

WHITE PAPER

MINERAIS ORGÂNICOS

Aumento da biodisponibilidade dos minerais através da quelação

Richard Murphy, Ph.D.

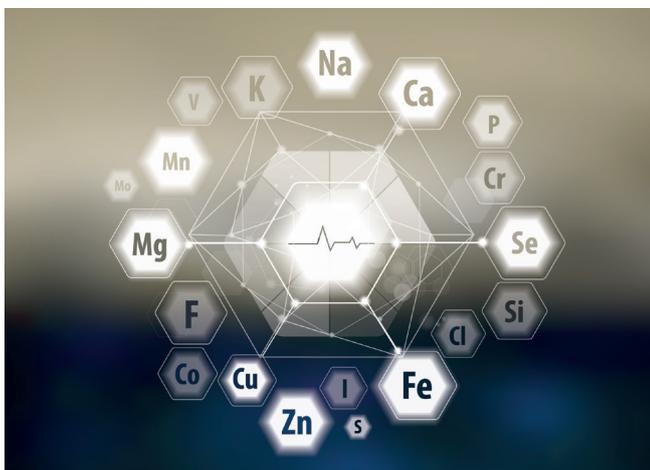
Alltech European Bioscience Centre, Irlanda





VISÃO GERAL

Minerais orgânicos são reconhecidos globalmente como uma fonte mineral mais biodisponível do que seus homólogos inorgânicos. Embora existam muitas formas de produtos minerais disponíveis no mercado para uso em nutrição animal, infelizmente estes foram genericamente denominados “minerais orgânicos”, devido ao fato de que os minerais em questão são complexados ou de outra forma associados a moléculas orgânicas.



Tipicamente falando, os minerais orgânicos podem ser produzidos por meio de inúmeros mecanismos, dependendo do produto mineral que está sendo fabricado. O processo de complexar ou quelar elementos como cobre, ferro ou zinco, por exemplo, costuma envolver a reação de sais minerais inorgânicos com um grupo de ligação adequado, como um peptídeo ou aminoácido, após o qual o mineral se torna parte de uma estrutura biologicamente estável. Vários processos de produção foram desenvolvidos, variando de reações altamente específicas e controladas à rotas onde a síntese química está mais envolvida.

Devido à grande variedade dos produtos existentes no mercado, a importância de compreender as diferenças físicas entre eles não pode ser subestimada. Uma maior compreensão dos princípios básicos por trás desses produtos permitirá que os usuários finais os diferenciem não apenas em termos de sua constituição física, mas também em termos de comportamento provável in vivo.



COMPLEXOS OU QUELATOS?

A química da complexação ou quelação, como é comumente conhecida, criou uma grande confusão na indústria de ração animal. Termos como complexos de aminoácidos metálicos, quelatos de aminoácidos metálicos, complexos de polissacarídeos metálicos e proteínatos metálicos são abundantes, mas as definições oficiais permanecem vagas e inúteis.

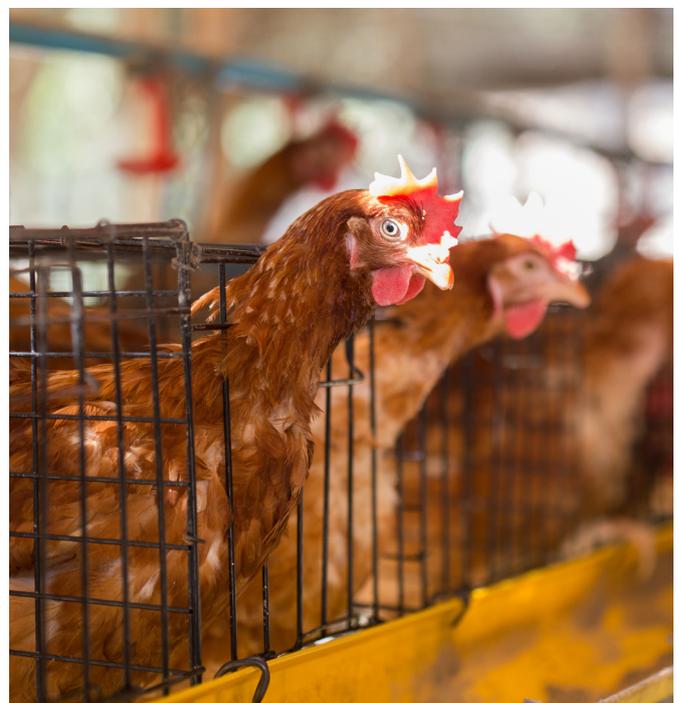


Tabela 1: Terminologia oficial para minerais orgânicos (AAFCO e EFSA).

AAFCO		EFSA	
Proteinato metálico (57.23)	Produto resultante da quelação de um sal solúvel com aminoácidos e/ou proteína parcialmente hidrolisada.	Quelato metálico de proteína hidrolisadas	Um pó com teor mínimo de x% de metal, em que x = 10% de cobre, ferro, manganês e zinco. Mínimo de 50% de quelação de cobre, ferro, manganês e 85% de quelação de zinco.
Quelato metálico de aminoácidos (57.142)	Produto resultante da reação de um íon metálico a partir de um sal metálico solúvel com aminoácidos.	Quelato metálico de hidrato de aminoácidos	Complexo metálico de aminoácidos, em que o metal e os aminoácidos derivados da proteína da soja são quelados através de ligações covalentes coordenadas.
Complexo metálico de aminoácidos (57.150)	Produto resultante da complexação de um sal de metal solúvel com um ou mais aminoácidos.	Quelato metálico de hidrato de glicina (líquido)	Um líquido com um teor mínimo de 6% de cobre ou 7% de zinco.
Complexo metálico (aminoácido específico) (57.151)	Produto resultante da complexação de um sal de metal solúvel com um aminoácido específico.	Quelato metálico de hidrato de glicina (sólido)	Um pó com teor mínimo de 15% de cobre, ferro, zinco e manganês.

A título de exemplo, as definições dos minerais orgânicos mais comuns usados na produção agrícola, conforme estabelecido pela Associação Americana de Oficiais de Controle de Alimentos (AAFCO, 1998), são ilustradas na Tabela 1. Em observância às definições da AAFCO, a Tabela 1 também dá uma visão geral da classificação da UE de produtos minerais orgânicos, a partir da qual se pode avaliar as principais diferenças entre as terminologias oficiais usadas para controle regulatório e a confusão óbvia que pode ocorrer ao se comparar produtos.

De modo geral, os quelatos são preparados pela reação de sais minerais inorgânicos com, por exemplo, misturas preparadas enzimaticamente de aminoácidos e pequenos peptídeos, sob condições controladas. Esses ligantes de aminoácidos e peptídeos se ligam ao metal em mais de um ponto, garantindo que o átomo

de metal se torne parte de uma estrutura biologicamente estável em formato de anel. Aminoácidos e produtos da digestão de proteínas, como pequenos peptídeos, são ligantes ideais porque têm pelo menos dois grupos funcionais que permitem ligações minerais estáveis.

NEM TODOS OS MINERAIS ORGÂNICOS SÃO IGUAIS.

Muitas afirmações diferentes são feitas quanto aos méritos relativos e adequação de aminoácidos em comparação a peptídeos na formação de quelatos minerais, existindo um número ainda maior de argumentos em relação à chamada biodisponibilidade de tais produtos.

ESTABILIZANDO UM QUELATO: O EFEITO DE LIGANTES

Ao tentar comparar quelatos ou complexos com base em “qual é o melhor sob essas condições”, muitos fatores diferentes devem ser levados em consideração. No entanto, pode ser útil comparar produtos em termos da força da ligação entre o mineral e o ligante usando as chamadas constantes de estabilidade.



Uma constante de estabilidade (também conhecida como constante de formação ou constante de ligação) é um valor de equilíbrio para a formação de um complexo ou quelato em solução. A constante de estabilidade geral é o produto de todas as constantes de estabilidade graduais. Por exemplo, se K1 e K2 são as constantes de estabilidade para a adição do primeiro e segundo ligantes, respectivamente, então a constante de estabilidade geral (β_2) é $K1 \times K2$.

Este valor é uma medida relativa da força da interação entre um metal e o ligante em um quelato ou complexo. Podemos derivar esse valor medindo as proporções relativas de metal ([M]), ligante ([L]) e quelato ([ML]):



Observe os vários fatores de influência que desempenham um papel neste equilíbrio:

- o pH influencia significativamente o equilíbrio entre ML e L+M.
- Outros fatores também influenciam isso, como o tipo e a composição do ligante, proporções relativas de [L] para [M], etc.

Em última análise, a constante de estabilidade (β) pode ser definida como uma medida da razão da concentração e quelato para as concentrações do metal livre e ligante sob um determinado conjunto de condições.

Para simplificar, pode ser representado da seguinte forma:

$$\beta = [ML] / [L][M]$$

Essencialmente, o que isso nos diz é que quanto maior o valor da constante de estabilidade β , maior a proporção do quelato ou complexo que está presente em relação ao ligante livre ([L]) ou metal livre ([M]) em um dado pH.

As constantes de estabilidade para uma gama de ligantes, incluindo aminoácidos individuais, dipeptídeos, tripeptídeos, etc., podem ser facilmente obtidas a partir do banco de dados de constantes de estabilidade do NIST, que calcula o valor considerando pH relativo, força iônica, temperatura, tipo de ligante, ligante e concentrações de metais.

Normalmente, a constante de estabilidade é apresentada em valores logarítmicos e pode servir como um guia útil ao comparar diferentes grupos de ligação, como aminoácidos, dipeptídeos e tripeptídeos. Em geral, quanto maior o valor da constante de estabilidade, maior a força de quelação e, portanto, a proporção relativa de mineral ligado para mineral livre e ligante livre sob um determinado conjunto de condições.

Obviamente, seria errado não afirmar que existem exceções. Da mesma forma, a própria natureza da química complexa que rege a quelação dita que fatores adicionais contribuirão, em última instância, para a força da ligação e a estabilidade dos complexos ligante-mineral.

O PAPEL DA **FORÇA DA LIGAÇÃO** SOBRE A ESTABILIDADE DE MINERAIS ORGÂNICOS

A maioria dos aminoácidos e peptídeos se ligam a íons metálicos por meio de átomos de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Os aminoácidos individuais exibem uma gama de estabilidades quando complexados com minerais, e estes podem ser avaliados em diversos bancos de dados. É razoável esperar que os peptídeos que têm um maior número de átomos doadores e, portanto, o potencial para formar um número de anéis quelatos quando se ligam a um íon de metal, teriam maior estabilidade do que aminoácidos simples, como a glicina.

Isso, no entanto, depende do peptídeo ser capaz de realmente formar mais de um anel quelato. Como no caso dos aminoácidos, os peptídeos também apresentam diversas estabilidades. **Em muitos casos, a estabilidade dos quelatos peptídeos pode ser maior do que os quelatos de um único aminoácido.**

Decorrente disso, pode-se antecipar que os proteínatos terão as propriedades físico-químicas necessárias para garantir uma ampla constância sob condições de mudança de pH.

Considere os dados da Tabela 2, que compara uma variedade de ligantes quando complexados com cobre sob as mesmas condições fisiológicas. Para simplificar, os valores de estabilidade (dados de registro) foram transformados e comparados em uma base relativa aos da glicina. A massa molecular de cada ligante também é indicada.

Tabela 2: Estabilidades relativas de complexos de cobre ligados organicamente.

Grupo de ligação	Estabilidade relativa
Ácido propiônico (74Da)	1x10 ⁻⁶
Metionina Hidroxi-Análoga (150 Da)	2,63x10 ⁻⁶
Met (mm 149Da)	0,5
Gly (mm 75Da)	1
His-Ser (m.wt. 260Da)	2,5
His-Met (mm 304Da)	2,5
Gly-Cys (mm 196Da)	21
Gly-Lys (mm 221Da)	2.818
Tyr-Trp (mm 385Da)	3.235
Ala-Lys (mm 238Da)	9.549
Tyr-Lys (mm 327Da)	186.208
EDTA	5,6 x 1010

Adaptado de: *Critically selected stability constants of metal complexes, NIST Database 46.*

O que isso indica é que o tamanho do grupo de ligação não é o fator mais crítico que influencia a resistência da ligação e, em última análise, a estabilidade de um quelato. Claramente, as alegações de superioridade com base no tamanho têm pouco mérito. No entanto, simplesmente aumentar o número de aminoácidos em um ligante pode não aumentar a estabilidade do complexo de metal e, portanto, pode não necessariamente aumentar a proporção relativa do mineral ligado.

Em última análise, não apenas o tipo de aminoácido influencia a estabilidade de um determinado quelato, mas a posição dos aminoácidos em um peptídeo também pode influenciar de forma significativa a interação entre o ligante e o mineral.

Isso é ilustrado na Tabela 3, onde pode ser observado que os fatores mais críticos são a sequência e a posição dos aminoácidos, e não o tamanho total.

Tabela 3: Papel da sequência de aminoácidos na resistência e estabilidade da ligação do quelato

Grupo de ligação	Estabilidade relativa
Gly-Gly-Gly (mm 225Da)	1
Gly-Gly-His (mm 305Da)	270
Gly-His-Gly (mm 305Da)	8.511

A substituição de uma histidina no tripeptídeo Gly-Gly-Gly para produzir Gly-Gly-His, por exemplo, aumenta o valor de estabilidade e, portanto, a proporção relativa de mineral ligado (cobre, neste caso). Além disso, alterar a posição desta histidina dentro da sequência tripeptídica (para formar Gly-His-Gly, por exemplo) pode resultar em um aumento adicional na força de ligação e, portanto, um aumento na proporção de mineral ligado.

Em termos práticos, mudanças simples na configuração dos aminoácidos neste tripeptídeo resultam em uma proporção maior de mineral ligado em relação ao mineral livre e ao ligante.

Essencialmente, a estabilidade do quelato mineral pode ser significativamente influenciada não apenas pelo tipo de aminoácido, mas também pela configuração dos aminoácidos em uma sequência de peptídeo.



Do ponto de vista da produção, é importante observar que a extensão e o tipo de hidrólise de uma fonte de proteína para formar peptídeos de cadeia curta podem influenciar significativamente a sequência de aminoácidos presentes nesses peptídeos. A produção de um hidrolisado de proteína "ideal" para quelação mineral pode ser realizada por meio da seleção criteriosa das condições de hidrólise. Isso garante que a mistura final de peptídeos hidrolisados terá as propriedades necessárias para garantir a constância e a estabilidade de ligação a minerais sob condições de alteração do pH.

Um estudo recente (Byrne *et al.*, 2021) usando técnicas baseadas em potenciometria analisou uma variedade de minerais orgânicos comerciais usando um eletrodo seletivo de íons Cu para determinar suas estabilidades *in vitro* em uma faixa de pH que reflete as condições fisiológicas (Figura 1). Neste trabalho, as amostras foram reconstituídas e suspensas antes da titulação dos sobrenadantes, com posterior medição do percentual de cobre vinculado sobre uma faixa de pH de 3 a 8. Isso confirmou que existem diferenças notáveis na estabilidade dependente do pH de minerais orgânicos comerciais, com a quantidade de cobre ligado variando consideravelmente entre as amostras.

Além disso, os dados indicam que alguns minerais orgânicos têm baixa ou nenhuma capacidade de ligação mineral estável em pH ácido, com impactos óbvios na bioeficácia dos produtos. Essas diferenças podem ser atribuídas não apenas ao tipo de grupo de ligação usado, mas também ao processo de produção usado para gerá-lo.

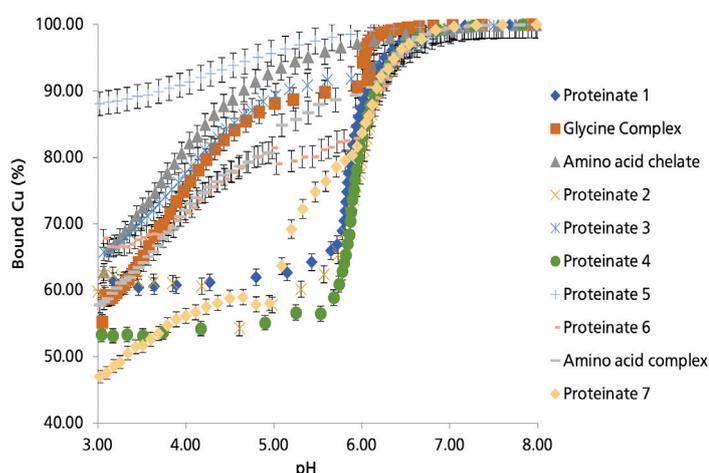


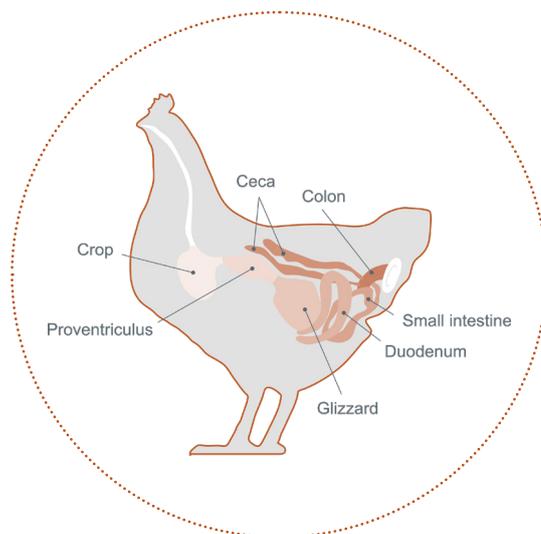
Figura 1: estabilidades dependentes de pH de quelatos de cobre (Byrne *et al.*, 2021)

EM ÚLTIMA ANÁLISE, A ESTABILIDADE DE UM MINERAL ORGÂNICO É DE SUMA IMPORTÂNCIA PARA SUA BIODISPONIBILIDADE.

Durante o trânsito pelo trato gastrointestinal e conforme o pH diminui ou acidifica, todos os minerais são submetidos a forças fisiológicas, que podem resultar na dissociação do complexo mineral ligado e na liberação de íons minerais livres. Existem várias consequências negativas para esta dissociação de minerais induzida pelo pH.

Por exemplo, o íon mineral livre carregado pode reagir com componentes da planta carregados negativamente, como ácido fítico, que pode estar presente no trato gastrointestinal ou, pior ainda, pode formar os chamados hidróxidos ao atingir o

ambiente mais alcalino no intestino. Isso pode causar o fenômeno da hidroxipolimerização induzida pelo pH e resultar na precipitação do mineral e, assim, levar a uma redução muito significativa na biodisponibilidade.



Região	pH
Papo	4 – 6
Proventrículo	2.5 – 5
Moela	2.5 – 5
Duodeno	5 – 6.5
Pequeno intestino Superior	6 – 7
Pequeno intestino Inferior	7 – 7.5
Ceco	5.5 – 7
Cólon	7

Essencialmente, complexos ou quelatos com baixa estabilidade não entregam o mineral aos locais de absorção no intestino e reduzem a eficácia do produto à do sal inorgânico correspondente. **Maximizar a estabilidade dependente do pH de minerais aumentará a biodisponibilidade mineral e a absorção no intestino.**

EM ESSÊNCIA, QUANTO MAIOR A ESTABILIDADE DE UM MINERAL, MAIOR SERÁ SUA BIODISPONIBILIDADE.

Além de diferir em virtude do grupo de ligação usado no processo de quelação, os minerais também diferem muito em termos de quão bem são absorvidos e utilizados por um animal. Os pesquisadores dedicaram tempo e esforço significativos para compreender a biodisponibilidade relativa dos minerais orgânicos, geralmente em comparação com sulfatos minerais inorgânicos, usando uma gama de parâmetros de avaliação. Há diversas definições de biodisponibilidade,

mas em termos de minerais, o termo pode ser definido como a proporção relativa de um mineral ingerido que é absorvido e retido pela espécie animal sob análise. A Tabela 4 destaca alguns exemplos de estudos sobre a biodisponibilidade da fonte de zinco em aves. Pode ser observado que, em geral, as fontes orgânicas de zinco têm maior biodisponibilidade do que seus homólogos inorgânicos.

Tabela 4: Biodisponibilidade relativa de fontes de zinco em aves (adaptado)

Fonte Zn	Índices Zn	Biodisponibilidade relativa (%)	Referência
Sulfato de Zn (grau de reagente)	Zn do osso	100	Cao <i>et al.</i> , 2000
Sulfato Zn (básico)	Zn do osso	101	Cao <i>et al.</i> , 2000
Cloreto de Zn (básico)	Zn do osso	107	Cao <i>et al.</i> , 2000
Óxido de zinco (grau de alimentação)	Zn do osso	49	Cao <i>et al.</i> , 2000
Sulfato de Zn	Ganho de peso	100	Ao <i>et al.</i> , 2006
Proteinato de Zn	Ganho de peso	183	Ao <i>et al.</i> , 2006
Sulfato de Zn	Zn da tíbia	100	Ao <i>et al.</i> , 2006
Proteinato de Zn	Zn da tíbia	157	Ao <i>et al.</i> , 2006
Acetato de Zn	Zn do osso	100	Cao <i>et al.</i> , 2002
Proteinato de Zn	Zn do osso	110–124	Cao <i>et al.</i> , 2002
Metionina de Zn	Zn do osso	78–91	Cao <i>et al.</i> , 2002
Acetato de Zn	Mucosal MT	100	Cao <i>et al.</i> , 2002
Proteinato de Zn	MT da mucosa	99–130	Cao <i>et al.</i> , 2002
Metionina de Zn	MT da mucosa	77–94	Cao <i>et al.</i> , 2002
Sulfato de Zn	Ganho de peso	100	Batal <i>et al.</i> , 2001
TBZC	Ganho de peso	110	Batal <i>et al.</i> , 2001
Sulfato de Zn	Zn do osso	100	Cao <i>et al.</i> , 2000
Quelato Aa de Zn	Zn do osso	83–104	Cao <i>et al.</i> , 2000
Proteinato A de Zn	Zn do osso	116–139	Cao <i>et al.</i> , 2000
Sulfato de Zn	Zn da mucosa	100	Cao <i>et al.</i> , 2000
Quelato Aa de Zn	Zn da mucosa	64–104	Cao <i>et al.</i> , 2000
Proteinato A de Zn	Zn da mucosa	65–133	Cao <i>et al.</i> , 2000
Sulfato de Zn	Zn do osso	100	Wedekind <i>et al.</i> , 1992
Zinco-metionina	Zn do osso	117–177	Wedekind <i>et al.</i> , 1992
Óxido de zinco	Múltiplos parâmetros	100	Pimental <i>et al.</i> , 1991
Zinco-metionina	Múltiplos parâmetros	100	Pimental <i>et al.</i> , 1991



Além disso, pode ser observada variabilidade entre os estudos, que depende não apenas do índice de medição usado para avaliar a biodisponibilidade, mas também da fonte usada. Em essência, mesmo dentro de grupos de minerais orgânicos (por exemplo, proteínatos), podem ser observadas diferenças na biodisponibilidade.

Muitos fatores afetam a biodisponibilidade, incluindo (mas não se limitando a):

- espécies animais
- sexo
- estado fisiológico
- status mineral existente
- escolha de critérios de resposta
- escolha de fonte padrão e forma química
- solubilidade do elemento mineral

Com relação à forma química do mineral, a força de quelação entre o mineral e o grupo de ligação definirá a estabilidade mineral orgânica e, em última análise,

desempenhará um papel significativo na influência da biodisponibilidade relativa. Existe um número limitado de estudos que comparam a força de quelação de minerais orgânicos com a biodisponibilidade. No entanto, esses estudos são muito perspicazes e demonstram uma ligação direta entre a estabilidade e a biodisponibilidade de minerais orgânicos.

PORTANTO, AUMENTAR A FORÇA DA LIGAÇÃO ENTRE O MINERAL E O GRUPO DE LIGAÇÃO UTILIZADO É UMA ESTRATÉGIA MUITO EFICAZ PARA MELHORAR A BIODISPONIBILIDADE DE MINERAIS ORGÂNICOS.

A Tabela 5 destaca as principais conclusões de vários desses estudos, nos quais é evidente que, à medida que a força de quelação aumenta, a biodisponibilidade relativa da fonte mineral também aumenta.

Tabela 5: A força da quelação é fundamental para a biodisponibilidade relativa dos minerais orgânicos (adaptados)

Fonte mineral	Força de quelação (Qf)	Biodisponibilidade relativa (%)	Referência
Proteinato C de Zn	120	108	Cao <i>et al.</i> , 2000
Proteinato B de Zn	91	99	Cao <i>et al.</i> , 2000
Polissacarídeo de Zn	3,8	94	Cao <i>et al.</i> , 2000
Proteinato A de Zn	944,02	111–196	Yu <i>et al.</i> , 2010
Proteinato B de Zn	30,73	107–187	Yu <i>et al.</i> , 2010
Complexo Aa de Zn	6,48	106–162	Yu <i>et al.</i> , 2010
Glicinato de Zn	n/r	108–157	Yu <i>et al.</i> , 2010
Metionato de Zn	n/r	109–145	Yu <i>et al.</i> , 2010
Proteinato de Mn	147	169	Liao <i>et al.</i> , 2019
Quelato Aa de Mn	61,9	141	Liao <i>et al.</i> , 2019
Complexo Aa de Mn	2,35	112	Liao <i>et al.</i> , 2019
Quelato C de Mn	115,4	93–114	Li <i>et al.</i> , 2004
Quelato B de Mn	45,3	96–133	Li <i>et al.</i> , 2004
Metionato E de Zn	3,2	95–110	Li <i>et al.</i> , 2004
Proteinato ES de Fe	8.590	174	Zhang <i>et al.</i> , 2016
Proteinato M de Fe	43,6	143–164	Zhang <i>et al.</i> , 2016
Metionato de Fe	1,37	102–129	Zhang <i>et al.</i> , 2016



AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA QUELAÇÃO

Considera-se que testes de diversos graus de natureza científica e credibilidade são capazes de diferenciar entre minerais orgânicos bons e ruins.

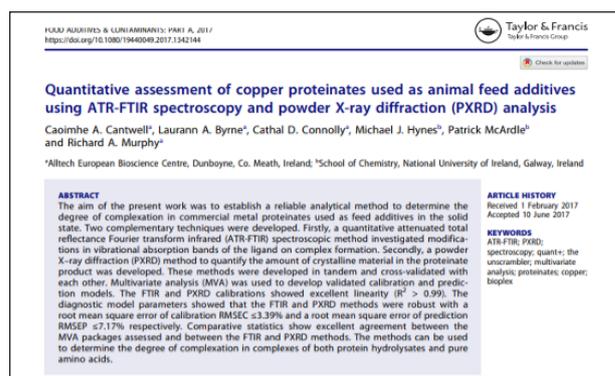
Os parâmetros básicos que podem ser analisados incluem:

- % mineral
- razão nitrogênio-mineral
- % mineral ligado
- massa molecular
- biodisponibilidade
- estabilidade

Embora algumas das análises em uso possam fornecer informações significativas e valiosas sobre produtos definidos ou individuais, entender as limitações desses testes é fundamental para aplicá-los com sucesso na avaliação de minerais orgânicos. Historicamente, a determinação da porcentagem de mineral ligado utilizava a filtração através de uma membrana de baixa massa molecular. Presumia-se que o mineral retido antes do filtro estava ligado, enquanto o mineral no filtrado (solução) não estava ligado. Tais métodos, no entanto, estão sujeitos a manipulação, por meio da qual alterar o pH do tampão pode causar precipitação e levar a estimativas falsas do verdadeiro nível de mineral ligado.

Os únicos ensaios validados que quantificam totalmente o nível de mineral ligado em minerais orgânicos são baseados no uso de técnicas conhecidas como ATR-FTIR e PXRD e foram desenvolvidos e validados por pesquisadores do Centro Europeu de Bociências da Alltech.

O primeiro ensaio usa uma forma de espectroscopia infravermelha para medir a quantidade de mineral ligado, enquanto o segundo usa uma forma de cristalografia para medir o mineral não ligado. Ambos complementam um ao outro e são revisados por pares e publicados (Cantwell *et al.*, 2017). No caso do ensaio FTIR, este foi validado e verificado de forma independente pelo Laboratório Central de Referência (CRL) e é aceito como um método de controle oficial pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) na União Europeia.



ANTAGONISMO DO PREMIX E DA RAÇÃO

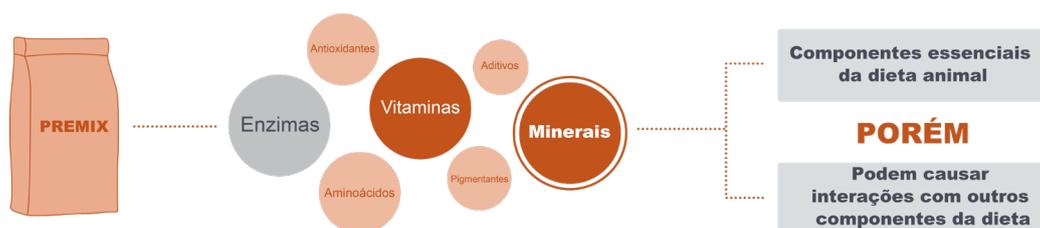
Cada vez mais, os efeitos agonísticos e antagonísticos dos componentes da ração têm sido examinados, com a escolha dos componentes ganhando importância cada vez maior na formulação da dieta. A possibilidade de interações negativas que ocorrem entre componentes individuais dentro de premixes e rações é alta e muitas vezes negligenciada, assim como os

efeitos subjacentes a nível celular após a digestão e absorção da fonte mineral.

Estudos recentes têm se concentrado na avaliação desses antagonismos potenciais. Os efeitos diferenciais observados indicam que **nem todos quelatos são feitos da mesma forma**. Além disso, todos diferem em termos de estabilidade, liberando minerais de forma

dependente de pH com base no pH do microambiente local. Essa instabilidade resulta em alguns quelatos

tendo um impacto negativo nos componentes de premix e ração.



EFEITO DE MINERAIS NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Muito pouca informação está disponível comparando os antagonismos potenciais que podem ocorrer entre diferentes fontes minerais e enzimas dentro dos premixes, bem como as repercussões que isso pode ter em termos de perda da eficácia da enzima.

Santos *et al.* (2014) se enfocou na avaliação do potencial de interação *in vitro* entre fontes quelatadas inorgânicas e orgânicas de Fe, Zn e Cu com três preparações de fitase comercialmente disponíveis. O estudo também investigou se o grau de inibição da enzima dependia do tipo de mineral orgânico utilizado como fonte mineral.

Os autores demonstraram que existia uma relação altamente significativa entre a inibição da fitase e o tipo de mineral, bem como a fonte e concentração do mineral.

Os proteinatos foram consistentemente e significativamente menos inibitórios do que as outras fontes minerais, e isso foi mostrado no caso das fitases de *Escherichia coli* e *Peniophora lycii* para Fe e Zn, bem como para Cu com fitases de *E. coli* e *Aspergillus niger*. A curva dose-resposta que ilustra o impacto da fonte Fe na atividade da fitase *P. lycii* é mostrada na Figura 2.

Os autores destacaram ainda o impacto da forma mineral na atividade da fitase, calculando a metade

da concentração inibitória máxima (IC50), permitindo assim que eles indiquem quanto de cada fonte mineral foi necessário para inibir a função da fitase pela metade, fornecendo assim uma medida da potência de fontes minerais individuais. A Tabela 6 resume os valores de IC50 para as fontes individuais de Fe e enzimas fitase avaliadas, ilustrando ainda que nem todas as fontes minerais são equivalentes no que diz respeito ao seu impacto inibitório.

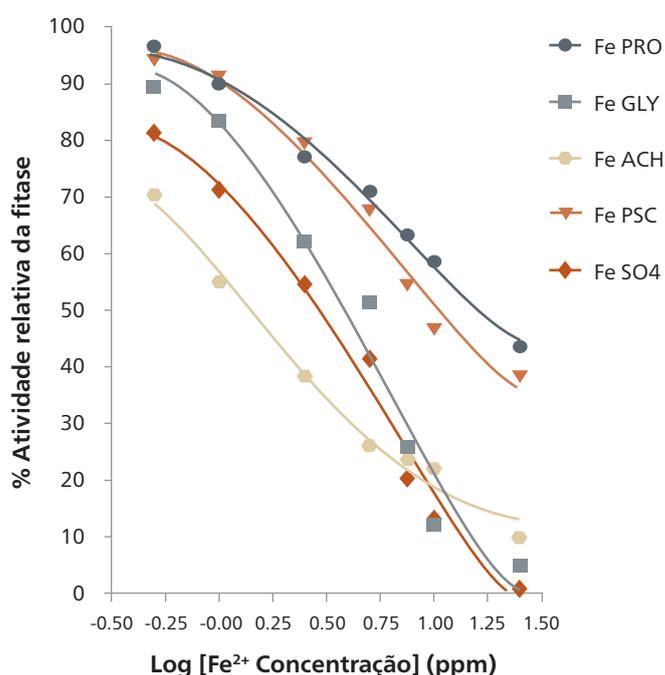


Figura 2: Curvas sigmóides de dose-resposta que representam o efeito das fontes de Fe na atividade da fitase de *P. lycii* (Santos *et al.*, 2014)

Tabela 6: Valores de concentração (ppm) IC₅₀ de fontes de ferro para inibição de fitase

Fonte de fitase	Proteinato	Glicinato	Complexo de aminoácidos	Complexo de polissacarídeos	Sulfato
E. coli	6,7 ± 1,1 ^{A1}	3,4 ± 0,3 ^{BC1}	0,9 ± 0,1 ^{C1}	3,7 ± 0,1 ^{B1}	4,1 ± 0,4 ^{B1}
P. lycii	16,7 ± 2,5 ^{A1}	3,8 ± 0,8 ^{B1}	1,4 ± 0,2 ^{B1}	10,4 ± 1,3 ^{C1}	2,9 ± 0,4 ^{B1}
A. niger	10,9 ± 1,0 ^{A1}	6,0 ± 0,9 ^{B1}	1,1 ± 0,1 ^{C1}	12,0 ± 1,3 ^{A1}	8,5 ± 1,0 ^{AB1}

Adaptado de: Santos et al., 2014

No geral, diferentes fontes de minerais orgânicos exibiram efeitos diferenciais na inibição da atividade da fitase exógena. As consequências que essa inibição da atividade enzimática induzida por minerais tem para a formulação do premix e da ração são tremendas e explicam a variação observada na resposta à suplementação.

A TENDÊNCIA PARA A SUPER-DOSAGEM DE ATIVIDADES DE FITASE EM DIETAS PODE SER UMA CONSEQUÊNCIA NÃO INTENCIONAL DAS INTERAÇÕES NEGATIVAS DOS COMPONENTES DO PREMIX.

A FORMA EM QUE O MINERAL É APRESENTADO, NO ENTANTO, TEM UM PAPEL AINDA MAIS SIGNIFICATIVO NA INFLUÊNCIA DA ESTABILIDADE DA VITAMINA.

Um estudo recente (Concarr et al., 2021) demonstra bem esses efeitos. O estudo, que analisou a estabilidade da vitamina E após a inclusão de curto prazo em premixes minerais contendo sulfatos inorgânicos ou diferentes formas de minerais orgânicos, demonstrou que a forma mineral influenciou significativamente a estabilidade do α-tocoferol (Figura 3).

EFEITO DE MINERAIS SOBRE A ESTABILIDADE DE VITAMINAS

A oxidação de vitaminas e a perda da função antioxidante são causadas principalmente pela auto-oxidação de gorduras (um fenômeno que pode ser autopropagado) ou por minerais residuais por meio de reações de oxidação do tipo Fenton. Nos premixes de minerais, as reações de oxidação-redução são a causa predominante da instabilidade das vitaminas.

O tipo de mineral influenciará a reatividade, sendo que cobre, ferro e zinco são os mais reativos e com maior potencial de destruição de vitaminas.

A estabilidade da vitamina E nos premixes contendo quelatos proteicos não foi significativamente diferente quando comparada ao controle de vitaminas. Os dois premixes que tiveram a maior perda de acetato α-tocoferol foram aqueles que continham o complexo de aminoácidos (redução de 25,7%) e glicinato (redução de 31,9%). Ambos os premixes apresentaram níveis de perdas maiores do que o controle de vitaminas e na fonte de proteinatos. Esses dados demonstram a importância de escolher cuidadosamente os componentes do premix.

Um estudo adicional de Concarr et al. (2021b) examinou ainda os impactos desestabilizadores da forma mineral nas vitaminas no premix. O autor constatou que tanto acetato de retinol quanto estabilidades de colecalciferol aumentaram

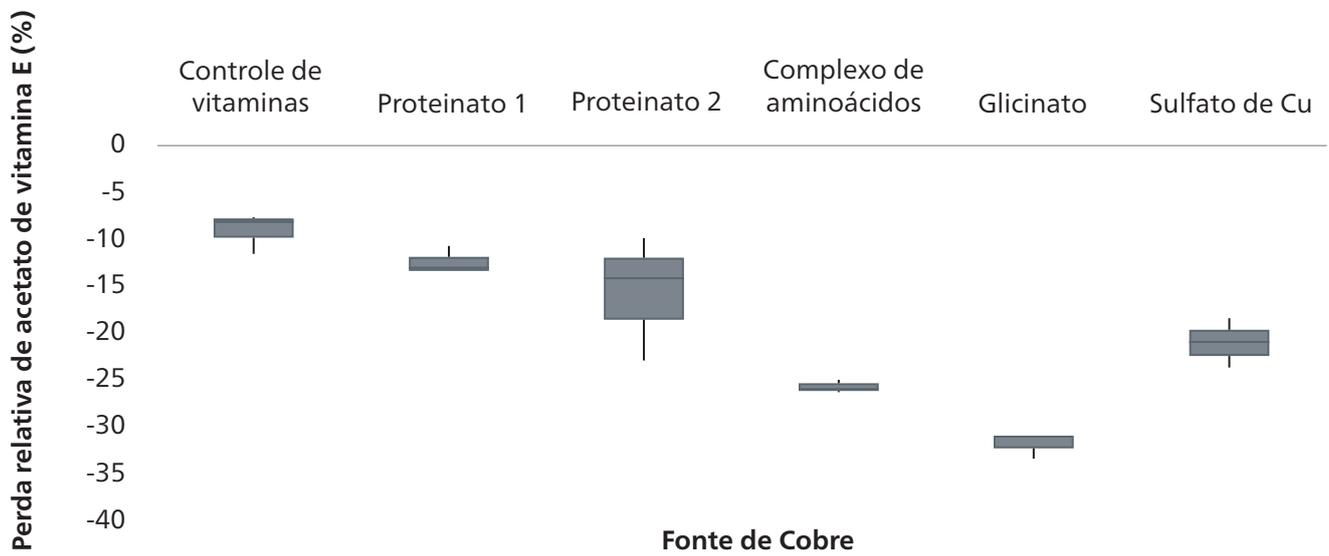


Figura 3: A instabilidade da vitamina E nos premixes é influenciada pela forma do mineral (Concarr *et al.*, 2021)

significativamente ($P \leq 0,05$) dentro de premixes de vitamina-mineral por meio da inclusão de minerais quelados. Os dados indicaram que os níveis aumentados de minerais aumentaram o acetato de retinol e a degradação do colecalciferol de acordo com a duração

do tempo de armazenamento, mas que as perdas poderiam ser minimizadas com a substituição de formas inorgânicas por formas orgânicas. Isso é claramente ilustrado na Figura 4, onde o impacto da forma mineral e nível na estabilidade da vitamina D3 é aparente.

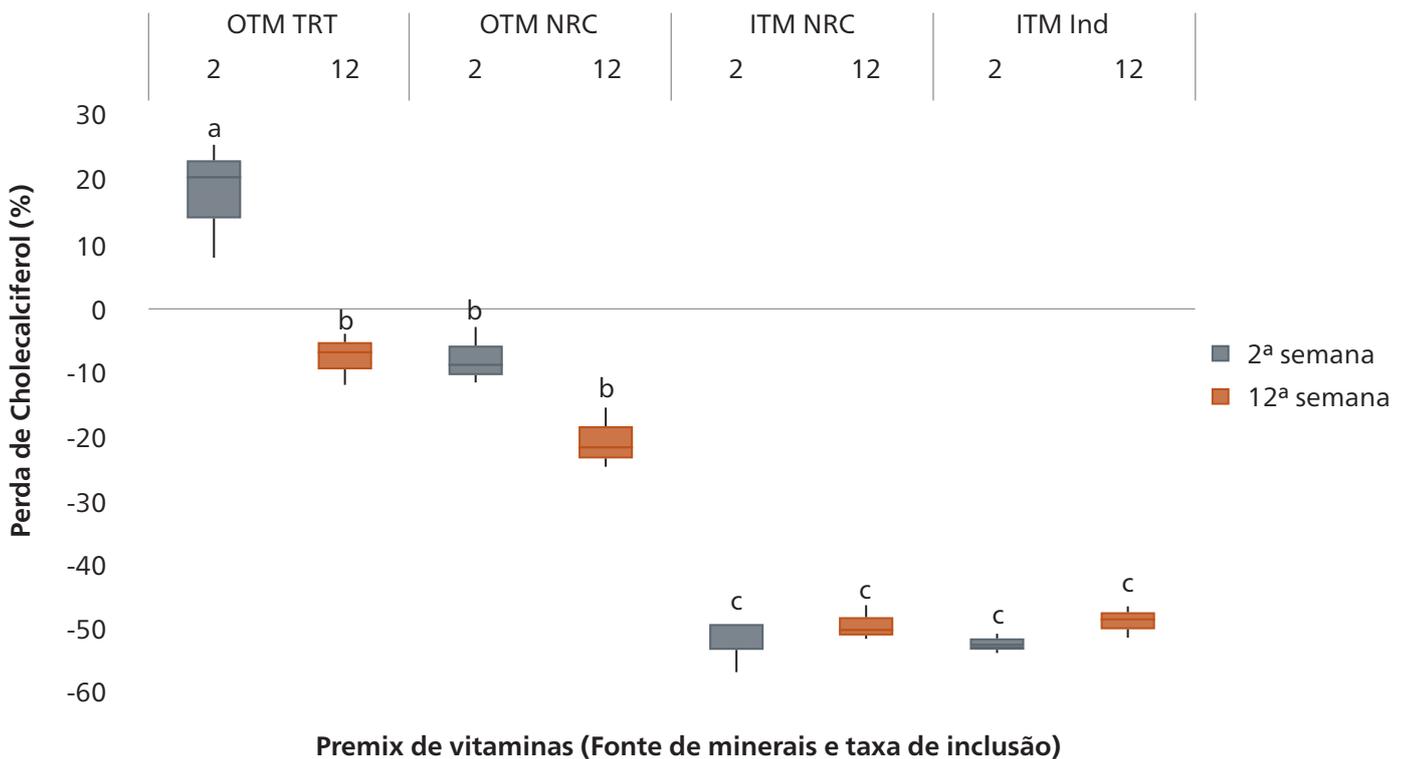


Figura 4: Impacto da forma mineral, nível e tempo de armazenamento sobre a estabilidade da vitamina D₃ no premix (Concarr *et al.*, 2021)

IMPACTO DA FORMA MINERAL NA EFICÁCIA ANTIOXIDANTE

Outras pesquisas do mesmo autor avaliaram o efeito da forma mineral na redução da eficácia de antioxidantes reconhecidos para rações, como o BHT (hidroxitolueno butilado). Este estudo comparou sulfato de cobre inorgânico com diferentes fontes minerais orgânicas de cobre (Glicinatos, Quelatos de aminoácidos e proteínatos). Os resultados indicam ainda que a eficácia dos componentes comumente usados no premix, como antioxidantes, pode ser comprometida pelo uso de minerais inorgânicos (Figura 5).

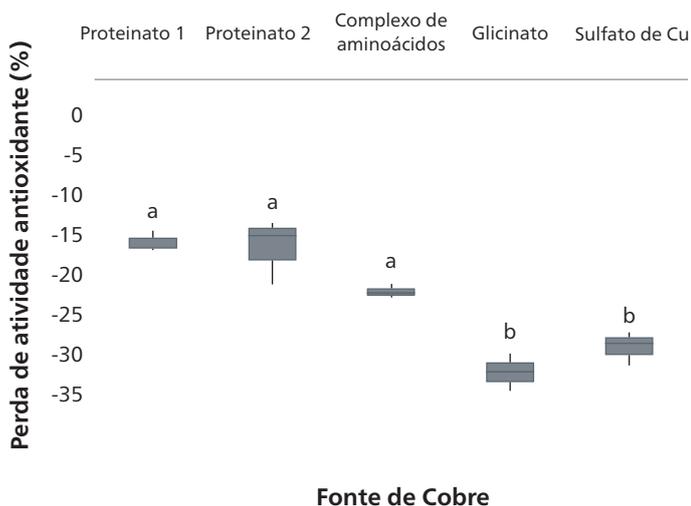
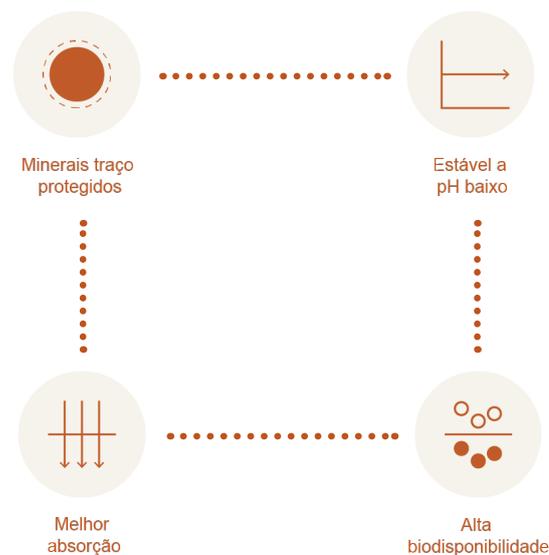


Figura 5: Impacto da forma mineral sobre a eficácia de antioxidantes (BHT) (Concarr et al., 2021)

Os dados indicam ainda que, em alguns casos, os minerais orgânicos também tiveram um impacto desestabilizador significativo na função antioxidante. Essencialmente, minerais com ligações fracas podem resultar na liberação de íons minerais livres, causando uma geração de espécies reativas de oxigênio, o que leva a uma maior oxidação e uma redução na eficácia de antioxidantes alimentares como o BHT.

IMPACTO DA FONTE DE SELÊNIO SOBRE A ESTABILIDADE DE SELENOMETIONINA

Selênio pode ser incluído em premixes como selenito de sódio inorgânico, selênio orgânico enriquecido de levedura e formas quimicamente sintetizadas, como L selenometionina (L-SeMet) ou Hidroxi-selenometionina. Concarr e colegas compararam recentemente a estabilidade da fonte de selenometionina no premix de minerais inorgânicos, avaliando a recuperação de SeMet de premixes contendo levedura enriquecida com selênio orgânico ou L-SeMet sintetizada quimicamente. Os dados sobre o efeito da fonte sobre a estabilidade da



SeMet na presença do MTI (Minerais Traço Inorgânicos) demonstrou que a L-SeMet quimicamente sintetizada é significativamente ($P \leq 0,05$) menos estável do que a levedura orgânica enriquecida com selênio quando formulada em um premix contendo fontes de minerais inorgânicos (Figura 6).

Um relatório da EFSA (2013) afirmou que o L-SeMet sintetizado é instável em premixes contendo compostos

de minerais, com perda de SeMet de 45%, 46% e 63% após três, seis e nove meses, respectivamente. A instabilidade da L-SeMet quimicamente sintetizada dentro de um premix pode ser devido ao fato de que sua forma purificada pode ser facilmente oxidada. A presença de minerais pró-oxidativos aumenta a formação de ROS, que posteriormente oxida a SeMet. Embora o experimento atual tenha correlacionado com os dados da EFSA em relação à instabilidade do L-SeMet quimicamente sintetizado na presença de minerais, demonstrou que **a fonte de levedura orgânica enriquecida com selênio é significativamente mais estável ($P \leq 0,05$)**.

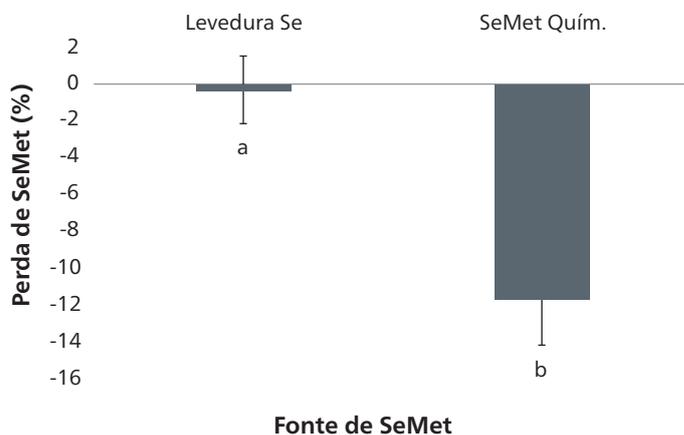


Figura 6: Influência da fonte de selênio sobre estabilidade de selenometionina (Concarr *et al.*, 2021)

Dada a influência estabilizadora do processo de quelatação na reatividade mineral, seria de se esperar que o uso de minerais quelados reduziria o impacto negativo dos minerais na estabilidade da selenometionina.



CONCLUSÕES

Apesar da confusão e das muitas informações contraditórias existentes, a quelatação mineral é um processo relativamente simples, regido por alguns fundamentos básicos da química. Ao considerar cuidadosamente os fatores importantes na quelatação mineral, pode-se começar a distinguir entre os produtos com base em suas estabilidades biológicas e, portanto, na biodisponibilidade biológica.

EM ÚLTIMA ANÁLISE, A ESTABILIDADE DE UM MINERAL ORGÂNICO É DE SUMA IMPORTÂNCIA PARA SUA BIODISPONIBILIDADE.

Durante o trânsito pelo trato gastrointestinal e conforme o pH diminui ou acidifica, todos os minerais são submetidos a forças fisiológicas, que podem resultar na dissociação do complexo mineral ligado e na liberação de íons minerais livres. Minerais orgânicos com estabilidade e força de ligação otimizadas terão muito menos potencial de reatividade quando comparadas com fontes inorgânicas. No entanto, diferentes formas minerais orgânicas reagirão de forma diferente e causarão maior ou menor inibição da atividade enzimática, estabilidade da vitamina e função antioxidante, dependendo da fonte.

Em última análise, os nutricionistas e formuladores devem prestar mais atenção à escolha do componente individual para minimizar os custos financeiros associados a interações negativas, que podem ser significativos.

**Referências disponíveis mediante solicitação.*

