

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL - PPGCA**

**LOIRANA LEHMKUHL DA ROSA**

**DIGESTIBILIDADE DE DIFERENTES FONTES DE CÁLCIO E  
GRANULOMETRIAS EM DIETAS PARA POEDEIRAS NAS FASES DE  
CRESCIMENTO E POSTURA**

**LAGES**

**2023**

**LOIRANA LEHMKUHL DA ROSA**

**DIGESTIBILIDADE DE DIFERENTES FONTES DE CÁLCIO E  
GRANULOMETRIAS EM DIETAS PARA POEDEIRAS NAS FASES DE  
CRESCIMENTO E POSTURA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração em Produção Animal.  
Orientador: Prof. Dr. Clóvis Eliseu Gewehr

**LAGES**

**2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Universitária Udesc,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

da Rosa, Loirana Lehmkuhl  
DIGESTIBILIDADE DE DIFERENTES FONTES DE  
CÁLCIO E GRANULOMETRIAS EM DIETAS PARA  
POEDEIRAS NAS FASES DE CRESCIMENTO E POSTURA  
/ Loirana Lehmkuhl da Rosa. -- 2023.  
64 p.

Orientador: Clóvis Eliseu Gewehr  
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de  
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages,  
2023.

1. Calcário calcítico. 2. Farinha de ostra. 3. Nutrição. 4.  
Poedeiras. I. Eliseu Gewehr, Clóvis . II. Universidade do  
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Animal. III. Título.

**LOIRANA LEHMKUHL DA ROSA**

**DIGESTIBILIDADE DE DIFERENTES FONTES DE CÁLCIO E  
GRANULOMETRIAS EM DIETAS PARA POEDEIRAS NAS FASES DE  
CRESCIMENTO E POSTURA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração em Produção Animal.

**BANCA EXAMINADORA**

Dr. Clóvis Eliseu Gewehr

Universidade do Estado de Santa Catarina

Membros:

 CLAUDIA PIES BIFFI  
Data: 20/07/2023 15:15:39-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Aline Félix Schneider Bedin

Universidade Federal de Santa Catarina

 CLAUDIA PIES BIFFI  
Data: 20/07/2023 15:15:39-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Claudia Pies Biffi

Universidade do Estado de Santa Catarina

Documento assinado digitalmente  
 HENRIQUE JORGE DE FREITAS  
Data: 20/07/2023 19:00:03-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Henrique Jorge de Freitas

Universidade Federal do Acre

Documento assinado digitalmente  
 VLADIMIR DE OLIVEIRA  
Data: 21/07/2023 16:28:07-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Vladimir de Oliveira

Universidade Federal de Santa Maria

Lages, 20 de julho de 2023.

A partir do momento que um corpo encontra outro nunca mais esses corpos vão ser os mesmos e o movimento de ambos é alterado pela eternidade. Sendo assim, dedico esse trabalho a todos os corpos que se chocaram ao meu ao longo desses anos e me fizeram evoluir até o momento presente.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Anna Paula Lehmkuhl e Otoniel Rodrigues Silva, que com muito carinho e apoio sempre estiveram ao meu lado e não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Vocês são a inspiração e a razão que me impulsiona a ser cada dia melhor. Sem vocês eu jamais teria conseguido, meu muito obrigada e meu eterno amor.

Aos meus avós Eloiza Helena Lehmkuhl e Paulo Roberto Lehmkuhl, obrigada por sempre acreditarem em mim, me incentivarem e pelo carinho dedicado ao longo de todas as etapas da minha vida. Amo vocês.

Ao Filipi Zanatta de Carvalho, pelo companheirismo durante esses anos. Agradeço por toda força, paciência e principalmente pelo incentivo. Você me lembra continuamente da minha capacidade, quando já não me recordo mais dela. Nos dias mais escuros você veio como uma aurora reluzente. Todo meu carinho e amor por você.

Ao meu orientador Clóvis Eliseu Gewehr, por ter me dado a oportunidade de ingressar na pós-graduação, sou muito grata por toda ajuda, compreensão e paciência. Obrigada pelo incentivo e pelo apoio no desenrolar do mestrado.

A Universidade do Estado de Santa Catarina, pelo ensino de qualidade e pelas oportunidades concedidas.

A todos os profissionais da UDESC, pelo auxílio ao longo do mestrado e das análises laboratoriais. Obrigada pela contribuição, por terem disponibilizado seus laboratórios, por toda ajuda e gentiliza. Agradeço especialmente aos professores Everton Skoronski, Raquel Valério de Sousa e Rogério Laus, vocês foram fundamentais para a execução desse trabalho.

Aos professores que contribuíram para a minha formação, em especial agradeço aos professores Aline Félix Schneider Bedin e Vladimir de Oliveira pela atenção e pelo tempo dedicado ao me auxiliarem na elaboração do projeto de pesquisa e na discussão das análises laboratoriais. Obrigada por aceitarem fazer parte da banca.

Não só com professor se aprende, aprendi e muito com os meus colegas de setor Marcelo Suzuki e Marcos Pinheiro, obrigada pelas horas em laboratório, montando e desmontando metabolismo, no auxílio durante as coletas e todo apoio ao

longo desses anos, vocês tiveram papel inimaginável na execução desse trabalho, na minha vida e na minha formação.

A todas as pessoas do grupo de Avicultura, obrigada por todos os ensinamentos, pela amizade e momentos compartilhados, vocês contribuíram imensamente para a minha formação.

Aos amigos que estiveram ao meu lado, Anna Caroline Pontel e Anthony Broering, agradeço por tornarem minha vida mais leve e divertida. Quem divide o que tem é que vive para sempre, obrigada por dividirem os piores e melhores momentos comigo. Vocês foram o oásis nas piores fases e levo vocês para sempre no meu coração.

Gostaria de agradecer a minha cadelinha Ludmilla, por ser minha companheira ao longo destes 8 anos. Você veio durante a faculdade de veterinária e assim estamos juntas até hoje. A sua companhia, e agora de sua irmã Bobzinha, ao longo destes anos tem sido minha motivação diária.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

Eu voltei pra matar, tipo infarto  
Depois fazer renascer, estilo um parto  
Eu me refaço, farto, descarto  
De pé no chão, homem comum  
Se a benção vem a mim, reparto  
Invado cela, sala, quarto  
Rodeio o globo, hoje tô certo  
De que todo mundo é um  
E tudo, tudo, tudo, tudo que nós tem é nós.

Emicida, 2019

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a digestibilidade de diferentes fontes de cálcio e granulometrias para poedeiras nas fases de crescimento e postura. Um ensaio de metabolismo foi conduzido com 95 aves de postura com 11 semanas de idade, dispostas em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3X2 [sendo três fontes de Ca (farinha de concha de ostra e duas fontes de calcários calcíticos) x duas granulometrias (fina e grossa)], perfazendo seis tratamentos, somados ainda há uma dieta isenta de Ca e uma dieta basal, totalizando oito tratamentos com cinco repetições de duas aves com exceção do tratamento isento de Ca com cinco aves por repetição. Aves submetidas aos tratamentos com granulometria grossa foram adaptadas 20 dias antes da realização do ensaio com pedriscos de basalto adicionados sobre a ração nos comedouros para que ocorresse hipertrofia da moela e adaptação do trato digestório. Não foi observado diferença significativa entre as fontes de Ca avaliadas ( $P>0,05$ ). Os resultados de solubilidade *in vitro* das granulometrias das fontes de Ca indicaram a relação que existe entre granulometria e solubilidade, sendo que com o aumento no diâmetro das partículas ocorreu a diminuição da solubilidade *in vitro*. O aumento da granulometria, comparado com partículas moídas finamente, reduziu os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca analisadas ( $P<0,05$ ). O emprego de partículas finas aumentou os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca e a farinha de concha de ostra e o calcário calcítico se equivalem nos coeficientes de digestibilidade. Um segundo ensaio de metabolismo foi conduzido com 85 aves de postura com 26 semanas de idade, submetidas aos mesmos tratamentos do primeiro experimento, tendo a dieta adaptada para as exigências nutricionais da idade. Observou-se diferença significativa entre as fontes de Ca avaliadas ( $P<0,05$ ), onde os coeficientes de digestibilidade foram maiores nas aves que consumiram rações contendo calcário calcítico Furquim e farinha de conchas de ostras, que por sua vez diferiu estatisticamente do calcário calcítico Supercal, sendo a fonte de Ca que apresentou o menor ( $P<0,05$ ) coeficiente de digestibilidade. Os resultados de solubilidade *in vitro* das granulometrias das fontes de Ca indicaram a relação que existe entre granulometria e solubilidade, onde com o aumento no diâmetro das partículas ocorreu a diminuição da solubilidade *in vitro*. O aumento da granulometria reduziu os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca analisadas ( $P<0,05$ ). Com

o presente estudo é possível concluir que o emprego de partículas finas aumenta os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca. A farinha de concha de ostra e o calcário calcítico são fontes equivalentes em relação a digestibilidade do Ca.

**Palavras-chave:** Calcário calcítico. Farinha de concha de ostra. Nutrição. Poedeiras.

## ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the digestibility of different calcium sources and particle sizes for laying hens in the growth and laying phases. A metabolism test was conducted with 95 laying aged 11 weeks, arranged in a completely randomized design, in a 3X2 factorial arrangement [being three sources of Ca (oyster shell meal and two sources of calcitic limestone) x two granulometries (fine and coarse)], carrying out six treatments, plus a Ca-free diet and a basal diet, totaling eight treatments with repetitions of two laying hens, with the exception of the Ca-free treatment with five laying hens per reproduction. Laying hens subjected to coarse grained treatments were adapted 20 days before the test with basalt pebbles added to the feed in the feeders so that gizzard hypertrophy and digestive tract adaptation occurred. No significant difference was observed between the Ca sources evaluated ( $P>0.05$ ). The in vitro solubility results of the particle size of Ca sources indicated the relationship between particle size and solubility, with an increase in particle diameter decreasing in vitro solubility. The increase in particle size, compared to finely ground particles, harms the digestibility coefficients of the feed and the proven Ca sources ( $P<0.05$ ). The use of fine particles increased the digestibility coefficients of the feed and Ca sources and oyster shell flour and calcitic limestone were equivalent in digestibility coefficients. A second metabolism test was continuous with 85 laying hens aged 26 weeks, subjected to the same treatments as the first experiment, having a diet adapted to the nutritional requirements of their age. A significant difference was observed between the Ca sources evaluated ( $P<0.05$ ), where the digestibility coefficients were higher in laying hens that consumed diets containing Furquim calcitic limestone and oyster shell flour, which in turn differed statistically from the limestone calcitic Supercal, being the Ca source that presented the lowest ( $P<0.05$ ) digestibility coefficient. The in vitro solubility results of the particle size of Ca sources indicated the relationship between particle size and solubility, where with the increase in particle diameter there was a decrease in in vitro solubility. The increase in granulometry impeded the feed digestibility coefficients and proven Ca sources ( $P<0.05$ ). With the present study it is possible to conclude that the use of fine particles increases the digestibility coefficients of feed and Ca sources. Oyster shell flour and calcitic limestone are equivalent sources in relation to Ca digestibility.

**Keywords:** Calcitic limestone. Oyster shell flour. Nutrition. Layers.

## LISTA DE TABELAS

Capítulo I .....	37
Tabela 1 - Composição nutricional e calculada das dietas experimentais.....	41
Tabela 2 - Coeficiente de digestibilidade (%) da matéria mineral (CDMM), da matéria seca (CDMS), aparente (CDAR) e verdadeira (CDVR) do Cálcio da ração e aparente (CDAF) e verdadeira (CDVF) do Cálcio da fonte.....	43
Tabela 3 - Desdobramento da interação entre granulometria e fontes de Cálcio (%) para o coeficiente de digestibilidade aparente do Ca da ração (CDAR) .....	45
Tabela 4 - Solubilidade <i>in vitro</i> e teor de Cálcio das fontes (%).....	46
Tabela 5 - Desdobramento da interação entre granulometria e fontes de Cálcio para o percentual de solubilidade.....	46
Capítulo II .....	50
Tabela 1 - Composição nutricional e calculada das dietas experimentais.....	55
Tabela 2 - Coeficiente de digestibilidade (%) da matéria mineral (CDMM), da matéria seca (CDMS), aparente (CDAR) e verdadeira (CDVR) do Cálcio da ração e aparente (CDAF) e verdadeira (CDVF) da Cálcio da fonte.....	57
Tabela 3 - Desdobramento da interação entre granulometria e fontes de Cálcio (%) para o coeficiente de digestibilidade de matéria mineral (CDMM) e coeficiente de digestibilidade de matéria seca (CDMS)...	59
Tabela 4 - Solubilidade <i>in vitro</i> e teor de Cálcio das fontes (%).....	60
Tabela 5 - Desdobramento da interação entre granulometria e fontes de Cálcio para o percentual de solubilidade.....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina trifosfato
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CDAF	Coeficiente de Digestibilidade Aparente do Cálcio da Fonte
CDAR	Coeficiente de Digestibilidade Aparente Cálcio da Ração
CDMM	Coeficiente de Digestibilidade da Matéria Mineral
CDMS	Coeficiente de Digestibilidade da Matéria Seca
CDVF	Coeficiente de Digestibilidade Verdadeira do Cálcio da Fonte
CDVR	Coeficiente de Digestibilidade Verdadeira do Cálcio da Ração
CV	Coeficiente de variação
DGM	Diâmetro geométrico médio
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPM	Erro padrão médio
H <sup>+</sup> -ATPase	ATP fosfo-hidrolase
Mg/Ca	Relação magnésio/cálcio
PPGCA	Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
PTH	Hormônio da paratireóide
rpm	Rotação por minuto
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina

## LISTA DE SÍMBOLOS

Ca	Cálcio
>	Maior que
<	Menor que
%	Porcentagem
mm	Milímetro
pH	Potencial hidrogênico
g	Gramas
$\beta$	Beta
$\text{NH}_3$	Amônia
$\text{H}_2\text{S}$	Ácido sulfúrico
$\text{CaCO}_3$	Carbonato de cálcio
$\text{Na}_2\text{O}$	Óxido de sódio
$\text{SO}_3$	Trióxido de enxofre
$\text{SiO}_2$	Dióxido de silício
$\text{MgO}$	Óxido de magnésio
$\text{Al}_2\text{O}_3$	Óxido de alumínio
$\text{P}_2\text{O}_5$	Pentóxido de fósforo
$\text{SrO}$	Óxido de estrôncio
HCl	Ácido clorídrico
m	Metro
ml	Mililitro
M	Concentração molar
min	Minuto
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
h	Hora
kg	Quilograma
kcal	Quilocaloria
mg	Miligramas
UI	Unidade internacional
mcg	Micrograma
Mg	Magnésio

Fe	Ferro
S	Enxofre
Zn	Zinco
Cu	Cobre

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
1.1	FORMULAÇÃO DO PROBLEMA.....	19
1.2	HIPÓTESES.....	20
1.3	OBJETIVOS.....	20
1.3.1	Objetivo geral.....	20
1.3.2	Objetivos específicos.....	21
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
2.1	METABOLISMO DO CÁLCIO.....	23
2.2	FARINHA DE CONCHA DE OSTRA.....	27
2.3	CALCÁRIO CALCÍTICO.....	29
2.4	GRANULOMETRIA.....	31
2.5	SOLUBILIDADE DAS FONTES DE CÁLCIO.....	32
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO I - Digestibilidade de diferentes fontes e granulometrias de cálcio para poedeiras em fase de crescimento..</b>	<b>37</b>
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO II - Digestibilidade de diferentes fontes e granulometrias de cálcio para poedeiras em fase de postura.....</b>	<b>50</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em conjunto com a proteína e a energia, os minerais exercem funções relevantes na nutrição de aves. Os macrominerais cálcio (Ca) e fósforo (P) são considerados nutrientes importantes para os animais, devendo assim estar em níveis adequados e equilibrados na formulação das rações (BERTECHINI, 2012; DAVID *et al.*, 2021).

Decorrente da sua importância no metabolismo das aves e para a formação da casca do ovo, o Ca se apresenta como um dos nutrientes mais pesquisados nos últimos anos. A maioria das fontes vegetais empregadas na alimentação animal são pobres em Ca, estando 20 a 30% do Ca encontrado nas plantas ocorrendo na forma de oxalatos que acabam não sendo absorvidos pelo organismo das aves. Nesse sentido, se faz necessário a suplementação da dieta das aves com fontes inorgânicas (calcário calcítico, fosfato monocálcico e fosfato bicálcico) ou com fontes orgânicas (farinha de carne e ossos e farinha de concha de ostra) de Ca (ANWAR; RAVINDRAN, 2016; WALK *et al.*, 2021).

A farinha de concha de ostra se mostra como uma fonte alternativa de Ca, proveniente de um molusco bivalve (*Crassostrea*), espécie comercialmente importante no sistema de aquicultura. A concha da ostra é um composto biogênico estruturado principalmente de  $\text{CaCO}_3$  (>95% em peso) em associação com uma matriz orgânica (até 5% do seu peso) que tem por função reforçar as propriedades mecânicas da concha e regular com precisão o posicionamento dos cristais de calcita e aragonita. Por apresentar uma grande quantidade de Ca na sua composição, concha de ostra, mariscos e algas são coprodutos renováveis com elevado potencial de utilização na alimentação animal (BONNARD *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2008; MATA *et al.*, 2019).

O calcário é um recurso mineral abundante, que se encontra distribuído por todo o país, sendo a região sudeste o principal berço da siderurgia nacional. Calcário é o termo geral usado para designar rochas sedimentares carbonáticas, englobando o calcário calcítico e o calcário dolomítico. O carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) na forma de calcário calcítico é a fonte de Ca mais empregada na alimentação das aves, podendo ser até 80% solúvel e absorvido no pH ácido do trato gastrointestinal superior (ventrículo e proventrículo) (BARCELOS *et al.*, 2017; JARDIM FILHO *et al.*, 2005; MATUSZEWSKI *et al.*, 2020).

O calcário calcítico é a fonte de Ca mais comumente empregada, apresentando estrutura lisa e geralmente ocorre em duas granulometrias: grossa e fina. A granulometria grossa é amplamente utilizada por acarretar numa lenta liberação de Ca, o qual ficará disponível à ave por um período mais prolongado. Quanto mais tempo o Ca proveniente da dieta estiver disponível menor será a dependência dos estoques de Ca ósseo, acarretando efeitos positivos na qualidade de produção e na saúde das poedeiras (SAUNDERS-BLADES *et al.*, 2009).

O tamanho das partículas de Ca, a taxa de solubilidade e a composição química podem influenciar a disponibilidade dietética do mineral *in vivo* e estes fatores precisam ser levados em consideração durante a formulação das dietas (SAUNDERS-BLADES *et al.*, 2009).

Com base no exposto, o objeto do presente trabalho foi avaliar a digestibilidade de diferentes fontes e granulometrias de cálcio empregadas na dieta de poedeiras semipesadas nas fases de crescimento e postura.

## 1.1 FORMULAÇÃO DO PROBLEMA

Considerando que a maior parte da dieta das aves é composta por grãos e seus subprodutos e que estes possuem baixo teor de Ca, variando entre 0,02 e 0,06% em cereais e 0,25 e 0,70% em fontes proteicas, se faz necessário a suplementação de Ca, através de fontes inorgânicas ou orgânicas, para atender os níveis nutricionais de Ca ideais na alimentação das aves (ANWAR; RAVINDRAN, 2016; WALK *et al.*, 2021).

Segundo as tabelas brasileiras para aves e suínos que contém a composição dos alimentos e exigências nutricionais, as fontes de Ca como: calcário calcítico, fosfato monocálcico, fosfato bicálcico, farinha de carne e ossos e farinha de concha de ostra são relatadas como contendo em média 38,4, 24,5, 18,6, 10,0 e 36,4% de Ca, respectivamente (ROSTAGNO *et al.*, 2017). No entanto, as concentrações de Ca podem variar dependendo de sua origem, sendo notadas variações mais amplas em fontes orgânicas de Ca (DAVID *et al.*, 2020).

Com isso, a fonte de Ca empregada na dieta das aves pode afetar a biodisponibilidade do mineral. O carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) está presente tanto no calcário calcítico quanto na concha de ostras, sendo o Ca considerado inorgânico de origem calcítica no calcário e orgânico de origem marinha na concha de ostra (DAVID *et al.*, 2020).

Grande parte da variação da digestibilidade do Ca pode ser atribuída a fatores relacionados aos animais como espécie, sexo, idade, respostas individuais e estado fisiológico; a fatores relacionados com a fonte mineral como a granulometria, processo de produção, fonte da matéria prima e concentração de outros minerais; e está ligada com fatores relacionados com a composição da dieta, como níveis de vitaminas, proteínas, fibra, gordura, níveis de fitato e relação entre os minerais (MILES; HENRY, 2000; WALK *et al.*, 2021).

A forma física dos suplementos de Ca é importante para permitir sua máxima utilização, onde a solubilidade do calcário em poedeiras na fase de postura pode ser melhorada se o tempo de retenção na moela for prolongado, sendo necessário o fornecimento de um tamanho de partícula mínimo de 1,0 mm para sustentar a retenção (LICHOVNIKOVA, 2007; SAUNDERS-BLADES *et al.*, 2009). Portanto, o tamanho maior da partícula de Ca pode ser benéfico para poedeiras durante o período noturno, quando dependendo do programa de luz empregado, a ave não está consumindo ração, mas as exigências de Ca são altas devido à formação da casca do ovo (SAUNDERS-BLADES *et al.*, 2009).

Nesse sentido, estudos evidenciando a importância da suplementação mineral em aves têm aumentado nos últimos anos em virtude de diversos fatores relacionados à produtividade desses animais que foram alterados pelo melhoramento genético, tornando as aves mais exigentes devido sua elevada velocidade de crescimento e os altos índices de produção (SAKOMURA *et al.*, 2014).

## 1.2 HIPÓTESES

A farinha de concha de ostra pode substituir o calcário calcítico como fonte de Ca na alimentação de poedeiras sem acarretar prejuízos na digestibilidade do Ca.

A granulometria fina de Ca na alimentação de poedeiras apresenta melhoria na digestibilidade do mineral.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 Objetivo geral

Determinar o coeficiente de digestibilidade aparente e verdadeira de diferentes fontes de Ca, com diferentes granulometrias em dietas de poedeiras Na fase de crescimento e postura.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

- a) Determinar a digestibilidade aparente e verdadeira do calcário calcítico utilizado na dieta de poedeiras na fase de crescimento e postura.
- b) Determinar a digestibilidade aparente e verdadeira da farinha de concha de ostra utilizada na dieta de poedeiras na fase de crescimento e postura.
- c) Avaliar a utilização de diferentes granulometrias sobre a digestibilidade do Ca aplicado na dieta de poedeiras na fase de crescimento e postura.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Os minerais representam de 3 a 4% do peso vivo das aves. Apesar deste baixo percentual são considerados nutrientes essenciais por atuarem em uma infinidade de vias metabólicas do organismo animal, integrando a estrutura de biomoléculas, influenciando no crescimento e manutenção de tecidos, atuando na regulação do equilíbrio ácido básico (pH) e da pressão osmótica, ativando funções hormonais, participando como cofatores enzimáticos, com funções importantes na reprodução, no metabolismo energético, entre outras funções fisiológicas indispensáveis para a manutenção do organismo animal (DAVID *et al.*, 2021; MATUSZEWSKI *et al.*, 2020; SAKOMURA *et al.*, 2014).

Esses nutrientes apresentam forte influência na produção animal e o seu nível de inclusão vai acarretar em acréscimos ou decréscimos na produtividade do sistema de criação. Ainda nesse sentido, os minerais podem interagir entre si gerando antagonismos mútuos ou com outros ingredientes da dieta, sendo assim necessário ter o conhecimento acerca das necessidades fisiológicas das aves. As formas como os minerais estão armazenados nos tecidos e fluidos do organismo podem sofrer alterações pois estão diretamente ligadas com a ingestão de dietas que podem estar balanceadas, deficientes ou com excesso de minerais na sua formulação (KORVER, 2020; SAKOMURA *et al.*, 2014).

Como ocorre com outros nutrientes, dependendo do nível de inclusão do mineral, as funções fisiológicas podem ser alteradas, gerando lesões e alterações estruturais. Essas vão variar tendo como base o elemento mineral, o grau de duração da exposição, a toxicidade e fatores intrínsecos dos animais, como espécie, fase de vida e sexo. Para que possam ser absorvidos, os minerais primeiramente precisam ser solubilizados pelo organismo liberando íons, no entanto, na forma ionizada pode ocorrer a ligação com outros constituintes da alimentação, atrapalhando a absorção pelo organismo animal (SAKOMURA *et al.*, 2014; VIEIRA, 2008).

Por essa razão, normalmente os minerais são ofertados na dieta um nível superior do exigido pelo animal, onde o excesso no fornecimento de um mineral na alimentação pode acarretar alteração do nível dos demais elementos devido às inter-relações entre os minerais e a formação de quelatos com outros componentes da dieta, dificultando assim a absorção ou até mesmo tornando indisponíveis os minerais complexados (ANWAR *et al.*, 2016; SAKOMURA *et al.*, 2014; VIEIRA, 2008).

O Ca se apresenta como um dos minerais mais importantes por influenciar a formação da casca dos ovos, contribuir na formação dos ossos e na estrutura dos músculos, devendo ser adicionado às dietas das aves afim que atenda o bom funcionamento do organismo. A deposição de Ca no esqueleto das aves ocorre de forma mais intensa na fase de crescimento, onde o maior percentual de Ca proveniente da dieta é direcionado para formação óssea. A suplementação mineral inadequada no crescimento terá como consequência desequilíbrio na homeostase mineral e desenvolvimento deficiente dos ossos devido a inadequada calcificação dos mesmos. Sendo assim, o fornecimento de níveis inadequados de Ca nas primeiras semanas de vida das poedeiras geram atraso no crescimento, baixo teor de Ca nos ossos, redução no percentual de postura e ovos de casca fina (ANWAR *et al.*, 2017; EDWARDS, 2000).

Em poedeiras no período de postura ocorre uma contante remodelação óssea e retirada de Ca da reserva corporal para a formação da casca do ovo, ocorrendo principalmente no tecido ósseo medular sendo esse responsável por 30-40% do Ca utilizado na formação da casca do ovo. As exigências das poedeiras por Ca para atender a alta produção de ovos, qualidade da casca dos ovos e sanidade animal vem sofrendo constantes questionamentos e são tema constante de pesquisas e revisões que têm por objetivo determinar com maior precisão as necessidades nutricionais de novas linhagens com maior potencial genético de produção, bem como sanar problemas relacionados com a qualidade da casca do ovo e ossos que acometem poedeiras no período de postura (ANWAR *et al.*, 2017; KORVER, 2020; LUKIĆ *et al.*, 2009).

## 2.1 METABOLISMO DO CÁLCIO

O Ca é considerado o mineral mais importante tanto funcional como economicamente na nutrição das poedeiras, sendo o mineral mais ativo no organismo das aves e essencial para uma série de funções metabólicas. A homeostase do Ca em poedeiras é obtida através do controle de absorção, reabsorção óssea e excreção, tendo sua eficiência atingida através da ação combinada de três órgãos/sistemas: trato gastrointestinal, rins e ossos. A boa nutrição do Ca em poedeiras requer conhecimentos tanto da necessidade metabólica diária como da fonte de aporte de Ca. Normalmente não existe a necessidade de elevar os níveis de Ca nas dietas das

poedeiras (independentemente da idade) para mais de 3,8 g/ave/dia. A elevação dos níveis além do recomendado resulta na interferência da disponibilidade de Ca e outros minerais, como fósforo, magnésio, zinco e manganês, causando deficiência secundária. (LICHOVNIKOVA, 2007; LUKIĆ *et al.*, 2009; SAKOMURA *et al.*, 2014).

Devido sua grande utilização o Ca se encontra em constante transição entre os ossos e o plasma. O tecido esquelético formado no período de crescimento servirá como fonte de Ca no decorrer da vida das aves. Os ossos são importantes depósitos de Ca (99%), estando esse na forma de hidroxiapatita, que atua suprindo a necessidade circulante do Ca através da remodelagem e renovação óssea. Se a concentração de Ca sanguínea começa a diminuir, o Ca ósseo rapidamente passa a ser mobilizado para elevar o nível do mineral no sangue, uma vez que a manutenção do nível plasmático de Ca é primordial em relação a mineralização óssea (LUKIĆ *et al.*, 2009; SAKOMURA *et al.*, 2014).

A pequena fração encontrada fora do sistema esquelético (1%) está presente na matriz extracelular como Ca ionizado, ligado a proteínas e ligado a ânions, sendo também encontrado intracelularmente. Esse 1% de Ca é considerado essencial para a manutenção de inúmeros processos fisiológicos das aves, seja na forma de íons ou de outros compostos, o Ca participa ativamente do processo de coagulação sanguínea, do metabolismo do glicogênio, da transmissão de impulsos nervoso, contração muscular e da proliferação e diferenciação celular (ADEDOKUN; ADEOLA, 2013; MATUSZEWSKI *et al.*, 2020). Também é responsável pela atividade de enzimas que atuam na hidrólise de polissacarídeos, fosfolipídios e proteínas, influenciando a secreção de hormônios e apoptose celular, a permeabilidade de membranas e viscosidade do citoplasma (SAKOMURA *et al.*, 2014).

O organismo sofre uma perda substancial de Ca no período de postura, resultante do processo de formação da casca do ovo, a qual é composta por 90% de minerais dos quais 98% correspondem ao Ca. O Ca de origem óssea é uma importante via de formação da casca e a perda por essa via vai ser repostada através da dieta. As paratireóides e a tireoide são responsáveis por monitorar a concentração do Ca sanguíneo e secretam os hormônios paratireóideo PTH (paratormônio) e calcitonina (tirocalcitonina) respectivamente (ANWAR *et al.*, 2017; SAKOMURA *et al.*, 2014).

Quando consumido em excesso, o organismo vai estar em condições de hipercalcemia o que desencadeia a secreção pela tireoide de calcitonina que tem por

função cessar a desmineralização óssea, inibindo a atividade de osteoclastos além de maximizar a excreção renal de Ca e fósforo. Por outro lado, quando ocorre uma pequena diminuição na concentração de Ca, o PTH no mesmo instante estimula a reabsorção do Ca filtrado pelos rins e a conversão da 25 hidroxivitamina D<sub>3</sub> em 1,25 dihidroxivitamina D<sub>3</sub> por via renal, que vai agir no intestino aumentando a função da calbindina (ADEDOKUN; ADEOLA, 2013; ANWAR *et al.*, 2017).

Em grandes perdas de Ca o PTH estimula o aumento da reabsorção do estoque ósseo e da absorção intestinal onde o Ca vai ser absorvido através da parede intestinal por intermédio de duas vias: transcelular e paracelular. O transporte ativo que ocorre pela via transcelular acontece predominantemente na porção superior do intestino delgado (duodeno e jejuno proximal), por meio de três componentes, sendo eles os canais epiteliais de Ca do lúmen intestinal para o enterócito, as calbindinas intracelulares por meio de difusão trans citosólica e da bomba de Ca da membrana basolateral ativada por ATP (ADEDOKUN; ADEOLA, 2013; ANWAR *et al.*, 2017).

O Ca pode ter sua absorção também na porção distal do trato gastrointestinal, especialmente no jejuno distal e íleo, onde ocorre a rota paracelular que desempenha papel significativo na quantidade absorvida de Ca. O transporte passivo sofre influência de fatores como o gradiente de concentração de Ca, solubilidade do mineral, tempo de permanência da digesta no intestino e pH estomacal. A via paracelular ocorre ao longo de todo o intestino delgado e tem a vitamina D<sub>3</sub> como facilitadora do processo de difusão que atua regulando positivamente as proteínas de juncão levando a formação de canais específicos de Ca. Devido ao seu comprimento e a taxa de passagem mais lenta nessa porção intestinal essa via dispõe de uma extensa área de superfície de absorção de Ca (ANWAR *et al.*, 2017; MATUSZEWSKI *et al.*, 2020).

A casca do ovo contém em média 2,3 g (2,0 - 2,5 g) de Ca, essa quantidade corresponde a aproximadamente 10% do cálcio presente na estrutura óssea das aves. Levando em consideração que no período de postura as poedeiras depositam um ovo a cada 24 a 28 horas, fica evidente o quanto complexo é o sistema de regulação do metabolismo de Ca, o qual permite que as aves de postura respondam ao constante desafio de manter o equilíbrio de Ca no organismo (DAVID *et al.*, 2021; LUKIĆ *et al.*, 2009).

A homeostase do Ca no organismo das aves se dá através do equilíbrio entre a eficiência da absorção intestinal, reabsorção renal e reabsorção óssea de Ca, tendo como base a exigência e a necessidade do animal para o mineral. Os ossos medulares

são os responsáveis pelo fornecimento de Ca no momento da calcificação da casca do ovo, período em que os alimentos, que são a fonte primária de Ca para a calcificação, não estão presentes no trato digestivo das aves. Os ossos medulares são menos resistentes quando comparados com os ossos estruturais, por apresentarem em sua estrutura fibras de colágeno irregulares, sendo estes responsáveis pela facilidade de degradação e reabsorção óssea. (ADEDOKUN; ADEOLA, 2013; ANWAR *et al.*, 2017; DAVID *et al.*, 2021).

Esse tipo de osso é formado por um grande número de osteoclastos que por meio da sua atividade fornece até 40% do Ca necessário para a formação da casca. O fornecimento de Ca para a formação da casca é condicionado pela esteroidogênese ovariana, uma vez que os osteoblastos presentes nos ossos longos das fêmeas são sensíveis ao estrogênio circulante. A reabsorção óssea ocorre através da fixação e formação de um ambiente isolado entre os osteoclastos e a superfície celular, sendo mediado por proteínas  $\beta$ -integrinas. Através da liberação de íons de hidrogênio pela H<sup>+</sup>-ATPase ocorre a acidificação do ambiente favorecendo a dissolução da hidroxiapatita que por meio da transcitose libera Ca na circulação sistêmica (DAVID *et al.*, 2021; Hiyama *et al.*, 2009).

Em poedeiras alimentadas com níveis normais de Ca tem-se o aumento da atividade osteoclástica dos ossos medulares fornecendo a quantidade necessária do mineral para a casca. Quando os níveis de Ca se encontram abaixo do ideal na dieta das aves de postura, o organismo passa a compensar através da retirada de Ca dos ossos corticais, no entanto quando maior a dependência de Ca proveniente dos ossos, menor a quantidade de Ca depositado na casca (DAVID *et al.*, 2021; LUKIĆ *et al.*, 2009).

O processo dinâmico do depósito de Ca no esqueleto das poedeiras durante o período de postura pode enfraquecer os ossos devido a extensa perda estrutural sofrida pelos mesmos. A extensão das alterações na estrutura óssea é dependente de diversos fatores e a durabilidade destes fatores pode impactar na incidência de osteoporose, gerando fraturas ósseas em poedeiras no final do período de postura, o que tem sido problema recorrente em aves alojadas em sistema de gaiola (KORVER, 2020; LUKIĆ *et al.*, 2009).

A qualidade da casca do ovo e a saúde das poedeiras são influenciadas não apenas pelo nível adequado de Ca na alimentação, mas também pelo tipo de fonte e do tamanho da partícula de Ca adicionado. Existe uma diversidade de fontes de Ca

que podem ser empregadas nas rações das aves de postura, a proporção a ser utilizada da fonte vai depender da sua biodisponibilidade, que compreende o percentual de Ca presente na fonte que é absorvido pelo animal (MATUSZEWSKI *et al.*, 2020).

## 2.2 FARINHA DE CONCHA DE OSTRA

A farinha de concha de ostra se mostra como uma fonte alternativa de Ca, proveniente de um molusco bivalve (*Crassostrea*), que é uma espécie comercialmente importante no sistema de aquicultura. No Brasil a ostreicultura é considerada um sistema de criação ecologicamente simples, que viabiliza a fixação de comunidades tradicionais em seus locais de origem por ser uma atividade economicamente rentável, que acaba contribuindo para o desenvolvimento local sustentável (LEGAT *et al.*, 2009; MATA *et al.*, 2019).

Por apresentar uma grande quantidade de Ca na sua composição, concha de ostra, mariscos e algas são coprodutos renováveis com elevado potencial de utilização na alimentação animal. Com isso, o uso de fontes alternativas ao calcário pode diminuir o impacto sobre as reservas naturais de Ca não renováveis (LEE *et al.*, 2008).

No mais, a utilização da concha de ostra surge como uma questão iminente nas fazendas de criação, visto que após retirar a porção carnosa para o consumo humano que representa 20% do peso total da ostra, os 80% restantes são tratados como resíduo sólido. O descarte e manejo inadequado das conchas tendem a contaminar as áreas de cultivo, o que consequentemente irá afetar os produtos das fazendas e as comunidades costeiras (LEE *et al.*, 2008).

O descarte incorreto acaba por ocasionar danos ambientais como assoreamento, diminuição da biodiversidade aquática e eutrofização dos corpos aquáticos ocasionada pelo crescimento desordenado de algas. A disposição em terrenos tende a atrair insetos e gerar maus odores devido a decomposição microbiana dos sais que compõem as conchas em gases como a amônia ( $\text{NH}_3$ ) e o sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Com o intuito de minimizar os impactos ambientais acarretados pelo acúmulo de grandes quantidades de concha de ostra, é necessário realizar a transformação do resíduo em um produto que possa ser reintroduzido na

cadeia produtiva possibilitando o uso sustentável de um recurso natural (MATA *et al.*, 2019).

O beneficiamento das conchas de ostra se mostra como fonte alternativa de  $\text{CaCO}_3$ , principal constituinte das conchas de bivalves. A concha da ostra é um composto biogênico estruturado principalmente de  $\text{CaCO}_3$  (>95% em peso) em associação com uma matriz orgânica (até 5% do seu peso) que tem por função reforçar as propriedades mecânicas da concha e regular com precisão o posicionamento dos cristais de calcita e aragonita. As ostras são organismos filtradores, sendo assim a composição química da concha pode sofrer variações dependendo do ambiente de produção em que esta se encontra e dos processos de bioacumulação, especialmente de metais pesados. (BONNARD *et al.*, 2019; FERRAZ *et al.*, 2019).

O Ca proveniente dessa fonte é considerado orgânico de origem marinha, sendo gerado através da biomíneralização, processo no qual o organismo vivo vai secretar um material inorgânico na forma de ossos ou conchas. A excreção biogênica do  $\text{CaCO}_3$  é uma camada dura (concha) que faz parte do corpo de moluscos marinhos e que ao longo de sua vida vão formar, reparar e manter as conchas (FERRAZ *et al.*, 2019; MORRIS *et al.*, 2016).

O  $\text{CaCO}_3$  se apresenta em três diferentes fases cristalinas anidras naturais, sendo elas: a calcita, fase considerada termodinamicamente estável em condições ambientais; a aragonita, um polimorfo de alta pressão e baixa temperatura, fase que se apresenta menos estável que a calcita; e a vaterita que é a fase menos estável entre os três polimorfos. As conchas de ostras têm a parte mineral composta por calcita e aragonita, sendo os bivalves capazes de modular precisamente a precipitação dos dois polimorfos na mesma concha (ABSHER *et al.*, 2015; FERRAZ *et al.*, 2019).

As conchas das ostras são formadas por três camadas: perióstraco, óstraco e hipóstraco. O perióstraco se apresenta como a camada mais externa, sendo constituído por matéria orgânica (conquiliolina), na maioria das vezes apresenta coloração marrom, tem por função proteger e vedar a concha e fornece o local para nucleação e crescimento da ostra e ligação do  $\text{CaCO}_3$ . O óstraco é a camada intermediária, apresenta estrutura prismática sendo formado por cristais de  $\text{CaCO}_3$  interligados pela conquiliolina. O hipóstraco ou nacarado, camada mais interna e é constituído por cristais laminares de  $\text{CaCO}_3$ , quase que exclusivamente de aragonita,

superpostas umas às outras e posicionadas paralelamente à superfície (ABSHER *et al.*, 2015; FERRAZ *et al.*, 2019).

A matriz mineral é composta quase que em sua totalidade por 95,994% de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), seguido de 0,984 de óxido de sódio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ), 0,724% de trióxido de enxofre ( $\text{SO}_3$ ), 0,696% de dióxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), 0,649% de óxido de magnésio ( $\text{MgO}$ ), 0,419% de óxido de alumínio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), 0,204% de pentóxido de fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) e 0,33% de óxido de estrôncio ( $\text{SrO}$ ) (YOON *et al.*, 2003). A matriz orgânica (conquiliolina) é formada principalmente por proteínas, glicoproteínas, quitina e polissacarídeos ácidos. As macromoléculas de estrutura são importantes moléculas orgânicas hidrofóbicas que fornecem uma matriz tridimensional onde ocorre a deposição da fração mineral. Já as macromoléculas orgânicas solúveis são ricas em resíduos carregados negativamente e estas são excelentes candidatas a interagir com os íons minerais (LEE *et al.*, 2008).

Sendo assim, as conchas de moluscos não são simplesmente uma fonte de  $\text{CaCO}_3$ , mas um complexo contendo uma miríade de proteínas. A matriz orgânica da concha representa uma pequena fração da concha em peso, mas confere importantes características ao  $\text{CaCO}_3$  derivado da concha (MORRIS *et al.*, 2016). Melhorar o conhecimento sobre o valor das conchas para alimentação animal e seu uso como alternativa aos recursos existentes requer uma base científica sólida.

A maioria dos usos potenciais de resíduos de conchas da aquicultura permanecem não realizados a nível comercial. No entanto, há uma compreensão crescente na necessidade de melhorar a sustentabilidade de todos os processos industriais. À medida que a aquicultura continua a expandir sua participação na produção mundial de alimentação, a problemática dos resíduos de concha se tornará cada vez mais impactante, a menos que esse resíduo possa ser reaproveitado (MORRIS *et al.*, 2016).

### 2.3 CALCÁRIO CALCÍTICO

O calcário é um recurso mineral abundante, que se encontra distribuído por todo o país, sendo a região sudeste o principal berço da siderurgia nacional. Além do Brasil, o calcário é encontrado extensivamente em todos os continentes, sendo a rocha carbonatada de ocorrência mais comum e representa por volta de 15% das rochas sedimentares (BARCELOS *et al.*, 2017; JARDIM FILHO *et al.*, 2005).

Calcário é o termo geral usado para designar rochas sedimentares carbonáticas, englobando o calcário calcítico e o calcário dolomítico. A rocha sedimentar é originada do acúmulo de detritos oriundos da fragmentação de outras rochas, especialmente os recifes de corais, sendo estes os depósitos principais de organismos sintetizantes de carbonato dissolvidos em ambiente aquoso. Os depósitos de rochas sedimentares carbonatadas são gerados principalmente em ambientes marinhos rasos, de águas calmas e quentes (GIVEN; WILKINSON, 1985; JARDIM FILHO *et al.*, 2005).

As rochas carbonatadas são compostas por calcita, dolomita ou ambos, em ambientes meteóricos com baixa relação de magnésio e cálcio (Mg/Ca) é mais comum a presença de calcita com baixo teor de magnésio. Já em ambientes marinhos com proporções mais elevadas de Mg/Ca, a calcita com maior teor de magnésio é a fase dominante e normalmente coexiste com a aragonita. No caso de ambientes lacustres e hipersalinos com proporções extremamente elevadas de Mg/Ca a aragonita acaba sendo a fase predominante. No entanto, a composição do calcário não é controlada apenas pela razão Mg/Ca presente no ambiente (BARCELOS *et al.*, 2017; GIVEN; WILKINSON, 1985).

Os calcários são classificados tendo como base a quantidade de óxido de magnésio (MgO), sendo considerado calcítico ao apresentar menos de 5% de MgO, magnesiano entre 5 e 12% de MgO e dolomítico ao apresentar teores maiores que 12% de MgO. Em sua composição o calcário calcítico apresenta teores de carbonato superiores a 50%, podendo conter também em seu arranjo impurezas como os silicatos, fosfatos, sulfatos, óxidos e sulfetos (BERTECHINI, 2012; JARDIM FILHO *et al.*, 2005;). Mesmo em fontes padrões como o calcário calcítico, as solubilidades da fonte podem variar de 39% a 79% dependendo do tamanho da partícula empregada (MATUSZEWSKI *et al.*, 2020).

Um importante fator que influencia a digestibilidade é a solubilidade do Ca no trato gastrointestinal antes da absorção. O carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) na forma de calcário calcítico é a fonte de Ca mais empregada na alimentação das aves, podendo ser até 80% solúvel e absorvido no pH ácido do trato gastrointestinal superior (ventrículo e proventrículo). A solubilidade do calcário reduz substancialmente no pH mais elevado do intestino delgado, onde a absorção se torna o fator mais importante (MATUSZEWSKI *et al.*, 2020).

Toda fonte de Ca apresenta variações quanto ao nível de Ca na sua composição, granulometria e a solubilidade. Logo, esses fatores devem ser levados em conta ao formular uma dieta que atenda às necessidades fisiológicas das aves.

## 2.4 GRANULOMETRIA

O proventrículo e a moela são os verdadeiros compartimentos do estômago das aves. O proventrículo (estômago glandular) secreta pepsinogênio, ácido clorídrico (HCl) e muco que se misturam com a digesta na moela (estômago mecânico) por meio de movimentos musculares. Por não possuírem dentes, a moela das aves tem função importante de moer a matéria-prima, e para isso conta com a presença de músculos mielinizados e uma camada de membrana coínea. Por sofrer contínuo desgaste a membrana que recobre a musculatura da moela é constantemente renovada, tendo por função proteger o órgão contra a ação do ácido clorídrico e da pepsina secretados no proventrículo, além de defender mecanicamente contra a fricção gerada pela Trituração do alimento (KIARIE; MILLS, 2019).

Em relação à função digestiva, o proventrículo e a moela devem ser vistos como um único compartimento, onde o alimento passa de maneira rápida pelo primeiro, mas será refluído repetidamente ao proventrículo durante as contrações da moela. O fornecimento de dieta moída finamente induz a dilatação do proventrículo e gera uma moela que não exerce integralmente sua funcionalidade, podendo comprometer saúde intestinal e a utilização integral do alimento (KIARIE; MILLS, 2019).

Partículas finas tendem a passar mais rapidamente pela moela, no entanto quando a alimentação é composta por ingredientes moídos grosseiramente, a função digestiva melhora através do aumento substancial do volume da moela, favorecendo a retenção do alimento, com consequente diminuição do pH e melhor trituração (KIARIE; MILLS, 2019; PELICIA *et al.*, 2009).

Durante o período de postura, na etapa de formação da casca do ovo, o organismo das poedeiras passam pelo pico de consumo de Ca. Nessa fase é essencial que a ave receba aporte de Ca proveniente da dieta para que tenha uma maior disponibilidade do mineral circulante, sendo essa disponibilidade influenciada pela granulometria da fonte de Ca empregada na alimentação (PELICIA *et al.*, 2009; SAKOMURA *et al.*, 2014).

Partículas grossas de alimentos permanecem mais tempo retidas na moela, quando comparadas com partículas finas, favorecendo assim a sua solubilidade *in vivo* e posterior absorção pelas aves. A absorção dos nutrientes pelo organismo vai ser influenciada pela idade em que a ave se encontra, uma vez que as recomendações nutricionais divergem nas fases de crescimento e postura (ANWAR *et al.*, 2017).

O maior tempo de retenção das partículas de maior granulometria na moela permitem o fornecimento contínuo de Ca a ave também durante a noite, tornam o Ca mais disponível durante o período de formação da casca sendo determinante da qualidade da mesma (PELICIA *et al.*, 2009; SAKOMURA *et al.*, 2014). Quando o tamanho das partículas de Ca é reduzido, maior a sua solubilidade devido ao aumento da superfície específica das partículas do alimento, permitindo um melhor contato com o HCl produzido pelo proventrículo (KIARIE; MILLS, 2019).

O Ca proveniente do calcário, concha de ostra e fosfato de Ca podem ser rapidamente solubilizados, dependendo da granulometria com que os ingredientes são empregados na dieta, pelo meio ácido do proventrículo e moela das aves (ANWAR *et al.*, 2017). A solubilidade do calcário em dietas de poedeiras melhora se o tempo de retenção na moela for prolongado, o que segundo Lichovnikova, (2007) pode ser conseguido com o fornecimento de um tamanho mínimo de partícula de 1,0mm, o que vai acarretar um maior aproveitamento do mineral no período de formação da casca do ovo. Já o emprego de granulometrias inferiores a 1,0mm não são capazes de sustentar a retenção na moela (LICOVNIKOVA, 2007; ZHANG; COON, 1997).

Quanto menor o pH da solução e maior o tempo de retenção, maior o percentual de Ca dissolvido. Com isso, qualquer prática de manejo que aumente o tempo de retenção da moela, como o emprego de fibra grossa ou programa de iluminação utilizado pode aumentar o intervalo de exposição da digesta ao meio ácido do trato digestório superior (MATUSZEWSKI *et al.*, 2020).

## 2.5 SOLUBILIDADE DAS FONTES DE CÁLCIO

Além da granulometria, a solubilidade dos ingredientes e a concentração de Ca nas fontes também se apresentam como importantes fatores sobre a digestibilidade de minerais (ZHANG; COON, 1997). Segundo Cheng; Coon (1990) o tamanho da partícula do Ca vai influenciar a solubilidade do mineral, onde partículas moídas

finamente vão apresentar maior solubilidade *in vitro* que partículas grossas. A solubilidade *in vivo* das partículas do Ca tende a ser inversamente proporcional a solubilidade *in vitro*.

O aumento da solubilidade do Ca de partículas moídas finamente melhora a eficiência fisiológica quando comparada com partículas grossas de Ca, no entanto partículas maiores fazem com que as mesmas sejam dissolvidas mais lentamente, o que permite que a fonte de Ca permaneça em ambiente ácido por um período mais prolongado. O ambiente ácido aumenta as reações de dissociação do CaCO<sub>3</sub> em Ca iônico, apresentando assim um melhor aproveitamento do mineral na fase de formação da casca do ovo que ocorre no período noturno, sendo o momento em que a ave não realiza a ingestão de alimento, mas demanda por altos níveis de Ca (AJAKAIJE *et al.*, 1997; SAUNDERS-BLADES *et al.*, 2009; ZHANG; COON, 1997).

A grande variação na disponibilidade de Ca em diferentes fontes é influenciada principalmente pela composição química e pela associação do Ca com outros minerais, em alguns casos essa associação pode formar compostos de baixa solubilidade. A partir do conhecimento da solubilidade das fontes de Ca é possível compreender e atender as exigências de Ca no organismo das aves para que se possa viabilizar uma melhor produção (AJAKAIJE *et al.*, 1997; ZHANG; COON, 1997).

## REFERÊNCIAS

- ABSHER, T. M.; FERREIRA JUNIOR, A.L.; CHRISTO, S. W. Conchas de moluscos marinhos do Paraná. Rio de Janeiro: **Publiki**, 20p, 2015.
- ADEDOKUN, S. A.; ADEOLA, O. Calcium and phosphorus digestibility: Metabolic limits. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 600-608, 2013.
- AJAKAIYE, A.; ATTEH, J. O.; LEESON, S. Effects of calcium source, particle size and time on in-vitro calcium solubility of some indigenous Nigerian mineral ingredients for poultry diets. **Animal feed science and technology**, v. 65, n. 1-4, p. 293-298, 1997.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V. Chapter 12 Measurement of calcium digestibility in feed ingredients for poultry—methodology and challenges. In: Phytate destruction—consequences for precision animal nutrition. **Wageningen Academic Publishers**, p. 696-702, 2016.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Apparent ileal digestibility of calcium in limestone for broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 213, p. 142-147, 2016.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Effect of calcium source and particle size on the true ileal digestibility and total tract retention of calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 39–45, 2017.
- BARCELOS, M. A.; MOTA, J. L.; ENTRINGER, J. M. S.; SIMPLICIANO, D.; BARCELOS, M. V. Análise das propriedades físico-químicas de calcários calcíticos depositados em diferentes níveis da jazida da região de Matozinhos (MG). **Revista De Engenharia E Tecnologia**, v. 9, n. 3, p. 260-266, 2017.
- BERTECHINI, A. G. Nutrição de monogástricos. 2. ed. Lavras: **Editora UFLA**, p.373, 2012.
- BONNARD, M.; BOURY, B.; PARROT, I. Key insights, tools, and future prospects on oyster shell end-of-life: A critical analysis of sustainable solutions. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 1, p. 26-38, 2019.
- CHENG, T. K.; COON, C. N. Comparison of various in vitro methods for the determination of limestone solubility. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n. 12, p. 2204-2208, 1990.
- DAVID, L. S.; ADBOLLAHI, M. R.; BEDFORD, M. R.; RAVINDRAN, V. Effect of age and dietary crude protein content on the apparent ileal calcium digestibility of limestone in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 263, p. 114468, 2020.

- DAVID, L. S.; ADBOLLAHI, M. R.; BEDFORD, M. R.; RAVINDRAN, V. Comparison of the apparent ileal calcium digestibility of limestone in broilers and layers. **British Poultry Science**, v. 62, n. 6, p. 852-857, 2021.
- EDWARDS, H.M. Jr. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, v.79, p.1018-1023, 2000.
- FERRAZ, E.; GAMELAS, J. A. F.; COROADO, J.; MONTEIRO, C.; ROCHA F. Recycling waste seashells to produce calcitic lime: characterization and wet slaking reactivity. **Waste and biomass valorization**, v. 10, p. 2397-2414, 2019.
- GIVEN, R. K.; WILKINSON, B.H. Kinetic control of morphology, composition, and mineralogy of abiotic sedimentary carbonates. **Journal of Sedimentary Research**, v. 55, n. 1, p. 109-119, 1985.
- HIYAMA, S.; SUGIYAMA, T.; KUSUHARA, S.; UCHIDA, T. Evidence for the expression of estrogen receptors in osteogenic cells isolated from hen medullary bone. **Acta Histochemica**. v.111, n.6, p.501–507, 2009.
- JARDIM FILHO, R. M.; STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; LEANDRO, N. S. M.; CUNHA, W. C. P. da.; NASCIMENTO JÚNIOR, O. Influência das fontes e granulometria do calcário calcítico sobre o desempenho e a qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, n. 1, p. 35-41, 2005.
- KIARIE, E. G.; MILLS, A. Role of feed processing on gut health and function in pigs and poultry: conundrum of optimal particle size and hydrothermal regimens. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 19, 2019.
- KORVER, D. R. Calcium nutrition, bone metabolism, and eggshell quality in longer-persisting layer flocks. **In Proc. Aust. Poult. Sci. Symp**, Vol. 31, p. 1-7, 2020.
- LEE, C. H.; LEE, Do K.; ALI, M. A.; KIM, P. J. Effects of oyster shell on soil chemical and biological properties and cabbage productivity as a liming materials. **Waste Management**, v. 28, n. 12, p. 2702-2708, 2008.
- LEGAT, A. P.; OLIVEIRA, J. A.; LAZOSKI, C. V. S.; SOLE-CAVA, A. M.; MELO, C. M. R.; GALVÉZ, A. O. Caracterização genética de ostras nativas do gênero *Crassostrea* no Brasil: base para o estabelecimento de um programa nacional de melhoramento. Teresina: **Embrapa Meio-Norte**, p. 21, 2009. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/80696/1/documento-192.pdf>
- LICHOVNIKOVA, M. The effect of dietary calcium source, concentration and particle size on calcium retention, eggshell quality and overall calcium requirement in laying hens. **British Poultry Science**, v. 48, n. 1, p. 71-75, 2007.
- LUKIĆ, M.; PAVLOVSKI, Z.; ŠKRBIĆ, Z. Mineral nutrition of modern poultry genotypes. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v. 25, n. 5-6-1, p. 399-409, 2009.

MATA, A. M. T. da.; RODRIGUES, K. de A.; SALGADO, R. M. N.; QUINTELLA, C. M. Casca de Ostra: tendências recentes dos usos ambientais visando à economia circular. **Cadernos de Prospecção**, v. 12, n. 4, p. 849-849, 2019

MATUSZEWSKI, A.; ŁUKASIEWICZ, M.; NIEMIEC, J. Calcium and phosphorus and their nanoparticle forms in poultry nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v. 76, n. 2, p. 328-345, 2020.

MILES, R. D.; HENRY, P. R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 73-93, 2000.

MORRIS, J. P., Y. Wang, T. Backeljau, and G. Chapelle. "Biomimetic and bio-inspired uses of mollusc shells." **Marine Genomics**, v. 27, p. 85-90, 2016.

PELICIA, K.; GARCIA, E.; MÓRI, C.; FAITARONE, A. B. G.; SILVA, A. P. MOLINO, A. B.; VERCESE, F.; BERTO, D. A. Calcium levels and limestone particle size in the diet of commercial layers at the end of the first production cycle. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 11, n. 2, p. 87-94, 2009.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA R. F. De.; BARRETO, S. L. De T.; BRITO, C. O. Tabelas brasileiras para aves e suínos. **Viçosa, MG: UFV**, p. 252, 2017.

SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V. S.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. Nutrição de não ruminantes. **Jaboticabal: Editora Funep**, 1 ed, 2014.

SAUNDERS-BLADES, J. L.; MACLSAAC, J. L.; KORVER, D. R.; ANDERSON, D. M. The effect of calcium source and particle size on the production performance and bone quality of laying hens. **Poultry science**, v. 88, n. 2, p. 338-353, 2009.

VIEIRA, S. L. Chelated minerals for poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 73-79, 2008.

WALK, C. L.; ROMERO, L. F.; COWIESON, A.J. Towards a digestible calcium system for broiler chicken nutrition: a review and recommendations for the future. **Animal Feed Science and Technology**, v. 276, p. 114930, 2021.

YOON, G. L.; KIM, B. T.; KIM, B. O.; HAN, S. H. Chemical-mechanical characteristics of crushed oyster-shell. **Waste Management**, v. 23, n. 9, p. 825-834, 2003.

ZHANG, B.; COON, C. N. The relationship of calcium intake, source, size, solubility in vitro and in vivo, and gizzard limestone retention in laying hens. **Poultry Science**, v. 76, n. 12, p. 1702-1706, 1997.

## CAPÍTULO I

### Digestibilidade de diferentes fontes de cálcio e granulometrias em dietas para poedeiras na fase de crescimento

### Digestibility of different calcium sources and particle sizes in diets for laying hens in the growing phase

**RESUMO** O presente estudo avaliou a digestibilidade de diferentes fontes de cálcio e granulometrias para poedeiras na fase de crescimento. Para a condução do experimento as aves foram dispostas em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3X2 [três fontes de Ca (farinha de concha de ostra e duas fontes de calcários calcíticos) x duas granulometrias (fina e grossa)], perfazendo seis tratamentos, somados ainda há uma dieta isenta de Ca e uma dieta basal, totalizando oito tratamentos com 5 repetições de 2 aves com exceção do tratamento isento de Ca com cinco aves por repetição. Aves submetidas aos tratamentos com granulometria grossa foram adaptadas 20 dias antes da realização do ensaio com pedriscos de basalto adicionados sobre a ração nos comedouros para que ocorresse hipertrofia da moela e adaptação do trato digestório. Não foi observado diferença significativa nos coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeira entre as fontes de Ca avaliadas ( $P>0,05$ ). Os resultados de solubilidade *in vitro* das granulometrias das fontes de Ca indicaram a relação que existe entre granulometria e solubilidade, sendo que com o aumento no diâmetro das partículas ocorreu a diminuição da solubilidade *in vitro*. O aumento da granulometria reduziu os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca analisadas ( $P<0,05$ ). O presente estudo indicou que o emprego de partículas finas aumentou os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca e que a farinha de concha de ostra e o calcário calcítico se equivalem nos coeficientes de digestibilidade.

**Palavras-chave:** Calcário calcítico. Farinha de concha de ostra. Nutrição. Poedeiras.

**ABSTRACT** The present study evaluated the digestibility of different calcium sources and particle sizes for laying hens in the growth phase. To conduct the experiment, the laying hens were arranged in a completely randomized design, in a 3X2 factorial arrangement [three sources of Ca (oyster shell flour and two sources of calcitic limestone) x two granulometries (fine and coarse)], totaling six treatments. , together there is a Ca-free diet and a basal diet, totaling eight treatments with 5 repetitions of 2 laying hens, with the exception of the Ca-free treatment with five laying hens per repetition. laying hens subjected to coarse grained treatments were adapted 20 days before the test with basalt pebbles added to the feed in the feeders so that gizzard hypertrophy and digestive tract adaptation occurred. No significant difference was observed in the apparent and true digestibility coefficients between the Ca sources evaluated ( $P>0.05$ ). The *in vitro* solubility results of the particle size of Ca sources indicated the relationship between particle size and solubility, with an increase in particle diameter decreasing *in vitro* solubility. The increase in particle size reduced

the digestibility coefficients of the feed and the Ca sources analyzed ( $P<0.05$ ). The present study indicated that the use of fine particles increased the digestibility coefficients of feed and Ca sources and that oyster shell flour and calcitic limestone are equivalent in digestibility coefficients.

**Keywords:** Calcitic limestone. Oyster shell flour. Nutrition. Layers.

## INTRODUÇÃO

O cálcio (Ca) é considerado o mineral mais importante tanto funcional como economicamente na nutrição das poedeiras. É o mineral mais ativo no organismo das aves, sendo essencial para uma série de funções metabólicas. Os alimentos de origem vegetal que constituem a base da alimentação das aves possuem níveis insuficientes de Ca, sendo necessário a suplementação mineral a fim de atender as exigências nutricionais das poedeiras (LUKIĆ *et al.*, 2009; WALK *et al.*, 2021).

O calcário calcítico é a fonte de Ca mais comumente empregada, no entanto é uma fonte que apresenta variação em relação a concentração de Ca, concentração de minerais contaminantes, solubilidade *in vitro* e distribuição do tamanho de partícula. Nesse sentido, fontes alternativas como farinha de algas e farinha de ostras vêm ganhando destaque na nutrição de aves, sendo amplamente pesquisadas (WALK *et al.*, 2021).

Por apresentar uma grande quantidade de Ca na sua composição, a farinha de ostra, mariscos e algas são coprodutos renováveis com elevado potencial de utilização na alimentação animal (LEE *et al.*, 2008). As conchas de moluscos não são simplesmente uma fonte de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), mas um complexo contendo uma miríade de proteínas. A matriz orgânica da concha representa uma pequena fração da mesma em peso, mas confere importantes características ao  $\text{CaCO}_3$  derivado da concha (MORRIS *et al.*, 2016).

As fontes de Ca geralmente ocorrem em duas granulometrias: fina e grossa. A granulometria grossa é amplamente utilizada, uma vez que as partículas grossas de alimentos permanecem mais tempo retidas na moela, quando comparadas com partículas finas, favorecendo assim a sua solubilidade *in vivo* e posterior absorção pelas aves (ANWAR *et al.*, 2017). Toda fonte de Ca apresenta variações quanto ao nível de Ca na sua composição, granulometria e a solubilidade. Logo, esses fatores devem ser levados em conta ao formular uma dieta que atenda às necessidades fisiológicas das aves.

Nesse contexto, este trabalho teve o objetivo de determinar o coeficiente de digestibilidade aparente e verdadeira do cálcio, de fontes de diferentes origens e granulometrias na alimentação de poedeiras na fase de crescimento.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Produção Animal e Alimentos do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) - Lages. O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina – CETEA, sob o protocolo nº 7082260623.

Foram utilizadas 95 aves semipesadas da linhagem Hy-Line Brown, com idade inicial de 11 semanas. As aves foram pesadas individualmente ( $762\text{ g} \pm 4\%$ ) e distribuídas de forma aleatória em 40 gaiolas (unidade experimental), dispostas em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial  $3 \times 2$  (três fontes de cálcio e duas granulometrias).

Para condução do ensaio, foram elaboradas oito dietas experimentais (isenta de cálcio, basal, farinha de ostra com granulometria fina, farinha de ostra com granulometria grossa, calcário calcítico Furquim fino, calcário calcítico Furquim grosso, calcário calcítico Supercal fino e calcário calcítico Supercal grosso) com cinco repetições de duas aves, com exceção do tratamento isento de Ca com cinco aves por repetição. As aves submetidas aos tratamentos com granulometria grossa foram adaptadas 20 dias antes da realização do ensaio com pedriscos a base de basalto adicionados cobre a ração nos comedouros para que ocorresse hipertrofia da moela e adaptação do trato digestório.

As gaiolas metabólicas ( $0,5 \times 0,5 \times 0,5\text{ m}$ ) foram dotadas de um comedouro frontal do tipo calha, um bebedouro tipo nipple com reservatório individual de água para duas gaiolas e uma bandeja coletora de excretas revestida com plástico para facilitar a coleta de excretas. Ração e água foram fornecidas *ad libitum* ao longo do período experimental.

O diâmetro geométrico médio (DGM) e o desvio padrão geométrico (DPG) das fontes de Ca utilizadas no estudo foram determinadas segundo a metodologia indicada por Zanotto et al, (2016). As quantidades retidas nas peneiras foram

registradas e os valores analisados por meio do software Granucalc® (EMBRAPA SUÍNOS E AVES, 2013), para o cálculo do DGM e DPG.

A solubilidade *in vitro* das fontes de Ca foi realizada segundo método de porcentagem de perda de peso descrito por Cheng; Coon, (1990). Para análise de solubilidade, um Becker de 400 ml contendo 100 ml de solução de HCl 0,1 M, foi aquecido por 15 min em incubadora com agitação orbital a 42 °C e 60 rpm. Dois gramas de cada fonte de Ca foram colocados dentro do becker para reagir por 10 min. O conteúdo do becker foi filtrado em papel de filtro “Whatman 42” previamente seco em estufa e com peso conhecido. Os filtros com as amostras foram secos a 55 °C por 12 h e então pesados. A porcentagem de Ca solubilizada foi calculada pela diferença dos pesos e expressa como porcentagem de solubilidade do Ca *in vitro*.

A composição nutricional e calculada das dietas utilizadas no experimento está apresentada na Tabela 1, sendo formuladas conforme recomendações de Rostagno *et al.* (2017). A dieta isenta de Ca foi utilizada para determinação de perda endógena deste mineral pelas aves. A ração basal previamente calculada sem a inclusão da fonte de Ca continha 6,80 % de amido de milho. Nas demais rações a quantidade de amido de milho foi substituída pelas devidas fontes e respectiva granulometria para determinação da digestibilidade do Ca. Para a determinação da perda endógena, além de uma ração isenta, as aves receberam também água ultrapura, tomando-se o cuidado para que não fosse fornecido qualquer fonte exógena de Ca.

O período experimental foi constituído por nove dias, sendo cinco dias destinados à adaptação às dietas experimentais e quatro dias para a coleta total de excretas. As excretas totais foram coletadas uma vez ao dia, pesadas, armazenadas em embalagens plásticas identificadas por repetição e congeladas em freezer a -18°C até o início das análises laboratoriais.

Para as análises laboratoriais as amostras foram descongeladas, homogeneizadas, secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 h e posteriormente moídas em moinho de facas tipo Willey. Todas as etapas que constituíram as análises laboratoriais foram realizadas em triplicata, desde a secagem do material até a leitura de cálcio das amostras.

Tabela 1 - Composição nutricional e calculada das dietas experimentais.

Ingredientes	Ração	
	Perda Endógena (%)	Basal (%)
Milho	*	58,0
Farelo de Soja	*	10,8
Farelo de Trigo	*	22,2
Amido de Milho	80,8	6,80
Inerte	14,7	*
KCl	0,98	*
NaP	1,84	1,22
Sal	0,32	0,32
Lisina	0,75	0,22
Metionina	0,34	0,14
Premix <sup>1</sup>	0,30	0,30
Total (kg)	100	100

  

Composição Calculada		
Energia metabolizável (kcal/kg)	2852	2849
Proteína bruta (%)	0,00	12,7
Cálcio total (%)	0,00	0,07
Fósforo disponível (%)	0,44	0,44
Sódio (%)	0,13	0,14
Potássio (%)	0,51	0,62
Cloro (%)	0,55	0,47
Ácido linoléico (%)	0,00	1,43
Lisina (%)	0,74	0,74
Metionina (%)	0,33	0,33
Triptofano (%)	0,00	0,14

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico e mineral contendo por kg: Bacitracina de Zinco – 9333,34 mg, Fitase (mín) - 100000,00 UI, Metionina (mín) - 123,40 g, Ác. Fólico (mín) - 99,90 mg, Biotina (mín) - 6,66 mg, Cobre (min) – 2.998, 80 mg, Colina (mín) – 55,33 g, Ferro (mín) – 16,66 g, Iodo (mín) – 333,20 mg, Ác. Pantotênico (mín) – 1831,50 mg, Manganês (mín) – 24,34 g, Niacina (mín) – 994,00 mg, Selênio (mín) - 99,90 mg, Vit. A (mín) – 2797200,00 UI, Vit. B1 (mín) – 283,05 mg, Vit. B12 (mín) – 2331,00 mcg, Vit. B2 (mín) - 999,00 mg, Vit. D3 (mín) – 932400,00 UI, Vit. E (mín) – 1998,00 UI, Vit. K3 (mín) – 399,60 mg, Zinco (mín) – 23,32 g.

Nas dietas experimentais e nas excretas foram analisados os conteúdos de matéria seca e matéria mineral seguindo a metodologia descrita por Silva; Queiroz, (2002). O teor de Ca nas amostras foi determinado através de titulação por complexação com EDTA seguindo a marcha analítica descrita por Raij, (1966). Os resultados obtidos foram utilizados nas equações indicadas por Sakomura; Rostagno, (2016) para o cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeira das dietas e das fontes de Ca empregadas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os resultados das médias submetidos ao teste de Tukey (5%), utilizando o programa estatístico SAS por meio dos procedimentos PROC GLM.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fonte de farinha de ostra que compõe os tratamentos ostra fina e grossa apresentaram diâmetro geométrico médio (DGM) de 0,37 e 2,97 mm, respectivamente. Já as fontes de calcário empregadas na formulação das dietas dos tratamentos calcário calcítico Furquim fino e grosso e calcário calcítico Supercal fino e grosso apresentaram respectivamente DGM de 0,37, 2,04, 0,55 e 3,35 mm. Segundo Zanotto; Bellaver, (1996), as partículas dos ingredientes são classificadas em grossas quando apresentam granulometria superior a 2mm e finas ao apresentarem granulometria menor que 0,60mm. As fontes de Ca utilizadas no presente estudo se enquadram dentro das granulometrias determinadas pelos autores. O DPG das fontes de Ca demonstrou valores inferiores a 2%, o que indicou elevada uniformidade das partículas.

O coeficiente de digestibilidade da matéria mineral (CDMM), Tabela 2, não foi influenciado pela granulometria e não apresentou interação entre os fatores ( $P>0,05$ ), sendo influenciado ( $P<0,05$ ), apenas pela fonte de Ca utilizada. Como as dietas experimentais só diferem em relação ao Ca empregado, a diferença observada na digestibilidade pode ser influenciada pela biodisponibilidade dos minerais que está relacionada com uma diversidade de fatores, dentre eles a forma física do mineral, interações com outros minerais e nutrientes presentes na dieta, condição de processamento dos ingredientes e propriedades específicas do mineral que podem acarretar na formação de complexos com outros componentes no trato

gastrointestinal, o que pode dificultar ou favorecer o transporte, a absorção ou o metabolismo do mineral no organismo das aves (MILES; HENRY, 2000).

Tabela 2 – Coeficiente de digestibilidade (%) da matéria mineral (CDMM), da matéria seca (CDMS), aparente (CDAR) e verdadeira (CDVR) do Cálcio da ração e aparente (CDAF) e verdadeira (CDVF) da Cálcio da fonte.

		CDMM%	CDMS%	CDAR%	CDVR%	CDAF%	CDVF%
Fontes de Cálcio	Farinha de Ostra	22,9 b	60,9	77,4	77,8	78,0	78,1
	Calcário Furquim	31,7 a	61,2	79,2	79,6	80,0	80,1
	Calcário Supercal	27,8 ab	62,6	76,7	77,1	77,3	77,4
Granulometria	Fina	28,3	62,4	79,2 a	79,4 a	80,1 a	80,0 a
	Grossa	26,1	60,7	76,3 b	76,7 b	77,0 b	77,0 b
Fontes de Ca		0,0171	0,3599	0,0520	0,0500	0,0500	0,0500
Granulometria		0,2399	0,1199	0,0015	0,0016	0,0017	0,0017
Fontes * Granulometria		0,9875	0,1222	0,0444	0,0500	0,0536	0,0523
CV %		23,1	4,63	2,87	2,85	3,07	3,06
EPM		6,33	2,85	2,23	2,22	2,41	2,40

Médias seguidas de letras desiguais nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%)

CV: coeficiente de variação

EPM: erro padrão da média

O coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS), não foi influenciado ( $P>0,05$ ), pelas fontes de Ca ou pela granulometria e não apresentou interação entre os fatores ( $P>0,05$ ). O resultado pode ser justificado devido à similaridade na composição das dietas fornecidas, sendo elas isoprotéicas e isoenergéticas, diferindo apenas na fonte e granulometria de Ca. As dietas foram elaboradas com as mesmas quantidades de ingredientes, não havendo diferença na matéria seca ofertada, o que nesse caso não foi capaz de gerar diferença no CDMS.

Em poedeiras na fase de crescimento não foi observado diferença significativa entre as fontes de Ca avaliadas ( $P>0,05$ ), para os coeficientes de digestibilidade de Ca.

O aumento da granulometria reduziu os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca analisadas ( $P<0,05$ ). O diâmetro da fonte de Ca empregado gerou efeito negativo na digestibilidade das partículas maiores por reduzir a área de superfície e consequentemente sua acessibilidade ao sistema digestivo. Sendo assim, é possível notar que a redução do tamanho das partículas melhorou a digestão do Ca em poedeiras na fase de crescimento por aumentar a área de superfície disponível para a digestão ácida. Segundo resultados encontrados por Kim *et al.* (2018), a maior digestibilidade está diretamente associada com o menor tamanho de partícula, corroborando com os dados encontrados no presente estudo.

Rao *et al.* (1992), observaram que o tempo de liberação do Ca é diretamente dependente do diâmetro, sendo que formulações de rações com mais de 50 % de fonte de Ca de granulometria grossa apresentam menor liberação de Ca por ser menos solúvel, o que explica os resultados dos coeficientes de digestibilidade das aves dos tratamentos que receberam granulometria grossa serem inferiores às aves dos tratamentos que foram submetidos à rações formuladas com granulometria fina.

Scheideler *et al.* (2005), também concluíram que uma mistura de 50% de partículas de Ca de granulometria fina com 50% de partículas de granulometria grossa é o ideal para atender as necessidades, acarretando excelente desempenho e qualidade da casca de ovos de poedeiras.

Para o coeficiente de digestibilidade aparente da ração constatou-se interação entre as fontes de Ca e as granulometrias ( $P<0,05$ ), Tabela 3. Sobre esta interação é possível observar que a redução da digestibilidade foi influenciada pelo emprego da farinha de ostra com granulometria grossa. Muitas propriedades podem ter afetado a digestibilidade do Ca no tratamento em questão, incluindo o tamanho de partícula empregado, origem da fonte, composição química da farinha de ostra, além das reações químicas que ocorrem entre os minerais e os outros componentes dietéticos, uma vez que precipitados insolúveis podem ser formados através da competição com ligantes orgânicos e inorgânicos, dificultando a absorção dos minerais (KIM *et al.*, 2019).

Tabela 3 – Desdobramento da interação entre granulometria e fontes de Cálcio para o coeficiente de digestibilidade aparente do Ca da ração (CDAR %).

<u>Granulometria</u>	CDAR %		
	Farinha de Ostra	Calcário Furquim	Calcário Supercal
Fina	80,8 Aa	78,6 Aab	77,2 Ab
Grossa	74,4 Bb	78,3 Ba	76,1 Bab

Médias com letras desiguais nas colunas e linhas nos parâmetros diferem estatisticamente ( $P<0,05$ )

O percentual de solubilidade foi influenciado pelas fontes de Ca e granulometrias ( $P<0,05$ ), Tabela 4. Os resultados de solubilidade *in vitro* das granulometrias das fontes de Ca indicaram a relação que existe entre granulometria e solubilidade. Com o aumento no diâmetro das partículas ocorre a diminuição da solubilidade *in vitro*, reafirmando os dados de Cheng; Coon, (1990).

O percentual de Ca foi influenciado pela fonte e granulometria ( $P<0,05$ ), Tabela 4, não apresentando interação entre os fatores ( $P>0,05$ ). O Ca não se apresenta disperso de maneira uniforme em toda a partícula, podendo esse ser um fator que influenciou para a redução do percentual do mineral com o aumento da granulometria. As fontes de Ca podem variar em composição de acordo com o local onde foram extraídas, com a origem geológica, propriedades físicas e composição química (KIM *et al.*, 2019; SAUNDERS-BLADES *et al.*, 2009). Segundo Kim *et al.* (2019), as propriedades das fontes vão influenciar diretamente a composição das mesmas. Essas propriedades podem ter sido as responsáveis pelas diferenças nas concentrações de Ca encontradas nas fontes de calcário calcítico e farinha de concha de ostra.

Tabela 4 – Solubilidade *in vitro* e teor de Cálcio das fontes (%).

		Solubilidade %	Ca %
Fontes de Cálcio	Farinha de Ostra	24,2 a	35,8 b
	Calcário Furquim	15,8 c	36,9 a
	Calcário Supercal	20,5 b	36,1 b
Granulometria	Fina	26,5 a	36,8 a
	Grossa	13,8 b	35,7 b
Fontes de Ca		0,0001	0,0001
Granulometria		0,0001	0,0001
Fontes * Granulometria		0,0001	0,7828
CV %		1,49	0,67
EPM		0,30	0,24

Médias seguidas de letras desiguais nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%)

CV: coeficiente de variação

EPM: erro padrão da média

No percentual de solubilidade foi possível observar interação ( $P<0,05$ ), entre os fatores. Os dados do desdobramento da interação estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Desdobramento da interação entre granulometria e fontes de Cálcio para o percentual de solubilidade.

Granulometria	Solubilidade %		
	Farinha de Ostra	Calcário Furquim	Calcário Supercal
Fina	27,7 Aa	25,3 Ac	26,6 Ab
Grossa	20,8 Ba	6,30 Bc	14,4 Bb

Médias com letras desiguais nas colunas e linhas nos parâmetros diferem estatisticamente ( $P<0,05$ )

Saunders-Blades *et al.* (2009), relataram que a superfície plana e alongada das partículas grossas da concha de ostras (>2mm), fornece maior área de superfície favorecendo a reação ácida o que resulta em maior solubilidade da farinha de ostra, quando comparada com o calcário com granulometria semelhante. Foi possível observar maior solubilidade da farinha de ostra de granulometria grossa e essa foi

estatisticamente maior ( $P<0,05$ ), que as fontes de calcário calcítico de granulometria grossa.

É possível observar que a granulometria, mesmo sendo um importante fator sobre a influência nos valores de solubilidade *in vitro* dos calcários, não foi o único fator, pois houve diferença na solubilidade entre fontes de cálcio de mesma granulometria. O calcário Furquim e a farinha de ostra apresentaram DGM semelhantes (0,37mm), indicando que a composição mineral e as características físicas são outros fatores que podem influenciar a solubilidade do Ca.

Os valores de digestibilidade podem variar de acordo com as características químicas e físicas dos ingredientes adicionados às rações (KIM *et al.*, 2019). Nas fontes de Ca é possível observar variações no tamanho de partícula, concentração de Ca e na solubilidade. No presente estudo a granulometria pode ser considerada como uma das principais causas da variabilidade obtida nos resultados.

## CONCLUSÃO

O uso de partículas finas aumentou os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de cálcio. A farinha de concha de ostra e o calcário calcítico na fase de crescimento se apresentaram como fontes equivalentes de Ca na digestibilidade do mineral.

## REFERÊNCIAS

- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Effect of calcium source and particle size on the true ileal digestibility and total tract retention of calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 39–45, 2017.
- CHENG, T. K.; COON, C. N. Comparison of various *in vitro* methods for the determination of limestone solubility. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n. 12, p. 2204-2208, 1990.
- EMBRAPA SUÍNOS E AVES. Granucalc® aplicativo para o cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e do Desvio Padrão Geométrico (DPG) de partículas de ingredientes. **Núcleo de Tecnologia e Informação**, Concórdia, 2013.
- KIM, S. W.; LI, R.; ANGEL, R.; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M. Effects of limestone particle size and dietary Ca concentration on apparent P and Ca digestibility in the presence or absence of phytase. **Poultry Science**, v. 97, n. 12, p. 4306-4314, 2018.

- KIM, S. W.; LI, R.; ANGEL, R.; PLUMSTEAD, P. W. Modification of a limestone solubility method and potential to correlate with in vivo limestone calcium digestibility. **Poultry Science**, v. 98, n. 12, p. 6837-6848, 2019.
- LEE, C. H.; LEE, Do K.; ALI, M. A.; KIM, P. J. Effects of oyster shell on soil chemical and biological properties and cabbage productivity as a liming materials. **Waste Management**, v. 28, n. 12, p. 2702-2708, 2008.
- LUKIĆ, M.; PAVLOVSKI, Z.; ŠKRBIĆ, Z. Mineral nutrition of modern poultry genotypes. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v. 25, n. 5-6-1, p. 399-409, 2009.
- MILES, R. D.; HENRY, P. R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 73-93, 2000.
- MORRIS, J. P., Y. Wang, T. Backeljau, and G. Chapelle. "Biomimetic and bio-inspired uses of mollusc shells." **Marine Genomics**, v. 27, p. 85-90, 2016.
- RAIJ, B. V. Determinação de cálcio e magnésio pelo EDTA em extratos ácidos de solos. **Bragantia**, v. 25, p. 317-326, 1966.
- RAO, K. S.; ROLAND, D. A.; ADAMS, J. L.; DURBORAW, W. M. Improved limestone retention in the gizzard of commercial leghorn hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 1, n. 1, p. 6-10, 1992.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA R. F. De.; BARRETO, S. L. De T.; BRITO, C. O. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Viçosa, MG: **UFV**, p. 252, 2017.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: **Editora Funep**, 2 ed, p. 262, 2016.
- SAUNDERS-BLADES, J. L.; MACLSAAC, J. L.; KORVER, D. R.; ANDERSON, D. M. The effect of calcium source and particle size on the production performance and bone quality of laying hens. **Poultry science**, v. 88, n. 2, p. 338-353, 2009.
- SCHEIDEKER, S.; JALAL, M.; WEBER, T. Testing the optimum blend of fine:large particle size limestone and dietary calcium levels for the Hy-Line W-36 and W-98 strains of White Leghorn hens. **Poultry Science**, v. 84, p 121-121, 2005
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A. C. de. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa, 2002. 235p
- WALK, C. L.; ROMERO, L. F.; COWIESON, A. J. Towards a digestible calcium system for broiler chicken nutrition: a review and recommendations for the future. **Animal Feed Science and Technology**, v. 276, p. 114930, 2021.
- ZANOTTO, D. L.; BELLAVER, C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Concórdia: **EMBRAPA-CNPSA**, 5 p, 1996.

ZANOTTO, D. L.; JUNIOR, A. C.; LUDKE, J.V.; COLDEBELLA, A. Análise de granulometria de milho moído. 2016.

## CAPÍTULO II

### Digestibilidade de diferentes fontes de cálcio e granulometrias em dietas para poedeiras na fase de postura

### Digestibility of different calcium sources and particle sizes in diets for laying hens in the laying phase

**RESUMO** Esse estudo avaliou a digestibilidade de diferentes fontes e granulometrias de Cálcio (Ca) para poedeiras comerciais na fase de postura. Um delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3X2 (três fontes de Ca - farinha de concha de ostra, duas fontes de calcários calcíticos; e duas granulometrias - fina e grossa) foi submetido em aves com 26 semanas. Observou-se diferença significativa entre as fontes de Ca avaliadas ( $P<0,05$ ) os coeficientes de digestibilidade foram maiores nas aves que consumiram rações contendo calcário calcítico Furquim e farinha de conchas de ostras, que por sua vez diferiu estatisticamente do calcário calcítico Supercal, sendo a fonte de Ca que apresentou o menor ( $P<0,05$ ) coeficiente de digestibilidade. Os resultados de solubilidade *in vitro* das granulometrias das fontes de Ca indicaram a relação que existe entre granulometria e solubilidade, onde com o aumento no diâmetro das partículas ocorreu a diminuição da solubilidade *in vitro*. O aumento da granulometria reduziu substancialmente os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca analisadas ( $P<0,05$ ). Com o presente estudo é possível concluir que o emprego de partículas finas aumenta os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de Ca. A farinha de concha de ostra e o calcário calcítico são fontes equivalentes em relação ao coeficiente de digestibilidade de Ca.

**Palavras-chave:** Calcário calcítico. Farinha de concha de ostra. Nutrição. Poedeiras.

**ABSTRACT** This study evaluated the digestibility of different sources and particle sizes of Calcium (Ca) for commercial layers during the laying phase. A completely randomized experimental design in a 3X2 factorial arrangement (three sources of Ca - oyster shell flour, two sources of calcitic limestone; and two particle sizes - fine and coarse) was used in 26-week-old layers. A significant difference was observed between the Ca sources evaluated ( $P<0.05$ ), the digestibility coefficients were higher in layers that consumed diets containing Furquim calcitic limestone and oyster shell flour, which in turn differed statistically from Supercal calcitic limestone., being the Ca source that presented the lowest ( $P<0.05$ ) digestibility coefficient. The *in vitro* solubility results of the particle size of Ca sources indicated the relationship between particle size and solubility, where with the increase in particle diameter there was a decrease in *in vitro* solubility. The increase in particle size substantially reduced the digestibility coefficients of the feed and the Ca sources analyzed ( $P<0.05$ ). With the present study, it is possible to conclude that the use of fine particles increases the digestibility coefficients of feed and Ca sources. Oyster shell flour and calcitic limestone are equivalent sources in relation to the Ca digestibility coefficient.

**Keywords:** Calcitic limestone. Oyster shell flour. Nutrition. Layers.

## INTRODUÇÃO

O cálcio é um mineral essencial na formulação de rações para aves, de maneira que a inclusão de níveis inadequados de nutriente pode acarretar consideráveis perdas produtivas, sendo o Ca o mineral responsável pela formação óssea, desempenha atividade hormonal e de coagulação, além de exercer papel fundamental no controle de funções celulares nos tecidos musculares e nervoso (DAVID *et al.*, 2021).

O constante melhoramento genético vem gerando aves de alta produção de ovos que demandam por ajustes na suplementação de cálcio a fim de atender o máximo desempenho das aves de postura (DAVID *et al.*, 2021; RUTZ *et al.*, 2007). Durante o período de postura, na etapa de formação da casca do ovo, o organismo das poedeiras passam pelo pico de consumo de Ca. Nessa fase é essencial que a ave receba aporte de Ca proveniente da dieta para que tenha uma maior disponibilidade do mineral circulante, sendo essa disponibilidade influenciada pela fonte e pela granulometria do Ca empregada na alimentação (MATUSZEWSKI *et al.*, 2020).

O maior tempo de retenção das partículas de maior granulometria na moela permitem o fornecimento contínuo de Ca a ave também durante a noite, tornam o Ca mais disponível durante o período de formação da casca sendo determinante da qualidade da mesma. Quando o tamanho das partículas de cálcio é reduzido, maior a sua solubilidade devido ao aumento da superfície específica das partículas do alimento, permitindo um melhor contato com o HCl produzido pelo proventrículo (KIARIE; MILLS, 2019).

As alterações nas exigências nutricionais das aves justificam a pesquisa com fontes minerais de maior biodisponibilidade, nesse caso os minerais de origem orgânica vêm ganhando maior destaque, uma vez que ligados a proteínas e aminoácidos os minerais são absorvidos por carreadores intestinais de aminoácidos e peptídeos e não unicamente pelo transporte intestinal clássico de minerais. O que evita a competição entre minerais por canais de absorção e consequentemente aumenta a disponibilidade dos mesmos (RUTZ *et al.*, 2007).

Por apresentar uma grande quantidade de Ca na sua composição, a farinha de conchas de ostras, mariscos e algas são coprodutos renováveis com elevado potencial de utilização na alimentação animal. No mais, o uso de fontes alternativas ao calcário pode diminuir o impacto sobre as reservas naturais de Ca não renováveis (LEE *et al.*, 2008). As conchas de moluscos não são simplesmente uma fonte de carbonato de cálcio, mas um complexo contendo uma miríade de proteínas. A matriz orgânica da concha representa uma pequena fração da mesma em peso, mas confere importantes características ao CaCO<sub>3</sub> derivado da concha (MORRIS *et al.*, 2016). Melhorar o conhecimento sobre o valor das conchas para alimentação animal e seu uso como alternativa aos recursos existentes requer uma base científica sólida.

Este trabalho teve por objetivo determinar o coeficiente de digestibilidade aparente e verdadeira do Ca, de diferentes fontes de calcário calcítico e farinha de ostra empregados em diferentes granulometrias na alimentação de poedeiras na fase de postura.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Produção Animal e Alimentos do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) - Lages. O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina – CETEA, sob o protocolo nº 7082260623.

Foram utilizadas 85 poedeiras semipesadas da linhagem Hisex Brown, com idade inicial de 26 semanas. As aves foram pesadas individualmente (1,751 Kg ± 4%), e distribuídas de forma aleatória em 40 gaiolas (unidade experimental), dispostas em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 2 (três fontes de Ca e duas granulometrias).

Para condução do ensaio, foram elaboradas oito dietas experimentais (isenta de Ca, basal, farinha de ostra com granulometria fina, farinha de ostra com granulometria grossa, calcário calcítico Furquim fino, calcário calcítico Furquim grosso, calcário calcítico Supercal fino e calcário calcítico Supercal grosso), com cinco repetições de duas aves, com exceção do tratamento isento de Ca com cinco aves por repetição. As aves submetidas aos tratamentos com granulometria grossa foram adaptadas 20 dias antes da realização do ensaio com pedriscos a base de basalto

adicionados cobre a ração nos comedouros para que ocorresse hipertrofia da moela e adaptação do trato digestório.

As gaiolas metabólicas (0,5 X 0,5 X 0,5 m), foram dotadas de um comedouro frontal do tipo calha, um bebedouro tipo *nipple* com reservatório individual de água para duas gaiolas e uma bandeja coletora de excretas revestida com plástico para facilitar a coleta de excretas. Ração e água foram fornecidas *ad libitum* ao longo do período experimental.

O diâmetro geométrico médio (DGM) e o desvio padrão geométrico (DPG) das fontes de Ca utilizadas no estudo foram determinadas segundo a metodologia indicada por Zanotto et al, (2016). As quantidades retidas nas peneiras foram registradas e os valores analisados por meio do software Granucalc® (EMBRAPA SUÍNOS E AVES, 2013), para o cálculo do DGM e DPG.

A solubilidade *in vitro* das fontes de Ca foi realizada segundo método de percentagem de perda de peso descrito por Cheng; Coon, (1990). Para análise de solubilidade um becker de 400 ml, contendo 100 ml de solução de HCl 0,1M, foi aquecido por 15 min em incubadora com agitação orbital a 42 °C e 60 rpm. Dois gramas de cada fonte de cálcio foram colocados dentro do becker para reagir por 10 min. O conteúdo do becker foi filtrado em papel de filtro “Whatman 42” previamente seco em estufa e com peso conhecido. Os filtros com as amostras foram secos a 55 °C por 12 horas e então pesados. A percentagem de cálcio solubilizada foi calculada pela diferença dos pesos e expressa como porcentagem de solubilidade do Ca *in vitro*.

A composição nutricional e calculada das dietas utilizadas no experimento está apresentada na Tabela 1 e foram formuladas conforme recomendações de Rostagno, et al. (2017). A dieta isenta de Ca foi utilizada para determinação de perda endógena deste mineral pelas aves. A ração basal previamente calculada sem a inclusão da fonte de Ca continha 6,80 % de amido de milho. Nas demais rações a quantidade de amido de milho foi substituída pelas devidas fontes e granulometrias, para determinação da digestibilidade do Ca. Para a determinação da perda endógena, além de uma ração isenta, as aves receberam também água ultrapura, tomando-se o cuidado para que não fosse fornecido qualquer fonte exógena de Ca.

O período experimental foi constituído por nove dias, sendo cinco dias destinados à adaptação às dietas experimentais e quatro dias para a coleta total de excretas. As excretas totais foram coletadas uma vez ao dia, pesadas, armazenadas

em embalagens plásticas identificadas por repetição e congeladas em freezer a -18 °C até o início das análises laboratoriais.

Para as análises laboratoriais as amostras foram descongeladas, homogeneizadas, secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 h e posteriormente moídas em moinho de facas tipo Willey. Todas as etapas que constituíram as análises laboratoriais foram realizadas em triplicata, desde a secagem do material até a leitura de cálcio das amostras.

Nas dietas experimentais e nas excretas foram analisados os conteúdos de matéria seca e matéria mineral seguindo a metodologia descrita por Silva; Queiroz, (2002). O teor de Ca nas amostras foi determinado através de titulação por complexação com EDTA seguindo a marcha analítica descrita por Raij, (1966). Os resultados obtidos foram utilizados nas equações indicadas por Sakomura; Rostagno (2016) para o cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeira das dietas e das fontes de Ca empregadas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e os resultados das médias submetidos ao teste de Tukey (5%) utilizando o programa estatístico SAS por meio dos procedimentos PROC GLM.

Tabela 1 - Composição nutricional e calculada das dietas experimentais.

Ração		
Ingredientes (g/kg)	Perda Endógena	Basal
Milho	*	53,2
Farelo de Soja	*	23,5
Farelo de Trigo	*	14,9
Amido de Milho	64,6	6,80
Açúcar	15,0	*
Inerte	16,4	*
KCl	0,86	*
NaP	1,31	0,76
Sal	0,32	0,32
Lisina	0,75	0,12
Metionina	0,46	0,10
Premix <sup>1</sup>	0,30	0,30
Total (Kg)	100	100

  

Composição Calculada		
Energia metabolizável (kcal/kg)	2850	2852
Proteína bruta (%)	0,00	15,14
Cálcio total (%)	0,00	0,09
Fósforo disponível (%)	0,31	0,31
Sódio (%)	0,26	0,17
Potássio (%)	0,44	0,73
Cloro (%)	0,40	0,42
Ácido linoléico (%)	0,00	1,34
Lisina (%)	0,75	0,75
Metionina (%)	0,40	0,40
Triptofano (%)	0,00	0,26

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico e mineral contendo por kg: Bacitracina de Zinco – 9333,34 mg, Fitase (mín) - 100000,00 U, Metionina (mín) - 123,40 g, Ác. Fólico (mín) - 99,90 mg, Biotina (mín) - 6,66 mg, Cobre (mín) – 2.998,80 mg, Colina (mín) – 55,33 g, Ferro (mín) – 16,66 g, Iodo (mín) – 333,20 mg, Ác. Pantoténico (mín) – 1831,50 mg, Manganês (mín) – 24,34 g, Niacina (mín) – 994,00 mg, Selênio (mín) - 99,90 mg, Vit. A (mín) – 2797200,00 UI, Vit. B1 (mín) – 283,05 mg, Vit. B12 (mín) – 2331,00 mcg, Vit. B2 (mín) - 999,00 mg, Vit. D3 (mín) – 932400,00 UI, Vit. E (mín) – 1998,00 UI, Vit. K3 (mín) – 399,60 mg, Zinco (mín) – 23,32 g.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fonte de farinha de ostra que compõe os tratamentos ostra fina e grossa apresentaram diâmetro geométrico médio (DGM) de 0,37 e 2,97 mm, respectivamente. Já as fontes de calcário empregadas na formulação das dietas dos tratamentos calcário calcítico Furquim fino e grosso e calcário calcítico Supercal fino e grosso apresentaram respectivamente DGM de 0,37, 2,04, 0,55 e 3,35 mm. Segundo Zanotto; Bellaver, (1996), as partículas dos ingredientes são classificadas em grossas quando apresentam granulometria superior a 2mm e finas ao apresentarem granulometria menor que 0,60mm. As fontes de Ca utilizadas no presente estudo se enquadram dentro das granulometrias determinadas pelos autores. O DPG das fontes de Ca demonstrou valores inferiores a 2%, o que indicou elevada uniformidade das partículas.

O Coeficiente de Digestibilidade da Matéria Mineral (CDMM), foi influenciado ( $P<0,05$ ), pela fonte de cálcio utilizada, Tabela 2. O CDMM dos tratamentos farinha de ostra e calcário Supercal não diferiram estatisticamente ( $P>0,05$ ), e apresentaram resultados superiores ao calcário Furquim ( $P<0,05$ ). A diferença observada na digestibilidade relacionadas às fontes pode ser atribuída a biodisponibilidade dos minerais, fator que está atrelado com uma diversidade de fatores. Dentre eles estão as condições de processamento dos minerais, a forma física e principalmente a interação com outros minerais e nutrientes presentes na ração (MILES; HENRY, 2000). Quando ionizados, os minerais podem formar complexos com outros componentes presentes na fonte ou na ração, o que pode dificultar o transporte, a absorção ou o metabolismo dos minerais nas aves (MILES; HENRY, 2000).

O CDMM sofreu influência das granulometrias empregadas ( $P<0,05$ ). As dietas experimentais foram constituídas com os mesmos ingredientes, variando apenas a fonte de Ca e granulometria. Na matéria mineral, a granulometria gerou efeito negativo na digestibilidade das partículas maiores por reduzir a área de superfície e consequentemente sua acessibilidade ao sistema digestivo (KIM *et al.*, 2019), o que contribuiu para a redução do CDMM nos tratamentos que receberam granulometria grossa.

O Coeficiente de Digestibilidade da Matéria Seca (CDMS), não foi influenciado ( $P>0,05$ ), pela granulometria, sendo influenciado pelas fontes ( $P<0,05$ ), e apresentou interação ( $P<0,05$ ), entre os fatores Tabela 3. As dietas foram elaboradas com os

mesmos quantitativos de ingredientes diferindo apenas na fonte e granulometrias. Como descrito anteriormente, os minerais na sua forma ionizada podem se complexar com outros ingredientes presentes na ração, dificultando assim o transporte e absorção dos mesmos (MILES; HENRY, 2000). Esse fator pode ter sido o responsável por influenciar os diferentes resultados de digestibilidade de matéria seca entre as fontes de Ca.

Tabela 2 – Coeficiente de Digestibilidade da matéria mineral (CDMM %), da matéria seca (CDMS %), aparente (CDAR %) e verdadeira (CDVR %) do Cálcio da ração e aparente (CDAF %) e verdadeira (CDVF %) do Cálcio da fonte.

		CDMM%	CDMS%	CDAR%	CDVR%	CDAF%	CDVF%
Fontes de Cálcio	Farinha de Ostra	64,3 a	67,2 a	82,3 a	82,5 a	83,2 a	83,6 a
	Calcário Furquim	57,7 b	63,8 b	81,7 a	81,8 a	82,5 a	83,0 a
Granulometria	Calcário Supercal	63,0 a	66,7 a	79,7 b	79,9 b	80,5 b	81,0 b
	Fina	62,9 a	66,0	81,9 a	82,1 a	82,8 a	83,2 a
	Grossa	60,4 b	65,8	80,5 b	80,7 b	81,3 b	81,8 b
Fontes de Ca		0,0001	0,0044	0,0006	0,0006	0,0010	0,0012
Granulometria		0,0164	0,8797	0,0077	0,0087	0,0101	0,0125
Fontes * Granulometria		0,0354	0,0112	0,3500	0,3692	0,3579	0,3814
CV %		4,25	3,31	1,64	1,64	1,74	1,73
EPM		2,62	2,18	1,33	1,33	1,43	1,43

Médias seguidas de letras desiguais nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%)

CV: coeficiente de variação

EPM: erro padrão da média

O coeficiente de digestibilidade aparente e verdadeiro do Ca das rações e das fontes foram superiores na granulometria fina quando comparado com o emprego da granulometria grossa ( $P<0,05$ ). Esse resultado pode ser atribuído a maior área de contato das partículas de farinha de ostra e calcário calcítico moídas finamente com o HCl, proveniente do proventrículo facilitando assim a digestão do alimento (KIM *et al.*, 2018). A moagem grosseira da fonte de Ca tornou-a menos solúvel, enquanto a granulometria fina permitiu a pronta liberação do Ca para absorção. O tamanho da

partícula de Ca vai influenciar diretamente a solubilidade do mineral, onde partículas de granulometria fina apresentam maior solubilidade e consequentemente melhor eficiência fisiológica e digestibilidade quando comparadas com partículas grossas (KIM *et al.*, 2018).

Roland; Bryant, (1999), concluíram que a substituição de fontes de Ca de granulometria fina por uma de granulometria grossa não deve ser superior a 50 % para não afetar o consumo das aves e consequentemente a digestibilidade dos componentes da dieta. Este é um fator que pode ter contribuído para a redução da digestibilidade do Ca nos tratamentos de granulometria grossa.

Roland, (1986), observou que o emprego de granulometria grossa é efetivo quando as aves recebem níveis inadequados de Ca ou são expostas a fatores que reduzem a sua utilização. No presente estudo, o Ca foi fornecido conforme a exigência nutricional recomendada por Rostagno *et al.* (2017), fator que não deve ter influenciado na necessidade de maior utilização do mineral de granulometria grossa pelo organismo das aves.

Em poedeiras na fase de postura foi observado diferença significativa entre as fontes de Ca avaliadas ( $P<0,05$ ), para os coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeira do Ca. Com base no exposto na Tabela 2, os coeficientes de digestibilidade foram maiores ( $P<0,05$ ), nas aves que consumiram rações contendo calcário calcítico Furquim e farinha de ostras, sendo o calcário Supercal a fonte de cálcio que apresentou o menor coeficiente de digestibilidade. Para que possam ser absorvidos os minerais, precisam ser solubilizados pelo organismo liberando íons. Na forma ionizada pode ocorrer a ligação com outros constituintes da dieta, o que segundo Vieira, (2008), atrapalha a absorção pelo organismo animal, fator que pode ter influenciado a diferença das digestibilidades das fontes testadas.

Anwar, *et al.* (2016), relatam que a presença de impurezas e outros minerais são comuns em calcários utilizados na alimentação animal. Oligoelementos, como Mg, Fe, S, Zn e Cu podem ser encontrados em amostras de calcário. O Ca apresenta potencial de interação com os outros minerais presentes no calcário, ocasionando antagonismos mútuos e que potencialmente podem reduzir as taxas de absorção e metabolismo dos mesmos (VIEIRA, 2008).

O estado fisiológico em que as aves se encontram é um dos fatores que influenciam na absorção de Ca. Em poedeiras, no pico de postura, o organismo demanda por uma quantidade maior de Ca em função da formação do ovo, sendo

esse um fator que pode ter contribuído para a elevada digestibilidade do Ca dos alimentos teste (KORVER, 2020).

Os coeficientes de digestibilidade da matéria mineral e matéria seca apresentaram interação entre os fatores ( $P<0,05$ ). Os resultados dos desdobramentos das interações estão descritos na Tabela 3. A adição de farinha de ostra de granulometria fina resultou na maior digestibilidade da matéria mineral e matéria seca, diferindo estatisticamente ( $P<0,05$ ), das fontes de calcário calcítico. Essa maior digestibilidade da farinha de ostra também é observada na granulometria grossa, onde não diferiu do calcário calcítico Supercal, sendo as duas fontes superiores ao calcário calcítico Furquim ( $P<0,05$ ).

Tabela 3 – Desdobramento da interação entre granulometria e fontes de Ca para o coeficiente de digestibilidade da matéria mineral (CDMM %) e coeficiente de digestibilidade da matéria seca (CDMS %).

<u>Granulometria</u>	CDMM %			CDMS %		
	Farinha de Ostra	Calcário Furquim	Calcário Supercal	Farinha de Ostra	Calcário Furquim	Calcário Supercal
Fina	65,5 Aa	60,5 Ac	62,6 Ab	67,0 Aa	65,6 Ab	65,3 Ab
Grossa	63,1B a	54,8 Bb	63,4 Ba	67,4 Ba	62,1 Bb	68,1 Ba

Médias com letras desiguais nas colunas e linhas nos parâmetros diferem estatisticamente ( $P<0,05$ )

As diferenças de digestibilidades encontradas na matéria seca e matéria mineral podem ser justificadas uma vez que o processo de digestão e absorção de nutrientes está fortemente relacionado com a área de superfície acessível ao HCl proveniente do proventrículo e dimensões dos poros, bem como a composição química e polaridade das fontes. Esses fatores podem se associar e atuar de forma a favorecer a absorção da matéria seca e mineral, ou de forma deletéria ao se complexarem com outros ingredientes presentes na ração, tornando a matéria mineral e seca menos disponíveis (KIARIE; MILLS, 2019; KIM *et al.*, 2019).

A solubilidade e o percentual de Ca foram influenciados ( $P<0,05$ ), pelas fontes de Ca e granulometrias Tabela 4. Em relação a solubilidade *in vitro* do Ca, com a diminuição da granulometria houve aumento dos valores de solubilidade ( $P<0,05$ ), concordando com os dados obtidos por Anwar *et al.* (2017), onde a solubilidade *in vitro* das partículas finas de Ca foram maiores do que nas partículas grossas. O

resultado encontrado no presente estudo indica a relação que existe entre granulometria e solubilidade, reafirmando o determinado por Cheng; Coon, (1990).

Tabela 4 – Solubilidade *in vitro* e teor de Cálcio das fontes (%).

		Solubilidade%	Ca %
Fontes de Cálcio	Farinha de Ostra	24,2 a	35,8 b
	Calcário Furquim	15,8 c	36,9 a
	Calcário Supercal	20,5 b	36,1 b
Granulometria	Fina	26,5 a	36,8 a
	Grossa	13,8 b	35,7 b
Fontes de Ca		0,0001	0,0001
Granulometria		0,0001	0,0001
Fontes * Granulometria		0,0001	0,7828
CV %		1,49	1,64
EPM		0,30	133

Médias seguidas de letras desiguais nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%)  
CV: coeficiente de variação  
EPM: erro padrão da média

O percentual de Ca foi influenciado pela fonte e granulometria ( $P<0,05$ ), não apresentando interação entre os fatores ( $P>0,05$ ). O Ca não se apresenta disperso de maneira uniforme em toda a partícula, podendo esse ser um fator que influenciou para a redução do percentual do mineral com o aumento da granulometria. As fontes de Ca podem variar em composição de acordo com o local onde foram extraídas, com a origem geológica, propriedades físicas e composição química (KIM *et al.*, 2019; SAUNDERS-BLADES *et al.*, 2009). Segundo Kim *et al.* (2019), as propriedades das fontes vão influenciar diretamente a composição das mesmas, onde essas propriedades podem ter sido as responsáveis pelas diferenças nas concentrações de Ca encontradas nas fontes de calcário calcítico e farinha de ostra.

O percentual de solubilidade foi influenciado pelas fontes de Ca e granulometrias ( $P<0,05$ ), apresentando interação entre os fatores (Tabela 5).

Tabela 5 – Desdobramento da interação entre granulometria e fontes de Ca para o percentual de solubilidade.

<u>Granulometria</u>	Solubilidade %		
	Farinha de Ostra	Calcário Furquim	Calcário Supercal
Fina	27,7 Aa	25,3 Ac	26,6 Ab
Grossa	20,8 Ba	6,30 Bc	14,4 Bb

Médias com letras desiguais nas colunas e linhas nos parâmetros diferem estatisticamente ( $P<0,05$ )

Saunders-Blades *et al.* (2009), relataram que a superfície plana e alongada das partículas grossas da concha de ostras (>2mm) fornece maior área de superfície favorecendo a reação ácida, o que resulta em maior solubilidade da farinha de ostra, quando comparada com o calcário com granulometria semelhante. No presente estudo foi possível observar maior solubilidade da farinha de ostra de granulometria grossa e essa foi estatisticamente maior ( $P<0,05$ ), que as fontes de calcário calcítico de granulometria grossa.

É possível observar que a granulometria mesmo sendo um importante fator sobre a influência nos valores de solubilidade *in vitro* dos calcários não foi o único fator responsável, pois houve diferença na solubilidade entre calcários de mesma granulometria. O calcário Furquim e a farinha de ostra apresentaram DGM semelhantes (0,37mm), no entanto a farinha de ostra de granulometria fina apresenta o maior percentual de solubilidade *in vivo*, diferindo do calcário Furquim, o que indica que a composição mineral e as características físicas são outros fatores que podem influenciar a solubilidade do calcário (KIM *et al.*, 2019).

Além das granulometrias, a solubilidade dos ingredientes exerce influência sobre a digestibilidade dos minerais. Zhang; Coon, (1997), relatam que quanto menor a solubilidade *in vitro*, maior o tempo de retenção na moela das aves o que vai favorecer a digestão do mineral apresentando assim, uma relação inversamente proporcional.

O calcário calcítico Furquim foi a fonte com menor solubilidade *in vitro* e maior digestibilidade de Ca nas aves de postura, concordando com o descrito por Zhang; Coon, (1997). No entanto, essa relação inversamente proporcional não se confirma para os resultados de farinha de ostra, uma vez que a fonte em questão, apresentou

maior solubilidade, diferindo estatisticamente dos calcários, mas apresentou maior digestibilidade de Ca, não diferindo calcário Furquim, como descrito anteriormente.

Essa divergência de resultado pode ser explicada tendo como base que, além de ser uma fonte com maior solubilidade *in vitro*, a farinha de ostra por ser de origem orgânica, vai apresentar segundo Melo *et al.* (2006), elevada solubilidade *in vivo* e absorção intestinal do mineral, uma vez que ao estarem ligados às proteínas, os minerais presentes na concha de ostra vão ser absorvidos por carreadores intestinais de aminoácido e peptídeos e não unicamente pela via de transporte clássica de minerais. Sendo esse um fator que evita a competição entre minerais por canais de absorção, é aumentada a disponibilidade dos mesmos e favorecendo assim a digestibilidade de Ca das aves dos tratamentos que receberam a farinha de ostra (RUTZ *et al.*, 2007).

## CONCLUSÃO

Com o presente estudo é possível concluir que o tamanho das partículas, a origem das fontes, bem como as propriedades físicas, origem geológica dos calcários e composição química exercem influência na digestibilidade *in vivo* do Ca.

O emprego de partículas finas aumenta os coeficientes de digestibilidade da ração e das fontes de cálcio. A farinha de concha de ostra e o calcário calcítico na fase de postura se apresentaram como fontes equivalentes de Ca.

## REFERÊNCIAS

- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Apparent ileal digestibility of calcium in limestone for broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 213, p. 142-147, 2016.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Effect of calcium source and particle size on the true ileal digestibility and total tract retention of calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 39–45, 2017.
- CHENG, T. K.; COON, C. N. Comparision of various *in vitro* methods for the determination of limestone solubility. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n. 12, p. 2204-2208, Dec. 1990.

DAVID, L. S.; ADBOLLAHI, M. R.; BEDFORD, M. R.; RAVINDRAN, V. Comparison of the apparent ileal calcium digestibility of limestone in broilers and layers. **British Poultry Science**, v. 62, n. 6, p. 852-857, 2021.

EMBRAPA SUÍNOS E AVES. Granucalc® aplicativo para o cálculo do Diâmetro Geométrico Médio (DGM) e do Desvio Padrão Geométrico (DPG) de partículas de ingredientes. **Núcleo de Tecnologia e Informação**, Concórdia, 2013.

KIARIE, E. G.; MILLS, A. Role of feed processing on gut health and function in pigs and poultry: conundrum of optimal particle size and hydrothermal regimens. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 19, 2019.

KIM, S. W.; LI, R.; ANGEL, R.; PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M. Effects of limestone particle size and dietary Ca concentration on apparent P and Ca digestibility in the presence or absence of phytase. **Poultry Science**, v. 97, n. 12, p. 4306-4314, 2018.

KIM, S. W.; LI, R.; ANGEL, R.; PLUMSTEAD, P. W. Modification of a limestone solubility method and potential to correlate with in vivo limestone calcium digestibility. **Poultry Science**, v. 98, n. 12, p. 6837-6848, 2019.

KORVER, D. R. Calcium nutrition, bone metabolism, and eggshell quality in longer-persisting layer flocks. In: **Proc. Aust. Poult. Sci. Symp.** p. 1-7, 2020.

LEE, C. H.; LEE, Do K.; ALI, M. A.; KIM, P. J. Effects of oyster shell on soil chemical and biological properties and cabbage productivity as a liming materials. **Waste Management**, v. 28, n. 12, p. 2702-2708, 2008.

MATUSZEWSKI, A.; ŁUKASIEWICZ, M.; NIEMIEC, J. Calcium and phosphorus and their nanoparticle forms in poultry nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v. 76, n. 2, p. 328-345, 2020.

MELO, T.V.; MENDONÇA, P.P.; MOURA, A.M.A. et al. Solubilidad in vitro de algunas fuentes de calcio utilizadas en alimentación animal. **Archivos de Zootecnia**, v.55, p.297-300, 2006.

MILES, R. D.; HENRY, P. R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 73-93, 2000.

MORRIS, J. P., Y. Wang, T. Backeljau, and G. Chapelle. "Biomimetic and bio-inspired uses of mollusc shells." **Marine Genomics**, v. 27, p. 85-90, 2016.

RAIJ, B. V. Determinação de cálcio e magnésio pelo EDTA em extratos ácidos de solos. **Bragantia**, v. 25, p. 317-326, 1966.

RAO, K. S. et al. Improved limestone retention in the gizzard of commercial leghorn hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 1, n. 1, p. 6-10, 1992.

ROLAND S. R. D.A. Eggshell quality. IV - Oystershell versus limestone and the importance of particle size or solubility of calcium source. **World's Poult. Sci. J.**, v. 42, n. 2, p. 166-71, 1986.

- ROLAND, D.; BRYANT, M. Optimal shell quality possible without oyster shell. **Feedstuffs, Minneapolis**, n. 15, p. 18-19, 1999.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA R. F. De.; BARRETO, S. L. De T.; BRITO, C. O. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Viçosa, MG: **UFV**, p. 252, 2017.
- RUTZ, F.PAN, E. A.; XAVIER, G. B. Efeito de minerais orgânicos sobre o metabolismo e desempenho de aves. **Revista Aveworld**, v. 7, n. 3, p. 2010, 2007.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: **Editora Funep**, 2 ed, p. 262, 2016.
- SAUNDERS-BLADES, J. L.; MACLSAAC, J. L.; KORVER, D. R.; ANDERSON, D. M. The effect of calcium source and particle size on the production performance and bone quality of laying hens. **Poultry science**, v. 88, n. 2, p. 338-353, 2009.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A. C. de. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos, **Viçosa**, 2002. 235p.
- VIEIRA, S. L. Chelated minerals for poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 73-79, 2008.
- ZANOTTO, D. L.; BELLAVER, C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Concórdia: **EMBRAPA-CNPSA**, 5 p, 1996.
- ZANOTTO, D. L.; JUNIOR, A. C.; LUDKE, J.V.; COLDEBELLA, A. Análise de granulometria de milho moído. Concórdia: **EMBRAPA-CNPSA**, 2016.
- ZHANG, B.; COON, C. N. Improved in vitro methods for determining limestone and oyster shell solubility. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, n. 1, p. 94-99, 1997.