

Universidade Camilo Castelo Branco  
Campus Descalvado São Paulo

JACKSON ANTÔNIO RIBEIRO MARTINS

DESEMPENHO E GLICOSE PLASMÁTICA DE BEZERRAS LACTENTES  
SUPLEMENTADAS COM DOSES DE CROMO ORGÂNICO INJETÁVEL

PERFORMANCE AND PLASMA GLUCOSE INFANT'S CALVES SUPPLEMENTED  
WITH ORGANIC CHROMIUM INJECTABLE DOSES

Descalvado, SP

2016

Jackson Antônio Ribeiro Martins

DESEMPENHO E GLICOSE PLASMÁTICA DE BEZERRAS LACTENTES  
SUPLEMENTADAS COM DOSES DE CROMO ORGÂNICO INJETÁVEL

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Produção Animal da Universidade Camilo Castelo Branco, como complementação  
dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Descalvado, SP

2016

## Ficha Catalográfica

M343d Martins, Jackson Antônio Ribeiro  
Desempenho e glicose plasmática de bezerras lactentes suplementadas com doses de Cromo Orgânico injetável / Jackson Antônio Ribeiro Martins. -- Descalvado, 2016. 53 f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientador: Profº Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo

1. Cromo. 2. Perfil metabólico. 3. Quelato. 4. Ruminantes. 5. Suplementação. I. Título.

CDD 636.2085

## FOLHA DE AUTORIZAÇÃO PARA A PUBLICAÇÃO

### Termo de Autorização

#### Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respetivo Programa da UNICASTELO e no Banco de Teses da CAPES

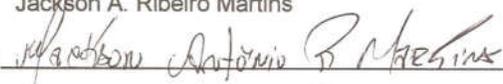
Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a UNICASTELO a disponibilizar através do site <http://www.unicastelo.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

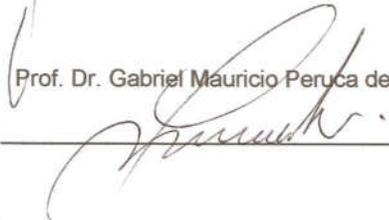
Título do Trabalho: **“DESEMPENHO E GLICOSE PLASMÁTICA DE BEZERRAS LACTENTES SUPLEMENTADAS COM DOSES DE CROMO ORGÂNICO INJETÁVEL”**

Autor(es):

Discente: Jackson A. Ribeiro Martins

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Mauricio Peruca de Melo

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Data: 21 de março de 2016

Unicastelo  
Universidade Camilo Castelo Branco

## Certificado de aprovação

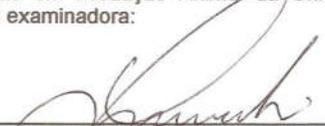
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal

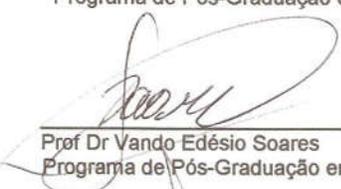
### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

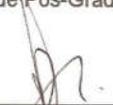
**Jackson A. Ribeiro Martins**

**“DESEMPENHO E GLICOSE PLASMÁTICA DE BEZERRAS LACTENTES  
SUPLEMENTADAS COM DOSES DE CROMO ORGÂNICO INJETÁVEL”**

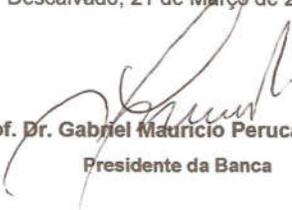
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Camilo Castelo Branco, pela seguinte banca examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo  
(Orientador)  
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Vando Edésio Soares  
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Wanderley José de Melo  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária  
UNESP-Jaboticabal

Descalvado, 21 de Março de 2016

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo  
Presidente da Banca

# DESEMPENHO E GLICOSE PLASMÁTICA DE BEZERRAS LACTENTES SUPLEMENTADAS COM DOSES DE CROMO ORGÂNICO INJETÁVEL

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo determinar os efeitos da suplementação de cromo orgânico em bezerras lactentes da raça Holandesa, avaliando o desempenho ponderal e teores plasmáticos de glicose. Foi realizado o experimento em delineamento inteiramente casualizado em esquema de análise de medidas repetidas no tempo, com três tratamentos (T1 – testemunha; T2 - suplementação parenteral de cromo orgânico, 2 mL/animal (100 mg) aplicados em intervalos de 28 dias e T3 - suplementação parenteral de cromo orgânico, 4 mL/animal (200 mg) aplicados em intervalos de 28 dias) 7 repetições em período experimental de 84 dias, sendo que os animais apresentaram peso médio de 38,96 kg. A suplementação com cromo orgânico promoveu melhora no desempenho ponderal das bezerras (21,90% superior), o melhor desempenho pode ser explicado através das alterações promovidas no perfil metabólico dos animais suplementados. Entre os fatores ligados ao metabolismo energético, nota-se que os níveis de glicose foram superiores nos animais suplementados. A suplementação de cromo orgânico em bezerras da raça Holandesa permite ganho de peso adicional sem comprometer o perfil metabólico destes animais.

**Palavras-chave:** cromo, perfil metabólico, quelato, ruminantes, suplementação

## PERFORMANCE AND PLASMA GLUCOSE INFANT'S CALVES SUPPLEMENTED WITH ORGANIC CHROMIUM INJECTABLE DOSES

### ABSTRACT

This study aimed to determine the effects of organic chromium supplementation in infants Holstein heifers, assessing weight gain and plasma glucose levels. The experiment was conducted in a completely randomized design in a repeated measures analysis scheme in time, with three treatments with an average weight of 38.96 kg (T1- Control; T2 - parenteral supplementation of organic chromium, 2 mL/ animal (100 mg) applied every 28 days and T3 - parenteral supplementation of organic chromium, 4 mL/ animal (200 mg) applied every 28 days) 7 repeats trial period of 84 days. Supplementation with organic chromium promoted improvement in weight gain of heifers (21.90% higher), the best performance can be explained by the changes introduced in the metabolic profile of the supplemented animals. Among the factors related to energy metabolism, it notes that glucose levels were higher in the supplemented animals. The organic chromium supplementation in heifers Holstein allows additional weight gain without compromising the metabolic profile of the animals.

**Keywords:** chromium, chelate, metabolic profile, supplementation

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação da Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal e Pesquisa Trimestral do Leite 2005-2014.....	15
<b>Figura 2:</b> Estrutura básica de proteinato. ....	18
<b>Figura 3:</b> Estrutura básica de proteinato. ....	19
<b>Figura 4:</b> Estrutura de um quelato .....	21
<b>Figura 5:</b> Modelo de ação do cromo na célula.....	23
<b>Figura 6:</b> Vias de transporte, acúmulo, utilização e excreção propostas para o $Cr^{+3}$ .....	23
<b>Figura 7:</b> Dinâmica compartimentada do cromo III no organismo animal e humano. .....	26
<b>Figura 8:</b> Fluxograma demonstrando definições envolvidas na biodisponibilidade de elementos.....	28
<b>Figura 9:</b> Flúor de Enxofre (INSULÚVEL) X Quelato de Enxofre (SOLÚVEL) .....	33
<b>Figura 10:</b> Evolução dos sinais clínicos da deficiência de minerais traços.....	38
<b>Figura 11:</b> Fêmeas da raça Holandesa, alojadas em abrigos individuais.....	40
<b>Figura 12:</b> Contenção de animal para obtenção de peso vivo em jejum. ....	40
<b>Figura 13:</b> Coleta de sangue através de punção da veia jugular.....	40
<b>Figura 14:</b> Tubos destinados à análise bioquímica e elementar e dosagem de glicose. .....	41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Biodisponibilidade dos elementos minerais na forma orgânica e inorgânica. .....	27
<b>Tabela 2:</b> Alterações no órgão alvo do cobalto e do cobre em função do quelante utilizado na quelação.....	31
<b>Tabela 3:</b> Sinais da deficiência de cromo em humanos e animais .....	34
<b>Tabela 4:</b> Comparação da toxicidade do cromo e do zinco na sua forma de sal ou quelado. ....	36
<b>Tabela 5:</b> Dados de ganho de peso médio, expressos em kg/animal, em função da suplementação e da época de amostragem.....	42
<b>Tabela 6:</b> Valores de glicose plasmática. ....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAFCO.....	association of american feed control officials
AGL.....	ácidos graxos não esterificados ou livre
AGV.....	ácidos graxos voláteis
Al.....	alumínio
ALP .....	fosfatase alcalina
ALT.....	alanina aminotransferase.
As.....	arsênico
AST .....	aspartato aminotransferase
BHB.....	$\beta$ hidroxibutirato
BHBA.....	ácido $\beta$ hidroxibutirato
BRD.....	doenças respiratória bovina
BRSV.....	vírus sincicial respiratório bovino
BVD.....	diarréia viral bovina
Ca.....	cálcio
CEPEA.....	centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
Cl.....	cloro
Cr... ..	cromo
CrNic.....	complexado com ácido nicotínico
CrPic.....	cromo complexado com niacina (Picolinato de cromo)
Cu.....	cobre
CV.....	coeficiente de variação
DL50.....	dose letal
DMS.....	diferença mínima significativa
F.....	flúor
Fe.....	ferro
GH .....	somatropina
GLDH.....	glutamato desidrogenase
GLUT-4 .....	transportador de Glicose tipo 4
GTF .....	fator de tolerância à glicose
HDL .....	classe de lipoproteínas de alta densidade (High Density Lipoprotein-HDL)

I.....	iodo
IBGE.....	instituto Brasileiro de Geografia
IBR.....	rinotraqueíte Infecciosa Bovina
IGF1.....	fator de crescimento semelhante à insulina
K.....	potássio
LDL.....	lipoproteína de baixa densidade (low Density lipoprotein- LDL)
Mg.....	magnésio
Mn.....	manganês
Mo.....	molibdênio
MS.....	matéria Seca
Na.....	sódio
NEFA.....	ácido graxos não esterificados
Ni.....	níquel
NRC.....	comitê on Animal Nutrition
P.....	fosforo
PI 3.....	parainfluenza 3,
PTH.....	paratormônio
PV.....	peso vivo
S.....	coordenada geográfica de latitude sul
S.....	enxofre
Se.....	selênio
Si.....	silício
Sn.....	estanho
TCA.....	tricloroacético
TG.....	triglicerídeos
USDA.....	United States Department of Agriculture
V.....	vanádio
VLDL.....	lipoproteínas de muito baixa densidade (very low density lipoprotein)
WGR.....	coordenada geográfica de longitude

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
1.1. Relevância do tema .....	14
1.2. Fundamentação .....	14
1.2.2. Minerais na nutrição animal .....	15
1.2.3. Funções dos minerais no organismo.....	16
1.2.4. Minerais na forma orgânica.....	17
1.2.5. Cromo .....	20
1.2.6. Imunidade e resistência às doenças .....	31
1.2.7. Deficiência, toxicidade e exigência .....	33
1.3. Hipótese e objetivos.....	37
1.3.1. Objetivos específicos .....	37
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
2.1. Local do experimento .....	38
2.2. Animais .....	38
2.3. Manejo alimentar .....	39
2.4. Delineamento experimental e tratamentos.....	39
2.5. Duração experimental .....	39
2.6. Pesagem dos animais.....	39
2.7. Amostragem e avaliações nas amostras de sangue.....	40
2.7.1. Teor de glicose no plasma .....	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.1. Desempenho ponderal.....	42
3.2. Glicose plasmática .....	43
4. CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47

## 1. INTRODUÇÃO

Antigamente acreditava-se que os animais deveriam ser alimentados por apenas três nutrientes ativos para o organismo: proteínas, carboidratos e lipídeos.

Na suplementação mineral de ruminantes, alguns micronutrientes exigidos em menores quantidades por possuírem maior custo de aquisição e cuja deficiência não promova distúrbios visíveis, acabam sendo retirados da dieta.

Esses nutrientes geralmente têm menor impacto em relação às deficiências de proteína e energia no desempenho ponderal, porém as deficiências destes elementos afetam inicialmente a eficiência do sistema imunológico, posteriormente à reprodutiva e, em um estado mais avançado, o crescimento.

A busca por incremento na atividade pecuária de leite e corte com o objetivo de melhores resultados econômicos fez com que a pesquisa em genética torna-se mais avançada, através da: inclusão de novas raças, cruzamentos e procedimento de seleção da população genética - desta forma produzindo animais com maiores exigências nutricionais, já que estes iram produzir maiores volumes de leite durante as suas lactações e maiores volumes de carne em menor tempo de vida, resultando em uma maior necessidade de nutrientes antes considerados não vitais para o aumento da produção animal, visto que os principais alimentos utilizados na alimentação animal passaram a não suprir as novas exigências.

Evidências consistentes sobre a função do cromo no metabolismo levaram à avaliação do requerimento deste, para várias espécies como; gatos, macacos, coelhos, aves, suínos, humanos e bovinos <sup>(1)</sup>, após vários estudos o cromo foi incluso na lista dos minerais essenciais em 1959. <sup>(2)</sup>

O *Committe on Animal Nutrition*, NRC (1997), abordou resultados de 27 trabalhos com gado de leite, 20 com gado de corte e 07 com ovinos submetidos a dietas com intervalos entre 0,79 e 160 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca e consumo médio de cromo entre 5,5 e 10 mg kg<sup>-1</sup>. Concluiu-se haver inconsistência dos resultados, dificultando a definição de níveis adequados de suplementação de cromo <sup>(3)</sup>.

Desta forma, este trabalho buscou estudar a interação da suplementação parenteral de cromo orgânico, no desempenho ponderal e nos níveis de glicose plasmática de bezerras recém-nascidas da raça Holandesa na fase de aleitamento visando contribuir no estabelecimento da exigência do mineral cromo para esta categoria animal.

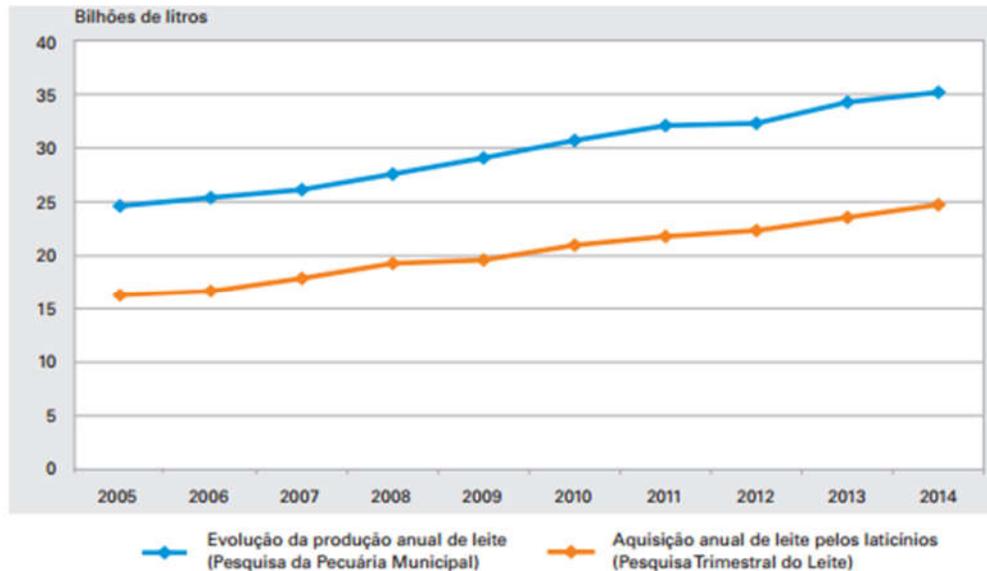
### **1.1. Relevância do tema**

Em virtude da inconsistência de dados publicados na literatura consultada, o trabalho foi desenvolvido visando contribuir para o uso nutracêuticos da suplementação parenteral de cromo orgânico para bezerras da raça Holandesa em aleitamento, avaliando desempenho e os efeitos sobre teores plasmáticos de glicose.

### **1.2. Fundamentação**

#### **1.2.1 Produção Nacional de leite nacional**

A produção de leite nacional cresceu 40% em 10 anos, saindo de aproximadamente 25 bilhões de litros ano em 2005 para 35 bilhões de litros ano em 2014, conforme a Figura 1, demonstrando um grande incremento em produtividade. O mesmo gráfico aborda a aquisição de leite pelos laticínios, que cresceu conforme ao aumento de produção <sup>(3)</sup>.



**Figura 1:** IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação da Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal e Pesquisa Trimestral do Leite 2005-2014.

**Fonte:** Adaptado de

[http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2014\\_v42\\_br.pdf](http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2014_v42_br.pdf)

Para o CEPEA 2014 <sup>(4)</sup>, quando os dados do USDA são compilados com os dados do IBGE 2014 <sup>(3)</sup>, verifica-se que o Brasil é o quarto maior produtor mundial de leite, ficando apenas atrás de: 1- Índia, 2 - Estados Unidos da América, e 3 - China.

### 1.2.2. Minerais na nutrição animal

Elementos minerais variavelmente não são encontrados em quantidades suficiente nos alimentos, podendo comprometer a resposta animal, desta maneira ocorre à necessidade de uma suplementação para compensar essa deficiência <sup>(5)</sup>.

Planejamentos devem ser elaborados para suprir as exigências de minerais dos animais, que, quando não supridos, iram determinar alterações metabólicas, envolvidas ao desempenho produtivo <sup>(6)</sup>.

A deficiência no suprimento de complexos minerais leva a menor produção (leite e carne), distúrbios reprodutivos, baixo crescimento, abortos,

fraturas e baixa da imunidade. A deficiência severa, associada por taxas de alta mortalidade, assim como as deficiências subclínicas, na qual os sintomas não são notados clinicamente, limitam os padrões da produção animal <sup>(7)</sup>.

Novos estudos objetivam determinar as exigências de minerais nos animais, estes estudos visam à redução dos níveis desses elementos na dieta, buscando diminuir os custos de produção e principalmente a excreção de elementos inorgânicos para o meio ambiente, sem alterar a produção animal <sup>(6)</sup>, já que com o avanço genético novos requerimentos nutricionais foram estabelecidos, As pesquisas mais avançadas estão avaliando a inter-relação entre minerais e seus efeitos via balanço de minerais nos animais, através da dieta fornecida <sup>(8) (9)</sup>.

Os minerais podem ser classificados em macro ou micro minerais, em função da sua maior ou menor exigência nutricional. Os macrominerais são requeridos em quantidades maiores que 100 ppm, sendo recomendados e inclusos nas formulações em porcentagem na matéria seca (MS) ou g/kg, enquanto os microminerais são requeridos em quantidades menores que 100 ppm, e são recomendados e inclusos nas formulações em mg/kg <sup>(10)</sup>.

O *National Research Council* para bovinos de corte (NRC) estabelece sete macrominerais (enxofre (S), cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), potássio (K), sódio (Na) e cloro (Cl) ) e 17 microminerais, elementos traços (cobre (Cu), cobalto (Co), molibdênio (Mo) , zinco ( Zn), ferro (Fe), flúor (F), selênio (Se), silício (Si), alumínio (Al), cromo (Cr), vanádio (V), níquel (Ni), iodo(I), arsênico (As), estanho (Sn), vanádio (V) e manganês (Mn)) como essenciais na nutrição de ruminantes <sup>(11)</sup>.

### 1.2.3. Funções dos minerais no organismo

Os minerais realizam até quatro funções no organismo animal, mesmo as funções serem diferentes, a mesma não é de exclusividade de um elemento mineral, na qual um mineral pode realizar mais de uma função específica, sendo <sup>(12)</sup>:

**Estrutural:** Integram estruturas nos órgãos e tecidos do corpo, como: Ca, P, Mg, nos ossos e dentes e P e S nas proteínas do músculo, Zn e P

contribuem com a estabilidade estrutural de moléculas e membranas das quais fazem parte <sup>(12)</sup>;

**Fisiológica:** Presente nos fluidos e tecidos como eletrólitos e estão relacionados com a manutenção da pressão osmótica, do balanço acidobásico, da permeabilidade de membranas e irritabilidade dos tecidos, como: Na, K, Cl, Ca, e Mg no sangue, fluido cérebro espinhal e suco gástrico, e o Cr no metabolismo da glicose <sup>(6) (12) (10)</sup>;

**Catalítica:** Atuam como catalisadores nos sistemas enzimáticos e hormonais, como componentes da estrutura de metal proteínas ou como ativador do sistema, Exemplo: cobre, zinco, selênio, cromo <sup>(6) (12) (13)</sup>;

**Reguladora:** Novos estudos identificaram a ação reguladora dos minerais na replicação e diferenciação celular. Por exemplo, o cálcio, que está relacionado ao sinal de transdução e o Zn na transcrição durante o mecanismo de síntese proteica no organismo animal <sup>(12)</sup>.

## **1.2.4. Minerais na forma orgânica.**

### **1.2.4.1. Conceitos**

Empresas privadas de suplementação mineral na nutrição animal têm adotado a utilização de elementos traços na forma orgânica em suas formulações, aproximadamente um quarto da exigência animal. Porém, não é descrita qual a fonte de mineral orgânico utilizado e nem a sua inclusão na dieta, determinado pela falta de estudos e dados de literatura sobre os efeitos de desempenho e reações adversas no organismo animal pelo uso prolongado do mineral quelatado, caso esse facilmente observado pelo cromo <sup>(13)</sup>.

Minerais orgânicos são aqueles ligados a uma molécula orgânica (quelante), que pode ser um aminoácido (unidade estrutural da proteína), carboidrato (açúcar) ou ácido orgânico. Quando ligado a moléculas orgânicas, o mineral deixa de ser um íon, isto é, uma partícula com carga positiva e negativa, e, assim, teria uma menor interação com outros minerais e uma maior biodisponibilidade quando comparado às formas inorgânicas <sup>(10)</sup>.

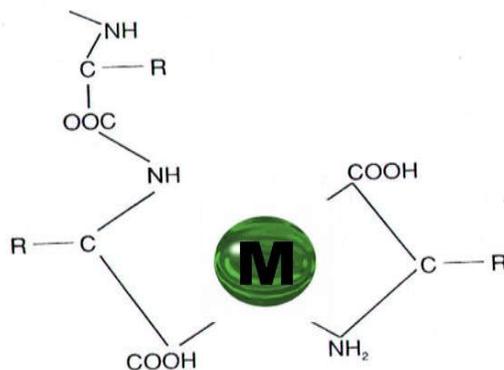
Vários trabalhos relatam que os elementos traços na forma orgânica melhoram a produção animal, porém é baixo o conhecimento sobre a estrutura

física destes complexos orgânicos e sobre os processos fisiológicos relacionados, que vai da absorção do trato digestivo até a utilização pelos tecidos. <sup>(14)</sup>

Para *Association of American Feed Control Officials (AAFCO)* <sup>(15)</sup>, que estabelece os padrões de qualidade e segurança aos alimentos destinados a nutrição dos animais, os minerais orgânicos podem ser classificados como:

**Metal e aminoácidos complexados:** produto resultante da complexação de um sal solúvel com um ou mais aminoácidos, não sendo necessário citar a fonte de aminoácido utilizada, caso do complexo ferro aminoácido e do complexo potássio aminoácido.

**Metal na forma de proteinado:** produto resultante da quelação de um sal solúvel com aminoácidos e/ou fragmentos oriundos de hidrólise proteica, caso do proteinado de zinco e do proteinado de manganês. A Figura 2 ilustra a estrutura básica de um proteinato representado pela letra M, é ocupado por minerais da primeira série de transição da tabela periódica. Estas estruturas são estáveis com relação à variação de pH e são eletricamente neutras. <sup>(17)</sup>

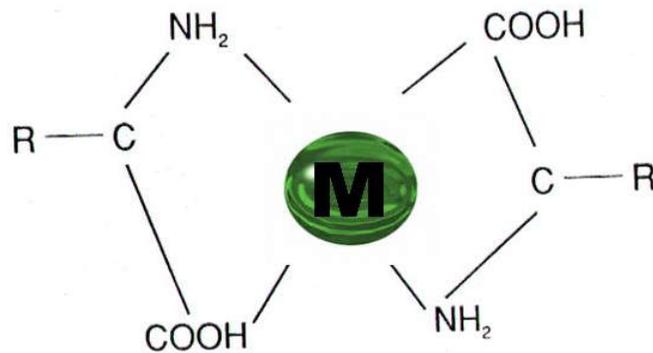


**Figura 2:** Estrutura básica de proteinato.

**Fonte:** VANDERGRIFT, 1993

**Metal quelado:** Em 1894 o alemão Warner observou a estrutura química de um quelato. Porém foi somente em 1920 que surgiu o termo quelato, do grego "chel" (preso), descrito por dois pesquisadores americanos (Morgan e Drew) como sendo uma estrutura composta por um núcleo central e dois ligantes, formando uma estrutura heterocíclica <sup>(18)</sup>. O ligante ou quelante contém, no mínimo, dois grupos funcionais, que podem ser o oxigênio, o nitrogênio, o grupo

amino ou o grupo carboxílico, capazes de doar um par de elétrons para formar uma ligação covalente com um metal <sup>(16)</sup>. A verdadeira estrutura de um quelado é dada como o produto resultante da reação de um íon metálico com aminoácido através de ligações covalentes, apresenta relação molar (metal/aminoácido) entre 1:1 e 1:3, sendo preferível a relação de 1:2, e peso molecular da estrutura deve ser de aproximadamente 800 Dalton, sendo sugerido 1000 Dalton, deste modo pode ser absorvido diretamente pela membrana celular de células intestinais <sup>(15)</sup>. A estrutura de um quelado pode ser observada na Figura 3 <sup>(17)</sup>. O centro, representado pela letra M, pode ser ocupado por elementos pertencentes à primeira série dos metais de transição (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn) <sup>(17)</sup>.



**Figura 3:** Estrutura de um quelato

Fonte: VANDERGRIFT, 1993

Para Medeiros <sup>(10)</sup> ainda existem outras formas de minerais orgânicos, que são:

**Complexo Metal polissacarídeo:** Não ocorre ligação entre o mineral e os polissacarídeos (açúcar), o mineral está incorporado a matriz orgânica, deixando de existir a interferência do íon com outros ingredientes.

**Propionato metálico:** É dada através da ligação de um íon metálico com moléculas de ácido propiônico, está em início de pesquisa, são moléculas estáveis, mas altamente solúveis.

## 1.2.5. Cromo

### 1.2.5.1. Histórico, dinâmica e fisiologia do cromo no organismo

O cromo foi relatado pela primeira vez como um nutriente essencial para o metabolismo normal da glicose em ratos por Schwarz e Mertz (1959) apud BERNHARD et al., (2012).<sup>(19)</sup>

A identificação da biomolécula, a qual o cromo está associado, foi dada em 1955, quando Mertz e Schwarz, realizando pesquisa com o efeito da infusão de glicose intravenosa em ratos, observaram o desenvolvimento da intolerância à glicose e lesão necrótica no fígado. Em 1957, os autores identificaram um fator dietético responsável por estas alterações, resultando em um novo requerimento, dietético, denominado fator de tolerância à glicose (GTF). Estes pesquisadores, posteriormente, identificaram que o elemento ativo do GTF era o cromo.<sup>(20)</sup>

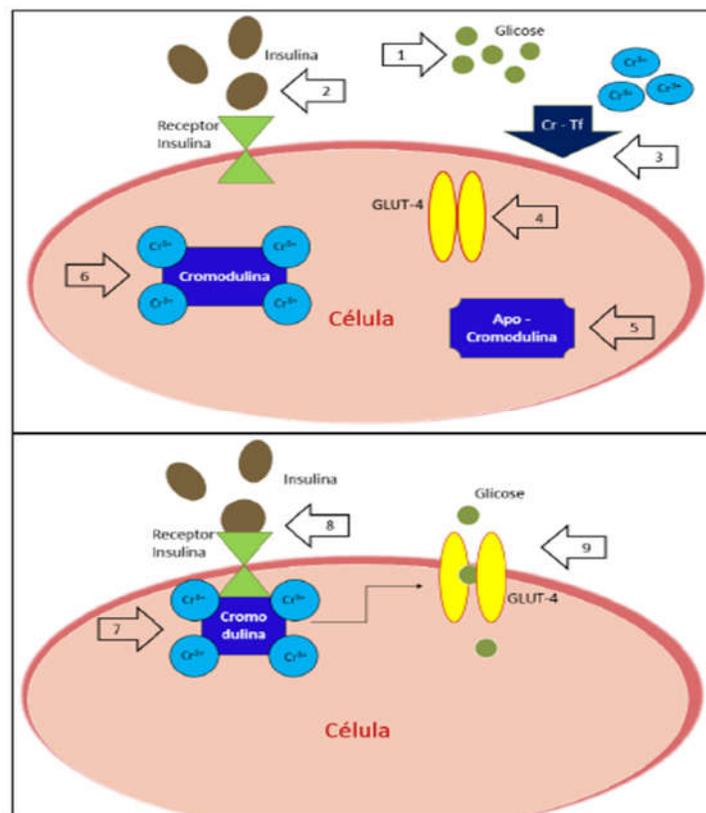
O cromo é um elemento de transição encontrado nos estados oxidados 0, 2<sup>+</sup>, 3<sup>+</sup>, 6<sup>+</sup>, sendo o estado trivalente (Cr<sup>3+</sup>) o mais estável<sup>(2)</sup>, é encontrado primeiramente nos tecidos, como organometálica composta de Cr, ácido nicotínico, ácido glutâmico, glicina e cisteína, sendo conhecido como fator de tolerância a glicose. Sem Cr, o fator de tolerância é inativo; o Cr potencializa o efeito da insulina ou facilita a interação dela com seu receptor nos tecidos.<sup>(21)</sup>  
<sup>(22)</sup>

As funções do cromo estão principalmente relacionadas ao metabolismo de carboidratos, mas também em menor grau o metabolismo proteico e lipídico.  
<sup>(23)</sup>

Quando ligada ao seu receptor, a insulina potencializa a absorção celular e a utilização da glicose sanguínea. Uma vez absorvida pela célula, a glicose é utilizada como fonte de energia que, junto com as ações de hormônios - como o do crescimento - e o IGF1 (fator de crescimento semelhante à insulina), estimula a síntese de proteínas, o crescimento de tecidos magros, à menor deposição de gordura corporal e colesterol sanguíneo, manutenção e funcionamento de outros órgãos.<sup>(23)</sup>

A Figura 4 retrata como é dado o mecanismo ação do Cr sobre a célula, da seguinte forma: (1) Devido ao aumento da glicemia, (2) ocorre à secreção da insulina para circulação, que se liga ao seu receptor localizado na face externa

da membrana plasmática. (3) Com o aumento da insulina ocorre a movimentação do Cr para células-alvo, transportada normalmente pela transferrina, que são absorvidos por endocitose, devido ao pH ácido no espaço intravesicular ocorre a digestão do complexo e a liberação do Cr para o citosol. (4) Transportador de glicose (GLUT-4) é representado no interior da célula sem realizar o transporte da glicose. (5) A estocagem da cromodulina é na forma Apo. (6) Quando quatro íons de Cr juntam-se a apocromodulina transformando em ativa sob a forma de cromodulina, (7) que liga-se ao sítio ativo no receptor insulínico, (8) levando a ativação do mesmo e aumentando o sinal da insulina, (9). Várias reações de fosforilação em cascata ocorrem translocando a GLUT-4 para a membrana plasmática, ocorrendo à absorção da glicose a nível celular. (25) (26)



**Figura 4:** Modelo de ação do cromo na célula.

**Fonte:** VINCENT, 2000

O cromo é absorvido primeiramente no intestino delgado, com absorção mais ativa no jejuno e, em menor intensidade, no íleo e no duodeno (20). A sua

absorção pode ser diminuída através barreira intestinal formada pelo pH, pela viscosidade intestinal e por condições físico-químicas do intestino. <sup>(29)</sup>

Após a introdução de cloreto de cromo no estômago de ratos, observou-se que 99% do metal presente no sangue encontravam-se associado aos componentes não celulares, sendo que 90% estavam associados à fração  $\beta$ -globulina dos quais 80% estava ligada à transferrina, que apresenta peso molecular de 80000 Da. Em humanos, do total circulante de transferrina, 30% se encontrava associado ao ferro e os 70% restantes encontravam-se em forma livre para transportar outros minerais. Estudos “*in vitro*” demonstram que a transferrina pode transportar dois átomos de cromo, da mesma forma que ocorre com o ferro. <sup>(28)</sup>

A Figura 5 demonstra a distribuição e excreção do cromo, após a sua absorção, o Cr é transportado no plasma através da transferrina e armazenado por grandes períodos no fígado e pulmões, tendo a sua principal via de eliminação através da urina, já na Figura 6 verifica-se que o cromo total no plasma é distribuído em uma parte presa à proteína (transferrina) e em uma parte livre, os órgãos utilizam o cromo na forma presa à proteína e o retorno deste se dá na forma livre. O cromo armazenado no fígado e nos pulmões apresenta uma meia vida maior, de aproximadamente 4 dias, já o cromo estocado nos demais órgãos apresenta meia vida inferior, de 1 ou 2 horas. <sup>(30)</sup>

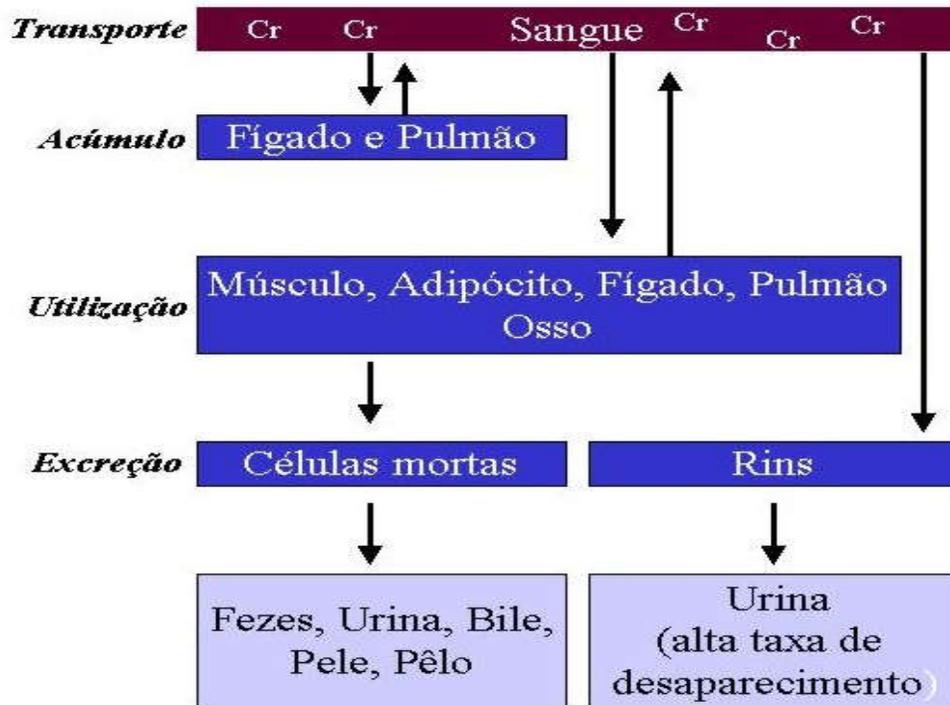


Figura 5: Vias de transporte, acúmulo, utilização e excreção propostas para o Cr+3

Fonte: NRIAGU e NIEBOER, 1988

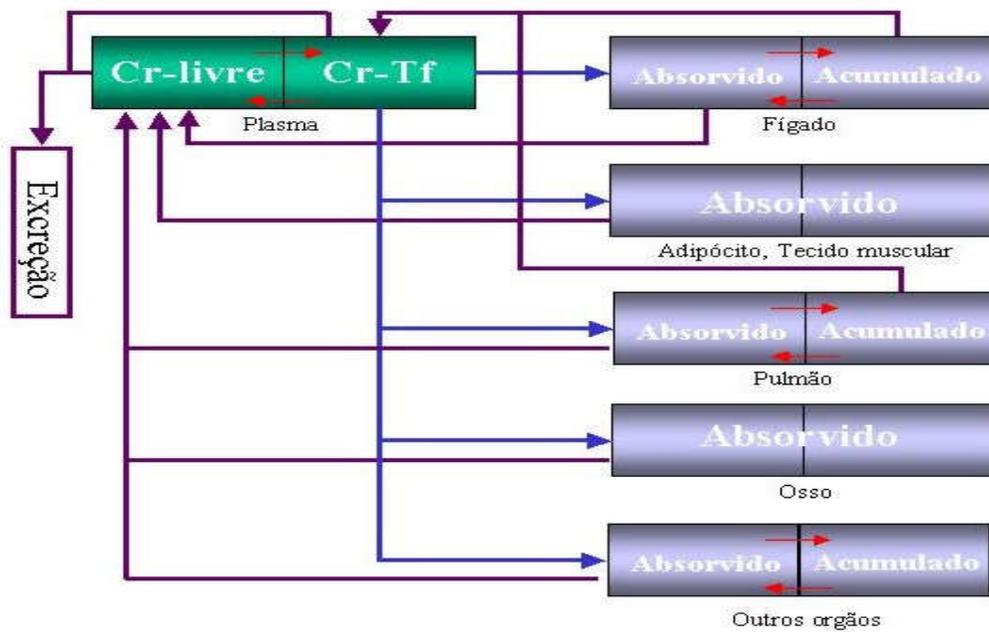


Figura 6: Dinâmica compartimentada do cromo III no organismo animal e humano.

Fonte: NRIAGU e NIEBOER, 1988

Algumas das fontes utilizadas como suplemento de cromo não estão na forma em que o organismo possa utilizá-lo eficientemente, sendo assim, neste caso, não é possível converter o cromo para forma biologicamente ativa de GTF.

(13)

A fisiologia do Cr organismo é dada através do estado de oxidação do mineral, em estudo conduzido por Edel et al. <sup>(31)</sup> utilizando elemento marcado em ratos, foi observado que o  $\text{Cr}^{+3}$  é transportado em sua maior parte no plasma sanguíneo, já o  $\text{Cr}^{+6}$  estava associado aos glóbulos vermelhos. Após absorção, o  $\text{Cr}^{+6}$  acumulou-se em sua maior parte nos rins (concentração 10 vezes superior ao  $\text{Cr}^{+3}$ ) e a concentração nos outros tecidos também foi mais uniforme e superior ao  $\text{Cr}^{+3}$ , este último ocorreu em maior concentração no fígado (5,5 vezes superior ao  $\text{Cr}^{+6}$ ). Quanto à excreção, o  $\text{Cr}^{+6}$  foi mais excretado e a principal via foi a urina. Desta forma, no estado de oxidação  $\text{Cr}^{+3}$ , o cromo foi retido no organismo, particularmente no fígado, podendo ser utilizado em condições específicas para elaboração de sua forma biologicamente ativa, o GTF.

O exercício frequente e o estresse causam elevação na excreção de cromo pelos animais <sup>(19)</sup>, o estresse modifica o metabolismo da glicose, que se torna menor e simultaneamente ocorre o aumento da concentração do hormônio cortisol no sangue. O cortisol reage de forma antagônica à insulina, evitando a entrada da glicose no tecido periférico (músculo e gordura), economizando-a para tecidos com elevada demanda (cérebro e fígado). Resultando na elevação do teor de glicose sanguínea e a subsequente mobilização do  $\text{Cr}^{+3}$  dos estoques corporais, mobilização irreversível, sendo o cromo eliminado pela urina. Os fatores que provocaram a elevação da glicose sanguínea foram relacionados com a deficiência de cromo <sup>(24)</sup>.

Não está determinado como o Cr altera a produção de cortisol, mas como ele integra o fator de tolerância à glicose, intensificando a ação da insulina, que é inibida pelos glicocorticoides, poderia inversamente inibi-los. O estresse e as doenças aumentam a excreção urinária de Cr e podem exacerbar a deficiência deste elemento. <sup>(2)</sup>

Para Mowat <sup>(20)</sup> alguns fatores interferem na absorção do cromo, como: baixa ingestão de matéria seca, ingestão de alimentos com baixa biodisponibilidade de cromo, ingestão de alimentos oriundos de solos pobres em cromo, alto nível de minerais interferentes (ferro, zinco e vanádio), baixa

concentração ou menor síntese de precursores dietéticos de cromo biodisponível, como: niacina e aminoácidos, presença de tampões intestinais, baixa concentração de ácido ascórbico. O mesmo autor cita alguns fatores que aumentam a eliminação de cromo pelo organismo: somatotropina bovina, estresse calórico, estresse por transporte, gestação, lactação, exercícios físicos, trauma fisiológico, infecções, obesidade, dietas que aumentam a necessidade de cromo, como: teor elevado de açúcares, alta produção de propionato, suplementação de lipídeos, alta ingestão de nitrogênio não proteico ou nitrogênio solúvel.

A suplementação de cromo aumentou significativamente a concentração do elemento nos ossos e rins. O cromo tem maior concentração nos tecidos em animais que são suplementados com dieta que possuem amido, quando comparado à dieta composta de carboidratos simples, a presença do amido leva a uma digestão e uma passagem pelo intestino, mais lenta, comparada com a dieta contendo açúcares simples. O amido exerceria menor potencial osmótico e absorveria menos água no intestino e a passagem do cromo pelo trato gastrointestinal seria mais lenta, aumentando a absorção. Se essa hipótese for correta, componentes dietéticos que elevem o teor de água no intestino devem diminuir a absorção de cromo <sup>(32)</sup>. A alta ingestão de carboidrato simples (35% do total de calorias) resultou em maior excreção de Cr na urina, em relação à com uma ingestão menor de carboidratos (15% do total de calorias) <sup>(33)</sup>. Em ratos, uma dieta rica em amido resultou em maior concentração do elemento nos tecidos <sup>(32)</sup>. Desta forma, os efeitos do consumo de carboidratos sobre o comportamento do cromo em humanos e animais ainda merecem mais investigação.

A quantidade de cromo presente na dieta afeta sua absorção, o consumo de aproximadamente 10 µg de cromo por dia representou excreção de 2% na urina, enquanto em uma ingestão de 40 µg, apenas 0,4-0,5% de cromo foi recuperado na urina <sup>(34)</sup>. Assim como a fonte de cromo utilizada, estudos conduzidos por Juturu et al <sup>(35)</sup> verificaram diferentes excreções urinária de diferentes formas de cromo após uma única dose de 1000 mg/kg em ratos. A administração de óxido crômico levou a uma concentração de cromo na urina menor que 0,2mg/l, enquanto que a administração de cloridrato de cromo e

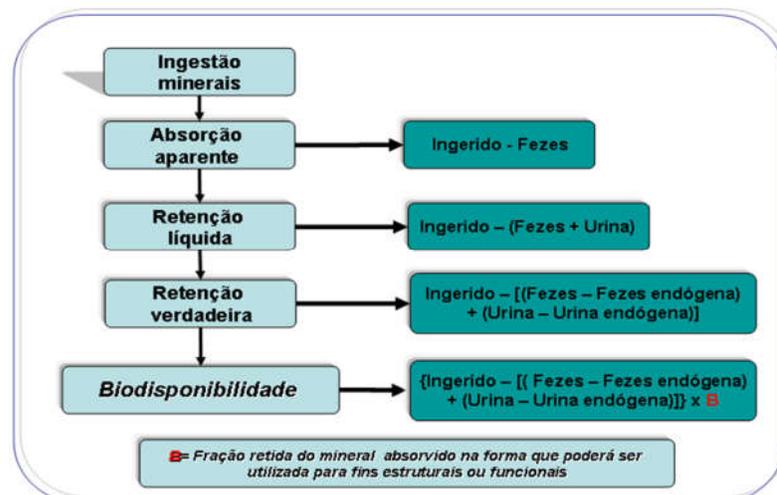
acetato de cromo levou a uma concentração de 174mg/l e 93mg/l na urina, respectivamente.

O ácido ascórbico promoveu maiores concentrações do elemento no plasma, do que a ingestão sem o ácido ascórbico <sup>(36)</sup>.

O número de estudos sobre o cromo nos últimos 40 anos poderia ter sido bem maior se não tivesse ocorrido falhas na diferenciação dos resultados obtidos com o cromo na forma inorgânica, complexos de cromo e cromo na forma biologicamente ativa, como encontrado na natureza. <sup>(28)</sup>

### 1.2.5.2. Biodisponibilidade do cromo orgânico

A biodisponibilidade de elementos essenciais na forma orgânica pode ser definida como a proporção absorvida, deslocada ao sítio de ação e transformada na sua forma fisiologicamente ativa, como ilustrado na Figura 8 <sup>(14)</sup>. Fluxograma esboça as definições envolvidas na biodisponibilidade de elementos. Adaptado de CAMPEN e GLAHN <sup>(37)</sup>.



**Figura 7:** Fluxograma demonstrando definições envolvidas na biodisponibilidade de elementos.

**Fonte:** Adaptado de CAMPEN e GLAHN (1999).

Os estudos têm demonstrado a maior disponibilidade de minerais, quando fornecidos na forma quelada, em torno de 20 a 70% superior, em relação à forma inorgânica <sup>(13)</sup>.

O Cr pode ser encontrado na natureza, tanto na forma orgânica, quanto inorgânica. As fontes orgânicas incluem Cr-L-metionina, complexo cromo-ácido-nicotínico, Cr picolinato e levedura de Cr. A fonte de cromo inorgânica mais comum é o cloreto de cromo<sup>(34)</sup>.

O Cr inorgânico apresenta uma menor absorção, na ordem de 1 – 3 % e uma menor atividade biológica que o Cr-orgânico<sup>(38)</sup>. Por sua baixa taxa de absorção, o Cr inorgânico tem sido utilizado como marcador em estudos de digestibilidade<sup>(14)</sup>.

Os percentuais de biodisponibilidade de alguns elementos traços na forma de sal simples e quelatos são descritos por Maletto, citado por Baruselli e podem ser observados na Tabela 1<sup>(40)</sup>.

É importante lembrar que os minerais na forma orgânica nem sempre apresentam melhor biodisponibilidade que a forma de sal simples, caso do cromo levedura e do cloreto de cromo, do ferro EDTA e do sulfato de ferro. Sendo que o efeito do quelato vai depender basicamente das características do agente quelante, tendo grande importância sua estabilidade no trato gastrointestinal e a solubilidade em água ou lipídeos<sup>(41)</sup>.

**Tabela 1:** Biodisponibilidade dos elementos minerais na forma orgânica e inorgânica.

<b>Elemento mineral</b>	<b>Forma orgânica</b>	<b>Forma inorgânica</b>
Cálcio	92 – 96%	22 – 53%
Magnésio	85 – 94%	26 – 48%
Ferro	87 – 94%	15 – 35%
Zinco	91 – 98%	15 – 29%
Cobre	86 – 92%	27 – 40%
Cobalto	85 – 89%	30 – 36%
Manganês	83 – 87%	12 – 24%

**Fonte:** Adaptada de BARUSELLI, 1999.

As exigências de minerais pelos ruminantes podem ser supridas através dos minerais presentes nos alimentos (volumoso e/ou concentrado) ou pela adição de minerais à dieta, podendo ser na forma de sal simples ou complexado. Porém somente a ingestão destes não leva a provável absorção, devido a vários fatores. Os minerais na forma de sais são mais biodisponíveis que os presentes

nos alimentos, os elementos minerais na forma de sulfatos são mais absorvidos que óxidos e carbonatos. Um fator de suma importância com relação à biodisponibilidade de minerais inorgânicos diz respeito à solubilidade, ou seja, quanto maior a solubilidade em água, maior será a biodisponibilidade <sup>(13)</sup> e como pode ser observado na Figura 8.



**Figura 8:** Flúor de Enxofre (INSULÚVEL) X Quelato de Enxofre (SOLÚVEL)

**Fonte:** MELLO,1998.

Estudos mostram que os elementos traços são absorvidos em sua maior parte no intestino delgado, pode ocorrer à absorção pelo intestino grosso de certas quantidades de cobre, ferro, zinco, manganês. Já o iodo apresenta uma situação diferente, o principal sítio de absorção é o rúmen. O ferro, manganês e zinco, a eficiência de absorção é inversamente proporcional à presença destes no organismo animal, estando envolvido, neste caso, um processo homeostático prevenindo a excessiva absorção e conseqüente acúmulo no organismo. O transporte dos elementos traços é dado via sangue e estocado nos tecidos associados a proteínas ou a aminoácidos <sup>(42)</sup>.

Os minerais metálicos na forma de sal simples, para serem absorvidos no intestino delgado, devem durante o deslocamento pelo trato gastrointestinal, dissociarem-se liberando íons metálicos (cátions). A maioria dos minerais que não se dissociarem no pH próximo à neutralidade do rúmen poderão se dissociar no baixo pH presente no abomaso. Na situação destes minerais não se dissociarem antes de entrar no intestino delgado, os mesmos não serão absorvidos <sup>(13)</sup>.

O fato de se dissociarem não determina a absorção, já que o processo de passagem pela membrana celular, no intestino delgado, é dependente de proteínas transportadoras, também denominadas ligantes. O complexo formado entre a molécula transportadora e o íon metálico deverá apresentar carga total neutra, caso contrário, não ocorrerá absorção. Aparentemente, para o selênio, esta regra não é totalmente aplicável, pois o elemento pode ser absorvido na forma de ânion e, por isso, apresenta absorção de 50% a valores próximos a 100% <sup>(37)</sup>. Os diversos microminerais competem entre si pelas proteínas transportadoras, sendo que o excesso de certos elementos minerais poderá reduzir a biodisponibilidade de um ou mais elementos <sup>(13)</sup>.

Agentes infecciosos, enteropatias e situações de hábito alimentar como: presença de óleo mineral, laxativos, alto consumo de fibra, fitatos, oxalatos, micotoxinas e presença de elementos quelantes entre minerais podem alterar a absorção de minerais como zinco, cálcio e cromo no intestino delgado <sup>(43)</sup>.

Foram testadas as influências de agentes quelantes (oxalato, fitato, citrato e EDTA) na absorção intestinal do cromo em ratos. Verificaram a redução na absorção *in vitro* e *in vivo*, quando foi incluído o fitato, e aumento na absorção, quando foi utilizado o oxalato <sup>(44)</sup>.

Em função de dados encontrados na literatura, é incontestável que minerais na forma de quelato apresentam biodisponibilidade superior, comparados com os minerais na forma de sal simples. No entanto, os processos envolvidos na sua maior absorção ainda não são claros e o que existe na literatura são basicamente hipóteses <sup>(13)</sup>.

O processo de quelação é dado quando o mineral quelatado tenha o mesmo sítio de absorção do aminoácido utilizado como quelante. Pois, na membrana de células intestinais existem sítios específicos para absorção de aminoácidos neutros e para absorção de aminoácidos básico, seguindo está hipótese, hoje tem sido utilizado como quelante a metionina, também denominada na literatura como *Killer*, por ser absorvida rapidamente e em todos os sítios de absorção no intestino delgado. Outro fator importante relacionado aos quelados é o seu peso molecular, de aproximadamente 800 Dalton, o que possibilita a sua absorção direta pela membrana intestinal. Caso possua um peso maior o quelato irá sofrer hidrólise na luz do trato digestivo e a absorção pela mucosa não será garantida <sup>(45)</sup>.

Complexos orgânicos possuem solubilidade em pH fisiológico e a estabilidade, fazendo com que os ligantes orgânicos permanecem associados ao metal nestas condições. Para comparação entre os diversos quelatos encontrados no mercado, pode-se dizer que devem apresentar 90% do metal quelado na forma solúvel em pH 6,0. São considerados como mais estáveis os mais resistentes em meio ácido, ou seja, mantêm-se a integridade estrutural<sup>(14)</sup>.

Os quelados, normalmente apresentam solubilidade próxima a 100% em pH 2,0, desta forma é de se esperar que, ao entrarem no intestino delgado, apresentem-se altamente solubilizados. Já, os minerais na forma inorgânica, possuem solubilidade limitada no trato gastrintestinal<sup>(13)</sup>.

A solubilidade no intestino delgado não é suficiente para justificar a maior biodisponibilidade dos minerais na forma orgânica, existem três teorias que podem explicar os resultados obtidos em pesquisas, como<sup>(17)</sup>:

a) Disponibilidade: o quelado é fixo a um ligante orgânico e apresenta carga neutra, não ligando a outros compostos que poderiam torná-lo insolúvel durante sua passagem pelo trato digestivo, não sendo assim absorvido. Como o princípio de quelação é baseado na absorção direta do quelado pela membrana intestinal, não haveria necessidade, teoricamente, de proteínas transportadoras e, conseqüentemente, não haveria competição com outros minerais durante o processo de absorção;

b) Tecido alvo: a característica do aminoácido utilizado durante o processo de quelação pode direcionar o tipo de tecido alvo no qual o mineral será absorvido, conforme a Tabela 2;

c) Transporte no sangue: ocorrem sinais de que os minerais na forma quelada são transportados no sangue através de um sistema particular daquele utilizado para minerais inorgânicos.

**Tabela 2:** Alterações no órgão alvo do cobalto e do cobre em função do quelante utilizado na quelação.

<b>Mineral</b>	<b>Aminoácido quelante</b>	<b>Tecido alvo</b>
Cobalto	Triptofano	Coração e rins
Cobalto	Metionina	Baço, coração e pulmões
Cobre	Triptofano	Músculo
Cobre	Histidina	Fígado

**Fonte:** Adaptada de VANDERGRIFT, 1993.

Pesquisas sobre minerais traços na forma orgânica devem ser realizadas, buscando: melhorar a definição das condições nas quais o desempenho e as respostas fisiológicas podem ser esperados; nível de inclusão destes elementos na forma orgânica na dieta; se o benefício da adoção desta tecnologia justifica o custo; determinação do modo de ação dos quelados nos ruminantes, visando elucidar o aumento no desempenho <sup>(16)</sup>.

Resultados de desempenho em bovinos suplementados com Cr têm variado de 0 a 30% de aumento no ganho médio diário <sup>(46)</sup>, no entanto, fontes orgânicas de Cr, tem se mostrado mais consistente, com efeitos favoráveis no metabolismo da glicose <sup>(47)</sup>.

### **1.2.6. Imunidade e resistência às doenças**

O interesse na suplementação com cromo foi dado sobre a justificativa do efeito estimulatório sobre a taxa de crescimento, alteração metabólica e principalmente melhora da resposta imune <sup>(38)</sup>.

O cromo causou resistência às doenças, pois serviu como proteção contra a perda induzida de outros elementos como Zn, Fe, Cu e Mn através de mecanismos ou situações estressantes, reduzindo a necessidade de Cu e Zn suplementar <sup>(48)</sup>.

É conhecido que, tanto a suplementação do Cr inorgânico, como a do complexado, resulta na melhora da resposta imunológica de bovinos estressados, na qual ocorre uma menor concentração sérica de cortisol nos animais suplementados com Cr <sup>(49)</sup> <sup>(50)</sup>.

Bezerros desmamados e recém-chegados ao pasto estão intensamente estressados, diminuem a ingestão de matéria seca e apresentam alta morbidade, principalmente devido às doenças respiratórias (BRD), comprometendo o desempenho. O cromo suplementar na dieta agiu diminuindo a concentração de cortisol sérica, que foi responsável pela manifestação do estresse, acentuando a função imunológica dos animais, reduzindo a morbidade no pico da doença e, por consequência, melhorando o desempenho <sup>(51)</sup>. Em bovinos nessas condições, a suplementação de 0,2 a 1 mg/kg<sup>-1</sup> de Cr orgânico aumentou o ganho de peso <sup>(52)</sup>.

Em bovinos de corte da raça Charolesa, a combinação de vacina (IBR, PI-3, BVD e BRSV) e cromo tendeu a aumentar a ingestão de matéria seca na primeira semana após o tratamento, que foi 14% superior ao grupo controle, porém similar aos grupos apenas suplementados com cromo <sup>(53)</sup>.

A função do sistema imunológico dos animais em estado de estresse foi reduzida pelo aumento do nível de cortisol sérico, além de afetar o metabolismo da glicose. Apesar de homeostase imune ser complexa e a resposta a diferentes antígenos variar, a suplementação com Cr aumentou o título de anticorpo contra a diarreia viral, o que não aconteceu contra a IBR, Parainfluenza-3 e *Pasteurella hemolitica*. Assim, o cromo suplementar teve efeito benéfico apenas em condições específicas <sup>(54)</sup>. A suplementação com Cr aumentou a magnitude do pico de reação do anticorpo para IBR, mas não afetou o título de anticorpo para a anti Parainfluenza-3 <sup>(49)</sup>.

Segundo Burthou et al. <sup>(55)</sup>, pouco depois do parto, quando a concentração de cortisol no sangue retornou ao nível basal, os hormônios metabólicos, associados à alta produção de leite (insulina e GH) pareceram ter um efeito sobre o sistema imunológico, o que poderia ser melhorado com a suplementação de Cr.

Kegley et al. <sup>(56)</sup> demonstraram que bezerros Holandeses alimentados com leite e suplementados com 0,4 mg kg<sup>-1</sup> de Cr complexado com ácido nicotínico (CrNic) apresentaram menor concentração sérica de cortisol e melhor resposta imunológica.

Animais nelores desmamados e suplementados com cromo quelatado antes e depois da desmama mostraram menor concentração sérica de cortisol e

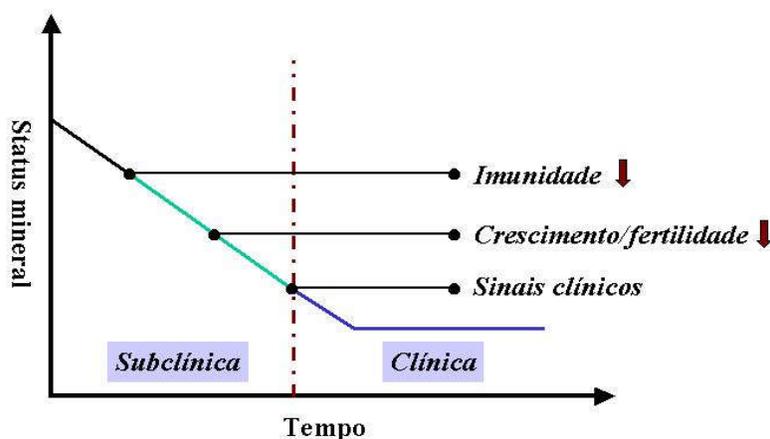
menor número de animais bravios no lote, quando comprado ao lote não suplementado <sup>(57)</sup>.

A redução da morbidade pela suplementação do Cr orgânico tem sido provavelmente o fator de maior importância econômica para o uso desta tecnologia, superior ao próprio aumento do ganho de peso, em função de ter reduzido infecções, custo de medicações, trabalho, decréscimo da produtividade e problemas de resíduos do uso de antibióticos <sup>(27)</sup>.

### 1.6. Deficiência, toxidade e exigência

A pecuária brasileira tem como base o uso de pastagem na alimentação de ruminantes, e esta pastagem apresenta deficiências de macro e micronutrientes, não preenchendo os requisitos nutricionais exigidos para os bovinos, para corrigir ou reduzir os efeitos desta deficiência foi implementado o uso da suplementação mineral, via oral e/ou parenteral.

A deficiência dos elementos traços inicialmente prejudica a função do sistema imunológico e, posteriormente, o desempenho e o crescimento. Na Figura 9, observa-se a evolução subclínica e clínica devido à deficiência de minerais traços <sup>(58)</sup>.



**Figura 9:** Evolução dos sinais clínicos da deficiência de minerais traços.

Fonte: Adaptado de Corah, 1996 <sup>(58)</sup>.

Na deficiência de cromo, a ação da insulina é afetada indiretamente. Em muitos trabalhos relacionados à deficiência de cromo, a ação da insulina é deprimida a ponto de alterar o metabolismo de carboidratos, aminoácidos e lipídios. Os sinais de deficiência disponíveis na literatura em humanos e animais podem ser observados na Tabela 3 <sup>(20)</sup>.

**Tabela 3:** Sinais da deficiência de cromo em humanos e animais

Função	Espécies
Redução da tolerância à glicose	Humanos, ratos, macacos, cobaia, bovinos, suínos
Hiperinsulinemia e resistência à insulina	Humanos, ratos, suínos e bovinos
Hipersecreção à insulina	Ratos
Glicosúria	Humanos e ratos
Hipoglicemia e hiperglicemia	Humanos e bovinos
Redução da c-AMP	Ratos
Redução do ganho de peso e eficiência alimentar	Humanos, ratos, peru, suínos, bovinos, peixes
Hipertensão	Ratos, cachorros, macacos e humanos
Elevação do colesterol e triglicerídios	Humanos, ratos, bovinos, suínos e ovinos
Elevado cortisol	Humanos, bovinos, cobaias, cavalos e ovinos
Elevado lactato	Cavalos exercitados
Neuropatias e encefalopatias	Humanos
Lesões na córnea	Ratos e macacos
Elevação da pressão ocular	Humanos
Redução da longevidade	Ratos
Redução dos receptores de insulina	Humanos
Redução da massa muscular	Humanos, suínos, ratos, galinhas
Elevação da porcentagem de gordura no corpo	Humanos, suínos, galinhas.
Elevação da mortalidade	Bovinos e ratos
Cetose subclínica	Bovinos
Redução da produção de leite	Bovinos

**Fonte:** Adaptado de MOWAT, 1997.

Foram avaliados os efeitos da deficiência de cromo através do fornecimento de dietas deficientes em caprinos com três meses de idade. Nos animais com dieta deficiente em cromo ocorreu redução de cálcio e cobre e elevação na concentração de alumínio e cobalto no fígado e elevação dos teores de cálcio, magnésio e manganês nos rins. Elevações marcantes nos teores de alumínio e cobalto foram observadas em amostras de costela. Ocorreu redução do cromo, cobre e molibdênio, sendo que a relação entre cálcio e magnésio não diferiu do controle em todos os órgãos. Os animais apresentaram elevação na concentração sérica de glicose, bilirrubina, proteína total, albumina e gamaglobulina, assim como na relação albumina/globulina. Com relação às enzimas, somente a creatina quinase apresentou-se elevada. Os níveis de triglicerídios, NEFA, potássio, magnésio, ferro, alfa e  $\beta$ -globulinas apresentaram-se reduzidos. Os mesmos autores constataram que animais com dieta deficiente em cromo apresentaram consumo de matéria seca superior aos animais controle, e maior ganho em peso. Em condições de deficiência de cromo, a liberação da insulina pancreática elevou-se, gerando um efeito antilipolítico (a insulina reduz a lipólise, elevando o acúmulo de triglicerídeos no tecido adiposo) (59).

O  $\text{Cr}^{+6}$  é um forte agente oxidante e, consumido em pequenas quantidades, é reduzido a cromo trivalente no ambiente ácido do estômago. A forma trivalente do cloreto de cromo é pouco absorvida de tal forma que altas ingestões devem ser realizadas para promover intoxicações. O efeito tóxico da exposição industrial ao Cr tem sido atribuído à presença de  $\text{Cr}^{+6}$  no ar que se respira, a forma hexavalente é mais solúvel tornando-se até cinco vezes mais tóxica que a forma trivalente (20).

Os sintomas de toxicidade incluem dermatite alérgica, ulcerações na pele, aumento da ocorrência de câncer de garganta, gastroenterite, nefrites e hepatite (59). Algumas espécies de cromo podem migrar para o núcleo da célula e danificar o DNA. O excesso de  $\text{Cr}^{+6}$  na célula reduz drasticamente o consumo de oxigênio pela mitocôndria (20), e podem ocorrer mudanças do DNA celular (60).

As propriedades espermiotóxicas dos íons de metais pesados já são conhecidas há mais de 120 anos. O primeiro cientista que publicou essas informações foi De Quatrefagees em 1850. White em 1955 apresentou os íons

Cu, Zn, Fe, Pb, Cd, Co e Mn, como redutores da motilidade espermática em humanos, bovinos, ovinos e canídeos em solução diluente para inseminação artificial, desta forma o uso do cromo para touros em reprodução não é indicada <sup>(61)</sup>.

O efeito do cromo sobre a fertilidade foi testado em ratos tratados durante 12 semanas com água contendo 1000 ou 5000 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>+3</sup> e 1000, 2000, 4000 e 5000 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>+6</sup>. A fertilidade dos animais foi reduzida com a concentração de 5000 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>+6</sup>, sendo observado aumento do peso dos testículos <sup>(62)</sup>.

Para animais de produção, o NRC (1988) recomendou ingestão máxima na dieta de 3000 mg kg<sup>-1</sup> para o óxido de cromo e 1000 mg kg<sup>-1</sup> para o cloreto de cromo. Cuidados devem ser tomados com a forma hexavalente, que é mais solúvel e cinco vezes mais tóxica (20).

Com relação à dose letal (DL50), tem sido observado que minerais na forma orgânica apresentaram DL50 superior ao mesmo elemento na forma de sal (Tabela 4) <sup>(18)</sup>.

**Tabela 4:** Comparação da toxicidade do cromo e do zinco na sua forma de sal ou quelado.

<b>Componentes</b>	<b>mg/kg de peso vivo</b>	<b>Mortalidade até 96 horas</b>
Cloreto de cromo	85	1/5
	100	4/5
	135	5/5
Cromo quelado aminoácido	420	0/5
Sulfato de zinco	125	0/5
	175	2/5
	225	5/5
Zinco quelado aminoácido	480	0/5

**Fonte:** Adaptado de ASHMEAD, 1980 <sup>(18)</sup>.

As exigências de Cr não são reconhecidas, no entanto Morais <sup>(7)</sup> recomenda a suplementação em situação de alta produção e para animais sob estresse: dieta com baixo teor de proteína, alto fornecimento de silagens; dietas com teores baixos de fibras (0,5 mg/kg da fonte orgânica de Cr); antes do

confinamento e três semanas antes do abate (0,2 a 0,3 mg/kg da fonte orgânica); na desmama precoce, no pré e pós-parto. Uma concentração de 4 a 5 mg/animal/dia da fonte orgânica de cromo, durante as três últimas semanas do pré-parto, e 5 a 6 mg/animal/dia, durante três semanas do pós-parto <sup>(38)</sup> <sup>(63)</sup>.

A quantidade de cromo necessário para as diferentes categorias de bovinos leiteiros não está estabelecida e pesquisas adicionais com respeito a biodisponibilidade do cromo presentes nos alimentos comuns e os efeitos de dietas deficientes sobre bovinos leiteiros são necessárias <sup>(11)</sup>.

### **1.3. Hipótese e objetivos**

O tratamento com cromo melhora o desempenho de bezerras da raça Holandesa.

O objetivo do trabalho foi levantar informações básicas sobre os efeitos da suplementação de cromo orgânico em bezerras da raça Holandesa, de modo a fornecer subsídios que permitam melhor esclarecer as vantagens desta técnica.

#### **1.3.1. Objetivos específicos**

De maneira específica, pretendeu-se:

I. Avaliar o desempenho de bezerras da raça Holandesa em aleitamento, suplementados com cromo, na forma orgânica;

II. Avaliar os efeitos da suplementação do cromo, na forma orgânica, sobre os teores plasmáticos de glicose de bezerras da raça Holandesa em aleitamento.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Local do experimento

O experimento foi instalado e conduzido na Fazenda São Carlos, no município de Descalvado, SP, coordenadas geográficas 21°51'41,7"S e 47°39'31,5" WGr. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição Animal da Universidade Camilo Castelo Branco, UNICASTELO, Descalvado, SP.

### 2.2. Animais

Foram utilizadas 21 fêmeas lactentes, recém-nascidas, da raça Holandesa, PO, malhada de preto, com peso vivo médio de 38,96 kg no início do experimento (Figura 10).



**Figura 2:** Fêmeas da raça Holandesa, alojadas em abrigos individuais.

**Fonte:** Arquivo pessoal

### **2.3. Manejo alimentar**

Diariamente, foram fornecidos 2 litros (L) de leite no período da manhã e 2 L de leite no período da tarde, ração peletizada e volumoso composto da mistura de feno de Tifton (*Cynodon dactylon*) e silagem de milho, *ad libitum*.

### **2.4. Delineamento experimental e tratamentos**

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de análise de medidas repetidas no tempo, com três tratamentos e 7 repetições. Os tratamentos avaliados foram: T1. Testemunha- sem suplementação parenteral de cromo; T2. Suplementação parenteral de cromo orgânico – 2mL/animal (100 mg) a cada 28 dias; T3. Suplementação parenteral de cromo orgânico – 4mL/animal (200 mg) a cada 28 dias.

O tratamento com a suplementação de cromo orgânico foi caracterizado pela aplicação de solução injetável, via subcutânea, de solução contendo 5% de cromo na forma orgânica, glicerol como veículo, desenvolvido pela empresa NewAgri, Descalvado, SP.

### **2.5. Duração experimental**

O período experimental teve duração de 84 dias, divididos em três períodos de 28 dias.

### **2.6. Pesagem dos animais**

A pesagem dos animais foi realizada, após a amostragem de sangue, evitando-se que este estresse adicional interferisse nas características bioquímicas do sangue. Para tal, os animais foram submetidos ao jejum total por 12 horas. As pesagens foram realizadas no tempo zero (início do experimento) e, posteriormente, a cada período de 28 dias (Figura 11).



**Figura 3: Contenção animal para obtenção de peso vivo em jejum.**

Fonte: Arquivo pessoal.

## **2.7. Amostragem e avaliações nas amostras de sangue**

Amostras de sangue foram obtidas no tempo zero (início do experimento) e, posteriormente, em intervalos de 28 dias (três amostragens, totalizando 84 dias de experimento), através de punção da jugular, utilizando-se agulhas descartáveis (40x12) e, tomando-se o cuidado de deixar o sangue fluir pela parede do tubo sem turbilhonamento, evitando a hemólise <sup>(64)</sup>.

Foram utilizados dois tubos, dos quais um não apresentava anticoagulante, destinado à análise bioquímica e elementar, e, o outro tubo contendo fluoreto de potássio, o qual foi destinado à dosagem de glicose (Figura 12).



**Figura 4: Coleta de sangue através de punção da veia jugular.**

Fonte: Arquivo pessoal.

Após a colheita de sangue, os tubos destinados à análise dos parâmetros bioquímicos do sangue foram encaminhados ao Laboratório para serem efetuadas as análises (Figura 13).

A lavagem dos utensílios para colheita das amostras de sangue, além dos utilizados para procedimentos de análise laboratorial, seguiram procedimentos de rotina do laboratório de Nutrição Animal e Biogeoquímica, UNICASTELO, Descalvado, SP.



**Figura 5:** Tubos destinados à análise bioquímica e elemental e dosagem de glicose.

**Fonte:** Arquivo pessoal.

### **2.7.1. Teor de glicose no plasma**

O teor de glicose no plasma sanguíneo foi determinado através de kit enzimático DOLES<sup>(65)</sup>. O método baseou-se na reação da glicose com a glicose oxidase, formando-se como produto ácido glicônico e peróxido de hidrogênio. Em uma segunda etapa, o peróxido formado, na presença de 4-aminoantipirina e peroxidase, deu origem a um complexo de coloração avermelhada, cuja absorbância foi medida a 510 nm, ou filtro verde.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Desempenho ponderal

Na Tabela 5, encontram-se os resultados obtidos de ganho de peso médio, expressos em  $\text{kg}\cdot\text{animal}^{-1}$ , em função da suplementação e da época de amostragem, intervalos de 28 dias.

**Tabela 5:** Dados de ganho de peso médio, expressos em  $\text{kg}/\text{animal}$ , em função da suplementação e da época de amostragem.

Tratamentos	Períodos, dias de suplementação.			Médias	
	28	56	84		
Testemunha	7,70	10,80	10,12	9,54	B
100 mg	9,61	11,45	13,30	11,45	A
200 mg	11,14	11,42	12,85	11,80	A
Média	9,48 B	11,22 A	12,09 A		
Coef. Var. (%)	Cromo=16,44		Tempo=15,63		

Letras minúsculas comparam médias, na coluna, e maiúsculas na linha comparam medias pelo teste de Tukey  $P < (0,05)$ .

A suplementação com 100 ou 200 mg de cromo afetou significativamente o ganho em peso nos três períodos avaliados ( $P < 0,01$ ) e, independente do período, os animais suplementados apresentaram ganhos superiores. A média dos animais para suplementados e não suplementados foi de 9,54 kg e 11,63 kg, respectivamente, sendo a diferença entre tratamentos de 2,09 kg (21,90% superior).

Carli et al. <sup>(66)</sup> utilizando cromo orgânico injetável 5 ml a cada 28 dias em bovinos nelore semiconfinados, obtiveram maiores ganhos de peso diário em comparação ao lote testemunha que não recebeu cromo orgânico, os resultados do ganho de peso observados neste trabalho são superiores aos relatados obtidos por Bonomi et al. <sup>(67)</sup>, que observaram ganhos de peso em média 10% superiores em animais suplementados com cromo orgânico e Palhari <sup>(68)</sup> que encontrou o resultado de 8,3 % superior para animais em recria, no mesmo

estudo já durante a fase de terminação não houve diferença significativa de desempenho, o mesmo ocorre em estudos realizados por Subiyatno et al. <sup>(69)</sup>, YANG et al. <sup>(63)</sup> e Zanetti et al. <sup>(70)</sup> que não observaram diferença de ganho de peso em animais suplementados com cromo orgânico.

Estudo conduzido por Sousa <sup>(71)</sup> em animais de recria submetidos a desmama forçada aos 6 meses, foi observado que houve um aumento de desempenho de 3,5 % do tratamento com cromo orgânico em comparação ao tratamento que não utilizou cromo, caracterizando a importância deste mineral para situação de estresse e desempenho animal.

O uso do cromo orgânico leva a melhor reposta imunológica, do sistema endócrino e/ou seu efeito no metabolismo significa aumento de desempenho zootécnico (produção de leite, ganho em peso e reprodutivo). É importante salientar que a via de administração pode ser uma variável que justifique o melhor desempenho obtido neste experimento.

### **3.2. Glicose plasmática**

A Tabela 6 representa os valores de glicose plasmática, expressos em *mg/dL*, em função da suplementação com cromo e da época de amostragem, pode-se observar que, na primeira amostra de sangue obtida, os níveis de glicose sérica não diferiram entre os tratamentos. Os valores de glicose na segunda amostragem foram superiores nos animais pertencentes ao tratamento com suplementação de 100 mg cromo. Aos 56 dias, independente da dose de cromo, os animais com suplementação apresentaram valores de glicose superiores aos sem suplementação.

Níveis mais elevados de glicose plasmática podem justificar, em parte, as diferenças de ganho em peso de animais suplementados e não suplementados <sup>(72)</sup>.

**Tabela 6:** Valores de glicose plasmática.

Tratamentos	Períodos, dias de suplementação				Médias
	0	28	56	84	
Testemunha	49,25 aA	62,31 bB	54,31 bB	77,40 aA	60,81
100 mg	44,14 aB	85,97 aA	75,40 aA	79,00 aA	71,13
200 mg	47,82 aB	72,27 bA	81,50 aA	84,56 aA	71,54
Média	47,07	73,51	70,40	80,32	
CV (%)	Cromo=13,51		Tempo=15,88		

Letras minúsculas comparam médias, na coluna, e maiúsculas na linha comparam medias pelo teste de Tukey  $P < (0,05)$ .

Entre os metabólitos sanguíneos mais usados para avaliar o estado energético estão a glicose, o beta-hidroxibutirato (BHB) e os ácidos graxos não esterificados ou livres (AGL)<sup>(73)</sup>.

Apesar de a glicose ser o metabólito selecionado para avaliar o estado energético dos ruminantes, trabalhos tem demonstrado certa contrariedade nos resultados, uma vez que mecanismos homeostáticos que controlam a glicemia tornam difícil estabelecer uma clara relação entre estado nutricional e níveis de glicose, pois além de grande parte dos tecidos utilizarem ácidos graxos livres (AGL) e corpos cetônicos como fonte energética, o fígado destes animais possui alta função neoglicogênica<sup>(13)</sup>.

Nos ruminantes, a relação simbiótica representada pela digestão fermentativa pode ser apreciada considerando o metabolismo dos ácidos graxos voláteis (AGV). O benefício obtido pelo hospedeiro está na energia química contida nos AGV. Em ruminantes e outros grandes herbívoros, os AGV são o principal combustível energético, desempenhando em larga escala o papel da glicose nos monogástricos onívoros<sup>(74)</sup>.

Nos ruminantes, apenas uma pequena quantidade de glicose que não foi fermentada chega ao trato intestinal para ser absorvida (um terço). A gliconeogênese é um processo especialmente ativo nos ruminantes e se processa em velocidade muito alta (dois terços). O propionato formado no rúmen pela fermentação bacteriana é absorvido e convertido em glicose, suprimindo tecidos importantes como o cérebro e servindo como fonte precursora de

carboidratos como a lactose (açúcar do leite). Na maioria dos animais, a gliconeogenese ocorre principalmente no fígado, e em grau muito menor, no córtex renal. Segundo BROCKMAN <sup>(75)</sup>, organismo dos ruminantes parece ser mais refratário à insulina que o dos não ruminantes.

O nível de glicose plasmático é o indicador menos expressivo do perfil metabólico para avaliar o estado energético devido à insensibilidade da glicemia a mudanças nutricionais e à sensibilidade ao estresse. A glicemia, todavia, pode ser de utilidade em condições de déficit energético severo e em animais que não estão em gestação e em lactação <sup>(13)</sup>.

Espera-se uma redução dos níveis de glicose sérica com o avanço da idade, em razão da atividade fermentativa ruminal, os animais de até 14 semanas de idade, os níveis de glicose podem ser maiores, em decorrência da adaptação fisiológica da mudança de pré-ruminante para ruminante <sup>(72)</sup> <sup>(76)</sup>.

Os valores séricos de glicose encontram-se próximos aos relatados por Quigley et al. <sup>(72)</sup>, com valores médios de 76 mg/dL.

Fatores climáticos como a umidade e a temperatura relacionadas às estações do ano, também, podem influenciar os valores dos teores de glicose, pois em meses mais quentes há aumento da frequência respiratória causando rápida utilização da glicose sanguínea pelos músculos respiratórios e, assim, resultando em uma queda na glicemia sob stress do calor <sup>(77)</sup>.

#### **4. CONCLUSÃO**

A suplementação com cromo promoveu melhora no desempenho ponderal de bezerras da raça Holandesa, que pode ser justificada pelas alterações ocorridas no perfil metabólico dos animais suplementados. Entre os atributos relacionados com o metabolismo energético, pode-se ressaltar que os níveis de glicose foram superiores entre os animais suplementados. A exigência desta categoria animal deve estar próxima à 3 a 4 mg por dia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON RA. Chromium In: Trace minerals in foods. In. New York: Marcel Dekkes Inc; 1988. p. 231-247.
2. MERTZ W. CHROMIUM: HISTORY AND NUTRITION IMPORTANCE. BIOLOGICAL TRACE ELEMENTS RESEARCH. 1992: p. 3-10.
3. Brasil, Ministério da Agricultura. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro: Instituto brasileiro de geografia e estatística, IBGE; 2014.
- 3 NRC (1997). The role of chromium in animal nutrition. National Academy Press, Washington DC.
4. CEPEA. Boletim do Leite. Boletim. ESALQ/USP, Centro de Estudos Avançados em Ecônomia Aplicada; 2014.
5. Peixoto , Malafaia P, Barbosa D, Tokarnia H. Princípios de suplementação mineral em ruminantes Princípios de suplementação mineral em ruminantes1. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2005 jul/set; 25(3): p. 195-200.
6. Berchielli TT, Pedreira MdS. Nutrição de Ruminantes. In Berchielli TT, Pedreira MdS, editors. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: Funep; 2006. p. 583.
7. Moraes SS. Importância da suplementação mineral para bovinos de corte. In ; 2001; Campo Grande. p. 26.
8. Araujo RF. Avaliação nutricional e função renal de ovinos alimentados com feno de erva-sal (*Atriplex nummularia*) e farelo de milho em substituição a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* mill). Dissertação (Mestrado Zootecnia). Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2009.
9. Santos KL. Balanço de minerais e função renal em caprinos recebendo dietas à base de palma forrageira e diferentes níveis de casca de soja. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2008.
10. de Medeiros SR, Gomes dC, Bungenstab. Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações. Brasília: Embrapa, Embrapa; 2015. Report No.: ISBN: 978-85-7035-419-8.

11. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. Washington: NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Committee on Animal Nutrition. National Academic Press, Committee on Animal Nutrition; 2001.
12. UNDERWOOD EJ, SUTTLE NF. Mineral nutrition of livestock. 3rd ed. London; 1999.
13. BARUSELLI MS. A nova era da mineralização. Leite Brasil, São Paulo. Leite Brasil. 1999; I(14).
14. Melo GMP. Desempenho e parâmetros sanguíneos de bezerros submetidos a estresse, suplementados com cromo orgânico. Teses. Jaboticabal; Universidade Estadual Paulista; 2002.
15. Holwerda RA, Albin RC, Madsen FC. Chelation effectiveness of zinc proteinates demonstrated. In Feedstuff; 1995; Mineapolis. p. 12-13.
16. Association American Feed Control Officials. American Feed Control Officials, Official publication. Georgia; Department of Agriculture; 1990.
17. SPEARS JW. Organic trace minerals in ruminant nutrition. In Anim Feed Sci Technol; 1996; Amsterdam. p. 151-163.
18. VANDERGRIFT B. The role of mineral proteinates in immunity and reproduction. What do we really know about them? Simpósio. Altech, Proceedings of Altech; 1993.
19. ASHMEAD A. Chelated minerals nutrition in plants, animals and man. In ASHMEAD A, editor. Chelated minerals: basis of life. Springfield; 1980. p. 10-25.
- 19 Bernhard, B. C., N. C. Burdick, R. J. Rathmann, J. A. Carroll, D. N. Finck, M. A. Jennings, T. R. Young, and B. J. Johnson. 2012. Chromium supplementation alters both glucose and lipid metabolism in feedlot cattle during the receiving period. J. Anim. Sci. 90:4857-4865.
20. SCHWARZ K, MERTZ W. Chromium (III) and the glucose tolerance factor. Arch Biochem Biophys. 1959; 85.
21. MOWAT DN. Chromium Books. 1997: p. 258.
22. MOORADIAN AD, MORLEY JE. MOORADIAN, A.D., MORLEY, J.E. Micronutrient status in diabetes mellitus. American Journal of Clinical Nutrition. 1987: p. 877-895.
23. ANDERSON RA, MERTZ W. Glucose tolerance factor: an essential dietary agent. Trends Biochemical Science. 1997: p. 277-279.

24. STOEKER, B. J BJ. Modern nutrition in health and disease. In Olson JA SMRA, editor. Chromium. In: Shils ME. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams; 1999. p. 277-282.
25. BURTHON JL. Supplemental chromium: its benefits to the bovine immune system. Anim Feed Sci Technol. 1995: p. 117-133.
26. VINCENT JB. The biochemistry of chromium. Journal of Nutrition. 2000: p. 715-718.
27. SUN YJ, RAMIREZ J, WOSKI SA, VINCENT J. The binding of trivalent chromium to low-molecular-weight chromium-binding substance (LMWCr) and the transfer of chromium from transferrin and chromium picolinate to LMWCr. Journal of Biological Inorganic Chemistry. 2000: p. 129-136.
28. VAN DER KLIS JD, KEMME, P. A. PA. An appraisal of trace elements: Inorganic and organic. Poultry feedstuffs [electronic resource]: supply, composition, and nutritive value. 2002: p. 1099.
29. VICENT JB. The bioinorganic chemistry of chromium(III). Polyhedron, Oxford. 2001: p. 1-26.
30. NRIAGU JO, NIEBOER E. Chromium in the natural and human environments. Wiley interscience publication. 1988: p. 571.
31. EDEL Jea. Metabolic aspects of chromium using nuclear and radiotracer techniques. sd: p. 702-707.
32. SEABORN CD, STOECKER BJ. Effects of starch, sucrose, fructose, and glucose on chromium absorption and tissue concentrations in obese and lean mice. Journal of nutrition. 1989 oct: p. 1444-1451.
33. KOZLOVSKY AS. Effects of diets high in simple sugars on urinary chromium losses. Metabolism. 1986 June: p. 515-518.
34. ANDERSON RA, KOZLOVSKY AS. Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets. American Journal of Clinical Nutrition. 1985: p. 1177-1183.
35. JUTURU V, KOMOROWSKI JR, DEVINE JP, CAPEN A. Absorption and excretion of chromium from orally administered chromium chloride, chromium acetate and chromium oxide in rats. Trace Elements and Electrolytes. 2003: p. 23-28.
36. OFFENBACHER EG. Promotion of chromium absorption by ascorbic acid. Trace Elements. 1994: p. 178-181.

37. CAMPEN DRV, GLAHN RP. Micronutrient bioavailability techniques: Accuracy, problems and limitations. *Field Crops Research*. 1999: p. 93-113.
38. CHANG X, MOWAT DN, SPIERS GA. Carcass characteristics and tissue-mineral contents of steers fed supplemental chromium. *Journal of Animal Science*. 1992: p. 663-669.
39. SHAH BG. Chelating agents and bioavailability of minerals. *Nutrition Research*. 1981: p. 617-622.
40. GRACE ND, CALRK RG. Trace element requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in sheep and cattle. In TSUDA T, SASAKI Y, KAWASHIMA R R, editors. *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants.*; 1991. p. 321-346.
41. ERDMAN JW. Factors that limit or enhance bioavailability of minerals from food. *Nutrition and Metabolism*. 1983: p. 1-2.
42. CHEN NS, TASI A, DYER IA. Effect of chelating agents on chromium absorption in rats. *Journal of Nutrition*. 1973 Aug.
43. GRAFF DJ. Radioactive isotope research with chelated minerals. In ASHMEAD D, editor. *Chelated minerals nutrition in plant, animals and man*. Springfield: Chelated Minerals; 1980. p. 275-289.
44. KEGLEY EB, SPEARS JW. Immune response, glucose metabolism, and performance of stressed feeder calves fed inorganic or organic chromium. *Journal of Animal Science*. 1995: p. 2721-2726.
45. KEGLEY EB, GALLOWAY DL, FAKLER TM. Effect of dietary chromium-L-methionine on glucose metabolism of beef steers. *Journal of Animal Science*. 2000: p. 3177-3183.
46. MOWAT DN, CHANG X, YANG WZ. Chelated chromium for stressed feeder calves. *Can J Anim Sc*. 1993: p. 49-55.
47. BURTHON JL, MALLARD BA, MOWAT DN. Effects of supplemental chromium on antibody responses of newly weaned feedlot calves to immunization with Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) and Parainfluenza 3 virus (PI-3). *Can J Vet Res*. 1994: p. 148-151.
48. ARTHINGTON Jea. Supplemental Dietary chromium does not influence ACTH, cortisol or immune responses in young calves inoculated with bovine herpesvirus. *J Anim Sci*. 1997: p. 217-223.
49. CHANG X, MOWAT DN, MALLARD BA. Supplemental chromium and niacin for stressed feeder calves. *Can J Anim Sc*. 1995: p. 351-358.

50. NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL Nutrient Requirement of Beef Cattle. Washington: National Academic Press, Committee on Animal Nutrition.; 1996.
51. WRIGHT AJ, MOWAT DN, MALLARD BA. Supplemental chromium and bovine respiratory disease vaccines for stressed feeder calves. *Can J Anim Sci.* 1993: p. 287-295.
52. KEGLEY EB, SPEARS JW, EISEMANN JH. Performance and glucose metabolism in calves fed a chromium nicotinic acid complex or chromium chloride. *Journal Dairy Science.* 1997: p. 1744-1750.
53. BURTHON JL, MALLARD BA, MOWAT DN. Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early lactation dairy cows. *J Anim Sci.* 1993: p. 1532-1539.
54. KEGLEY EB, SPEARS JW, BROWN JR TT. Immune response and disease resistance of calves fed chromium nicotinic acid complex or chromium chloride. *Can J Dairy Sci.* 1996: p. 1278-1283.
55. DE SOUSA IKF. INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM CROMO ORGÂNICO NO DESEMPENHO DE BEZERROS DE CORTE SUBMETIDOS A DESMAMA. DISSERTAÇÃO MESTRADO. SÃO PAULO: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA; 2014.
56. CORAH L. Trace mineral requirements of grazing cattle. *Animal Feed Science Technology.* 1996: p. 61-70.
57. Hunt CD, Stoecker BJ. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for boron, chromium and fluoride dietary recommendation. *Journal of Nutrition.* 1996: p. 2441-2451.
58. CARVALHO FA, BARBOSA AF, McDOWEL LR. *Nutrição de bovinos a Pasto* Belo Horizonte: PapelForm; 2003.
59. SIMONIK I, PAVELKA J, KUDLAC E. The spermiotoxicity of selected chemical elements (Cr, Cu, Zn) in vitro. *Reprod Domest Anim.* 1990: p. 242-246.
60. ELBETIEHA A, AL-HAMOOD MH. Long-term exposure of male and female mice to trivalent and hexavalent chromium compounds: effect on fertility. *Toxicology.* 1997: p. 39-47.
61. YANG WZ, MOWAT A, SUBIYATNO A, Et al. YANG, W.Z.; MOWAT, A.; SUBIYATNO, A. et al. Effects of chromium supplementation on early

- lactation performance of Holstein cows. *Canadian Journal of Animal Science*. 1996: p. 221-235.
62. G D. Rosenberger exame clínico dos bovinos. In DIRKSEN G, GRUNDER HD, STOBBER M, editors. *Sistema digestivo*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p. 166-228.
63. DOLES. *Catálogo de produtos Doles*. Goiana;; 2000.
64. de Carli CHA, da Silva JP, Martins Z, da Silva JP, Ferreira E, de Melo GMP. DESEMPENHO DE GARROTES NELORE SUPLEMENTADOS COM CROMO ORGÂNICO INJETÁVEL. *EPGINIC*. 2014: p. 37-38.
65. BONOMI Aea. Il cromo orgânico nell' alimentazione dei vitelli in fase di svezzamento (contributo sperimentale).. *Rev Sci Aliment*. 1998: p. 127-136.
66. Palhari C. Desempenho e qualidade de carcaça de garrotes Nelore e F1 Rubia Galega X Nelore suplementados com cromo picolinato. *Dissertação (mestrado)*. Sinop: Universidade Federal do Mato Grosso, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia; 2014. Report No.: P161d.
67. SUBIYATNO A, MOWAT DN, YANG WZ. Metabolite and hormonal responses to glucose or propionate infusions in periparturient dairy cows supplemented with chromium. *J Dairy Sci*. 1996: p. 1436-1445.
68. ZANETTI MA, SALLES MS, BRISOLA ML. Desempenho e resposta metabólica de bezerros recebendo dieta suplementada com cromo. *REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*. 203: p. 1532-1535.
69. DE SOUSA IKF. INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM CROMO ORGÂNICO NO DESEMPENHO DE BEZERROS DE CORTE SUBMETIDOS A DESMAMA. *DISSERTAÇÃO DE MESTRADO*. São Paulo: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA., Clínica Medica ; 2014. Report No.: T.2929/FMVZ.
70. QUIGLEY JD, CALDWELL LA, SINKS DDea. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. *Journal of Dairy Science*. 1991: p. 150-257.
71. PAYNE JM, PAYNE S. *The Metabolic Profile Test*. Oxford University Press. 1987.: Oxford University Press; 1987.
72. CUNNHINGAM JG. Os processos fermentativos. In *Tratado de fisiologia veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p. 454.

73. BROCKMAN R. Control of digestion and metabolism in ruminants. In MILLIGAN LP, GROVUM WL, DOBSON A, editors. Pancreatic and adrenal hormone regulation of metabolism.: Englewood Cliffs: Prentice Hall; 1986. p. 405-419.
74. Nussio CM, Santos FA, ZOPOLLATTO M, PIRES AV, MORAIS JB. Processamento de Milho (Floculado vs. Laminado a Vapor ) e adição de Monensina para Bezerras Leiteiras, Pré e Pós-Desama Precose. Revista Brasileira de Zootecnia. 2003: p. 229-239.
75. POGLIANI FC, BIRGEL JUNIOR E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. Braz. J. vet. Res. anim. Sc. 2007: p. 373-383.
76. VANDERGRIFT B. The role of mineral proteinates in immunity and reproduction. What do we really know about them?; In:sium, 9., 1993, Proceedings of Altech, Ninth Annual symposium. , Altech Annual Symposium; 1993.
77. MOONSIE-SHAGEER S, MOWAT DN. Effect of level supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves. Journal of Animal Science. 1993: p. 232-238.
78. LYONS P. A New era in animal production: the arrival of the scientifically proven natural alternatives. Nottingham: Alltech, Symposium Biotechnology In The Feed Industry Proceedings of Alltech; 1997. Report No.: 13.
79. FRANK A, DANIELSSON R, JONES B. Experimental copper and chromium deficiency and additional molybdenum supplementation in goats. II Concentrations of trace and minor elements in liver, kidneys and ribs: haematology and clinical chemistry. Science Total Environ. 2000: p. 143-170.