112, n. 1/4, p. 29-78, 2004.

GERMANO, R. M. A. & CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Importância do ferro em nutrição humana. *Nutrire: Rev. Socied. Bras. Aliment.*, São Paulo, SP, v.24, p. 85-104, 2002.

GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Rev. Bras. Hemat. e Hemot.*, v. 30, n. 5, p. 390-397, 2008.

HACKBART, K. S.; FERREIRA, R. M.; DIESTSCHE, A. A. et al. Effect of dietary organic zinc, manganese, copper, and cobalt supplementation on milk production, follicular growth, embryo quality, and tissue mineral concentrations in dairy cows. *J. Anim. Sci.*, v.88, p. 3856-3870, 2012.

HOUSER, R. H; FICK, K. R.; McDOWELL, L. R. O cobalto na nutrição de ruminantes. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO SOBRE PESQUISA EM NUTRIÇÃO MINERAL DE RUMINANTES EM PASTAGENS, 1976, Belo Horizonte. *Anais...* Escola de Veterinária da UFMG, 1976. p.193-201.

HUNGATE, R. E. *The rumen and its microbes*. London, Academic Press, 1966, 533p.

HUNTINGTON, G. B. & ARCHIBEQUE, S. L. Pratical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. *Raleigh: Amer. Society Anim. Scienc.*, 1999. p.1-11.

ITAVO, L. C. V.; SANTOS, G. T.; JOBIM, C. C. et al. Avaliação da silagem de bagaço de laranja com diferentes aditivos por intermédio dos parâmetros de fermentação ruminal de ovinos e contribuição energética dos ácidos graxos voláteis. *Rev. Bras. Zootec.*[online]. 2000, vol.29, n.5, pp. 1491-1497. ISSN 1806-9290.

KANEKO, J. J. *Clinical biochemistry of domestical animals*. 4º edition, San Diego, Academic Press, 1989, 932 p.

MALAFAIA, P. A. M.; VALADARES FILHO, S. C.; VIEIRA, R. A. M. et al. Determinação das frações que constituem os carboidratos totais e da cinética ruminal da fibra em detergente neutro de alguns alimentos para ruminantes. *Rev. Bras. Zootec.*, v.27, p.790-796, 1998.

McDOWELL, L. R. *Minerals in animal and human nutrition*. New York: Academic Press, p.524, 1992.

McDOWELL, L. R. *Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil*. Gainesville: Universidade da Florida, (Boletim técnico), 1999.

MEHREZ, A. Z.; ÆRSKOV, E. R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *Br. J. Nutr.*, 38(3):437-443. 1977.

MENDES, M. O.; CONRADE, J. H; HOUSER, R. H; McDOWELL, L. R. Viabilidade da Técnica de Biópsia na determinação dos teores de certos minerais em bovinos. *Arquivos da Univers. Federal Rural do Rio de Janeiro*,v.5,n.1,p.55-60,1982.

MENDES, R. S.; SILVA, A. M. A.; SILVA, G. L. S. et al. Exigência líquida de zinco, cobre e ferro para cordeiros em pastejo no semiárido. *Acta Scient. Anim. Scienc.*, v. 32, n. 3, p. 279-284, 2010.

MORAES, S. S. *Importância da suplementação mineral para bovinos de corte*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 26 p., 2001.

MORAES, S. S. *Importância da suplementação mineral para bovinos de corte*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, MS, 27 p. – Documento 114. 2001a.

MOTA, M. F.; VILELA, D.; SANTOS, G. T. et al. Parâmetros ruminais de vacas leiteiras mantidas em pastagem tropical. *Arch. Zootec.* [online]. 2010, vol.59, n.226, pp. 217-224.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 7. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Mineral Tolerance of Domestic Animals. Second Revised Edition*. Washington, D.C.: National Academy of Sciences. 2005. 586 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. *Nutrient Requirement of Small Ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids*. Washington: National Academic of Science, 2007. 362p

OLSON, K. C.; COCHRAN, R. C.; JONES, T. J. et al. Effects of ruminal administration of supplemental degradable intake protein and starch on utilization of low-quality warm-season grass hay by beef steers. *J. Anim. Scienc.*, 1999;77:1016–1025.

PASA, C. Relação reprodução animal e os minerais. *Rev. Bio.*, v. 9, n.1, p. 101-122, 2010.

PERKIN-ELMER. *Catálogo de análise espectrofotometria*, 1992.

PRESTON, T. R. Analytical methods for characterizing. In: Feed resources for ruminants. Better utilization of crop residues and by products in animal feeding: research guidelines. A practical manual for research workers. Rome: FAO, 1986. p.106.

RUSSELL, J. B. & MANTOVANI, H. C. The Bacteriocins of Ruminant Bacteria and Their Potential as an Alternative to Antibiotics. *Journ. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, (2002) 4(4): 347–355. 2002.

SANTOS, J. E. P. Efetividade do uso de minerais orgânicos para bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 8, 2006, Piracicaba, *Anais...FEALQ*, p.191-213, 2006.

SILVA, J. F. C. & LEAO, M. I. *Fundamentos de nutrição de ruminantes*. Piracicaba, SP, Livroceres, 1979. 380p.

SILVA, D. J. & QUEIROZ, A. C. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3 ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SPEARS, J. W. Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. *The Journal of Nutrition*, 133, p. 1506S -1509S, 2003.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. Accounting for the effects of a ruminal nitrogen deficiency within the structure of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. *J. Anim. Scienc.*, 2000;78:1648–1658.

TOKARNIA, C. H.; GUIMARÃES, J. A.; CNELLA, C. F. C., DÖBEREINER, J. Deficiências de cobre e cobalto em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras. Série Veter.*, v.6, p.61-77, 1971.

UNDERWOOD, E. J. *Los minerales en la nutrición del ganado*. 2ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1983, 210 p.

UNDERWOOD, E. J. & SUTTLE, N. F. *The mineral nutrition of livestock*. Labi Publishing, New York. p. 614, 1999.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. New York: Cornell University Press, 1994, 476p.

ZANETTI, M. A. Efeitos dos minerais orgânicos na nutrição de bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6., 2014, São Pedro. *Anais...* São Pedro: [s.n.] 2014, p. 36-53