

UFRRJ
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TESE

**Exigência e composição em cálcio digestível de alimentos
de origem animal para frangos de corte**

Leonardo Willian de Freitas

2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**EXIGÊNCIA E COMPOSIÇÃO EM CÁLCIO DIGESTÍVEL DE
ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL PARA FRANGOS DE CORTE**

LEONARDO WILLIAN DE FREITAS

Sob a Orientação da Professora
Cristina Amorim Ribeiro de Lima

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor**, no
Curso de Pós-Graduação em Zootecnia,
Área de Concentração em Produção
Animal.

Seropédica, RJ
Agosto de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F862e Freitas, Leonardo Willian de, 1986-
Exigência e composição em cálcio digestível de
alimentos de origem animal para frangos de corte /
Leonardo Willian de Freitas. - Campo Grande, 2019.
74 f.

Orientadora: Cristina Amorim Ribeiro de Lima.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Zootecnia,
2019.

1. Digestibilidade ileal. 2. Ingredientes. 3.
Métodos de avaliação. 4. Requerimento de cálcio. I.
Lima, Cristina Amorim Ribeiro de, 1963-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós Graduação em Zootecnia III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LEONARDO WILLIAN DE FREITAS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal.

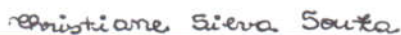
TESE APROVADA EM 01/08/2019



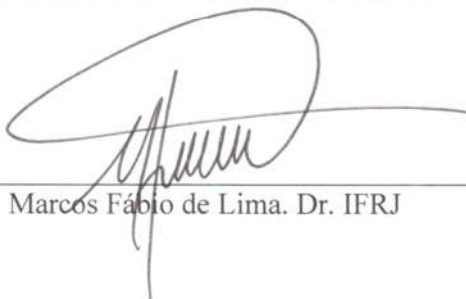
Cristina Amorim Ribeiro de Lima. Dr^a. UFRRJ
(Presidente)



Antonio Assis Vieira. Dr. UFRRJ



Christiane Silva Souza. Dr^a. UFRRJ



Marcos Fábio de Lima. Dr. IFRJ



Verônica da Silva Cardoso. Dr^a. UFRJ

Ofereço

À minha mãe Ramona Denir de Freitas (*In memoriam*),

Por me mostrar com perseverança e amor no coração como
transformar nossos sonhos em realidade, pelo esforço, dedicação e
compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas.

À Prof^a. Dr^a. Cristina Amorim Ribeiro de Lima,

Se hoje tenho uma direção certa, devo a seu apoio, amizade, orientação segura, compreensão, dedicação, palavras de estímulo e confiança depositada em todos os passos desta jornada.

Dedico este trabalho, pequeno, frente a seus esforços e a
minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, pela possibilidade de aprimoramento.

Ao PPGZ, pela oportunidade concedida para a realização do curso de doutorado.

Ao Instituto de Zootecnia, representado aqui, pelo seu Diretor, Professor Dr. Alexandre Herculano Borges de Araújo, pela ótima convivência.

Ao Corpo Docente, do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Ao Centro Integrado de Produção da UFRRJ pelo apoio no fornecimento de insumos para o experimento, na figura do Coordenador **Everton da Silva Mattos**.

À empresa BIOSEN, na figura de **Fernando Toledano**, por apoiar o trabalho com o fornecimento da fibra dietética Opticell® C5 eubiotic fibre.

Aos funcionários **Fernando, Luís, Pedro Timóteo e Valdecir** pela ajuda na preparação das rações e abate das aves.

Ao Laboratório de Absorção Atômica do Instituto de Agronomia da UFRRJ pela realização de todas as análises de cálcio, na figura da Dra. **Adriana França Figueira**.

Aos amigos **Renato Nattes e Rômulo Costa Jr.**, que mesmo distantes, estão sempre torcendo por mim e comemorando minhas vitórias.

Aos amigos de pós-graduação, **Ana Carla Chaves, Jaciara Diavão e Lorraine Bernardes Lima**, pela convivência e proporcionar momentos maravilhosos durante todo esse período.

Aos amigos/irmãos do grupo de pesquisa em avicultura, **Débora Vaccari Quaresma, Felipe Dilelis, Noédson Jesus Beltrão Machado e Christiane Silva Sousa**, por todo suporte na condução dos experimentos, por aturar meu estresse pré-qualificação e por ser a melhor equipe de pesquisa possível.

Aos estagiários **Cleriston Machado, Eduardo Vellozo, Juliana Bianc e Silvia Araújo** pelo auxílio fundamental para a condução do experimento e análises laboratoriais.

Aos funcionários da secretaria do PPGZ, **Marcelo Miranda, Rita de Cassia e Marcia Luiza**, pela colaboração e por sempre socorrer um pós-graduando desesperado.

Aos amigos de Seropédica, Luis Carlos, Marcelo Cavalcante, Ivan Rangel, Iury Pinto e Ana Marinho, que estiveram sempre nos momentos de alegria, mas também foram ombros amigos em momentos difíceis desta jornada.

Aos melhores vizinhos que eu poderia ter **Tereza Carvalho** e **Daniel**, por estarem sempre presentes e por serem tão especiais em minha vida.

Ao grande amigo **Walter Ribeiro**, pelo companheirismo e dedicação, pessoa que levo para o resto de minha vida em meu coração.

A minha avó **Doralina**, minha tia **Eliane**, minhas primas **Ludmila** e **Geovanna**, minha afilhada **Laura**, meus padrinhos **Patrícia** e **Edenir**, por todo o suporte emocional, torcida e compreensão pela minha ausência em momentos importantes.

Obrigado Deus, pelo presente de ter em meu caminho pessoas tão especiais.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

BIOGRAFIA

LEONARDO WILLIAN DE FREITAS, filho de Ramona Denir de Freitas, nasceu em Campo Grande - MS, em 12 de abril de 1986.

Em fevereiro de 2002 ingressou no curso técnico em Pecuária pela Escola Técnica Estadual "Professor Doutor Antônio Eufrásio de Toledo" do Centro de Ciência e Tecnologia Paula Souza, Presidente Prudente/SP, onde em 4 de julho de 2003 obteve o título de Técnico em Pecuária.

Em setembro de 2006 ingressou no curso de graduação em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados/MS, onde em 08 de julho de 2010 obteve o título de Bacharel em Zootecnia.

Em julho de 2010 ingressou no Programa de Pós-Graduação em "Ciência Animal e Pastagens", nível de mestrado, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba/SP, onde obteve o título de Mestre em Ciências, em fevereiro de 2013.

Em setembro de 2012 assumiu o cargo de *trainee* na empresa BRNova Sistemas Nutricionais S/A, na cidade de Hortolândia/SP, permanecendo neste cargo até julho de 2013.

Em julho de 2013 assumiu o cargo de docente na Faculdade da Amazônia, no município de Vilhena/RO, ministrando disciplinas para os cursos de Agronomia e Zootecnia, permanecendo neste cargo até janeiro de 2015.

Em dezembro de 2014 assumiu o cargo de Zootecnista na Empresa Granja Vilhena, no município de Vilhena/RO, atuando como responsável pela nutrição, produção e manejo de aves de postura nas fases de cria, recria e postura, permanecendo neste cargo até julho de 2015.

Em agosto de 2015 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, nível de doutorado, do Instituto de Zootecnia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica/RJ, onde se submeteu, em agosto de 2019, à defesa da tese para obtenção do título de Doutor em Ciências, na área de concentração de Produção Animal.

EPIÍGRAFE

Durante este trabalho...

As dificuldades não foram poucas...

Os desafios foram muitos...

Os obstáculos, muitas vezes, pareciam intransponíveis.

Muitas vezes me senti só, e, assim, o estive...

O desânimo quis contagiar, porém, a garra e a tenacidade foram mais fortes, sobrepondo esse sentimento, fazendo-me seguir a caminhada, apesar dos obstáculos do caminho.

Agora, ao olhar para trás, a sensação do dever cumprido se faz presente e posso constatar que as noites de sono perdidas, as idas e vindas realizadas; o cansaço das análises no laboratório, os longos tempos de leitura, digitação, discussão; a ansiedade em querer fazer e a angústia de muitas vezes não o conseguir, por problemas estruturais; não foram em vão.

Aqui estou, como sobrevivente de uma longa batalha, porém, muito mais fortes, com coragem suficiente para mudar a minha postura, apesar de todos os percalços...

Como dizia Antoine Saint Exupéry em sua obra prima "O Pequeno Príncipe":

"Foi o tempo que perdeste com tua rosa, que fez tua rosa tão importante."

RESUMO

FREITAS, Leonardo Willian. **Exigência e composição em cálcio digestível de alimentos de origem animal para frangos de corte**. 74 p. 2019. Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Foram realizados três experimentos, visando determinar a digestibilidade de cálcio de ingredientes de origem animal e um experimento para determinar a exigência de cálcio em frangos de corte. O delineamento experimental adotado nos experimentos foi o delineamento inteiramente casualizado. No primeiro experimento, objetivou-se determinar qual método (métodos direto, regressão e substituição) seria mais viável para determinar a digestibilidade verdadeira de cálcio da farinha de peixe. Os coeficientes de digestibilidade verdadeira da farinha de peixe determinados pelos métodos de substituição, direto e de regressão foram de 0,77; 0,70 e 0,61, respectivamente. A digestibilidade verdadeira da farinha de peixe pelo método de substituição foi maior ($P < 0,05$) do que a determinada pelo método de regressão. No segundo experimento, os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de três farinhas de carne e ossos (FCO) foram determinados pelo método direto. Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro das FCO1, FCO2 e FCO3 foram determinados como 0,621; 0,539 e 0,818, respectivamente. A digestibilidade verdadeira de cálcio da FCO3 foi maior ($P < 0,05$) do que a das FCO1 e FCO2. A digestibilidade verdadeira de cálcio da FCO1 foi semelhante ($P > 0,05$) a FCO2. No terceiro experimento, os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de três farinhas de vísceras (FV) foram determinados pelo método direto. Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de cálcio das FV1, FV2 e FV3 foram determinados como 0,944; 0,867 e 0,913 respectivamente. A digestibilidade verdadeira de cálcio das farinhas avaliadas foi semelhante ($P > 0,05$) não havendo diferença entre elas. O quarto experimento foi realizado para determinar a exigência de cálcio digestível de frangos de corte no período de 1 a 21 dias. Foi analisado o desempenho zootécnico, qualidade óssea e digestibilidade ileal de cálcio de frangos de corte machos e fêmeas alimentados com níveis crescentes de cálcio (0,60; 0,75; 0,90; 1,05 e 1,20%). Calcário calcítico e fosfato bicálcico foram usados para obter os diferentes níveis de cálcio na dieta, mantendo um nível constante de 0,43% de fósforo disponível. Com base nos valores dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeira, o nível de 0,60% é o mais indicado para frangos de corte, que apresenta os melhores resultados para a digestibilidade deste mineral.

Palavras chaves: Digestibilidade ileal, Ingredientes, Métodos de avaliação, Requerimento de cálcio.

ABSTRACT

FREITAS, Leonardo Willian. **Requirement and composition in digestible calcium of animal by-product meal for broilers.** 2019. 74 p. Thesis (Doctorate in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Three experiments were carried out to determine the calcium digestibility of ingredients of animal by-product meals and an experiment to determine the calcium requirement in broilers. The experimental design adopted in the experiments was a completely randomized design. In the first experiment, the objective was to determine which method (direct, regression and substitution methods) would be more viable to determine the true calcium digestibility of fish meal. The coefficients of true digestibility of fish meal determined by the methods of substitution, direct and regression were 0.77; 0.70 and 0.61, respectively. The true digestibility of fish meal by the substitution method was higher ($P < 0.05$) than that determined by the regression method. In the second experiment, the coefficients of true ileal digestibility of three meat and bone meal (MBM) were determined by the direct method. The coefficients of true ileal digestibility of MBM1, MBM2 and MBM3 were determined to be 0.621; 0.539 and 0.818, respectively. The true calcium digestibility of MBM3 was higher ($P < 0.05$) than that of MBM1 and MBM2. The true calcium digestibility of MBM1 was similar ($P > 0.05$) to MBM2. In the third experiment, the coefficients of true ileal digestibility of three poultry by-product meal (PBP) were determined by the direct method. The coefficients of true ileal digestibility of calcium for PBP1, PBP2 and PBP3 were determined to be 0.944; 0.867 and 0.913 respectively. The true calcium digestibility of the evaluated flours was similar ($P > 0.05$) with no difference between them. The fourth experiment was carried out to determine the digestible calcium requirement of broilers in the period from 1 to 21 days. The zootechnical performance, bone quality and ileal calcium digestibility of male and female broilers fed with increasing levels of calcium (0.60; 0.75; 0.90; 1.05 and 1.20%) were analyzed. Limestone and dicalcium phosphate were used to obtain the different levels of calcium in the diet, maintaining a constant level of 0.43% of available phosphorus. Based on the values of the coefficients of true ileal digestibility, the level of 0.60% is the most suitable for broilers, which presents the best results for the digestibility of this mineral.

Keywords: Assay methodology, Ileal digestibility, Ingredients, Calcium requirement.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual e analisada das dietas experimentais	15
Tabela 2. Composição bromatológica e granulometria da farinha de peixe	20
Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade ileal aparente e verdadeiro do Ca das dietas experimentais	20
Tabela 4. Relação linear entre as concentrações de cálcio na digesta (g/kg de MSI) e as concentrações de cálcio na dieta (g/kg MS) da farinha de peixe.	21
Tabela 5. Composição percentual e analisada das dietas experimentais	30
Tabela 6. Composição bromatológica e granulometria da farinha de carne e ossos	33
Tabela 7. Coeficientes de digestibilidade ileal aparente e verdadeiro do Ca das dietas experimentais	34
Tabela 8. Composição percentual e analisada das dietas experimentais	42
Tabela 9. Composição bromatológica e granulometria da farinha de peixe	43
Tabela 10. Coeficientes de digestibilidade ileal aparente e verdadeiro do Ca das dietas experimentais	44
Tabela 11. Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas rações	45
Tabela 12. Composição percentual e analisada das dietas experimentais	46
Tabela 13. Resultados dos coeficientes de retenção de matéria mineral (CRMM), cálcio (CRCa) e fósforo (CRP) e o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do cálcio (CDIVCa) de rações contendo níveis crescentes de inclusão de cálcio, com base na matéria seca	59
Tabela 14. Desempenho zootécnico de frangos de corte de 1 a 21 dias alimentados com rações contendo níveis crescentes de cálcio	63
Tabela 15. Índice de Seedor, resistência e cinzas ósseas de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com rações contendo níveis crescentes de inclusão de cálcio	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alojamento das aves na fase pré-experimental	13
Figura 2. Aves alojadas nas gaiolas de metabolismo para o ensaio biológico	14
Figura 3. Trato digestório com identificação do íleo	16
Figura 4. Determinação da granulometria da farinha de peixe	17
Figura 5. Concentração de cálcio na digesta (g/kg MSI) em função da concentração de cálcio na dieta (g/kg MS) na farinha de peixe	21
Figura 6. Coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do cálcio (média $\pm$ DP) da farinha de peixe, em função dos métodos de regressão, direto e substituição	23
Figura 7. Coleta de excretas para análise de metabolismo	54
Figura 8. Análise de resistência óssea	57
Figura 9. Ossos antes e pós queima em mufla para determinação de cinza óssea	57
Figura 10. Coeficiente de retenção de matéria mineral em valores percentuais, das rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio, determinados em frangos de corte de 18 a 20 dias de idade	60
Figura 11. Coeficiente de retenção de cálcio em valores percentuais, das rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio, determinados em frangos de corte de 18 a 20 dias de idade ...	60
Figura 12. Coeficiente de retenção de fósforo em valores percentuais, das rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio, determinados em frangos de corte de 18 a 20 dias de idade ..	61
Figura 13. Coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro de cálcio, com inclusão de níveis crescentes de cálcio, determinados em frangos de corte machos, aos 21 dias de idade	62
Figura 14. Índice de Seedor da tíbia de frangos de corte de 21 dias, alimentados com rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio	64
Figura 15. Resistência óssea de frangos de corte, machos e fêmeas, de 21 dias, alimentados com rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio	65

LISTA DE ABREVIACES

Ca	Cálcio
P	Fósforo
FCO	Farinha de carne e ossos
FP	Farinha de peixes
FV	Farinha de vísceras
PTH	Hormônio paratireoidiano
TC	Calcitonina
MS	Matéria Seca
CZ	Cinzas
TiO ₂	Dióxido de titânio
CDIACa	Coeficientes de digestibilidade ileal aparente do cálcio
CDIVCa	Coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do cálcio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	Fontes de cálcio para frangos de corte	2
2.2	Absorção de cálcio	2
2.3	Regulação hormonal do metabolismo de cálcio	4
2.4	Disponibilidade de cálcio	4
2.5	Fatores que afetam a disponibilidade de cálcio	5
2.5.1	Fatores dietéticos	5
2.5.2	Fatores das aves que afetam a disponibilidade de cálcio	7
2.6	Metodologias para determinar a digestibilidade do cálcio	7
2.6.1	Mensuração da digestibilidade de cálcio	7
2.7	Perdas endógenas de cálcio	8
	CAPÍTULO I	9
	RESUMO	10
	ABSTRACT	11
1	INTRODUÇÃO	12
2	MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1	Animais, Instalações e Manejo	13
2.2	Delineamento Experimental	14
2.3	Coleta de Materiais para Análises	16
2.4	Análises laboratoriais	17
2.5	Cálculos dos coeficientes de digestibilidade de cálcio	17
2.5.1	Método de regressão	18
2.5.2	Método direto	18
2.5.3	Método de substituição	19
2.6	Análise Estatística	19
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
3.1	Método de regressão	21
3.2	Método direto	22
3.3	Método de substituição	22
4	CONCLUSÕES	24
	CAPÍTULO II	25
	RESUMO	26
	ABSTRACT	27
1	INTRODUÇÃO	28
2	MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1	Animais, Instalações e Manejo	29
2.2	Delineamento Experimental	29
2.3	Coleta de Materiais para Análises	30
2.4	Análises laboratoriais	31
2.5	Cálculos dos coeficientes de digestibilidade de cálcio	31
2.6	Análise Estatística	32
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4	CONCLUSÕES	36
	CAPÍTULO III	37
	RESUMO	38
	ABSTRACT	39
1	INTRODUÇÃO	40

2	MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1	Animais, Instalações e Manejo	41
2.2	Delineamento Experimental	41
2.3	Coleta de Materiais para Análises.....	42
2.4	Análises laboratoriais.....	43
2.5	Cálculos dos coeficientes de digestibilidade de cálcio	43
2.6	Análise Estatística.....	44
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4	CONCLUSÕES.....	47
	CAPÍTULO IV	48
	RESUMO	49
	ABSTRACT	50
1	INTRODUÇÃO	51
2	MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1	Animais, Instalações e Manejo	52
2.2	Dietas e Delineamento Experimental	52
2.3	Ensaio de Metabolismo.....	53
2.4	Ensaio de Desempenho	55
2.5	Digestibilidade ileal do cálcio.....	55
2.5.1	Cálculos dos coeficientes de digestibilidade de cálcio	55
2.6	Qualidade óssea	56
2.6.1	Índice de Seedor.....	56
2.6.2	Resistência óssea.....	56
2.6.3	Cinza óssea	57
2.7	Análises laboratoriais.....	58
2.8	Análise Estatística.....	58
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4	CONCLUSÕES.....	66
	CONCLUSÃO GERAL	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1 INTRODUÇÃO

O melhoramento genético do frango de corte e a incessante busca pela eficiência alimentar e redução dos custos de produção tem levado a necessidade constante de aprimoramento do conhecimento das características das matérias primas, comumente utilizadas na sua alimentação. Além disso, as exigências nutricionais precisam ser periodicamente revistas.

Para crescimento e desenvolvimento adequado das aves, é necessário fornecer concentrações adequadas de cálcio (Ca) em suas dietas. As concentrações nutricionais desse mineral devem suportar o desempenho máximo de crescimento sem interferir na utilização de outros minerais. As concentrações recomendadas de Ca da dieta para frangos de corte machos de alto desempenho são de 10,11; 9,07; 8,22 e 6,61 g/kg em dietas para as fases pré-inicial, inicial, crescimento e final, respectivamente (ROSTAGNO et al., 2017).

As exigências e a composição dos ingredientes em cálcio têm sido frequentemente expressas em cálcio total, o que pode resultar na incorporação de altos níveis desse mineral nas rações. A consequência desta prática é que o Ca em excesso pode agir como antagonista, formando quelatos insolúveis e dificultando a absorção dos outros minerais especialmente, fósforo, sódio, potássio, magnésio, ferro, cobre, zinco e manganês (ANDERSON et al., 1995). A deficiência de Ca nas dietas do frango pode causar deformidades ósseas, perturbação nas funções normais do corpo e prejudicar o crescimento.

Os ingredientes de origem vegetal são deficientes em Ca, sendo esse mineral pouco solúvel ou passível de absorção. Desse modo, fontes orgânicas e inorgânicas suplementares de Ca devem ser usadas nas dietas de frangos de corte para atender as exigências de Ca. As fontes inorgânicas de Ca fornecem a maioria do Ca nas dietas das aves, sendo as principais o calcário calcítico e o fosfato bicálcico. Os ingredientes de origem animal constituem as fontes orgânicas, tais como as farinhas de carne e ossos, vísceras, peixe e ostras.

A determinação da digestibilidade de Ca em ingredientes usados em rações para frangos de corte não tem tido destaque devido principalmente ao baixo custo do calcário, a principal fonte de Ca inorgânica. No entanto, a consolidação do uso de valores em fósforo (P) digestível dos ingredientes requer igual atenção quanto aos valores de digestibilidade do Ca devido à estreita relação entre o metabolismo desses minerais.

Atualmente não existe um método padrão para a determinação da digestibilidade do Ca em frangos de corte. Três métodos diferentes, direto, substituição e regressão, têm sido testados em experimentos de digestibilidade de Ca e P.

Os experimentos foram conduzidos de forma a avaliar qual metodologia seria mais adequada para se determinar a digestibilidade de Ca em farinha de peixe (FP). Em seguida, determinou-se a digestibilidade de Ca de farinhas de carne e ossos (FCO) e farinhas de vísceras (FV). Por fim foi determinada a exigência de Ca digestível em frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fontes de cálcio para frangos de corte

As fontes de Ca inorgânicas e orgânicas comumente usadas para dietas de frangos de corte são calcário, fosfato bicálcico e farinha de carne e osso, de peixe e de vísceras. Estas fontes contêm 380; 233; 110; 57,5 e 43,4 g/kg Ca, respectivamente (VELLASCO et al., 2016; ROSTAGNO et al., 2017). Contudo, os conteúdos de Ca variam de acordo com a origem da amostra. Wilkinson et al. (2013) analisaram as fontes de calcário utilizadas na indústria avícola australiana e relataram que a concentração de Ca variou de 392 a 411 g/kg. No entanto, a variação no teor de Ca foi maior em fontes de Ca orgânicas. Sulabo e Stein (2013) relataram uma variedade de Ca em amostras de farinha de carne e osso de 51 a 110 g/kg.

As dietas de frangos são atualmente formuladas com base no teor de Ca total, mas a disponibilidade de Ca pode variar entre as fontes, devido a composição da fonte utilizada, bem como da composição química e/ou física do Ca com outros componentes, formando em alguns casos quelatos e fitatos de baixa disponibilidade e digestibilidade. Ajakaiye et al. (2003a) avaliaram a disponibilidade aparente de Ca de diferentes fontes de Ca por método de coleta total. Os autores relataram que a disponibilidade foi de 25,7; 35,2; 26,7; 28,1 e 30,2% em carbonato de cálcio, concha de bivalves, concha de ostra, pó de mármore e concha de caracol, respectivamente, em frangos de corte até 14 dias de idade. Tais resultados evidenciam a necessidade de medir e utilizar a digestibilidade e a disponibilidade de Ca de diferentes fontes para que as exigências de Ca possam ser atendidas na dieta do frango.

2.2 Absorção de cálcio

O cálcio está presente em três formas principais no corpo do frango; quase 99% de Ca está presente nos ossos sob a forma de hidroxiapatita, sendo que 1% restante está presente em espaços intracelulares ou extracelulares. O Ca extracelular é apenas 0,1% do total de Ca do organismo e está presente em três formas diferentes; o Ca ionizado, o Ca ligado às proteínas e o Ca ligado aos ânions. Destes, o cálcio ionizado é a única forma fisiologicamente ativa desse mineral nas aves (COON et al., 2002).

A absorção intestinal de Ca, na forma iônica (Ca^{+2}), é um processo importante para a manutenção da homeostase desse mineral no organismo. Em frangos de corte, o Ca é absorvido principalmente no duodeno e no jejuno, e em dois pontos distintos; na membrana dos enterócitos com ajuda da vitamina D₃ e uma proteína transportadora de Ca (calbidina) e pelo espaço intracelular do epitélio intestinal com auxílio do hormônio paratireoideiano (LARBIER et al., 1994). No entanto, a absorção de Ca em diferentes segmentos intestinais varia com a idade, estágio fisiológico e concentração de Ca dietética. A absorção de cálcio no duodeno e jejuno de frangos de corte com 21 dias de idade, alimentados com 11,7 g/kg de Ca foi de 46 e 47%, respectivamente. A absorção de cálcio em poedeiras durante o período de postura alimentadas com 38,3 g/kg de Ca foi relatado como sendo 25, 46, 6 e 7% no duodeno, jejuno superior, jejuno inferior e íleo superior, respectivamente (HURWITZ et al., 1973).

O Ca é absorvido pelo intestino por dois mecanismos, absorção ativa ou transcelular, que ocorre através das células da mucosa e absorção passiva ou paracelular, ocorre entre as células da mucosa; depende de um gradiente de concentração e ocorre em todo o trato intestinal, enquanto a absorção ativa ocorre principalmente no duodeno e no jejuno superior e desempenha apenas um papel menor no jejuno distal e no íleo (BRONNER, 1987).

A absorção ativa de Ca é um processo de três etapas que consiste na entrada nas células epiteliais do lúmen; trânsito através do citosol do polo apical para o basolateral e extrusão da célula, através da membrana basolateral, para o suprimento vascular na lâmina própria (FULLMER, 1992). A absorção ativa é regulada pelas proteínas de ligação a vitamina D₃ e Ca (BRONNER, 1992). As concentrações de Ca na dieta também podem afetar a absorção ativa desse mineral. Um aumento na ingestão dietética de Ca causa uma regulação negativa da absorção ativa de Ca, enquanto uma diminuição na ingestão de Ca resulta em uma regulação positiva (PANSU et al., 1981).

A vitamina D₃ (1,25 dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)₂D₃)) desempenha um papel importante neste mecanismo e regula todos os três passos de absorção induzindo alterações na estrutura e função do epitélio intestinal (PEREZ et al., 2008). No primeiro passo, a vitamina D₃ estimula a entrada de Ca do lúmen para as células da mucosa, através dos canais de Ca epiteliais, denominados potenciais receptores transitórios da família vanilóide. Em segundo lugar, promove o aumento na síntese de proteínas de ligação a Ca que se ligam aos íons Ca no citosol e, em terceiro lugar, provoca a extrusão de Ca das células mucosas para os espaços intestinais através da membrana basolateral usando Ca ATPase da membrana plasmática ou simplesmente por troca iônica de sódio e Ca (HOENDEROP et al., 2005).

A vitamina D₃ é relatada para aumentar a absorção de Ca do intestino a cada passo; aumenta a entrada de Ca na borda em escova em 20-30%, a ligação a sítios celulares em 100%, o movimento intracelular em até 100 vezes e a atividade de Ca/Mg ATPase em duas a três vezes (BRONNER, 1987).

A ingestão dietética de cálcio afeta a absorção ativa de cálcio no duodeno. É relatado que a alta ingestão de Ca na dieta leva a redução no conteúdo de proteína de ligação e absorção de Ca no duodeno (MORRISSEY e WASSERMAN, 1971). Por outro lado, em baixas ingestões de Ca na dieta ocorre o aumento na captação de Ca e as atividades de extrusão de Ca pelas células através da Ca ATPase da membrana plasmática ou da troca iônica de sódio / cálcio (CENTENO et al., 2004).

A absorção passiva contribui com uma proporção significativa da quantidade total de Ca absorvida porque ocorre em todo o trato intestinal e, o tempo de retenção da digesta é maior no jejuno, onde o mecanismo passivo é dominante (ADEDOKUN e ADEOLA, 2013). Durante a absorção passiva, o cálcio move-se através dos microespaços entre os enterócitos adjacentes da membrana epitelial, de alta concentração no lúmen intestinal para menor concentração no espaço intestinal (WASSERMAN, 2004). O Ca entra pelas junções apertadas entre as células, passa pela junção intermediária e depois para o sangue da região basolateral (HOENDEROP et al., 2005).

A estrutura de junções apertadas e intermediárias pode limitar a absorção de cálcio. No entanto, o espaço entre as duas junções pode ser manipulado para aumentar a absorção de Ca; modificações potenciais incluem o uso de substâncias como lactose, triglicerídeos de cadeia média e aminoácidos (L-lisina e L-arginina) (BRONNER, 1987).

O aumento das concentrações dietéticas de Ca leva a um aumento na absorção pela via passiva enquanto reduz sua absorção através da via ativa por causa da regulação negativa das proteínas de ligação (PEREZ et al., 2008). Entretanto, embora a alta ingestão de Ca aumente a quantidade total de Ca absorvida, ela reduz a porcentagem de absorção de Ca (HURWITZ e BAR, 1969). Proporções de Ca absorvidas por esses dois mecanismos variam dependendo da ingestão dietética. Em ingestão de baixas quantidades, a absorção ativa de Ca é regulada para

cima e é mais dominante, enquanto em doses altas de Ca ingeridas, a absorção passiva de Ca é dominante (BRONNER, 2003).

2.3 Regulação hormonal do metabolismo de cálcio

O metabolismo do Ca é controlado por três hormônios, nomeadamente o hormônio paratireoideano (PTH), a calcitonina (TC) e 1,25 dihidroxicolecalciferol ($1,25-(OH)_2D_3$). A secreção do hormônio paratireoideano é regulada por concentrações iônicas de Ca no fluido extracelular. As diminuições nas concentrações plasmáticas de Ca desestimulam a glândula paratireoide e aumentam a secreção de PTH, resultando em aumento da reabsorção de Ca do rim e reabsorção de Ca dos ossos (TAYLOR e DACKER, 1984). Esta ação do hormônio PTH, em última análise, leva a um aumento nas concentrações de Ca no organismo.

Altas concentrações de Ca plasmática levam à inibição da secreção de PTH e estimulam a glândula ultimobrânquial a secretar TC. A TC ajuda a reduzir as concentrações plasmáticas de Ca reduzindo a reabsorção dos ossos e a reabsorção dos rins.

A vitamina D existe em duas formas principais, nomeadamente o ergocalciferol (D_2) e o colecalciferol (D_3). A vitamina D_3 , em sua forma ativa, ($1,25(OH)_2D_3$) influencia a absorção de Ca no intestino e sua homeostase no corpo (PROSZKOWIEC-WEGLARZ et al., 2013). A absorção de cálcio no duodeno através da via ativa é regulada pela vitamina D_3 (BRONNER, 1992; FULLMER, 1992). Durante a absorção ativa de Ca, a vitamina D_3 aumenta a entrada de Ca nas células em 20-40%, aumenta a produção de proteínas de ligação de Ca e extrusão de Ca das células em 200-300% através da membrana plasmática Ca ATP-ase (BRONNER, 1992).

Por outro lado, a deficiência de vitamina D_3 diminui a expressão da ATPase da membrana plasmática e, assim, reduz a extrusão do Ca das células, o que, em última instância, reduz a absorção do Ca (PEREZ et al., 2008). A vitamina D_3 também é importante para a reabsorção de Ca através dos rins. A retenção de Ca foi de 58,4; 60,5 e 63,4% quando a vitamina D_3 foi suplementada a uma taxa de 66; 660 e 6600 $\mu\text{g/kg}$ de dieta, respectivamente, a uma razão Ca:P total de 1,1:1 (QIAN et al., 1997). Os valores correspondentes foram 42,6; 44,4 e 48,7%, respectivamente, quando a razão Ca:P total foi 2,0:1.

2.4 Disponibilidade de cálcio

As diferentes abordagens para determinar a disponibilidade de Ca, são divididas em três categorias: 1) medições qualitativas utilizando parâmetros ósseos e crescimento como parâmetros da disponibilidade de Ca; 2) medição quantitativa utilizando retenção e 3) os métodos *in vitro*, usando a solubilidade (SHASTAK e RODEHUTSCORD, 2013).

Na abordagem qualitativa, o método da relação de inclinação foi amplamente utilizado para comparar a disponibilidade de Ca de diferentes ingredientes. Nesses estudos, os critérios ósseos (cinzas, resistência à ruptura e densidade) ou as respostas de crescimento são plotados contra a ingestão dietética de Ca e comparados com a fonte padrão, que se presume estar 100% disponível. O carbonato de cálcio tem sido usado em estudos como fonte padrão para determinar a biodisponibilidade relativa de Ca de diferentes fontes (HURWITZ e RAND, 1965; BLAIR et al., 1965).

A retenção é medida pela coleta total de excretas, enquanto a digestibilidade ileal é avaliada pela coleta da digesta ileal e pelo uso de índices de marcador indigestível. Comparada com a relação de inclinação e os métodos de retenção, a digestibilidade ileal não considera a

utilização pós-absorção de Ca. A digestibilidade do Ca verdadeiro pode ser medida corrigindo a digestibilidade aparente para perdas de Ca endógenas. A medição *in vitro* da biodisponibilidade do Ca é conseguida determinando a solubilidade da fonte desse elemento. Os métodos *in vitro* para avaliar a disponibilidade de Ca são economizadores de tempo e menos onerosos em comparação com as outras duas abordagens.

Cheng e Coon (1990) propuseram diferentes metodologias para determinar a solubilidade da pedra calcária e demonstraram que a solubilidade *in vitro* da pedra calcária diminuiu com o aumento do tamanho das partículas. A solubilidade *in vitro* foi relatada como inversamente relacionada com a solubilidade *in vivo*. Zhang e Coon (1997) relataram que partículas maiores com menor solubilidade *in vitro* (30-50%) permaneceram mais tempo na moela de poedeiras e aumentaram a solubilidade *in vivo* para 94%.

2.5 Fatores que afetam a disponibilidade de cálcio

Uma série de fatores influencia a absorção de Ca ao longo do trato intestinal e estes podem ser amplamente divididos em duas categorias, fatores ligados aos animais e fatores ligados à dieta. Os fatores ligados aos animais incluem idade, sexo e estresse das aves, enquanto os fatores ligados à dieta incluem concentração de Ca, relação Ca:P, energia da dieta, suplementação de vitamina D₃, ácido orgânico, enzimas (fitase), a fonte e o tamanho de partícula do Ca.

2.5.1 Fatores dietéticos

2.5.1.1 Efeito da concentração de cálcio (Ca), fósforo (P) e relação Ca:P nas dietas

Frangos de corte e poedeiras têm requisitos específicos de Ca dependendo do seu estágio de crescimento ou produção. As exigências de cálcio dos frangos de corte são de 10,11; 9,07; 8,22 e 6,61 g/kg em dietas para as fases pré-inicial, inicial, crescimento e final, respectivamente (ROSTAGNO et al., 2017). O cálcio reduz a disponibilidade de Ca e P formando fosfato de cálcio insolúvel no trato digestivo (SHAFEY et al., 1991).

Hurwitz e Bar (1969) relataram que um aumento na absorção reduzida de Ca dietético em poedeiras. A absorção de cálcio foi determinada em 80,8; 76,3 e 62,0% em poedeiras alimentadas com dietas contendo 5,9; 17,6 e 39,4 g/kg Ca, respectivamente. Sebastian et al. (1996a) observaram também reduções na retenção de Ca em frangos de corte com aumento das concentrações de Ca do alimento. A retenção de cálcio foi de 65,9; 49,0 e 43,5% em dietas com 6,0; 10,0 e 12,5 g/kg de Ca, respectivamente. Pintar et al. (2005) também descreveram que a retenção de Ca em frangos de corte diminuiu quando as concentrações de Ca na dieta aumentaram de 6,0 a 10 g/kg de dieta. As conclusões verificadas corroboram com as descritas por Plumstead et al. (2008), em que a digestibilidade ileal aparente de Ca diminuiu de 46,8 para 38,6%, quando a concentração de Ca na dieta aumentou de 4,7 para 11,6 g/kg em dietas de frangos de corte. Walk et al. (2012a) observaram que a digestibilidade ileal aparente de Ca de uma dieta a base de milho e soja para frangos de corte reduziu de 66% para 52% quando o Ca foi aumentado de 6,4 para 10,03 g/kg de dieta.

A relação Ca:P também é importante para absorção e utilização de ambos os minerais. Rostagno et al. (2017) recomenda uma relação de Ca: P disponível de 2,13:1; como favorável para frangos de corte. A ampliação ou o estreitamento desta relação tem sido relatado para afetar a absorção e retenção de Ca (PINTAR et al., 2005; PLUMSTEAD et al., 2008). Maior relação de Ca:P representa aumento na concentração de Ca ou redução de P na dieta. Sebastian

et al. (1996b) relataram que a retenção de Ca foi reduzida de 40,7 para 31,7% quando o índice de Ca:P total aumentou de 2:1 para 2,6:1 em dietas de frangos de corte. Resultados semelhantes foram observados em um estudo subsequente, em que a retenção de Ca foi reduzida de 65,9 para 49 e 43,5% quando a proporção de Ca:P total aumentou de 1:1 para 1,74:1 e 2,22:1, respectivamente (SEBASTIAN et al., 1996a). Além disso, a redução da retenção de Ca foi observada de 58,4% para 42,6% quando a proporção de Ca:P total foi aumentada de 1,1:1 para 2:1 em dietas de frango (QIAN et al., 1997).

Em contraste, Tamim e Angel (2003) relataram um aumento na absorção de Ca de 44,7 para 52,3%, quando a concentração de Ca foi aumentada de 1,8 para 6,8 g/kg de dietas de frango. A possível razão para este achado pode ser que o Ca na dieta de 1,8 g/kg originou-se apenas de fontes orgânicas. Provavelmente este fato se deu, pois mesmo a dieta com maior concentração de Ca, esta estava muito abaixo das exigências de Ca das aves.

2.5.1.2 Efeito da fonte de cálcio e tamanho de partícula

Como os ingredientes vegetais, tais como o milho e o farelo de soja, os quais são fonte de proteínas e energia, possuem baixa concentração de Ca em sua composição, faz-se necessário a utilização de fontes inorgânicas de Ca (calcário, fosfato bicálcico) e orgânicas de Ca de origem animal (farinha de carne e osso, farinha de ostra, farinha de peixe) em dietas de frangos de corte, para atender às exigências nutricionais. O cálcio disponível é relatado como variável entre essas fontes e mesmo dentro de uma fonte dependendo da origem e tamanho de partícula (LICHOVNIKOVA, 2007; OSO et al., 2011).

Oso et al. (2011) descreveram que a retenção de Ca foi 39, 38, 30 e 39% em frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com farinha de ostra, concha de caracol, cinzas de madeira e calcário como fonte de Ca, respectivamente. McNaughton et al. (1974), usando a cinza da tíbia como indicador da disponibilidade de Ca, examinou a influência de vários tamanhos de partículas (2,38-3,36; 0,84-1,19; 0,30-0,42; 0,11-0,15 e 0,05 mm) e verificaram que o conteúdo de cinzas da tíbia era maior em aves suplementadas com dietas contendo tamanho médio de partícula (0,30-0,42 mm) em comparação com dietas com tamanhos de partículas finas e grosseiras.

A retenção prolongada de Ca na moela pode aumentar a sua utilização em poedeiras durante a formação da casca de ovo. As partículas grandes de Ca foram mantidas mais tempo na moela, em comparação com pequenas partículas (ZHANG e COON, 1997). As poedeiras foram alimentadas com dietas experimentais por três dias com tamanho de partícula de calcário de 4; 2,38; 1,41 e 0,65 mm, e a quantidade de Ca retida na moela em tamanho de partículas diferentes após três dias de período experimental foi de 7,87; 6,24; 4,52 e 0,72 g/ave, respectivamente. A retenção de cálcio na moela também foi diferente (5,90 e 3,81 g/ave) para duas fontes de calcário diferentes. Estes dados mostraram que, a retenção de Ca na moela variou com a fonte de Ca e o tamanho de partícula e esse desvio pode causar variações na disponibilidade de Ca.

Em contraste, Guinotte et al. (1995) relataram um aumento na retenção de Ca em frangos alimentados com dietas com carbonato de Ca fino (0,15 mm) em relação ao carbonato de Ca médio (0,6-0,8 mm) e grosso (> 1,18 mm).

2.5.2 Fatores das aves que afetam a disponibilidade de cálcio

2.5.2.1 Efeito do genótipo e idade

Dados sobre o efeito de fatores das aves sobre a disponibilidade e retenção de Ca são limitados. No entanto, alguns estudos indicaram que a digestão, absorção e excreção de Ca podem variar de raça para raça e mesmo entre linhagens. Shafey et al. (1990) relataram que a retenção e a excreção de Ca foram diferentes entre duas linhagens de frangos de corte, sendo a retenção relativa de Ca de 24,0% na linhagem 1 e de 17,4% na linhagem 2.

De acordo com Thomas e Ravindran (2010) a retenção de Ca foi maior aos cinco dias de idade e reduzida no sétimo dia e permaneceu constante em dietas à base de milho até o décimo quarto dia de frangos de corte. A retenção de Ca foi de 47, 35 e 44% nos dias cinco, sete e quatorze em uma dieta à base de trigo, enquanto que em uma dieta à base de milho a retenção de Ca foi de 45, 40 e 40%, respectivamente.

2.6 Metodologias para determinar a digestibilidade do cálcio

No método direto, um ingrediente de teste serve como a única fonte de nutrientes na dieta, enquanto no método de substituição ou diferença, o ingrediente teste é substituído por proporção específica de uma dieta de referência ou muda o ingrediente específico. A digestibilidade dos nutrientes desejados no ingrediente do teste é determinada pela diferença entre as duas medidas de digestibilidade e a concentração do nutriente específico na dieta de teste (LEMME et al., 2004). O método de regressão tem sido utilizado em alguns estudos para a determinação da digestibilidade ileal verdadeira de P em frangos de corte (DILGER e ADEOLA, 2006a; MUTUCUMARANA et al., 2014a, 2014b, 2015).

O método de regressão baseia-se no estabelecimento de uma relação linear entre a produção de nutrientes na digesta ileal e a entrada dietética de nutrientes, expressa em g/kg de matéria seca de digesta e de dieta, respectivamente (ANWAR et al., 2015). Neste método, as dietas com concentrações graduadas do nutriente específico do ingrediente de ensaio específico são formuladas. Teoricamente, as estimativas de digestibilidade determinadas pelo método de regressão são automaticamente corrigidas para perdas endógenas e representam verdadeiros valores de digestibilidade.

Os valores de digestibilidade determinados usando o método direto e o de substituição são valores aparentes e precisam ser corrigidos para perdas endógenas. Assim, para calcular a verdadeira digestibilidade do Ca, as perdas de Ca endógenas precisam ser determinadas.

2.6.1 Mensuração da digestibilidade de cálcio

O aumento dos preços das fontes de fosfato inorgânico e as preocupações com a poluição ambiental pelo excesso de fósforo excretado, atraíram a atenção dos pesquisadores para avaliar a digestibilidade de P dos ingredientes utilizados na nutrição animais. Neste contexto, a determinação da digestibilidade do Ca também se torna relevante porque a correlação Ca:P pode influenciar a disponibilidade de P e o desempenho das aves. O excesso de Ca dietético é conhecido por formar complexos de Ca-fitato no intestino e diminuir a disponibilidade de P (DRIVER et al., 2005; SELLE et al., 2009; WALK, 2016). A redução na digestibilidade de P também foi relatada em estudos em que as aves foram alimentadas com altas concentrações de Ca (TAMIM e ANGEL, 2003; TAMIM et al., 2004; PLUMSTEAD et al., 2008).

Plumstead et al. (2008) observaram que a digestibilidade ileal aparente do P total foi reduzida de 64,3 para 50,5% e a do fitato de 20,2 para 5,9% quando a concentração de Ca na dieta aumentou de 4,7 para 11,6 g/kg de dieta, respectivamente. Sabe-se que o excesso de Ca dietético causa redução na disponibilidade de fósforo, ferro, magnésio e zinco e também aumenta o pH da digesta no trato digestivo (SHAFEY et al., 1991). Por outro lado, a deficiência de Ca pode causar um baixo desempenho de crescimento, raquitismo e discondroplasia tibial em frangos de corte. Para evitar esses efeitos negativos, é necessário ter conhecimento da digestibilidade do Ca de diferentes fontes.

2.7 Perdas endógenas de cálcio

O cálcio endógeno é originário da saliva, bile, suco pancreático, suco gástrico e escamação das células intestinais. Atualmente, há uma escassez de publicações sobre as perdas endógenas de Ca em frangos de corte. No entanto, alguns estudos determinaram as perdas endógenas de P em suínos (DILGER e ADEOLA, 2006b; SULABO e STEIN, 2013) e frangos de corte (DILGER e ADEOLA, 2006a, LIU et al., 2013; MUTUCUMARANA et al., 2014a, 2014b; 2015). Duas abordagens foram utilizadas nesses estudos para determinar as perdas endógenas de P, alimentando uma dieta sem P (LIU et al., 2013; SULABO e STEIN, 2013; MUTUCUMARANA et al., 2014a) ou o método de regressão (AJAKAIYE et al., 2003b; DILGER e ADEOLA, 2006a; 2006b; MUTUCUMARANA et al., 2014a, 2014b; 2015).

Alguns estudos com suínos usaram essas abordagens para a estimativa de perdas de Ca endógenas, estimativa teórica, alimentando uma dieta livre desse elemento (GONZALEZ-VEGA et al., 2014; 2015a, 2015b) e usando o método de regressão (GONZALEZ-VEGA et al., 2013).

CAPÍTULO I

DIFERENTES METODOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE CÁLCIO DIGESTÍVEL DE FARINHA DE PEIXE PARA FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Objetivou-se determinar a digestibilidade ileal verdadeira do cálcio (Ca) da farinha de peixe, para frangos de corte, utilizando diferentes metodologias – direta regressão e substituição. Uma amostra da farinha de peixe utilizada foi obtida e analisada quanto à composição de nutrientes. A concentração de Ca da farinha de peixe foi determinada em 9,08%. Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade através de diferentes metodologias foram formuladas seis dietas experimentais: três dietas formuladas com inclusão gradual de 4, 7 e 10% (dietas I, II e III respectivamente) de farinha de peixe para determinar a digestibilidade ileal verdadeira de Ca pelo método de regressão. A farinha de peixe serviu como única fonte de Ca nessas dietas. A dieta com 10% de inclusão de farinha de peixe também foi utilizada para determinar a digestibilidade de Ca pelo método direto. Duas dietas foram formuladas para determinar a digestibilidade de Ca da farinha de peixe pelo método de substituição (dietas IV e V), e uma dieta livre de Ca e P foi formulada para determinar as perdas endógenas de Ca. A dieta V foi formulada utilizando calcário e fosfato bicalcico como fontes de Ca e P, já na dieta VI foi realizada a substituição destes 2 ingredientes por farinha de peixe, mantendo a mesma relação Ca:P. O dióxido de titânio (0,3%) foi incorporado nas dietas como marcador indigestível. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com seis dietas experimentais e seis repetições por tratamento com sete aves por unidade experimental. Os coeficientes de digestibilidade verdadeira da farinha de peixe determinados pelos métodos de substituição, direto e de regressão foram de 0,77; 0,70 e 0,61, respectivamente. A digestibilidade verdadeira da farinha de peixe pelo método de substituição foi maior ($P < 0,05$) do que a determinada pelo método de regressão. Os métodos de substituição e direto se mostraram mais eficientes ao se avaliar a digestibilidade verdadeira de cálcio da farinha de peixe.

Palavras-chave: Dióxido de titânio, Digestibilidade ileal verdadeira, Perda endógena.

ABSTRACT

The objective was to determine the true ileal digestibility of calcium (Ca) from fish meal, for broilers, using different methodologies – direct, regression and substitution. A sample of the fish meal used was obtained and analyzed for nutrient composition. The Ca concentration of fishmeal was determined to be 9.08%. To determine the digestibility coefficients through different methodologies, six experimental diets were formulated: three diets formulated with gradual inclusion of 4, 7 and 10% (diets I, II and III respectively) of fish meal to determine the true ileal digestibility of Ca by the regression method. Fish meal served as the only source of Ca in these diets. The diet with 10% inclusion of fish meal was also used to determine the digestibility of Ca by the direct method. Two diets were formulated to determine the Ca digestibility of fishmeal by the substitution method (diets IV and V), and a diet free of Ca and P was formulated to determine the endogenous losses of Ca. Diet V was formulated using limestone and bicalcium phosphate as sources of Ca and P, in the VI diet, the replacement of these 2 ingredients by fish meal was carried out, maintaining the same Ca: P ratio. Titanium dioxide (0.3%) was incorporated into diets as an indigestible marker. The experimental design was completely randomized, with six experimental diets and six replicates per treatment with seven birds per experimental unit. The coefficients of true digestibility of fish meal determined by the methods of substitution, direct and regression were 0.77; 0.70 and 0.61, respectively. The true digestibility of fishmeal by the substitution method was higher ($P < 0.05$) than that determined by the regression method. The substitution and direct methods were more efficient when evaluating the true calcium digestibility of fish meal.

Palavras-chave: Endogenous loss, Ileal digestibility, Titanium dioxide.

1 INTRODUÇÃO

Para o fornecimento de dietas, que atendam às necessidades das aves em Ca e que minimizem a excreção do mesmo, é necessário que a formulação seja feita com base nos valores de Ca digestíveis. Para tal, é necessário estabelecer a digestibilidade destes minerais nos ingredientes. Porém diversos fatores podem afetar a determinação da digestibilidade, dentre estes os teores de cálcio e de fósforo isoladamente e a relação cálcio:fósforo da dieta.

Valores em fósforo digestível para alguns ingredientes já são encontrados em tabelas de composição de ingredientes e manuais de linhagens, entretanto é necessário a realização de um grande número de estudos para que os bancos de dados relacionem de forma consistente os valores digestíveis nos diferentes ingredientes usados em rações de aves.

A determinação da digestibilidade de cálcio (Ca) em ingredientes usados em rações para frangos de corte não teve o destaque observado nos estudos com fósforo, devido principalmente ao baixo custo do calcário, a principal fonte de Ca inorgânica e a baixa concentração de Ca nos ingredientes das plantas. No entanto, a consolidação do uso de valores em fósforo digestível dos ingredientes requer igual atenção quanto aos valores de digestibilidade do Ca devido à estreita relação entre o metabolismo de P e Ca. É bem reconhecido que as elevadas concentrações dietéticas de Ca reduzem a disponibilidade de P em frangos de corte.

Atualmente não existe um método padrão para a determinação da digestibilidade do Ca em frangos de corte. Três métodos diferentes, direto, substituição e regressão, têm sido testados em experimentos de digestibilidade de Ca. Historicamente, a disponibilidade de Ca tem sido descrita em termos de biodisponibilidade relativa ao carbonato de cálcio e é geralmente assumido que a disponibilidade de Ca das fontes desse mineral é de 100%.

Desta forma a realização de pesquisas para se identificar qual a melhor metodologia para se determinar a digestibilidade do cálcio em ingredientes de origem animal se faz necessário. Objetivou-se avaliar três distintas metodologias (direto, regressão e substituição) para a obtenção dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do cálcio da farinha de peixe, utilizando diferentes metodologias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética para uso de animais (CEUA/IZ) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) pelo processo nº 23083.021049/2018-66, e esteve de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e com a legislação vigente.

2.1 Animais, Instalações e Manejo

Foram adquiridos inicialmente 500 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb 500® criados até os 14 dias de idade em galpão convencional com cama de maravalha. Os pintos foram vacinados contra Marek, Bouda Aviária e Gumboro no incubatório, e aos 10 dias de idade, vacinados contra Newcastle.

Os pintos foram mantidos até os 14 dias de idade em círculos de proteção, sendo realizada a abertura gradativa dos mesmos. Foi instalada uma campânula a gás no centro do círculo, para aquecimento na primeira semana de vida. Foram dispostos alternadamente comedouros tipo bandeja e bebedouros infantis do tipo pressão (Figura 1). O período de criação dos frangos foi dividido em duas fases, sendo a primeira a pré-experimental (1 a 18 dias de idade) e a segunda, a experimental (19 a 21 dias).



Figura 1. Alojamento das aves na fase pré-experimental

As aves foram alimentadas de 1 a 18 dias de idade com ração para a fase inicial seguindo as recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2017). A ração e a água foram fornecidas à vontade durante todo período de criação. Aos 18 dias de idade as aves foram pesadas e selecionadas (n=252) as mais uniformes para distribuição nas baterias metálicas, do Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens do

Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde foi realizado o ensaio biológico.

Foram utilizadas 36 gaiolas metabólicas, com dimensão de 90 cm x 40 cm x 40 cm cada, contendo um bebedouro automático tipo *nipple* com copo e um comedouro do tipo calha (Figura 2).



Figura 2. Aves alojadas nas gaiolas de metabolismo para o ensaio biológico.

2.2 Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com seis dietas experimentais e seis repetições por tratamento com sete aves por unidade experimental (gaiola). Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade por meio de diferentes metodologias foram formuladas seis dietas experimentais (Tabela 1), sendo: três dietas formuladas com inclusão gradual de 4, 7 e 10% de farinha de peixe (FP) (dietas I, II e III respectivamente) para determinar a digestibilidade ileal verdadeira de Ca pelo método de regressão. A farinha de peixe serviu como única fonte de Ca nessas dietas. A dieta com 10% de inclusão de farinha de peixe também foi utilizada para determinar a digestibilidade de Ca pelo método direto. Duas dietas foram formuladas para determinar a digestibilidade de Ca da farinha de peixe pelo método de substituição (dietas IV e V), e uma dieta livre de Ca e P foi formulada para determinar as perdas endógenas de Ca. A dieta V foi formulada utilizando calcário e fosfato bicálcico como fontes de Ca e P, na dieta VI foi realizada a substituição destes dois ingredientes por FP, mantendo a mesma relação Ca:P calculada. O dióxido de titânio (0,3%) foi incorporado nas dietas como marcador indigestível.

Tabela 1. Composição percentual e analisada das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Dieta I ³	Dieta II ⁴	Dieta III ⁵	Dieta IV ⁶	Dieta V ⁷	Dieta Livre Ca e P ⁸
Amido	58,66	53,75	50,84	57,38	54,20	60,51
Açúcar	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Celulose	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Farinha de Peixe	4,00	7,00	10,00	---	4,74	---
Óleo de soja	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicalcico	---	---	---	2,40	1,20	---
Cloreto de Potássio	1,08	1,05	1,01	1,12	1,07	1,12
Bicarbonato de Sódio	0,70	0,64	0,59	0,81	0,72	0,81
Calcário	---	---	---	0,73	0,51	---
Dióxido de Titânio	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Suplemento Mineral ¹	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento Vitamínico ²	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
HCl Colina	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Nutrientes Calculados						
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.440	3.421	3.404	3.349	3.372	3.515
Proteína Bruta (%)	2,50	4,10	5,71	---	2,88	---
Cálcio (%)	0,32	0,57	0,81	0,88	0,88	---
Fósforo disponível (%)	0,18	0,31	0,44	0,42	0,42	---
Valores Analisados						
Matéria Seca (%)	91,39	90,90	90,42	90,42	91,26	91,41
Cálcio (%)	0,56	0,96	1,73	1,60	1,98	0,04
Fósforo (%)	0,19	0,29	0,48	0,41	0,64	0,01
Relação Ca:P	2,93	3,30	3,58	3,91	3,01	4,73

¹Ferro (min) 60 g/kg; cobre (min) 13 g/kg; manganês (min) 120 g/kg; zinco (min) 100 g/kg; iodo (min) 2.500 mg/kg; selênio (min) 500 mg/kg. ² Vitamina A (min) 7.500.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.500.000 UI/kg; vitamina E (min) 1.200 mg/kg; vitamina K3 (min) 1.200 mg/kg; tiamina (min) 1.500 mg/kg; riboflavina (min) 5.500 mg/kg; piridoxina (min) 2000 mg/kg; vitamina B12 (min) 12.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; panteonato de cálcio (min) 10 g/kg; biotina (min) 67 mg/kg. ³Dieta formulada com 4% de FP. ⁴Dieta formulada com 7% de FP. ⁵Dieta formulada com 10% de FP. ⁶Dieta formulada com calcário calcítico e fosfato bicálcico como fonte de Ca e P. ⁷Dieta formulada substituindo parte do calcário calcítico e fosfato bicálcico por FP mantendo a relação Ca:P. ⁸Dieta purificada livre de Ca e P.

As concentrações analisadas de Ca e P das dietas experimentais e os valores analisados de Ca e P do fosfato bicálcico utilizado neste experimento foram 21,89% e 17,43% respectivamente e o do calcário calcítico 31,58% de Ca. As concentrações de Ca de todas as dietas foram maiores que os valores calculados. Os valores analisados foram utilizados para determinar os coeficientes de digestibilidade do Ca da FP.

2.3 Coleta de Materiais para Análises

Aos 15 dias de idade, as aves foram pesadas individualmente e alocadas em 36 gaiolas (sete aves por gaiola) de acordo com o peso, de modo que o peso médio das aves por gaiola fosse semelhante. As dietas experimentais foram então distribuídas aleatoriamente sendo oferecidas *ad libitum* por três dias (19 até 21 dias de idade). Durante os três dias de fornecimento das dietas experimentais o total de ração consumida foi computado, assim como o peso das aves no início e final do período experimental para a determinação do ganho de peso.

Após pesagem, todas as aves de cada repetição foram insensibilizadas em atmosfera controlada (saturação de CO₂), com posterior sangria e abertura da cavidade abdominal para coleta do íleo, desde dois centímetros antes da junção íleo-cecocolica até o divertículo de Meckel, como descrito por Ravindran e Bryden (1999). O íleo foi então dividido em duas metades e a digesta foi coletada da metade final em direção à junção íleo-cecocolica (Figura 3). O conteúdo presente no segmento amostrado foi totalmente retirado por pressão externa com os dedos indicador e polegar.

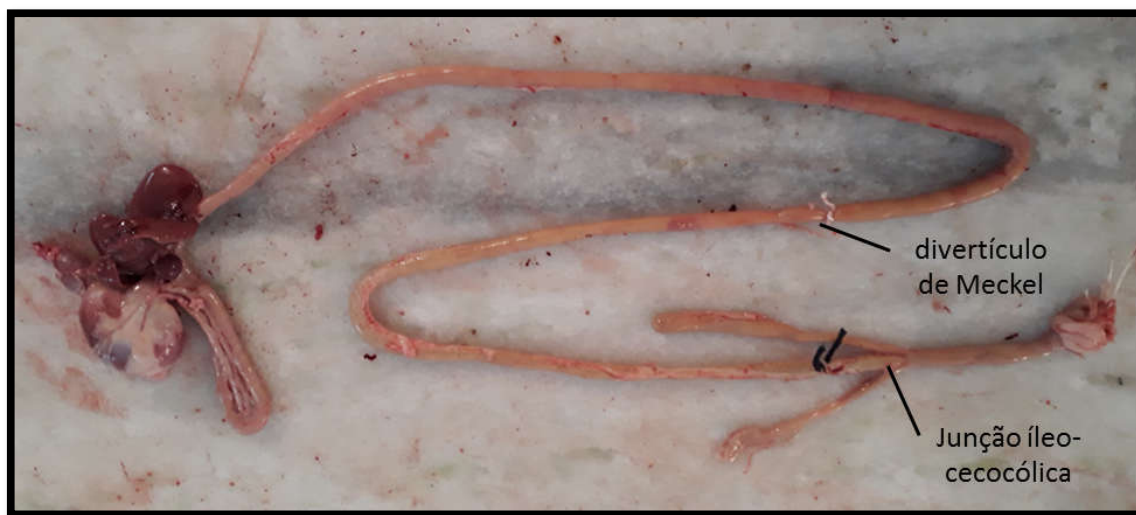


Figura 3. Trato digestório com identificação do íleo.

A digesta ileal de todas as aves (7 aves) de cada parcela experimental foi acondicionada em recipiente de plástico identificada por tratamento e repetição, e posteriormente mantida em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. As amostras após serem pré-secas foram moídas (peneira com malha de 1 mm) e armazenadas até as análises químicas.

2.4 Análises laboratoriais

As análises químicas das dietas e digesta ileal foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia da UFRRJ. Foram analisadas matéria seca (MS), cinzas (CZ), cálcio (Ca), fósforo (P) e o dióxido de titânio (TiO_2) nas amostras. A MS foi determinada usando o procedimento padrão (método 930.15; AOAC, 2005). A CZ foi determinada gravimetricamente pelo procedimento padrão da AOAC (método 942.05; AOAC, 2005). O Ca foi determinado por procedimento padrão da AOAC (método 968.08D; AOAC, 2005). O P e o TiO_2 foram determinados por espectrofotometria, pelo procedimento descrito por Detmann et al. (2012). A FP utilizada foi obtida de empresa comercial do Estado do Espírito Santo, posteriormente foi realizada análises bromatológicas e de granulométrica (Figura 4) seguindo metodologia descrita por Zanotto et al. (2016).



Figura 4. Determinação da granulometria da farinha de peixe.

2.5 Cálculos dos coeficientes de digestibilidade de cálcio

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente do Ca de cada unidade experimental foram calculados de acordo com o procedimento descrito por Dilger e Adeola (2006a) para a estimativa da digestibilidade, através dos seguintes cálculos:

$$CDIACa = 1 - \left[\left(\frac{\text{TiI}}{\text{TiD}} \right) * \left(\frac{\text{CaI}}{\text{CaD}} \right) \right]$$

Onde, CDIACa é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de Ca, TiI é a concentração de titânio na dieta, TiD é a concentração de titânio na digesta ileal, CaI é a concentração de Ca na digesta ileal e CaD é a concentração de Ca na dieta.

2.5.1 Método de regressão

Para determinação do coeficiente de digestibilidade pelo método de regressão (DILGER e ADEOLA, 2006a), primeiramente, os valores totais de Ca na digesta ileal, expressa como g/kg de ingestão de matéria seca (MSI), das dietas I, II e III, foram calculados pela seguinte equação.

$$Ca_{f-MSI} (g/kg) = Ca_{f-MSf} * \left(\frac{Ti_l}{Ti_f} \right)$$

Onde Ca_{f-MSI} e Ca_{f-MSf} representam as concentrações de Ca na digesta com base na MS ingerida e na MS excretada, respectivamente, e Ti_l e Ti_f representam a concentração de titânio presente na dieta e digesta, respectivamente.

Para gerar a regressão linear, os valores da concentração de Ca na digesta foram regredidas contra as concentrações de Ca, com uso da seguinte modelo estatístico:

$$Ca_{f-MSI} (g/kg) = (IIVCaI \times Ca_I) + ECaEI$$

Onde Ca_{f-MSI} representa a concentração de Ca na digesta com base na matéria seca ingerida (variável dependente), Ca_I representa a concentração de Ca na dieta com base na MS (variável independente), $IIVCa$ representa a indigestibilidade ileal verdadeira de Ca e $ECaEI$ representa as médias estimadas de Ca endógeno ileal com base na MS. Nesta equação, $IIVCa$ e $ECaEI$ são a inclinação e a interceptação, respectivamente, da regressão linear simples de Ca_{f-MSI} em Ca_I .

A indigestibilidade de Ca verdadeira é uma medida indireta da ineficiência em que o Ca é extraído pelas aves. A digestibilidade ileal verdadeira de Ca será calculada da seguinte forma:

$$CDIVCa = 1 - CIIVCa$$

Onde, $CDIVCa$ e $CIIVCa$ representam o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro e o coeficiente de indigestibilidade ileal verdadeiro de Ca, respectivamente.

2.5.2 Método direto

Para determinação do coeficiente de digestibilidade verdadeiro do cálcio pelo método direto, o coeficiente de digestibilidade aparente da dieta III foi corrigido para as perdas endógenas calculadas na dieta livre de Ca e P, a partir das seguintes equações propostas por Mutucumarana e Ravindran (2016):

$$PECa = Cadigesta \times \left(\frac{Tidieta}{Tidigesta} \right)$$

Onde, $PECa$ representa as perdas endógenas de Ca expressa em g/kg de MS ingerida; $Cadigesta$ é o conteúdo de Ca da digesta em g/kg MS; $Tidieta$ é o conteúdo de titânio na dieta em g/kgMS; e $Tidigesta$ é o conteúdo de titânio presente na digesta em g/kgMS.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do Ca do ingrediente será calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$CDIVCa = CDIACa + \left(\frac{PECa}{Cadieta} \right)$$

Onde, CDIVCa é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca; CDIACa é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do Ca da dieta III; PECa representa as perdas endógenas de Ca em g/kg MS ingerida; e Cadieta é o conteúdo de Ca da dieta IV em g/kg MS.

2.5.3 Método de substituição

Para determinação do coeficiente de digestibilidade verdadeiro do Ca pelo método de substituição, o coeficiente de digestibilidade aparente da dieta V e VI serão calculados como descrito anteriormente, assim como as perdas endógenas de Ca da dieta IV. De posse desses cálculos prévios, o coeficiente de digestibilidade verdadeiro, será calculado a partir da seguinte equação, descrita por Anwar et al. (2018):

$$A = \left[\frac{(T * Tp) - (B * Bp)}{Ap} \right]$$

Onde, A é o coeficiente de digestibilidade do Ca da FP; Ap é a proporção de Ca na dieta VI oriundo da FP; B é o coeficiente de digestibilidade do Ca da dieta V; Bp é a proporção de Ca na dieta VI oriundo da dieta V; T é o coeficiente de digestibilidade de Ca da dieta VI; e Tp é a soma de Ap+Bp.

2.6 Análise Estatística

As variáveis estudadas foram submetidas à análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS a 5% de probabilidade. Os coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeiro das dietas foram submetidos ao teste de comparação de médias por Tukey a 5% de significância. Dados obtidos das dietas I, II e III foram submetidos à análise de regressão linear para obtenção do coeficiente de digestibilidade da farinha de peixes pelo método de regressão. A significância das diferenças entre os coeficientes de digestibilidade verdadeira da farinha de peixes, determinados pelos métodos: direto, substituição e regressão; e foram comparados por médias e intervalos de confiança, conforme descrito por Steel e Torrie (1980).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As composições bromatológica e granulométrica (DGM) da farinha de peixe estão descritas na Tabela 2. De acordo com o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2017), a farinha de peixe é o produto obtido de cortes e/ou partes de peixes de várias espécies (cabeças, rabo, pele, vísceras, barbatanas,) não decomposto, com ou sem extração de óleo, tendo sido seco e moído e não deve conter mais do que 10% de umidade. Rostagno et al. (2017), descreveram que a FP com 54% de proteína bruta (PB), contém 5,75% de Ca e 2,99% de P. A concentração de PB, Ca e P da farinha de peixe utilizada nesse ensaio foram de 53,92; 9,08 e 4,43% respectivamente, valores de Ca e P superiores aos descritos por Rostagno et al. (2017). Essa variação pode ser atribuída a diferenças nas matérias-primas e na relação entre os tecidos ósseos e moles.

Tabela 2. Composição bromatológica e granulometria da farinha de peixe

Nutrientes	Farinha de Peixe
Matéria Seca (%)	92,32
Proteína Bruta (%)	53,92
Cinzas (%)	29,11
Cálcio (%)	9,08
Fósforo (%)	4,43
Relação Ca:P	1,83
DGM ¹ (µm)	247

¹DGM: diâmetro geométrico médio

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente e verdadeira do Ca das dietas experimentais estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Coeficientes de digestibilidade ileal aparente e verdadeiro do Ca das dietas experimentais.

Dietas ¹	Coeficientes de digestibilidade ileal aparente	Coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro
I	0,71 ^a	0,75 ^a
II	0,70 ^a	0,73 ^a
III	0,67 ^{ab}	0,69 ^{ab}
IV	0,59 ^b	0,61 ^b
V	0,71 ^a	0,73 ^a
CV (%) ²	9,50	9,35
P-valor	0,0192	0,0048

^{a, b} Valores com um sobrescrito diferente dentro de uma coluna diferem significativamente (P < 0,05).

¹As dietas I, II e III foram utilizadas para determinar a digestibilidade do Ca da FP pelo método de regressão, a dieta III para o método direto e as dietas IV e V para o método de substituição.

²CV: Coeficiente de variação

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente da dieta variaram de 0,59 a 0,71. As perdas endógenas de Ca, medidas após a alimentação da dieta isenta de Ca e P, foram de 537 mg/kg de MS ingerida e utilizadas para o cálculo da digestibilidade verdadeira. A digestibilidade verdadeira de Ca nas dietas experimentais variou de 0,61 a 0,75. Foram observadas diferenças significativas (P < 0,05) entre a digestibilidade nas dietas experimentais,

onde a dieta IV apresentou o menor coeficiente de digestibilidade ileal aparente e verdadeiro quando comparado com as demais dietas.

3.1 Método de regressão

As dietas I, II e III foram utilizadas para a determinação da digestibilidade ileal verdadeira da farinha de peixe pelo método de regressão.

A figura 5 representa o efeito da concentração de Ca na digesta (g/kg MSI) regredida com a concentração de Ca na dieta (g/kg de MS). Verificou-se resposta linear crescente ($y=0,3873x - 0,7311$, $R^2 = 0,86$) entre a quantidade de Ca na digesta e a ingestão dietética de Ca, o que é um pré-requisito para a aplicação do método de regressão.

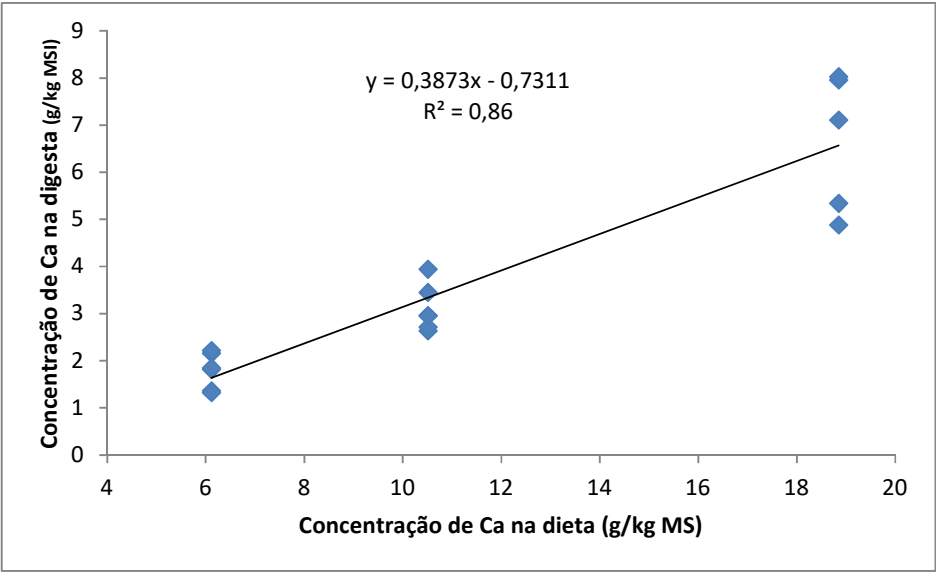


Figura 5. Concentração de cálcio na digesta (g/kg MSI) em função da concentração de cálcio na dieta (g/kg MS) na farinha de peixe.

O coeficiente de digestibilidade verdadeiro da farinha de peixe pelo método de regressão foi determinado como sendo 0,61 (Tabela 4). As perdas endógenas ileal de Ca determinadas com o intercepto da linha de regressão foram de -0,73 g/ kg de MSI. Uma das premissas do método de regressão é a obtenção de relações lineares consistentes entre a quantidade excretada e aquela ingerida pelos animais (FAN et al. 2001).

Tabela 4. Relação linear entre as concentrações de cálcio na digesta (g/kg de MSI) e as concentrações de cálcio na dieta (g/kg MS) da farinha de peixe.

Equação de regressão	DP inclinação *	DP Intercepto *	R ²	PE Ca (g/kg MSI) **	Coeficiente de digestibilidade ***
y = 0.3873x - 0.7311	0,04	0,51	0,86	-0,7311	0,613

*Desvio padrão dos componentes de regressão da inclinação e do intercepto. **Perda endógena de cálcio (g/kg MSI). ***Calculado como (1 - verdadeiro coeficiente de indigestibilidade de Ca).

No método de regressão, o intercepto representa as perdas endógenas. A perda endógena de Ca negativa determinada, pode questionar a validade do método de regressão. As perdas endógenas negativas não são fisiologicamente possíveis e refletem a limitação inerente

do método de regressão, em que o primeiro ou último ponto de dados poderia alterar acentuadamente o intercepto e a inclinação (ANWAR et al., 2018). No entanto, o método de regressão tem sido usado para a determinação da digestibilidade dos aminoácidos verdadeiros em vários estudos (SHORT et al., 1999; RODEHUTSCORD et al., 2004) e nenhuma estimativa negativa de perdas endógenas de aminoácidos foi relatada. No caso do Ca, Anwar et al. (2018) ao avaliar a digestibilidade ileal do Ca do fosfato bicálcico pelo método de regressão e também observaram perda endógena negativa, descrevem que isso pode ter sido causada pelas altas concentrações de P, razão de Ca:P ou ambos, o que poderia alterar a inclinação e o intercepto da linha de regressão. Já em outro estudo (Anwar et al., 2015), observaram perdas endógenas positivas de Ca quando o método de regressão foi utilizado para a mensuração da digestibilidade da Ca em farinhas de carne e ossos. Mas perdas endógenas negativas de P foram relatadas em vários estudos usando o método de regressão (LIU et al., 2013; MUTUCUMARANA et al., 2014a, 2014b, 2015).

3.2 Método direto

O coeficiente de digestibilidade verdadeiro de Ca da farinha de peixe, utilizando o método direto, foi determinado em 0,69; valor obtido com a dieta III (Tabela 3). Anwar et al. (2018), ao avaliar a digestibilidade ileal do Ca em diferentes ingredientes pelo método de direto obtiveram valor de 0,24, para o coeficiente de digestibilidade verdadeiro, sendo que os autores descreveram que esse valor é considerado baixo, o que difere do valor encontrado nesse trabalho, pois a digestibilidade pode ser influenciada por características físico-químicas da farinha de peixe, ou pelos procedimentos experimentais e por fatores intrínsecos ao animal como genótipo, sexo, idade e peso.

3.3 Método de substituição

A digestibilidade verdadeira de Ca da farinha de peixe determinada pelo método de substituição foi de 0,76; valor obtido a partir da equação descrita por Anwar et al. (2018), ao avaliarem a digestibilidade verdadeira de Ca de fosfato bicálcico. Atualmente, não há dados publicados disponíveis sobre a digestibilidade ileal da Ca da farinha de peixe utilizando a metodologia de substituição para frangos de corte.

Diferenças no coeficiente de digestibilidade da farinha de peixe determinados pelas três metodologias foram comparadas usando as médias e intervalo de confiança (Figura 6). A digestibilidade determinada pelo método de substituição foi maior ($P < 0,05$) em relação ao método de regressão.

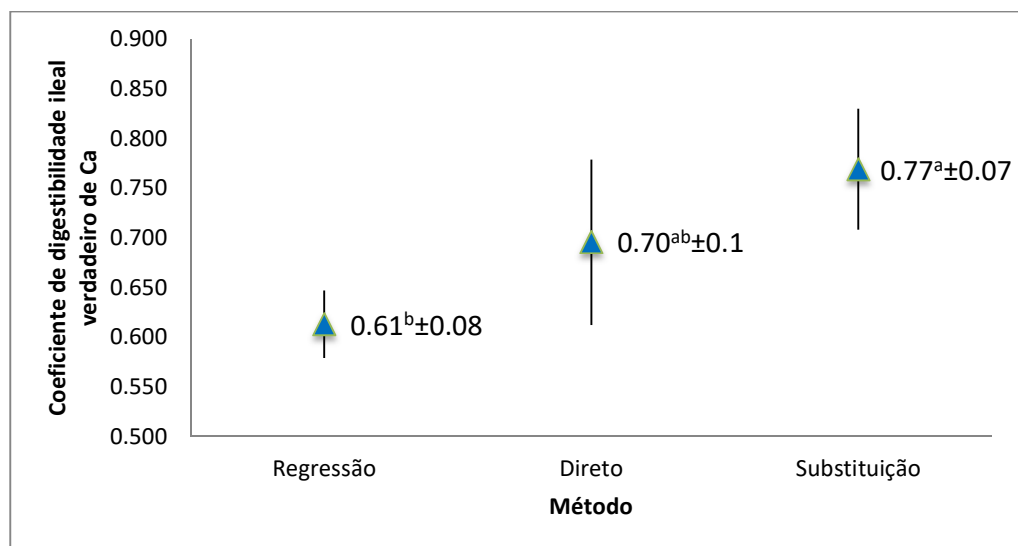


Figura 6. Coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do cálcio (média ± DP) da farinha de peixe, em função dos métodos de regressão, direto e substituição.

^{a, b}Valores com diferentes sobrescritos diferem significativamente ($P < 0,05$).

Os métodos: direto, regressão e de substituição, foram utilizados para a determinação da digestibilidade ileal de Ca em fosfato bicálcico (Anwar et al., 2018), e observaram que o método direto foi o que apresentou a melhor digestibilidade de Ca. Os métodos de regressão (Anwar et al., 2015) e direto (Anwar et al., 2016) foram usados para determinar a digestibilidade de Ca em diferentes farinhas de carne e ossos para frangos de corte e foi observado que ambos os métodos apresentaram coeficientes de digestibilidade semelhantes. Tal fato foi comprovado nesse estudo, pois não houve diferença ($P > 0,05$) no coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca da FP entre os métodos de regressão e direto.

As perdas endógenas negativas determinadas no presente estudo podem, ter contribuído pela menor digestibilidade verdadeira do Ca da FP pelo método de regressão em relação ao método de substituição. Perdas endógenas negativas de P foram relatadas como associadas à menor digestibilidade de ingredientes de ração (MUTUCUMARANA et al., 2014a, 2014b, 2015).

4 CONCLUSÕES

A digestibilidade verdadeira de cálcio da farinha de peixe, determinada pelo método de regressão foi a mais baixa, devido provavelmente à perda endógena negativa. Os métodos de substituição e o método direto mostraram-se mais eficientes ao se avaliar a digestibilidade verdadeira de cálcio da farinha de peixe.

Pesquisas futuras são necessárias para se obter os valores de cálcio digestível em ingredientes de origem animal, para assim formular dietas com os valores de cálcio digestível e não cálcio total como vem sendo feito até então.

CAPÍTULO II

DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE CÁLCIO DIGESTÍVEL DE DIFERENTES FARINHAS DE CARNE E OSSOS EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Objetivou-se determinar a digestibilidade ileal verdadeira do cálcio (Ca) em farinhas de carne e ossos (FCO) para frangos de corte utilizando o método direto. Três amostras de FCO foram obtidas e analisadas quanto à composição bromatológica. As concentrações de Ca das FCO1, FCO2 e FCO3 foram determinadas como 11,15; 13,19 e 12,81% respectivamente. Quatro dietas experimentais, incluindo três dietas com inclusão de cada FCO e uma dieta isenta de Ca e de fósforo (P), foram formuladas. As farinhas de carne e ossos foram utilizadas como única fonte de Ca e P nas dietas. Dióxido de titânio (0.5%) foi incorporado em todas as dietas como um marcador indigestível. Cada dieta experimental foi distribuída aleatoriamente em nove gaiolas (sete aves por gaiola) e oferecidas de 19 a 21 dias de vida das aves. A digestibilidade ileal aparente do foi calculada pelo método do indicador e corrigida para a perda endógena ileal de Ca para determinar a digestibilidade ileal verdadeira do Ca. A perda endógena ileal de Ca foram determinadas como 47 mg/kg de ingestão de matéria seca. Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de Ca ileal das FCO1, FCO2 e FCO3 foram determinados como sendo 0,621; 0,539 e 0,818 respectivamente. A digestibilidade verdadeira de Ca da FCO3 foi maior ($P < 0,05$) do que a das FCO1 e FCO2. A digestibilidade verdadeira de Ca da FCO1 foi semelhante ($P > 0,05$) a FCO2. Estes resultados demonstraram que o método direto pode ser usado para a determinação da digestibilidade verdadeira de Ca em ingredientes de origem animal.

Palavras-chave: Digestibilidade do cálcio, Dióxido de titânio, Método direto, Perda endógena.

ABSTRACT

The objective was to determine the true ileal digestibility of calcium (Ca) in meat and bone meal (MBM) for broilers using the direct method. Three samples of MBM were obtained and analyzed for chemical composition. The Ca concentrations of MBM1, MBM2 and MBM3 were determined to be 11.15; 13.19 and 12.81% respectively. Four experimental diets, including three diets with the inclusion of each MBM and a diet free of Ca and phosphorus (P), were formulated. Meat and bone meal was used as the only source of Ca and P in the diets. Titanium dioxide (0.5%) was incorporated into all diets as an indigestible marker. Experimental diet was randomly distributed in nine cages (seven birds per cage) and offered from 19 to 21 days of life. The apparent ileal digestibility of was calculated by the indicator method and corrected for the ileal endogenous loss of Ca to determine the true ileal digestibility of Ca. The endogenous ileal loss of Ca was determined as 47 mg / kg of dry matter intake. The coefficients of true ileal digestibility of Ca ileal of MBM1, MBM2 and MBM3 were determined to be 0.621; 0.539 and 0.818 respectively. The true Ca digestibility of MBM3 was higher ($P < 0.05$) than that of MBM1 and MBM2. The true Ca digestibility of MBM1 was similar ($P > 0.05$) to MBM2. These results demonstrated that the direct method can be used to determine the true digestibility of Ca in animal by-products meal.

Palavras-chave: Calcium digestibility, Direct method, Endogenous loss, Titanium dioxide.

1 INTRODUÇÃO

A farinha de carne e ossos (FCO) constitui importante fonte de cálcio (Ca) orgânico em rações de frangos de corte e com média de 11% de Ca (ROSTAGNO et al., 2017). No entanto, grandes variações são relatadas no conteúdo de Ca de FCO de diferentes fontes dependendo da sua origem e da proporção de carne e ossos que possa vir a conter. As variações no conteúdo de Ca da FCO podem causar variações no conteúdo de Ca digestível deste ingrediente. Estudo recente de Anwar et al. (2016) relatou que a digestibilidade ileal verdadeira de Ca para frangos de corte variou de 0,45 a 0,56 em diferentes FCO.

Atualmente não existe um método padrão para a determinação da digestibilidade do Ca em frangos de corte. Três métodos diferentes, direto, substituição e regressão, têm sido testados em experimentos de digestibilidade de Ca.

Em estudo anterior (Capítulo I), as três metodologias propostas foram testadas e os métodos direto e de substituição foram os que apresentaram maior eficiência na digestibilidade de ingrediente de origem animal.

Os coeficientes de digestibilidade aparente determinados pelo método direto devem ser corrigidos para as perdas endógenas de Ca para determinar os verdadeiros coeficientes de digestibilidade de Ca. Há poucos dados publicados sobre as perdas endógenas de Ca em frangos de corte. O objetivo com esse estudo foi determinar a digestibilidade ileal verdadeira do Ca de três amostras de FCO em frangos de corte utilizando o método direto. Perdas endógenas ileal de Ca também foram determinadas após a alimentação de uma dieta isenta de Ca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética para uso de animais (CEUA/IZ) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) pelo processo nº 23083.021049/2018-66, e esteve de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e com a legislação vigente.

2.1 Animais, Instalações e Manejo

Foram adquiridos inicialmente 500 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb 500® criados até os 14 dias de idade em galpão convencional com cama de maravalha. Os pintos foram vacinados contra Marek, Bouda Aviária e Gumboro no incubatório, e aos 10 dias de idade, vacinados contra Newcastle.

Os pintos foram mantidos até os 14 dias de idade em círculos de proteção, sendo realizada a abertura gradativa dos mesmos. Foi instalada uma campânula a gás no centro do círculo, para aquecimento na primeira semana de vida. Foram dispostos alternadamente comedouros tipo bandeja e bebedouros infantis do tipo pressão. O período de criação dos frangos foi dividido em duas fases, sendo a primeira a pré-experimental (1 a 18 dias de idade) e a segunda, a experimental (19 a 21 dias).

As aves foram alimentadas de 1 a 18 dias de idade com ração para a fase inicial seguindo as recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2017). A ração e a água foram fornecidas à vontade durante todo período de criação. Aos 18 dias de idade as aves foram pesadas e selecionadas (n=252) as mais uniformes para distribuição nas baterias metálicas, do Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde foi realizado o ensaio biológico.

Foram utilizadas 36 gaiolas metabólicas, com dimensão de 90 cm x 40 cm x 40 cm cada, contendo um bebedouro automático tipo *nipple* com copo e um comedouro do tipo calha.

2.2 Delineamento Experimental

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (dietas experimentais), com nove repetições por tratamento e sete aves por unidade experimental (gaiola). Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal pelo método direto foram formuladas quatro dietas experimentais semi-purificadas, sendo uma dieta isenta de Ca e P e três dietas contendo cada uma das farinhas de carne e ossos avaliadas (Tabela 5). As FCO serviram como a única fonte de Ca e P nas rações experimentais. O nível de inclusão de cada farinha foi estabelecido para se obter 4g P/kg de ração. O dióxido de titânio foi incorporado em todas as rações experimentais em 0,5%, tendo a função de indicador indigestível.

Tabela 5. Composição percentual e analisada das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	FCO1	FCO2	FCO3	Dieta Livre Ca e P ⁴
Amido	54,892	55,082	55,367	60,550
Açúcar	30,000	30,000	30,000	30,000
Celulose	5,000	5,000	5,000	5,000
Farinha de carne e ossos	5,814	5,618	5,326	---
Óleo de soja	2,000	2,000	2,000	2,000
Carbonato de Potássio	1,002	1,004	1,007	1,059
Bicarbonato de Sódio	0,290	0,292	0,293	0,326
Sal	0,247	0,249	0,252	0,600
Dióxido de Titânio	0,500	0,500	0,500	0,500
Suplemento Mineral ¹	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplemento Vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100
HCl Colina	0,055	0,055	0,055	0,055
Nutrientes Calculados				
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.434	3.436	3.440	
Proteína Bruta (%)	2,74	2,70	2,58	---
Cálcio (%) ³	0,66	0,64	0,60	---
Fósforo disponível (%) ³	0,40	0,40	0,40	---
Valores Analisados				
Matéria Seca (%)	91,26	91,38	90,69	91,28
Cálcio (%)	0,648	0,741	0,682	0,106
Fósforo (%)	0,439	0,418	0,406	0,013
Relação Ca:P	1,48	1,78	1,68	8,15

¹ Ferro (min) 60 g/kg; cobre (min) 13 g/kg; manganês (min) 120 g/kg; zinco (min) 100 g/kg; iodo (min) 2.500 mg/kg; selênio (min) 500 mg/kg. ² Vitamina A (min) 7.500.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.500.000 UI/kg; vitamina E (min) 1.200 mg/kg; vitamina K3 (min) 1.200 mg/kg; tiamina (min) 1.500 mg/kg; riboflavina (min) 5.500 mg/kg; piridoxina (min) 2000 mg/kg; vitamina B12 (min) 12.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; panteonato de cálcio (min) 10 g/kg; biotina (min) 67 mg/kg. ³Cálcio e fósforo calculados com base em valores analisados das amostras de farinha de carne e ossos. ⁴Dieta purificada livre de cálcio e fósforo.

2.3 Coleta de Materiais para Análises

Aos 15 dias de idade, as aves foram pesadas individualmente e alocadas em 36 gaiolas (sete aves por gaiola) de acordo com o peso, de modo que o peso médio das aves por gaiola fosse semelhante. As dietas experimentais foram então distribuídas aleatoriamente sendo oferecidas *ad libitum* por três dias (19 a 21 dias de idade). Durante os três dias de fornecimento das dietas experimentais o total de ração consumida foi computado, assim como o peso das aves no início e final do período experimental para a determinação do ganho de peso.

Após pesagem, todas as aves de cada repetição foram insensibilizadas em atmosfera controlada (saturação de CO₂), com posterior sangria e abertura da cavidade abdominal para coleta do íleo, desde dois centímetros antes da junção íleo-cecocolica até o divertículo de Meckel como descrito por Ravindran e Bryden (1999). O íleo foi então dividido em duas metades e a digesta foi coletada da metade inferior em direção à junção íleo-cecocolica. O conteúdo presente no segmento amostrado foi totalmente retirado por pressionamento com o dedo indicador e o polegar.

A digesta ileal de todas as aves (7 aves) de cada parcela experimental foi acondicionada em recipiente de plástico identificada por tratamento e repetição, e

posteriormente mantida em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. As amostras após serem pré-secas foram moídas (peneira com malha de 1 mm) e armazenadas até as análises químicas.

2.4 Análises laboratoriais

As análises químicas das dietas e digesta ileal foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia da UFRRJ. Foram analisadas MS, CZ, Ca, P e o TiO_2 nas amostras. A MS foi determinada usando o procedimento padrão (método 930.15; AOAC, 2005). A CZ foi determinada gravimetricamente pelo procedimento padrão da AOAC (método 942.05; AOAC, 2005). O Ca foi determinado por procedimento padrão da AOAC (método 968.08D; AOAC, 2005). O P e o TiO_2 foram determinados por espectrofotometria, pelo procedimento descrito por Detmann et al. (2012). As farinhas avaliadas foram adquiridas em farinhas de processamento comercial do Estado do Rio de Janeiro, posteriormente foi realizada análises bromatológicas e de granulométrica seguindo metodologia descrita por Zanotto et al. (2016).

2.5 Cálculos dos coeficientes de digestibilidade de cálcio

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente do Ca de cada unidade experimental foram calculados de acordo com o procedimento descrito por Dilger e Adeola (2006) para a estimativa da digestibilidade, através dos seguintes cálculos:

$$CDIACa = 1 - \left[\left(\frac{\text{TiI}}{\text{Tif}} \right) * \left(\frac{\text{Caf}}{\text{Cal}} \right) \right]$$

Onde, CDIACa é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de Ca, TiI é a concentração de titânio na dieta, Tif é a concentração de titânio na digesta ileal, Caf é a concentração de Ca na digesta ileal e Cal é a concentração de Ca na dieta.

Para determinação do coeficiente de digestibilidade verdadeiro do cálcio pelo método direto, o coeficiente de digestibilidade aparente de cada dieta foi corrigido para as perdas endógenas calculadas na dieta livre de Ca e P, a partir das seguintes equações propostas por Mutucumarana e Ravindran (2016):

$$PECa = \text{Cadigesta} \times \left(\frac{\text{Tidieta}}{\text{Tidigesta}} \right)$$

Onde, PECa representa as perdas endógenas de Ca expressa em g/kg de MS ingerida; Cadigesta é o conteúdo de Ca da digesta em g/kg MS; Tidieta é o conteúdo de titânio na dieta em g/kg MS; e Tidigesta é o conteúdo de titânio presente na digesta em g/kg MS.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do Ca do ingrediente será calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$CDIVCa = CDIACa + \left(\frac{\text{PECa}}{\text{Cadieta}} \right)$$

Onde, CDIVCa é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca; CDIACa é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do Ca de cada dieta; PECa representa as perdas endógenas de Ca em g/kg MS ingerida; e Cadieta é o conteúdo de Ca da dieta em g/kg MS.

2.6 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS a 5% de probabilidade. Os coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeiro das farinhas de carne foram submetidos ao teste de comparação de médias por Tukey a 5% de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As composições bromatológica e granulométrica (DGM) das farinhas de carne e ossos encontram-se na Tabela 6. De acordo com o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2017), a farinha de carne e ossos é o produto obtido a partir de ossos e tecidos, após desossa completa da carcaça de bovinos, picados, cozidos, prensados para extração de gordura e moídos. Não deve conter sangue, cascos, unhas, chifres, pelos e conteúdo estomacal a não serem os obtidos involuntariamente dentro dos princípios de boas práticas de fabricação. Rostagno et al. (2017), descreveram que a farinha de carne e ossos com 43% de proteína bruta, contém em média 11,3% de cálcio e 6,20% de fósforo.

Tabela 6. Composição bromatológica e granulometria da farinha de carne e ossos.

Nutrientes	FCO1	FCO2	FCO3
Matéria Seca (%)	92,16	95,37	95,49
Proteína Bruta (%)	41,50	42,20	40,05
Cinzas (%)	39,91	42,52	44,33
Cálcio (%)	11,15	13,19	12,81
Fósforo (%)	6,98	7,22	7,62
Relação Ca:P	1,60	1,83	1,68
DGM ¹ (µm)	561	603	579
DPG ² (%)	1,94	1,59	1,61

FCO: Farinha de Carne e Ossos. ¹DGM: diâmetro geométrico médio. ²Desvio padrão geométrico.

As concentrações analisadas de Ca e P variaram entre 11,15 a 13,19% e 6,98 a 7,62%, respectivamente. As concentrações de Ca de todas as dietas foram maiores que os valores calculados. As concentrações de proteína bruta das amostras usadas neste estudo estavam um pouco abaixo do indicado por Rostagno et al. (2017), porém as concentrações de Ca e P estavam um pouco acima do indicado pelos mesmos autores. Essa variação pode ser atribuída a diferenças nas matérias-primas e na relação entre os tecidos ósseos e moles. Os valores analisados foram utilizados para determinar os coeficientes de digestibilidade do Ca das farinhas de carne e ossos.

Os diâmetros médios geométricos (DGM) das FCO1, FCO2 e FCO3 foram determinados como 561, 603 e 579 µm, respectivamente. Os correspondentes desvios padrão geométricos foram de 1,94; 1,59 e 1,61 respectivamente. Anwar et al. (2016), ao avaliarem o DGM de quatro farinha de carne e ossos, observaram DGM médio de 786 µm, um pouco acima dos encontrados neste estudo. Essa diferença pode se dar pelo tipo de peneira e o tipo de moinho utilizado no processo de fabricação das farinhas.

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de Ca das FCO1, FCO2 e FCO3 foram determinados como sendo 0,611; 0,530 e 0,804 respectivamente (Tabela 7). Anwar et al. (2016) também descreveram grandes variações, com coeficientes de digestibilidade ileal aparente do Ca variando entre 0,404 e 0,552 em quatro fontes de FCO. De modo geral, esses resultados não validaram a hipótese de que o Ca presente em FCO é altamente biodisponível.

Tabela 7. Coeficientes de digestibilidade ileal aparente e verdadeiro do Ca das dietas experimentais.

	Coeficientes de digestibilidade ileal aparente	Coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro ²
FCO 1	0,611 ^b	0,621 ^b
FCO 2	0,530 ^b	0,539 ^b
FCO 3	0,804 ^a	0,818 ^a
CV (%) ¹	12,57	12,48
P-valor	<0,0001	<0,0001

^{a, b} Valores com um sobrescrito diferente dentro de uma coluna diferem significativamente entre si (P <0,05).

¹CV (%): Coeficiente de variação. ²Corrigido pelas perdas endógenas ileal de Ca (47 mg/kg de ingestão de matéria seca), determinado após a alimentação de uma dieta isenta de Ca e P.

As perdas endógenas ileal de Ca (média $\pm$ DP; n = 9) foram determinadas como 47 ± 18 mg/kg de MS ingerida em frangos de corte alimentados com dieta isenta de Ca e P. Este valor foi utilizado para calcular a digestibilidade verdadeira de Ca coeficientes. Anwar et al. (2016) ao avaliar a digestibilidade de cálcio de diferentes farinhas de carne e ossos, também avaliaram a perda endógena de frangos de corte e encontraram perdas endógenas ileal de Ca de 86 mg/kg de MS ingerida, valor bem acima ao encontrado nesse estudo. Pode-se observar que essas estimativas de fluxo endógeno são insignificantes no contexto do Ca não digerido na digesta ileal, resultando em diferenças inferiores a 0,02 entre os coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeira, o que corrobora com os resultados de Anwar et al. (2016).

A duração da dieta experimental para medir a digestibilidade da Ca é crítica, pois o Ca no plasma é fortemente regulado e as dietas deficientes em Ca e P podem influenciar o mecanismo de homeostase do Ca e podem afetar a estimativa do conteúdo de Ca digestível do ingrediente em teste (PROSZKOWIEC-WLARGEZ et al., 2013). No presente trabalho, esta questão foi abordada usando dietas experimentais que foram formuladas para conter as concentrações dietéticas de Ca e P recomendadas para frangos de corte e alimentadas por três dias. O mesmo período experimental foi previamente utilizado por Anwar et al. (2016) para determinação da digestibilidade de Ca e por Mutucumarana et al. (2015) para determinação da digestibilidade de P.

Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de Ca das FCO1, FCO2 e FCO3 foram de 0,621; 0,539 e 0,818 respectivamente (Tabela 7). A digestibilidade verdadeira de Ca da FCO3 foi maior (P <0,05) do que a das FCO1 e FCO2. A digestibilidade verdadeira de Ca da FCO1 foi semelhante (P > 0,05) a FCO2.

Os fatores responsáveis pela variabilidade observada entre as amostras de FCO não são claros. No entanto, a concentração de cinzas e Ca (TRAYLOR et al., 2005; SULABO e STEIN, 2013) e a distribuição de tamanho de partícula (BURNELL et al., 1989) da FCO influenciaram a utilização de Ca e P em suínos. O coeficiente de digestibilidade aparente do Ca em FCO para suínos tem sido correlacionado negativamente com a relação osso:tecido mole e com as concentrações de cinzas, Ca e P (SULABO e STEIN, 2013).

O tamanho médio de partícula (DGM) das amostras de FCO neste estudo variou de 561 a 603 μ m. Não há dados publicados sobre o efeito do tamanho de partícula de FCO na utilização de Ca em frangos de corte. Em suínos, foi relatado que o P de partículas ósseas grandes é absorvido com menos eficiência do que o dos ossos finamente moídos (BURNELL et al., 1989).

As diferenças observadas na digestibilidade das FCO não podem ser explicadas com base nas variações no DGM, já que o DGM da FCO3 apresentou o valor intermediário das três amostras utilizadas, e sua digestibilidade foi a maior. O mesmo foi observado por Anwar et al. (2016), onde o DGM não interferiu na variação da digestibilidade de Ca das diferentes FCO avaliadas.

Anwar et al. (2015), avaliaram a digestibilidade verdadeira de Ca de três amostras de FCO pelo método de regressão. As estimativas de digestibilidade determinadas pelo método de regressão são automaticamente corrigidas para perdas endógenas e representam os valores de digestibilidade verdadeira, enquanto aquelas determinadas pelo método direto são valores aparentes e precisam ser corrigidos para perdas endógenas. A vantagem do método direto é que ele é menos trabalhoso, menos dispendioso e simples em comparação com o método de regressão, em parte porque menos dietas e aves são necessárias.

4 CONCLUSÕES

Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca variaram entre 0,539 e 0,818, indicando a indisponibilidade do Ca presente na farinha de carne e ossos.

CAPÍTULO III

DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE CÁLCIO DIGESTÍVEL DE DIFERENTES FARINHAS DE VÍSCERAS DE AVES EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Objetivou-se determinar a digestibilidade ileal verdadeiro do cálcio (Ca) em farinhas de vísceras (FV) para frangos de corte utilizando o método direto. Três amostras de FV foram obtidas e analisadas quanto à composição de nutrientes. As concentrações de Ca das FV1, FV2 e FV3 foram determinadas como 3.51, 2.62 e 3.39% respectivamente. Três dietas experimentais com inclusão de cada FV foram formuladas. As farinhas de vísceras foram utilizadas como única fonte de Ca e P nas dietas. Dióxido de titânio (0.5%) foi incorporado em todas as dietas como um marcador indigestível. Cada dieta experimental foi distribuída aleatoriamente em nove gaiolas (sete aves por gaiola) e oferecidas de 19 a 21 dias de vida das aves. A digestibilidade ileal aparente do Ca foi calculada pelo método de indicador e corrigida para as perdas endógena ileal de Ca para determinar a digestibilidade ileal verdadeira do Ca. A perda endógena ileal de Ca utilizada foi determinada anteriormente como 47 mg/kg de ingestão de matéria seca. Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de Ca ileal das FV1, FV2 e FV3 foram determinados como sendo 0.944, 0.867 e 0.913 respectivamente. A digestibilidade ileal verdadeira de Ca das farinhas avaliadas foi semelhante ($P > 0,05$) não havendo diferença entre elas. Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca não houve muita variação nas farinhas de vísceras avaliadas, indicando que o cálcio desse ingrediente não é totalmente disponível, porém apresenta uma digestibilidade considerada alta.

Palavras-chave: Digestibilidade do cálcio, Dióxido de titânio, Método direto, Perda endógena.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the true ileal digestibility of calcium (Ca) in poultry by-product meal (PBP) for broilers using the direct method. Three PBP samples were obtained and analyzed for nutrient composition. The Ca concentrations of PBP1, PBP2 and PBP3 were determined to be 3.51, 2.62 and 3.39% respectively. Three experimental diets with inclusion of each BPB were formulated. Poultry by-product meal were used as the only source of Ca and P in the diets. Titanium dioxide (0.5%) was incorporated into all diets as an indigestible marker. Experimental diet was randomly distributed in nine cages (seven birds per cage) and offered from 19 to 21 days of life. The apparent ileal digestibility of was calculated by the indicator method and corrected for the ileal endogenous losses of Ca to determine the true ileal digestibility of Ca. The endogenous ileal loss of Ca used was previously determined as 47 mg / kg of dry matter intake. The coefficients of true ileal digestibility of Ca ileal of PBP1, PBP2 and PBP3 were determined to be 0.944, 0.867 and 0.913 respectively. The true ileal digestibility of Ca of the evaluated BPB was similar ($P > 0.05$) with no difference between them. The coefficients of true ileal digestibility of Ca there was not much variation in the evaluated poultry by-product meal, indicating that the calcium in this ingredient is not fully available, but it has a digestibility considered high.

Palavras-chave: Calcium digestibility, Direct method, Endogenous loss, Titanium dioxide.

1 INTRODUÇÃO

A busca pela utilização de alimentos alternativos e de subprodutos da indústria é uma prática economicamente interessante para a produção animal. Entretanto, para a formulação de rações viáveis é de suma importância o correto conhecimento de seu valor nutricional, sendo assim importante a determinação de sua composição química. Os valores obtidos em relação à composição química dos alimentos disponíveis no Brasil têm grande variação quando se trata de subprodutos. Esta variação pode ocorrer por diversos fatores no processamento dos subprodutos disponíveis para a utilização na indústria de rações avícolas.

A inclusão de alimentos alternativos nas dietas para frangos de corte consiste numa prática que visa não apenas reduzir custos, mas também o aproveitamento de matéria prima considerada como resíduo, e produzidas em grande escala. No Brasil, existe uma diversidade enorme de alimentos que precisam ser melhores estudados, principalmente aqueles de origem animal proveniente de subprodutos.

Em seu processamento a farinhas de vísceras (FV) pode sofrer variações em sua composição nutricional devido às formas de processamento e ao material incluso na sua fabricação. A FV é uma fonte importante de proteína bruta e extrato etéreo, e devido ao material incluso em sua fabricação como, por exemplo, carcaças de frangos, quando são condenadas na linha de abate, esse ingrediente, pode ser rico em minerais como cálcio (Ca) e fósforo (P). O que pode ser interessante no ponto de vista nutricional.

Atualmente não existe um método padrão para a determinação da digestibilidade do Ca em frangos de corte. Três métodos diferentes, direto, substituição e regressão, têm sido testados em experimentos de digestibilidade de Ca.

Em estudo anterior (Capítulo I), as três metodologias propostas foram testadas e os métodos direto e de substituição foram os que apresentaram maior eficiência na digestibilidade de ingrediente de origem animal.

Os coeficientes de digestibilidade aparente determinados pelo método direto devem ser corrigidos para as perdas endógenas de Ca para determinar os verdadeiros coeficientes de digestibilidade de Ca. O objetivo com esse estudo foi determinar a digestibilidade ileal verdadeira do Ca de três amostras de farinhas de vísceras em frangos de corte utilizando o método direto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética para uso de animais (CEUA/IZ) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) pelo processo nº 23083.008228/2018-16, e esteve de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e com a legislação vigente.

2.1 Animais, Instalações e Manejo

Foram adquiridos inicialmente 400 pintos de corte, machos, da linhagem Cobb 500® criados até os 14 dias de idade em galpão convencional com cama de maravalha. Os pintos foram vacinados contra Marek, Bouda Aviária e Gumboro no incubatório, e aos 10 dias de idade, vacinados contra Newcastle.

Os pintos foram mantidos até os 14 dias de idade em círculos de proteção, sendo realizada a abertura gradativa dos mesmos. Foi instalada uma campânula a gás no centro do círculo, para aquecimento na primeira semana de vida. Foram dispostos alternadamente comedouros tipo bandeja e bebedouros infantis do tipo pressão. O período de criação dos frangos foi dividido em duas fases, sendo a primeira a pré-experimental (1 a 18 dias de idade) e a segunda, a experimental (19 a 21 dias).

As aves foram alimentadas de 1 a 18 dias de idade com ração para a fase inicial seguindo as recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2017). A ração e a água foram fornecidas à vontade durante todo período de criação. Aos 18 dias de idade as aves foram pesadas e selecionadas (n=189) as mais uniformes para distribuição nas baterias metálicas, do Laboratório de Metabolismo Animal do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde foi realizado o ensaio biológico.

Foram utilizadas 27 gaiolas metabólicas, com dimensão de 90 cm x 40 cm x 40 cm cada, contendo um bebedouro automático tipo *nipple* com copo e um comedouro do tipo calha.

2.2 Delineamento Experimental

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos (dietas experimentais), com nove repetições por tratamento e sete aves por unidade experimental (gaiola). Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade ileal pelo método direto foram formuladas três dietas experimentais semi-purificadas, contendo cada uma das farinhas de vísceras avaliadas (Tabela 8). As FVs serviram como a única fonte de Ca e P nas rações experimentais. O nível de inclusão de cada farinha foi estabelecido para se obter 4g P/kg de ração. O dióxido de titânio foi incorporado em todas as rações experimentais em 0,5%, tendo a função de indicador indigestível.

Tabela 8. Composição percentual e analisada das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	FV1	FV2	FV3
Amido	31,582	29,863	30,454
Açúcar	30,000	30,000	30,000
Celulose	5,000	5,000	5,000
Farinha de vísceras	29,551	31,304	30,701
Óleo de soja	2,000	2,000	2,000
Carbonato de Potássio	0,787	0,771	0,777
Bicarbonato de Sódio	0,271	0,268	0,269
Sal	0,054	0,039	0,044
Dióxido de Titânio	0,500	0,500	0,500
Suplemento Mineral ¹	0,100	0,100	0,100
Suplemento Vitamínico ²	0,100	0,100	0,100
HCl Colina	0,055	0,055	0,055
Nutrientes Calculados			
Energia metabolizável (kcal/kg)	3,423	3,417	3,419
Proteína Bruta (%)	17,25	18,25	17,91
Cálcio (%) ³	1,28	1,36	1,33
Fósforo disponível (%) ³	0,40	0,40	0,40
Valores Analisados			
Matéria Seca (%)	92,68	92,64	92,72
Cálcio (%)	1,038	0,820	1,040
Fósforo (%)	0,354	0,380	0,388
Relação Ca:P	2,93	2,16	2,68

¹Ferro (min) 60 g/kg; cobre (min) 13 g/kg; manganês (min) 120 g/kg; zinco (min) 100 g/kg; iodo (min) 2.500 mg/kg; selênio (min) 500 mg/kg. ²Vitamina A (min) 7.500.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.500.000 UI/kg; vitamina E (min) 1.200 mg/kg; vitamina K3 (min) 1.200 mg/kg; tiamina (min) 1.500 mg/kg; riboflavina (min) 5.500 mg/kg; piridoxina (min) 2000 mg/kg; vitamina B12 (min) 12.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; panteonato de cálcio (min) 10 g/kg; biotina (min) 67 mg/kg. ³Cálcio e fósforo calculados com base em valores analisados das amostras de farinha de vísceras.

2.3 Coleta de Materiais para Análises

Aos 15 dias de idade, as aves foram pesadas individualmente e alocadas em 27 gaiolas (sete aves por gaiola) de acordo com o peso, de modo que o peso médio das aves por gaiola fosse semelhante. As dietas experimentais foram então distribuídas aleatoriamente sendo oferecidas *ad libitum* por três dias (19 a 21 dias de idade). Durante os três dias de fornecimento das dietas experimentais o total de ração consumida foi computado, assim como o peso das aves no início e final do período experimental para a determinação do ganho de peso.

Após pesagem, todas as aves de cada repetição foram insensibilizadas em atmosfera controlada (saturação de CO₂), com posterior sangria e abertura da cavidade abdominal para coleta do íleo, desde dois centímetros antes da junção íleo-cecocolica até o divertículo de Meckel como descrito por Ravindran e Bryden (1999). O íleo foi então dividido em duas metades e a digesta foi coletada da metade inferior em direção à junção íleo-cecocolica. O conteúdo presente no segmento amostrado foi totalmente retirado por pressionamento com o dedo indicador e o polegar.

A digesta ileal de todas as aves (7 aves) de cada parcela experimental foi acondicionada em recipiente de plástico identificada por tratamento e repetição, e posteriormente mantida em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. As amostras após serem pré-secas foram moídas (peneira com malha de 1 mm) e armazenadas até as análises químicas.

2.4 Análises laboratoriais

As análises químicas das dietas e digesta ileal foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia da UFRRJ. Foram analisadas MS, CZ, Ca, P e o TiO₂ nas amostras. A MS foi determinada usando o procedimento padrão (método 930.15; AOAC, 2005). A CZ foi determinada gravimetricamente pelo procedimento padrão da AOAC (método 942.05; AOAC, 2005). O Ca foi determinado por procedimento padrão da AOAC (método 968.08D; AOAC, 2005). O P e o TiO₂ foram determinados por espectrofotometria, pelo procedimento descrito por Detmann et al. (2012). As farinhas avaliadas foram adquiridas em farinhas de processamento comercial do Estado do Rio de Janeiro, posteriormente foi realizada análises bromatológicas e de granulométrica seguindo metodologia descrita por Zanotto et al. (2016).

2.5 Cálculos dos coeficientes de digestibilidade de cálcio

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente do Ca de cada unidade experimental foram calculados de acordo com o procedimento descrito por Dilger e Adeola (2006) para a estimativa da digestibilidade, através dos seguintes cálculos:

$$CDIACa = 1 - \left[\left(\frac{TiI}{Tif} \right) * \left(\frac{Caf}{Cal} \right) \right]$$

Onde, CDIACa é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de Ca, TiI é a concentração de titânio na dieta, Tif é a concentração de titânio na digesta ileal, Caf é a concentração de Ca na digesta ileal e Cal é a concentração de Ca na dieta.

Para determinação do coeficiente de digestibilidade verdadeiro do cálcio pelo método direto, o coeficiente de digestibilidade aparente de cada dieta foi corrigido para as perdas endógenas calculadas na dieta livre de Ca e P, a partir das seguintes equações propostas por Mutucumarana e Ravindran (2016):

$$PECa = Cadigesta \times \left(\frac{Tidieta}{Tidigesta} \right)$$

Onde, PECa representa as perdas endógenas de Ca expressa em g/kg de MS ingerida; Cadigesta é o conteúdo de Ca da digesta em g/kg MS; Tidieta é o conteúdo de titânio na dieta em g/kg MS; e Tidigesta é o conteúdo de titânio presente na digesta em g/kg MS.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do Ca do ingrediente será calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$CDIVCa = CDIACa + \left(\frac{PECa}{Cadieta} \right)$$

Onde, CDIVCa é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca; CDIACa é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do Ca de cada dieta; PECa representa as perdas endógenas de Ca em g/kg MS ingerida; e Cadieta é o conteúdo de Ca da dieta em g/kg MS.

2.6 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS a 5% de probabilidade. Os coeficientes de digestibilidade aparente e verdadeiro das farinhas de carne foram submetidos ao teste de comparação de médias por Tukey a 5% de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição bromatológica e granulométrica (DGM) das farinhas de vísceras são descritos na Tabela 9. De acordo com o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2017), a FV consiste no produto resultante da cocção, prensagem e moagem de vísceras de aves, sendo permitida a inclusão de cabeças e pés. Não deve conter penas, exceto aquelas que podem ocorrer não intencionalmente, e nem resíduos de incubatório e de outras matérias estranhas à sua composição. Rostagno et al. (2017), descreveram que a farinha de carne e ossos com 57,7% de proteína bruta, contém em média 4,34% de cálcio e 2,54% de fósforo.

Tabela 9. Composição bromatológica e granulometria da farinha de peixe.

Nutrientes	FV1	FV2	FV3
Matéria Seca (%)	92,65	94,79	95,16
Proteína Bruta (%)	62,20	63,87	63,57
Cinzas (%)	8,75	8,72	9,34
Cálcio (%)	3,514	2,620	3,389
Fósforo (%)	1,35	1,28	1,30
Relação Ca:P	2,60	2,04	2,73
DGM ¹ (µm)	654	794	871
DPG ² (%)	2,33	2,18	2,22

FV: Farinha de Vísceras. ¹DGM: diâmetro geométrico médio. ²Desvio padrão geométrico.

As concentrações analisadas de Ca e P variaram entre 2,62 a 3,519% e 1,28 a 1,35%, respectivamente. As concentrações de proteína bruta das amostras usadas neste estudo estavam um pouco acima ao indicado por Rostagno et al. (2017), porém as concentrações de Ca e P estavam um pouco abaixo do indicado pelos mesmos autores. A composição nutricional da FV pode variar dependendo da forma de processamento e do material incluído na sua elaboração.

A concentração de Ca de todas as dietas foi menor que os valores calculados. Os valores analisados foram utilizados para determinar os coeficientes de digestibilidade do Ca das farinhas de carne e ossos.

Os diâmetros médios geométricos (DGM) das FV1, FV2 e FV3 foram determinados como 654, 794 e 871 µm, respectivamente. Os correspondentes desvios padrão geométricos foram de 2,33; 2,18 e 2,22 respectivamente. A uniformidade nas partículas tem como consequência o aumento na solubilidade e melhor superfície de contato e concentração de Ca.

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente de Ca das FV1, FV2 e FV3 foram determinados como sendo 0,843; 0,799 e 0,826 respectivamente (Tabela 10). Anwar et al. (2018) ao avaliarem a digestibilidade de farinha de vísceras obtiveram digestibilidade de aparente de 0,28; descrito pelos autores como uma digestibilidade de Ca baixa. Atualmente, há dados publicados disponíveis sobre a digestibilidade ileal da Ca deste ingrediente para frangos de corte. Os altos valores de digestibilidade aparente de Ca obtidos nesse estudo podem ser atribuídos à baixa concentração desse mineral na composição das dietas analisada, ficando abaixo da exigência recomendada (0,878%) para de frangos de corte até 21 dias (ROSTAGNO et al., 2017)

As concentrações de Ca e P na dieta são críticas para sua absorção e utilização pós-absortiva, e o desequilíbrio entre esses dois minerais pode afetar a digestibilidade da Ca (PROSZKOWIEC-WEGLARZ et al., 2013). Nas rações para frangos de corte a recomendação

da relação Ca:P disponível é de aproximadamente 2:1. O aumento ou redução dessa razão é conhecido por diminuir a absorção e retenção de Ca (Pintar et al., 2005; Plumstead et al., 2008). No presente estudo, a proporção Ca:P disponível de todas as dietas experimentais foi bem abaixo da relação recomendada de Ca:P disponível. As relações Ca: P disponível nas dietas experimentais com FV1, FV2 e FV3 foram 1,32:1; 1,75:1 e 1,54:1, respectivamente.

Tabela 10. Coeficientes de digestibilidade ileal aparente e verdadeiro do Ca das dietas experimentais.

	Coeficientes de digestibilidade ileal aparente	Coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro ²
FV1	0,843 ^a	0,94 ^a
FV2	0,799 ^a	0,867 ^a
FV3	0,826 ^a	0,913 ^a
CV (%) ¹	6,52	8,06
P-valor	0,2730	0,1337

¹CV (%): Coeficiente de variação.

²Corrigido pelas perdas endógenas ileal de Ca (47 mg/kg de ingestão de matéria seca), determinado após a alimentação de uma dieta isenta de Ca e P (Capítulo II).

Para a estimativa dos coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de Ca, foi utilizada o valor das perdas endógenas estimadas anteriormente (Capítulo II) determinadas como 47 ± 18 mg/kg de MS ingerida em frangos de corte alimentados com dieta isenta de Ca e P. Anwar et al. (2018) ao avaliar a digestibilidade verdadeira de cálcio de diferentes ingredientes dentre eles a FV, também avaliaram a perda endógena de frangos de corte e encontraram perdas endógenas ileal de Ca de 86 mg/kg de MS ingerida.

Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de Ca das FV1, FV2 e FV3 foram de 0.944, 0.867 e 0.913 respectivamente (Tabela 10). A digestibilidade verdadeira de Ca das farinhas avaliadas foi semelhante ($P > 0,05$) não havendo diferença entre elas. Por outro lado ao comparar com os achados por Anwar et al. (2018) ao avaliar o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro de Ca da FV encontraram valor de 0.29, considerado pelos autores como valor muito baixo de digestibilidade.

4 CONCLUSÕES

Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca variaram entre 0,867 e 0,944; indicando que o Ca presente nas farinhas de vísceras não é totalmente disponível, porém apresenta uma digestibilidade considerada alta.

CAPÍTULO IV

EXIGÊNCIA EM CÁLCIO DIGESTÍVEL DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 21 DIAS

RESUMO

FREITAS, Leonardo Willian. **Exigência em cálcio digestível de frangos de corte de 1 a 21 dias**. 2019. 90p Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Este estudo foi realizado com o objetivo de determinar a exigência de cálcio digestível de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2 (cinco níveis de inclusão de cálcio, com frangos de corte machos e fêmeas), totalizando 10 tratamentos, com cinco repetições e seis aves por repetição. Foram utilizados 350 frangos de corte (175 machos e 175 fêmeas), da linhagem Cobb. Foram avaliados o consumo de ração, o ganho de peso, e a conversão alimentar. Para a avaliação dos coeficientes de retenção foi aplicada a metodologia da coleta total de excretas pelo período de três dias, as excretas e as rações experimentais foram submetidas a análises e com o resultado destas foram calculados os coeficientes de retenção de da matéria mineral (CRMM), o coeficiente de retenção do cálcio (CRCa) e o coeficiente de retenção do fósforo (CRP). Aos 21 dias de idade três aves por repetição foram abatidas para coleta do conteúdo ileal e dos tibiotarsos. Foram determinados os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro de cálcio (CDIVCa). Na avaliação de qualidade óssea, verificou-se o Índice de Seedor, a resistência óssea e o conteúdo mineral. Os níveis de inclusão de cálcio não influenciaram os parâmetros de desempenho, contudo, foi observada diferença entre os sexos ($P < 0,05$). Os machos apresentaram os melhores valores de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Nos parâmetros ósseos os machos apresentaram melhores valores, houve efeito também do nível de inclusão de cálcio sobre o índice de Seedor, com efeito quadrático para os machos (1,071% Ca) e linear positivo para as fêmeas, e a resistência óssea efeito linear para ambos os sexos, sendo assim quanto maior o nível de inclusão maior a resistência óssea. Os CRMM apresentou efeito quadrático ($P < 0,05$) para machos e fêmeas (0,975 e 1,052% Ca, respectivamente), o CRCa apresentou efeito linear negativo para ambos os sexos, o CRP foi influenciado ($P < 0,05$) pelos níveis de cálcio estudados, observando efeito quadrático para machos (1,096% Ca) e efeito linear positivo para fêmeas, o CDIVCa foi maior ($P < 0,05$) nos machos (0,72% versus 0,60%), em relação aos efeitos dos níveis de inclusão de cálcio nas dietas, não houve efeito ($P > 0,05$) para as fêmeas, porém para os machos, houve efeito quadrático ($P < 0,05$), sendo que a estimativa do nível de cálcio de 0,97% foi o que apresentou o menor CDIVCa. Com base nos valores dos CDIVCa, o nível de 0,60% é o mais indicado para frangos de corte, pois apresenta os melhores resultados para a digestibilidade deste mineral.

Palavras-chave: Coeficientes de retenção; Digestibilidade ileal verdadeira; Qualidade óssea.

ABSTRACT

This study was carried out with the objective of determining the digestible calcium requirement of broilers from 1 to 21 days old. The experimental design used was completely randomized, in a 5x2 factorial (five levels of calcium inclusion, with male and female broilers), totaling 10 treatments, with five repetitions and six birds per repetition. 350 broilers (175 males and 175 females) of the Cobb were used. Feed intake, weight gain, and feed conversion ratio were evaluated. For the evaluation of the retention coefficients, the methodology of the total collection of excreta for a period of three days was applied, the excreta and experimental rations were subjected to analyzes and with the result of these the mineral matter retention coefficients (CRMM) were calculated. , the calcium retention coefficient (CRCa) and the phosphorus retention coefficient (CRP). At 21 days of age, three birds per repetition were slaughtered to collect ileal and tibiotarsal contents. The coefficients of true ileal digestibility of calcium (CDIVCa) were determined. In the evaluation of bone quality, the Seedor Index, bone strength and mineral content were verified. The levels of calcium inclusion did not influence the performance parameters, however, a difference was observed between the sexes ($P < 0.05$). Males showed the best values for weight gain, feed intake and feed conversion. In bone parameters, males showed better values, there was also an effect of the level of calcium inclusion on the Seedor index, with quadratic effect for males (1.071% Ca) and positive linear for females, and bone resistance linear effect for both. genders, so the higher the level of inclusion, the greater the bone resistance. The CRMM had a quadratic effect ($P < 0.05$) for males and females (0.975 and 1.052% Ca, respectively), the CRCa had a negative linear effect for both sexes, the CRP was influenced ($P < 0.05$) by the levels of calcium studied, observing quadratic effect for males (1.096% Ca) and positive linear effect for females, the CDIVCa was higher ($P < 0.05$) in males (0.72% versus 0.60%), in relation to the effects levels of inclusion of calcium in the diets, there was no effect ($P > 0.05$) for females, however for males, there was a quadratic effect ($P < 0.05$), with the estimate of the calcium level of 0, 97% had the lowest CDIVCa. Based on the CDIVCa values, the level of 0.60% is the most suitable for broilers, as it presents the best results for the digestibility of this mineral.

Keywords: Bone quality; Retention coefficients; True ileal digestibility.

1 INTRODUÇÃO

As linhagens ou híbridos dos frangos de corte, destacam-se pelo ganho de peso acelerado e massa muscular com pouca gordura. Tais características representam demandas crescentes sobre o sistema ósseo (MUNIZ et al., 2007). Desse modo a nutrição mineral refere-se a importante área para o setor avícola.

O padrão de crescimento dos frangos de corte atuais vem se alterando ao longo dos anos, com sua taxa de crescimento e eficiência alimentar tendo melhorado drasticamente como resultado do melhoramento genético. Essas mudanças, juntamente com o crescente desejo de otimizar a utilização de recursos, validam a necessidade de revisar continuamente as exigências nutricionais de frangos de corte.

O cálcio (Ca) é um macromineral essencial e atender às suas necessidades faz-se relevância para a formação, crescimento e regeneração rápida do osso, especialmente durante as fases iniciais do período de crescimento. A maior parte do cálcio depositado (99%) no sistema esquelético está na forma de hidroxapatita, que desempenha um papel crítico no desenvolvimento e rigidez óssea. Há uma quantidade menor de Ca encontrada no plasma, e fluidos extra e intracelulares, mas isso também desempenha um papel importante e decisivo no metabolismo do corpo das aves como: ativação enzimática, contração muscular, função do sistema nervoso, adesão celular, sinalização celular e outras tarefas importantes. Portanto, a deficiência de Ca não só interfere o metabolismo e a homeostase normal do corpo, mas também pode prejudicar o desenvolvimento do sistema esquelético e aumentar os graves distúrbios esqueléticos, causando principalmente problemas locomotores nas aves.

Ao contrário do fósforo (P), as fontes de Ca geralmente são de baixo custo. Portanto, até recentemente, menos atenção foi dada à determinação da necessidade dietética de Ca de frangos de corte ou às consequências das altas concentrações desse mineral nas dietas. O cálcio fornecido em excesso pode prejudicar o processo de digestão por vários meios, incluindo a formação de sais insolúveis com ácidos graxos na dieta do lúmen, o que pode levar a uma redução na utilização de nutrientes e comprometimento da taxa de crescimento e eficiência (TAMIM et al. 2004). Portanto, é útil entender os limites máximos de Ca que podem ser tolerados em dietas para frangos de corte, quando a concentração de P está próxima da necessidade, antes que o desempenho seja comprometido (DE KORT et al. 2009).

As dietas avícolas são formuladas para atender níveis de cálcio total, e trabalhos recentes têm indicado que a medida mais próxima de se ter um valor ideal de cálcio seria o cálcio digestível, sendo determinado pela digestibilidade ileal, e a determinação desta digestibilidade para os ingredientes tem grande importância na formação de bancos de dados. Ademais, ao conhecer a digestibilidade destes ingredientes, seria possível formular as dietas baseadas em níveis de cálcio digestível, permitindo maior acurácia na formulação e consequentemente menor excreção de fósforo para o ambiente. O objetivo com esse estudo foi determinar as exigências de Ca de frango de corte na fase inicial (1 a 21 dias) em dietas à base de milho e farelo de soja.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética para uso de animais (CEUA/IZ) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) pelo processo nº 0027-10-2018, e esteve de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e com a legislação vigente.

2.1 Animais, Instalações e Manejo

Foram adquiridos em incubatório comercial, 350 pintos de corte, machos (n=175) e fêmeas (n=175) da linhagem Cobb 500[®]. Os pintos foram vacinados contra doença de Marek, Bouda Aviária e Gumboro no incubatório, e aos 10 dias de idade, vacinados contra doença de Newcastle.

O experimento foi realizado no laboratório de metabolismo do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - DNAP/IZ/UFRRJ. As aves foram pesadas, determinou-se o peso médio e então distribuídas nas gaiolas de metabolismo, de modo que cada parcela representasse o peso médio inicial do lote.

Foram utilizadas baterias metálicas de três andares, sendo cada andar subdividido em quatro compartimentos, totalizando 50 gaiolas, cada gaiola com medidas de 0,90 m x 0,40 m x 0,40 m, contendo um bebedouro automático tipo *nipple* com copo e um comedouro do tipo calha e com sistema de aquecimento por lâmpadas incandescentes.

2.2 Dietas e Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5x2 (cinco níveis de cálcio e dois sexos), totalizando dez tratamentos e cinco repetições.

Os ingredientes utilizados na formulação das rações experimentais (milho, farelo de soja, fosfato bicálcico e calcário calcítico), foram analisados no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens – DNAP da UFRRJ. Foram verificados os valores percentuais de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM), cálcio (Ca) e fósforo (P) de acordo com AOAC (2005), e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11. Composição bromatológica dos ingredientes utilizados nas rações.

Parâmetro (%)	Milho	Farelo de soja	Fosfato bicálcico	Calcário calcítico
Matéria seca	88,49	89,60	---	---
Proteína bruta	7,82	45,44	---	---
Matéria Mineral	0,94	5,66	98,00	99,00
Cálcio	0,02	0,52	21,00	33,00
Fósforo	0,372	0,605	17,43	---

Dietas foram formuladas para conter níveis crescentes de Ca (0,60; 0,75; 0,90; 1,05 e 1,20%) com intuito de alimentar os machos e as fêmeas separadamente. O calcário e o fosfato bicálcico foram usados para obter os diferentes níveis de Ca na dieta, mantendo um nível constante de 0,43% de P disponível. O dióxido de titânio foi incorporado em todas as rações experimentais em 0,5%, tendo a função de indicador indigestível. Níveis de todos os nutrientes, exceto Ca, foram formulados para serem idênticos em todas as dietas (Tabela 12). Água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental.

Tabela 12. Composição percentual e analisada das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Níveis de cálcio (%)				
	0,60	0,75	0,90	1,05	1,20
Milho	47,059	47,059	47,059	47,059	47,059
Farelo de soja	42,447	42,447	42,447	42,447	42,447
Óleo de soja	4,959	4,959	4,959	4,959	4,959
Inerte	2,000	1,555	1,090	0,636	0,182
Fosfato bicálcico	1,708	1,708	1,708	1,708	1,708
Calcário	0,034	0,489	0,942	1,398	1,852
Sal	0,516	0,516	0,516	0,516	0,516
Dióxido de Titânio	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
DL-Metionina	0,329	0,329	0,329	0,329	0,329
L-Lisina HCL	0,114	0,114	0,114	0,114	0,114
L-Treonina	0,054	0,054	0,054	0,054	0,054
Suplemento vitamínico ¹	0,110	0,110	0,110	0,110	0,110
Suplemento mineral ²	0,110	0,110	0,110	0,110	0,110
Cloreto de Colina 60%	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
BHT ³	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Nutrientes Calculados					
EM, kcal/kg	3000	3000	3000	3000	3000
PB, %	23,10	23,10	23,10	23,10	23,10
Ca, %	0,600	0,600	0,600	0,600	0,600
P disponível, %	0,430	0,430	0,430	0,430	0,430
Na, %	0,218	0,218	0,218	0,218	0,218
Met digestível, %	0,630	0,630	0,630	0,630	0,630
Met + Cis digestível, %	0,938	0,938	0,938	0,938	0,938
Lisina digestível, %	1,256	1,256	1,256	1,256	1,256
Treonina digestível, %	0,835	0,835	0,835	0,835	0,835
Balanço Eletrolítico, mEq/kg	227,33	227,33	227,33	227,33	227,33

¹Ferro (min) 60 g/kg; cobre (min) 13 g/kg; manganês (min) 120 g/kg; zinco (min) 100 g/kg; iodo (min) 2.500 mg/kg; selênio (min) 500 mg/kg. ²Vitamina A (min) 7.500.000 UI/kg; vitamina D3 (min) 2.500.000 UI/kg; vitamina E (min) 1.200 mg/kg; vitamina K3 (min) 1.200 mg/kg; tiamina (min) 1.500 mg/kg; riboflavina (min) 5.500 mg/kg; piridoxina (min) 2000 mg/kg; vitamina B12 (min) 12.000 mcg/kg; niacina 35g/kg; panteonato de cálcio (min) 10 g/kg; biotina (min) 67 mg/kg. ³Antioxidante Beta Hidroxi-butil Tolueno.

2.3 Ensaio de Metabolismo

O período experimental foi do 1º ao 21º dia de idade das aves, com período de três dias (18º ao 20º dia) de coleta total de excretas, duas vezes ao dia, às 08:00 e às 16:00 horas, de modo a evitar fermentação fecal (Figura 7A). As excretas foram coletadas em bandejas metálicas cobertas com material plástico de modo a evitar contaminações (Figura 7B). As

excretas coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos identificados (Figura 7C), pesadas (Figura 7D) e congeladas. As amostras das rações experimentais foram acondicionadas em potes fechados e identificados e também sendo congelada para posterior análise bromatológica de acordo com Sibbald & Price, 1975.



Figura 7. Coleta de excretas para análise de metabolismo

Para cada unidade experimental, as respectivas rações foram pesadas e identificadas para o fornecimento de ração à vontade. Ao final do período de coleta, as sobras de rações foram pesadas, obtendo-se assim o consumo de ração para o período.

Para análises, as excretas foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas para a retirada de uma alíquota (± 300 gramas) por unidade experimental. As amostras foram secadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, a fim de promover a pré-secagem e determinar a matéria seca ao ar (MAZZUCO et al., 2002). Em seguida foram moídas e encaminhadas para análises de MS, MM, Ca P e TiO_2 .

Com base nos dados de consumo de ração, excreta total, análises de MS, MM, Ca e P das rações e das excretas, foram determinados os coeficientes de retenção de matéria mineral (CRMM), cálcio (CRCa) e fósforo (CRP), que foram calculados através das fórmulas propostas por Sakomura e Rostagno (2016), sendo:

$$\text{CR (\%)} = \frac{\text{Nutriente ingerido (g)} - \text{Nutriente excretado (g)}}{\text{Nutriente ingerido (g)}} \times 100$$

2.4 Ensaio de Desempenho

Para o desempenho zootécnico, foram avaliados no período de 1 a 21 dias de idade o ganho de peso (GP), o consumo de ração (CR), a conversão alimentar (CA) e a viabilidade de criação (VB).

O consumo de ração foi calculado pela diferença entre a quantidade de ração fornecida e as sobras das rações experimentais, pesadas no início e no final do período experimental. Para determinação do ganho de peso, as aves foram pesadas no início e no final do experimento. A partir dos dados de consumo de ração e ganho de peso, calculou-se a conversão alimentar das aves. Utilizou-se como critério de correção o peso das aves mortas durante todo o período experimental.

2.5 Digestibilidade ileal do cálcio

Após a pesagem das aves, três aves de cada repetição foram insensibilizadas em atmosfera controlada (saturação de CO₂), com posterior sangria e abertura da cavidade abdominal para coleta do íleo, desde dois centímetros antes da junção íleo-cecocolica até o divertículo de Meckel como descrito por Ravindran et al. (2006). O íleo foi então dividido em duas metades e a digesta foi coletada da metade inferior em direção à junção íleo-cecocolica. O conteúdo presente no segmento amostrado foi totalmente retirado por pressionamento com o dedo indicador e o polegar.

A digesta ileal de três aves de cada parcela experimental foi acondicionada em recipiente de plástico identificada por tratamento e repetição, e posteriormente mantida em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas. As amostras após serem pré-secas foram moídas (peneira com malha de 1 mm) e armazenadas até as análises químicas.

2.5.1 Cálculos dos coeficientes de digestibilidade de cálcio

Os coeficientes de digestibilidade ileal aparente do Ca de cada unidade experimental foram calculados de acordo com o procedimento descrito por Dilger e Adeola (2006) para a estimativa da digestibilidade, através dos seguintes cálculos:

$$CDIACa = 1 - \left[\left(\frac{TiI}{Tif} \right) * \left(\frac{Caf}{CaI} \right) \right]$$

Onde, CDIACa é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente de Ca, TiI é a concentração de titânio na dieta, Tif é a concentração de titânio na digesta ileal, Caf é a concentração de Ca na digesta ileal e CaI é a concentração de Ca na dieta.

Para determinação do coeficiente de digestibilidade verdadeiro do cálcio pelo método direto, o coeficiente de digestibilidade aparente de cada dieta foi corrigido para as perdas endógenas calculadas na dieta livre de Ca e P, a partir das seguintes equações propostas por Mutucumarana e Ravindran (2016):

$$PECa = Cadigesta \times \left(\frac{Tidieta}{Tidigesta} \right)$$

Onde, PECa representa as perdas endógenas de Ca expressa em g/kg de MS ingerida; Cadigesta é o conteúdo de Ca da digesta em g/kg MS; Tidieta é o conteúdo de titânio na dieta em g/kg MS; e Tidigesta é o conteúdo de titânio presente na digesta em g/kg MS.

O coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do Ca do ingrediente será calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$CDIVCa = CDIACa + \left(\frac{PECa}{Cadieta} \right)$$

Onde, CDIVCa é o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca; CDIACa é o coeficiente de digestibilidade ileal aparente do Ca de cada dieta; PECa representa as perdas endógenas de Ca em g/kg MS ingerida; e Cadieta é o conteúdo de Ca da dieta em g/kg MS.

2.6 Qualidade óssea

Para a avaliação da qualidade óssea fez-se a coleta, identificação e congelamento das pernas das aves abatidas, sendo posteriormente descongeladas e processadas de acordo com metodologia descrita por Bruno (2002). Após a retirada do tecido muscular dos tibiotarsos esquerdos, foram realizadas as análises índice de Seedor (SEEDOR et al. 1991), resistência óssea (FAITARONE, et al. 2012) e cinzas ósseas.

2.6.1 Índice de Seedor

Para obter-se o índice de Seedor, os tibiotarsos esquerdos foram pesados em balança semi-analítica e posteriormente, mensurado o comprimento das mesmas com paquímetro analógico. Com os valores de peso (mg) e comprimento ósseo (mm) os dados foram aplicados na fórmula:

$$\text{Índice de Seedor} = \frac{\text{peso da tíbia (mg)}}{\text{comprimento ósseo (mm)}}$$

O índice de Seedor é utilizado como um indicativo da densidade óssea, quanto maior o índice de Seedor maior a densidade óssea.

2.6.2 Resistência óssea

Para a avaliação de resistência óssea, as tíbias esquerdas foram apoiadas em um suporte de madeira com um vão livre de 2 cm e acoplado ao equipamento Texture Analyser TA.XT Plus, com a utilização da sonda Blade Set HDP/BS. Com a velocidade de pré-teste de 2,0 mm/segundo, velocidade de teste de 1,0 mm/ segundo e velocidade de pós-teste de 4,0 mm/segundo (Figura 8).

Um software específico foi utilizado para registrar a força necessária empregada para o rompimento total dos ossos em Newton, sendo esse valor transformado em quilograma-força (kgf), como na fórmula a seguir:

$$\text{Resistência óssea (kgf)} = N * 0,101972$$

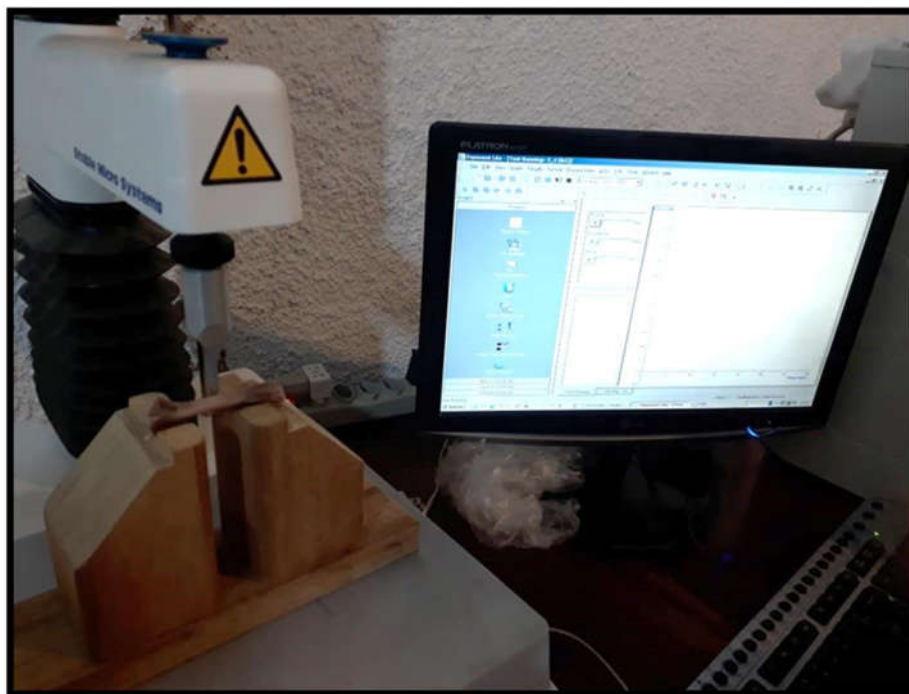


Figura 8. Análise de resistência óssea

2.6.3 Cinza óssea

Após a realização do teste de resistência óssea, os ossos partidos foram levados para o Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, para a determinação do conteúdo mineral (cinzas). Após serem pesados, foi realizada a queima em mufla a 580°C por quatro horas e pesados novamente (Figura 9), para o cálculo de porcentagem de cinzas.



Figura 9. Ossos antes e pós queima em mufla para determinação de cinza óssea

2.7 Análises laboratoriais

As análises químicas das dietas e digesta ileal foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia da UFRRJ. Foram analisadas MS, CZ, Ca, P e o TiO_2 nas amostras. A MS foi determinada usando o procedimento padrão (método 930.15; AOAC, 2005). A CZ foi determinada gravimetricamente pelo procedimento padrão da AOAC (método 942.05; AOAC, 2005). O Ca foi determinado por procedimento padrão da AOAC (método 968.08D; AOAC, 2005). O P e o TiO_2 foram determinados por espectrofotometria, pelo procedimento descrito por Detmann et al. (2012).

2.8 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS a 5% de probabilidade. E quando significativos os dados foram analisados pelo PROC REG do SAS 9.2. Para determinar o efeito dietético do Ca e do sexo das aves, os dados foram analisados em esquema fatorial 5×2 . A significância foi utilizada em $P < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos coeficientes de retenção de matéria mineral (CRMM), cálcio (CRCa) e fósforo (CRP), e o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do cálcio (CDIVCa) de rações contendo níveis crescentes de inclusão de Ca determinados com frangos de corte no período de 18 a 20 dias de idade estão descritos na tabela 13.

Tabela 13. Resultados dos coeficientes de retenção de matéria mineral (CRMM), cálcio (CRCa) e fósforo (CRP) e o coeficiente de digestibilidade ileal verdadeira do cálcio (CDIVCa) de rações contendo níveis crescentes de inclusão de cálcio, com base na matéria seca.

Variáveis	% Ca	Machos	Fêmeas	CV(%)*	p-valor
CRMM (%)	0,60	44,98	41,60	8,28	<0,0001
	0,75	56,71	51,01		
	0,90	54,50	48,44		
	1,05	55,38	51,35		
	1,20	53,35	52,16		
média		52,99	48,91		
CRCa (%)	0,60	81,66	80,63	4,66	<0,0001
	0,75	76,08	75,58		
	0,90	76,16	72,37		
	1,05	75,20	67,49		
	1,20	68,36	63,81		
média		75,49	71,97		
CRP (%)	0,60	53,57	50,45	8,67	<0,0001
	0,75	59,60	54,18		
	0,90	67,37	61,16		
	1,05	66,13	62,81		
	1,20	67,82	66,94		
média		62,90	59,11		
CDIVCa (%)	0,60	0,82	0,65	8,67	0,0001
	0,75	0,68	0,50		
	0,90	0,66	0,62		
	1,05	0,74	0,61		
	1,20	0,70	0,62		
média		0,72 ^a	0,60 ^b		

*CV = Coeficiente de Variação

Não houve interação ($P>0,05$) entre níveis de Ca e o sexo das aves. O CRMM foi influenciado ($P<0,05$) pelos valores de Ca estudados, sendo observado efeito quadrático tanto para machos quanto para fêmeas (Figura 10). A estimativa do nível de Ca para maior retenção de matéria mineral para frangos de corte machos, ocorreu com a inclusão de 0,975% de Ca ($Y = -76,77x^2 + 149,69x - 15,752$, $r^2=0,7939$) e para as fêmeas o ocorreu com a inclusão de 1,052% de Ca ($Y = -43,064x^2 + 90,594x + 4,0149$, $r^2=0,7452$), não havendo diferenças entre sexos.

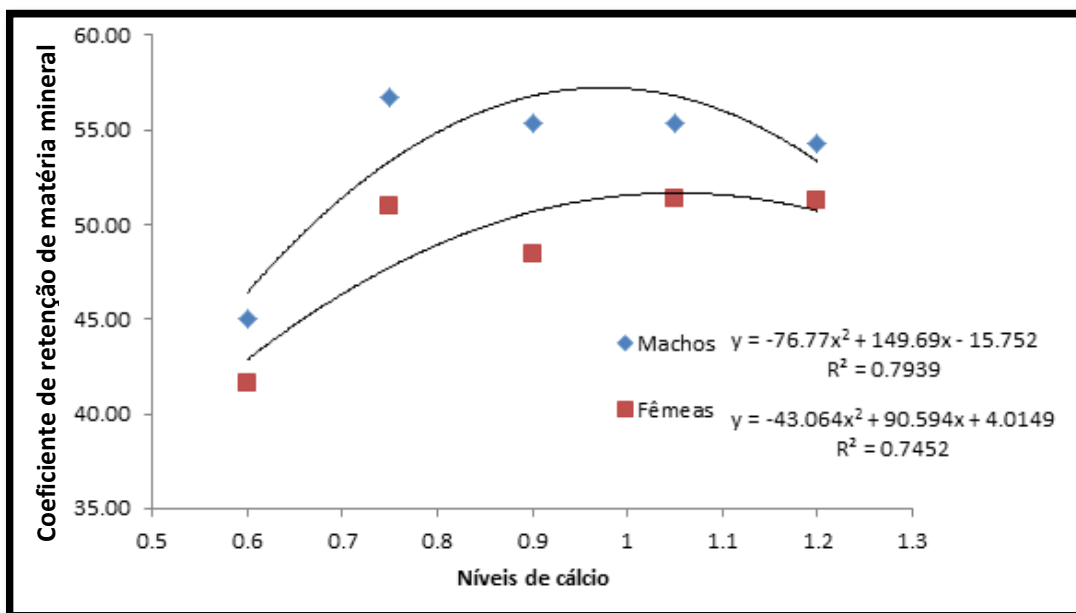


Figura 10. Coeficiente de retenção de matéria mineral em valores percentuais, das rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio, determinados em frangos de corte de 18 a 20 dias de idade.

O CRCa foi influenciado linearmente e negativamente ($P < 0,05$) pelos níveis de cálcio estudados (Figura 11), tanto para machos ($Y = -19,323x + 93,473$; $r^2 = 0,8747$), quanto para fêmeas ($Y = -27,813x + 96,668$; $r^2 = 0,9905$). Ao aumentar os níveis de Ca cálcio nas dietas, o CRCa diminuiu.

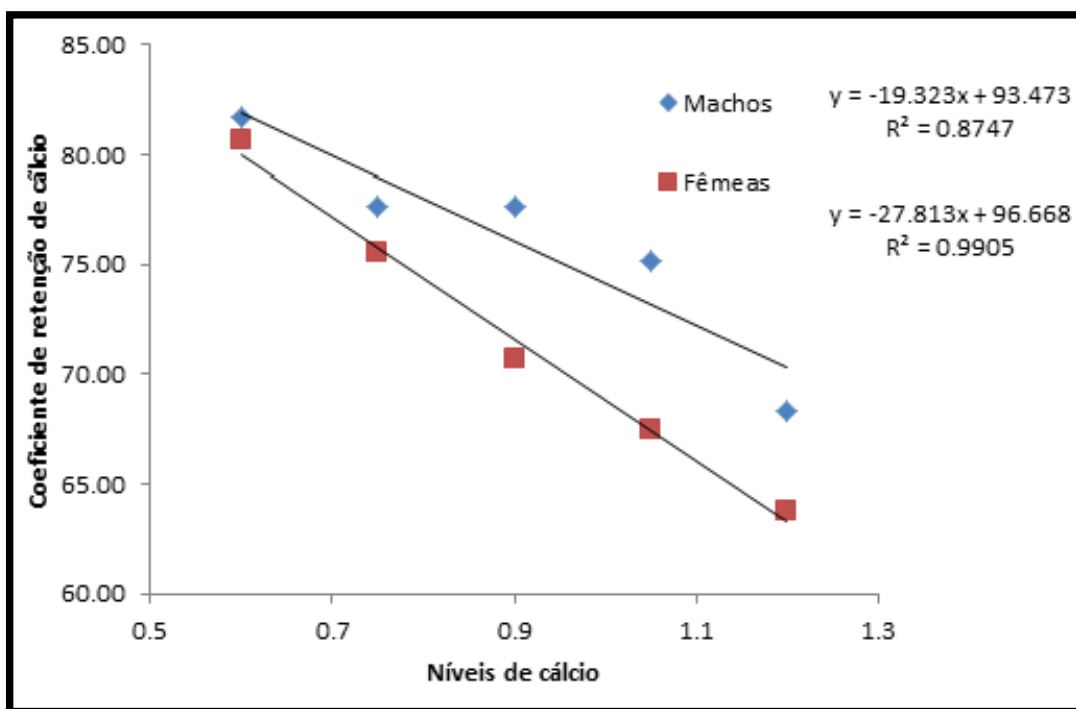


Figura 11. Coeficiente de retenção de cálcio em valores percentuais, das rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio, determinados em frangos de corte de 18 a 20 dias de idade.

O CRP foi influenciado ($P<0,05$) pelos níveis de Ca estudados (Figura 12), observando-se efeito quadrático para machos ($Y=-63,372x^2+138,94x-7,5094$; $r^2=0,978$) e aumento linear na retenção de P para fêmeas ($Y=26,396x+35,36$; $r^2=0,9856$). A estimativa do nível de CA para maior retenção de cálcio para frangos de corte machos ocorreu com a inclusão de 1,096% de Ca. A retenção de fósforo conforme foi se elevando os níveis de inclusão de cálcio nas dietas das fêmeas o coeficiente de retenção de cálcio aumentou, apresentando efeito linear positivo.

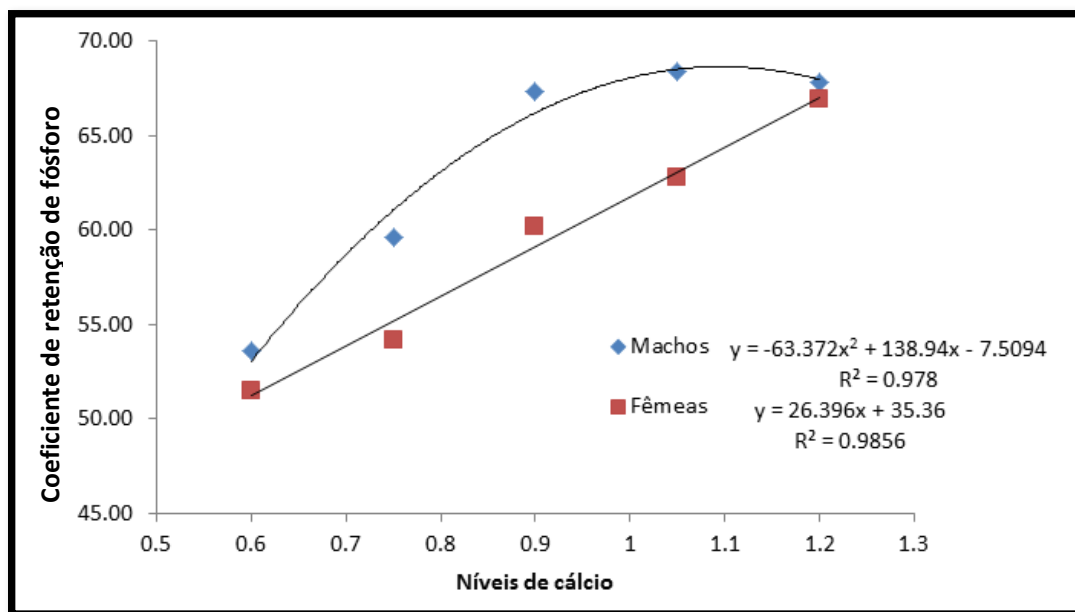


Figura 12. Coeficiente de retenção de fósforo em valores percentuais, das rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio, determinados em frangos de corte de 18 a 20 dias de idade.

Esses efeitos de reduzir o CRCa e aumentar o CRP, pode ter alguma correlação com a relação Ca:P das rações experimentais, pois se elevou os níveis de Ca, porem o nível de P foi mantido constante, não formulando as dietas pela relação Ca:P 2:1. Esses minerais são intimamente associados ao metabolismo, ocorrendo no organismo combinados entre si na maioria das vezes, de modo que a carência de um ou de outro na dieta limita o valor nutritivo de ambos (SÁ et al., 2004).

O CDIVCa foi maior ($P<0,05$) nos machos (0,72% e 0,60%, machos e fêmeas, respectivamente), em relação aos efeitos dos níveis de inclusão de Ca nas dietas, não houve efeito ($P>0,05$) para as fêmeas, porém para os machos, houve efeito quadrático ($P<0,05$), sendo que a estimativa do nível de Ca de 0,97% ($Y=0,9299x^2-1,7989x+1,5437$; $r^2=0,614$) foi o que apresentou o menor coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro (Figura13).

De acordo com Rostagno et al. (2017), tradicionalmente o valor de Ca é expresso pelo conteúdo total presente no ingrediente, sendo que este dado formulado em um alimento completo é utilizado como base para a determinação da exigência de Ca das aves. Os dados obtidos para o CDIVCa demonstraram que os valores de Ca total presentes nas exigências das aves, podem comprometer a digestibilidade do Ca, tendo em vista que a formulação de dietas se dá pela relação Ca total:P disponível, podendo estar estimando acima ou abaixo a exigência de Ca.

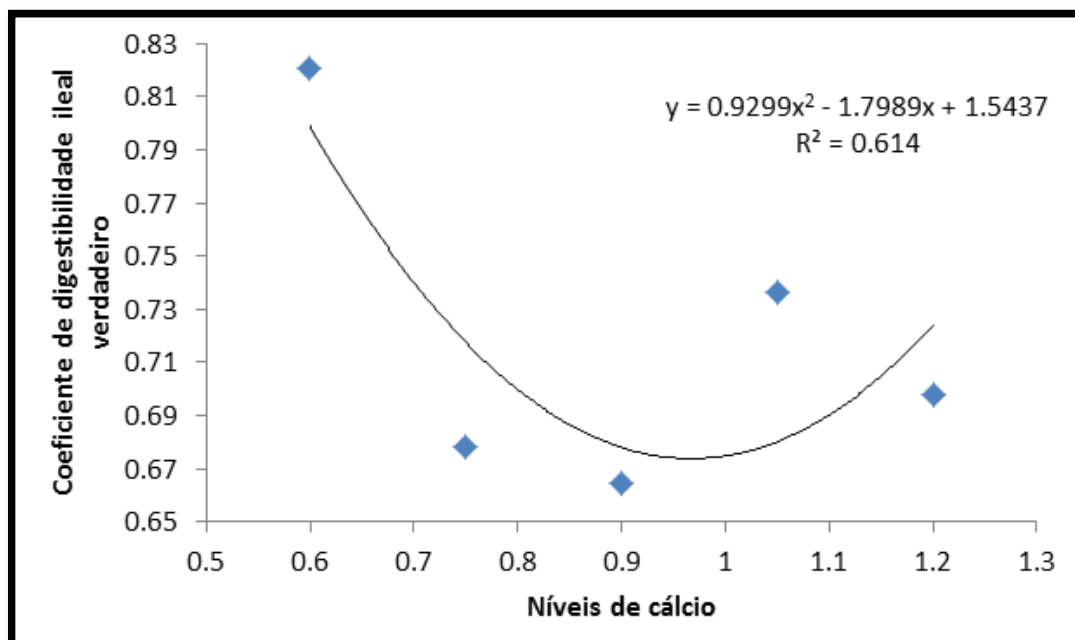


Figura 13. Coeficiente de digestibilidade ileal verdadeiro de cálcio, com inclusão de níveis crescentes de cálcio, determinados em frangos de corte machos, aos 21 dias de idade.

Trabalhos realizados com suínos para avaliar a digestibilidade de Ca e P estão mais avançados, inclusive contemplando tabelas de exigências nutricionais (VEGA-GONZÁLEZ et al., 2016) bem como sugestão de relações ideais de Ca digestível x P digestível que podem chegar até 1,35:1 (STEIN et al., 2011; MERRIMAN e STEIN, 2016).

Os parâmetros de desempenho dos frangos de corte de 1 a 21 dias de idade são apresentados na Tabela 14. As variáveis ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelos níveis de Ca estudados. Pode-se observar que os machos diferiram ($P < 0,05$) das fêmeas e obtiveram 9,67% a mais de ganho de peso, os machos também tiveram maior consumo de ração (1184 e 1121, machos e fêmeas, respectivamente), porém os machos tiveram uma melhor conversão alimentar quando comparada com as fêmeas (1,389 e 1,465, machos e fêmeas, respectivamente). Atualmente têm se dado maior atenção à exigência de P para frangos de corte no período de 1 a 21, dados sobre exigência de cálcio para esse período são muito antigos e, atualmente as linhagens de frangos de corte são mais exigentes nutricionalmente e, o conhecimento a respeito dessas precisa, atualmente ser atualizado.

Cabral (1999) ao avaliar a exigência de Ca no período de 1 a 21 dias, com níveis que variaram de 0,93 a 1,23% Ca, mantendo a relação Ca:P disponível em 2:1, obteve resultados diferentes aos verificados neste trabalho.

Para relatar como estas relações são importantes no desempenho animal, Walk et al. (2012a) realizaram um experimento avaliando a influência de uma fonte de Ca altamente solúvel, no desempenho de frangos de corte em quatro diferentes relações de Ca:P disponível, sendo elas: 1,41; 1,88; 2,34 e 2,81:1, respectivamente. Tanto o consumo de ração quanto o ganho de peso das aves aos 21 dias de idade foram afetados negativamente pelo uso de relações

elevadas de Ca:P disponível, demonstrando que mesmo com um custo relativamente baixo das fontes de Ca, o ideal é sempre manter a relação Ca:P sob controle, pois seu excesso influencia na performance do animal.

A relação Ca:P disponível das dietas experimentais deste trabalho variaram entre 1,39 a 2,79:1, semelhantes as relações de Ca:P disponível propostas por Walk et al. (2012b). Porém o desempenho das aves neste trabalho não foi afetado, pelos níveis de inclusão Ca na dieta.

Tabela 14. Desempenho zootécnico de frangos de corte de 1 a 21 dias alimentados com rações contendo níveis crescentes de cálcio.

Variáveis	% cálcio	Machos	Fêmeas	CV(%)*	p-valor
GP, g	0,60	823	751	7,26	0,0067
	0,75	858	775		
	0,90	859	764		
	1,05	871	768		
	1,20	827	770		
média		848 A	766 B		
CR, g	0,60	1176	1120	7,29	0,0105
	0,75	1185	1150		
	0,90	1219	1091		
	1,05	1209	1134		
	1,20	1133	1108		
média		1184 A	1121 B		
CA (g/g)	0,60	1,429	1,492	3,49	0,0015
	0,75	1,381	1,489		
	0,90	1,417	1,428		
	1,05	1,389	1,477		
	1,20	1,372	1,439		
média		1.398 A	1.465 B		

*CV = Coeficiente de Variação, GP = Ganho de peso, CR = Consumo de ração, CA = Conversão alimentar.

^{A,B} Letras diferentes na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Os parâmetros ósseos de frangos de corte, machos e fêmeas, de 21 dias de idade, são apresentados na tabela 15. Observou-se que os parâmetros de qualidade óssea (índice de Seedor e resistência óssea) dos machos foram melhores quando comparados aos parâmetros de qualidade óssea das fêmeas (P<0,05). Não foram observadas quaisquer alterações no conteúdo de cinzas das tíbias.

Tabela 15. Índice de Seedor, resistência e cinzas ósseas de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com rações contendo níveis crescentes de cálcio.

Variáveis	% Ca	Machos	Fêmeas	CV(%)*	p-valor
Índice de Seedor	0,60	73,44	64,76	8,00	0,0428
	0,75	76,90	66,95		
	0,90	81,67	67,62		
	1,05	81,67	69,71		
	1,20	81,25	72,02		
média		78,99 A	68,21 B		
Resistência óssea (kgf/cm ²)	0,60	19,58	19,37	12,91	<0,0001
	0,75	23,26	21,51		
	0,90	23,74	19,43		
	1,05	26,76	23,29		
	1,20	29,74	23,51		
média		24,61 A	21,42 B		
Cinzas ósseas (%)	0,60	48,37	47,90	8,67	0,1253
	0,75	52,99	49,46		
	0,90	49,34	50,73		
	1,05	49,32	51,24		
	1,20	48,98	48,51		
média		49,80	49,57		

*CV = Coeficiente de Variação

Os níveis de Ca influenciaram os valores do índice de Seedor (Figura 14), em ambos os sexos ($P < 0,05$), observando-se efeito quadrático para machos ($Y = -39,786x^2 + 85,218x + 36,307$; $r^2 = 0,9662$) e efeito linear para fêmeas ($Y = 11,522x + 57,841$; $r^2 = 0,9757$). A estimativa do nível de Ca para o índice de Seedor para frangos de corte machos se deu com a inclusão de 1,071% de Ca.

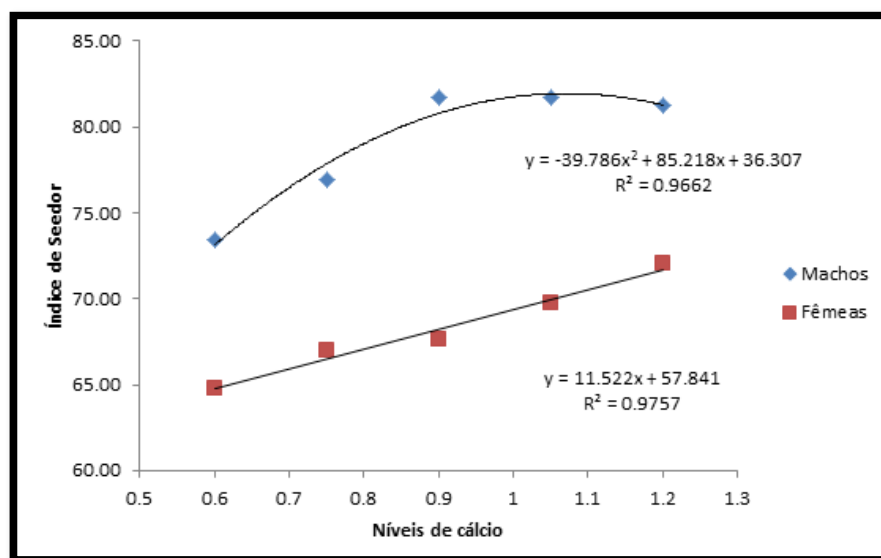


Figura 14. Índice de Seedor da tíbia de frangos de corte de 21 dias, alimentados com rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio.

O Índice de Seedor consiste num indicativo de densidade óssea, de modo que quanto mais elevado o valor encontrado, maior a densidade da peça óssea e vice-versa (SEEDOR et al., 1991). Com base nisso, elevação nos níveis de Ca nas dietas das frangas melhoraram proporcionalmente a densidade óssea, já para os frangos o nível indicado seria de 1,071% de Ca, para a melhor densidade óssea.

Os níveis de Ca influenciaram os valores de resistência óssea, em ambos os sexos ($P < 0,05$), sendo verificado efeito linear positivo para machos e fêmeas (Figura 15). As propriedades ósseas relacionam-se pela interação entre constituintes principais: água, minerais e colágeno. O modo pelo qual esses componentes estão arrançados na matriz determina a qualidade óssea (VIEITES et al., 2018).

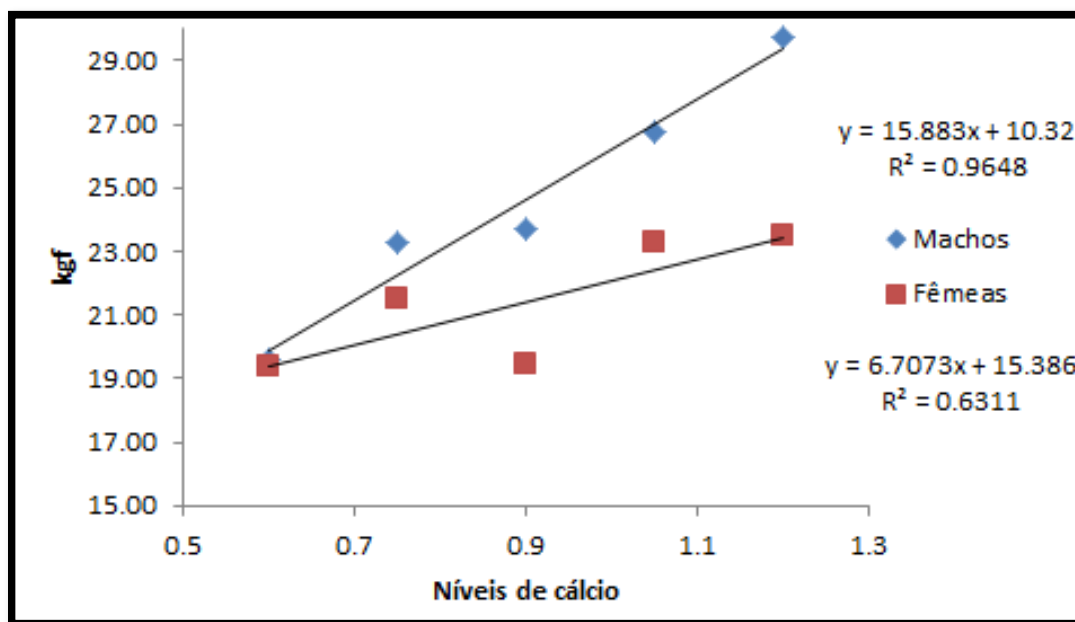


Figura 15. Resistência óssea de frangos de corte, machos e fêmeas, de 21 dias, alimentados com rações com inclusão de níveis crescentes de cálcio.

Sá et al., (2004) ao avaliar a resistência óssea da tíbia de frangos de corte alimentados com níveis variando de 0,16 a 1,41% de Ca no período de 22 a 42 dias, observaram melhor resistência ao nível estimado de 1,18% de Ca. Já Cabral (1999), ao estudar a resistência óssea do fêmur de frangos com 21 dias, alimentados com dietas que variaram de 0,93 a 1,23% de Ca, não obteve diferença na resistência óssea.

A concentração de Ca nos ossos refere-se a um depósito dinâmico devido aos processos de remodelagem e renovação para ajuste do Ca plasmático, na forma ionizada ou complexada, e em ácidos orgânicos ou fosfatos e sulfatos (MUNIZ et al., 2007).

Desse modo, o estudo de diferentes níveis de Ca sobre a deposição e retenção de Ca faz-se de valia. Os ossos são metabolicamente ativos e multifuncionais, com populações de células, macrófagos, linfócitos, produzindo inúmeros reguladores biológicos, que coordenam a formação da matriz, sua mineralização, bem como a reabsorção da apatita óssea (VIEIRA, 1999).

4 CONCLUSÕES

As exigências nutricionais em cálcio digestível estimadas para frangos de corte, machos e fêmeas, de 1 a 21 dias de idade variaram de 0,60 a 1,096%, para os machos, e 0,60 a 1,20% para as fêmeas. Ao considerar as variáveis ósseas, recomenda-se 1,07 e 1,2% de Ca para machos e fêmeas, respectivamente. Contudo, considerando o coeficiente de digestibilidade ileal de Ca, a inclusão de 0,60% de Ca seria o mais indicado para frangos de corte machos.

CONCLUSÃO GERAL

Faz-se necessário padronizar uma metodologia para gerar os níveis de digestibilidade de Ca. Para frangos de corte, o melhor caminho parece ser a determinação da digestibilidade verdadeira por meio de coleta ileal. Os métodos de substituição e o método direto mostraram-se mais eficientes ao se avaliar a digestibilidade verdadeira de cálcio da farinha de peixe.

Os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca das farinhas de carne e ossos, variaram entre 0,539 e 0,818, indicando a indisponibilidade do Ca presente nesse ingrediente. Já os coeficientes de digestibilidade ileal verdadeiro do Ca das farinhas de vísceras, variaram entre 0,867 e 0,944; indicando que o Ca presente nas farinhas de vísceras não é totalmente disponível, porém apresenta uma digestibilidade considerada alta.

As exigências nutricionais em cálcio digestível estimadas para frangos de corte, machos e fêmeas, de 1 a 21 dias de idade variaram de 0,60 a 1,096%, para os machos, e 0,60 a 1,20% para as fêmeas. Ao considerar as variáveis ósseas, recomenda-se 1,07 e 1,2% de Ca para machos e fêmeas, respectivamente. Contudo, considerando o coeficiente de digestibilidade ileal de Ca, a inclusão de 0,60% de Ca seria o mais indicado para frangos de corte machos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEDOKUN, S. A.; ADEOLA, O. Calcium and phosphorus digestibility: Metabolic limits. **Journal of Applied Poultry Research**. V. 22, p. 600-608, 2013.
- AJAKAIYE, A., FAN, M. Z., ARCHBOLD, T., HACKER, R. R., FORSBERG, C. W., PHILLIPS, J. P. Determination of true digestive utilization of phosphorus and the endogenous phosphorus outputs associated with soybean meal for growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2766-2775, 2003a.
- AJAKAIYE, A.; ATTEH, J.O.; LEESON, S. Biological availability of calcium in broiler chicks from different calcium sources found in Nigeria. **Animal Feed Science and Technology**, v. 104, p. 209-214, 2003b.
- ANDERSON, K. E.; HARVENSTEIN, G. B.; BRAKE, J. Effects of strain and rearing dietary regimens on brown-egg pullet growth and strain, rearing dietary regimens, density, and feed space effects on subsequent laying performance. **Poultry Science**. V. 74, p. 1079-1092, 1995.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Measurement of true ileal calcium digestibility in meat and bone meal for broiler chickens. **Anim. Feed Sci. Technol.** V. 206, p. 100–107, 2015.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Measurement of true ileal calcium digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. **Poult. Sci.** V. 95, p. 70–76, 2016.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A. J. Measurement of the true ileal calcium digestibility of some feed ingredients for broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology** 237: 118–128. 2018.
- AOAC. (2005). **Official Methods of Analysis** (18th ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- BLAIR, R., ENGLISH, P. R., MICHIE, W. Effect of calcium source on calcium retention in the young chick. **British Poultry Science**, 6:355-356, 1965.
- BRONNER, F. Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. **Journal of Nutrition**. V. 117, p. 1347-1352, 1987.
- BRONNER, F. Current concepts of calcium absorption: an overview. **Journal of Nutrition**, v. 122, p. 641-643, 1992.
- BRONNER, F. Mechanisms and functional aspects of intestinal calcium absorption. **Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology**. v. 300, p. 47-52, 2003.
- CABRAL, G. H. **Níveis de cálcio em rações para frango de corte**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa/MG, p. 105. 1999.
- CENTENO, V. A.; BARBOZA, G. E. D.; MARCHIONATTI, A. M.; ALISIO, A. E.; DALLORSO, M. E.; NASIF, R.; TALAMONI, N. G. T. Dietary calcium deficiency

- increases Ca^{2+} uptake and Ca^{2+} extrusion mechanisms in chick enterocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, v. 139, p. 133-141, 2004.
- CHENG, T. K., COON, C. N. Effect of calcium source, particle size, limestone solubility in vitro, and calcium intake level on layer bone status and performance. *Poultry Science*, v. 69, p. 2214-2219, 1990.
- COON, C.; LESKE, K.; SEO, S. The availability of calcium and phosphorus in feed stuffs, in: J. M. McNab and N. Boorman (Eds.), **Poultry Feedstuffs: Supply, Composition, and Nutritive Value**, p. 151-186, 2002.
- DE KORT, E.; MINOR, M.; SNOEREN, T.; VAN HOOIJDONK, T.; VAN DER LINDEN, E. Calcium-binding capacity of organic and inorganic ortho- and polyphosphates. *Dairy Science. Technology*, v. 89, n. 5, p. 283-299. 2009.
- DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. O.S.; CABRAL, L. S.; PINA, D. S.; LADEIRA, M. M.; AZEVEDO, J. A. G. (Ed.). **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.
- DILGER, R. N., ADEOLA, O. Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss in growing chicks fed conventional and low-phytate soybean meals. *Poultry Science*, v. 85, p. 661-668, 2006a.
- DILGER, R. N., ADEOLA, O. Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss in growing pigs fed conventional and low-phytate soybean meals. *Journal of Animal Science*, v. 84, p. 627-634, 2006b.
- DRIVER, J.; PESTI, G.; BAKALLI, R.; EDWARDS, H. Calcium requirements of the modern broiler chicken as influenced by dietary protein and age. *Poultry Science*, v. 84, p. 1629-1639, 2005.
- FAITARONE, A. B. G.; GARCIA, E. A.; ARTONI, S. M. B. SGAVIOLI, S.; SILVA, M. D. P.; GONÇALVES, H. C.; PELICIA, K. Qualidade óssea de poedeiras comerciais leves alimentadas com rações suplementadas com diferentes óleos vegetais. *Veterinária e Zootecnia*, v. 19, n. 3, p.356-365, 2012.
- FAN, M. Z.; ARCHBOLD, T.; SOUER, W. C.; LACKEYRAM, D.; RIDEOUT, T.; GAO, Y. LANGE, C. F.; HACKER, R. R. Novel methodology allows simultaneous measurement of true phosphorus digestibility and the gastrointestinal endogenous phosphorus outputs in studies with pigs. *The Journal of Nutrition*, v. 131, n. 9, p. 2388-2396, 2001.
- FULLMER, C. S. Intestinal calcium absorption: calcium entry. *Journal of Nutrition*, v. 122, p. 644-650, 1992.
- GONZALEZ-VEGA, J. C., WALK, C. L., LIU, Y., STEIN, H. H. Determination of endogenous intestinal losses of calcium and true total tract digestibility of calcium in canola meal fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, v. 91, p. 4807-4816. 2013.

- GONZALEZ-VEGA, J. C., WALK, C. L., LIU, Y., STEIN, H. H. The site of net absorption of Ca from the intestinal tract of growing pigs and effect of phytic acid, Ca level and Ca source on Ca digestibility. **Archives of Animal Nutrition**, v. 68, p. 126-142, 2014.
- GONZALEZ-VEGA, J. C., WALK, C. L., STEIN, H. H. Effects of microbial phytase on apparent and standardized total tract digestibility of calcium in calcium supplements fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 2255-2264, 2015a.
- GONZALEZ-VEGA, J. C., WALK, C. L.; STEIN, H. H. Effect of phytate, microbial phytase, fiber, and soybean oil on calculated values for apparent and standardized total tract digestibility of calcium and apparent total tract digestibility of phosphorus in fish meal fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 4808-4818, 2015b.
- GUINOTTE, F.; GAUTRON, J.; NYS, Y.; SOUMARMON, A. Calcium solubilization and retention 657 in the gastrointestinal tract in chicks (*Gallus domesticus*) as a function of gastric acid 658 secretion inhibition and of calcium carbonate particle size. **British Journal of Nutrition**, v. 73. n. 1, p. 125–139. 1995.
- HOENDEROP, J. G.; NILIUS, B.; BINDELS, R. J. Calcium absorption across epithelia. **Physiological Reviews**. V. 85, p. 373-422, 2005.
- HURWITZ, S., BAR, A. Intestinal calcium absorption in the laying fowl and its importance in calcium homeostasis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 22, p. 391-395, 1969.
- HURWITZ, S., BAR, A. AND COHEN, I. Regulation of calcium absorption by fowl intestine. **American Journal of Physiology**, v. 225, p. 150-154, 1973.
- LARBIER, M.; LECLERCQ, B.; WISEMAN, J. (Eds.). **Nutrition and Feeding of Poultry**. Nottingham U.P, Loughborough, UK, 1994.
- LEMME, A., RAVINDRAN, V., BRYDEN, W. L. Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, p. 423-438, 2004.
- 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, p. 71-75. 2007.
- LIU, J. B., CHEN, D. W., ADEOLA, O. Phosphorus digestibility response of broiler chickens to dietary calcium-to-phosphorus ratios. **Poultry Science**, v. 92, p. 1572-1578, 2013.
- MCNAUGHTON, J. L., DILWORTH, B. C., DAY, E. J. Effect of particle size on the utilization of calcium supplements by the chick. **Poultry Science**, v. 53, p. 1024-1029, 1974.
- MERRIMAN, L. A.; STEIN, H. H. Particle size of calcium carbonate does not affect apparent and standardized total tract digestibility of calcium, retention of calcium, or growth performance of growing pigs. **Journal of Animal Science**. V. 94, p. 3844-3850, 2016.
- MORRISSEY, R. WASSERMAN, R. Calcium absorption and calcium-binding protein in chicks on differing calcium and phosphorus intakes. **American Journal of Physiology**, v. 220, p. 1509-1515, 1971.

- MUNIZ, E. B.; ARRUDA, A. M. V.; FASSANI, E. J.; TEIXEIRA, A. S.; PEREIRA, E. S. Avaliação de fontes de cálcio para frangos de corte. **Revista Caatinga**, v.20, n.1, p.05-14, 2007.
- MUTUCUMARANA, R. K., RAVINDRAN, V., RAVINDRAN, G., COWIESON, A. J. Measurement of true ileal digestibility and total tract retention of phosphorus in corn and canola meal for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 93, p. 412-419, 2014a.
- MUTUCUMARANA, R.K., RAVINDRAN, V., RAVINDRAN, G., COWIESON, A. J. Measurement of true ileal digestibility of phosphorus in some feed ingredients for broiler chickens. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 5520-5529, 2014b.
- MUTUCUMARANA, R. K., RAVINDRAN, V., RAVINDRAN, G., COWIESON, A. J. Measurement of true ileal phosphorus digestibility in maize and soybean meal for broiler chickens: comparison of two methodologies. **Animal Feed Science and Technology**, v. 206, p. 76-86, 2015.
- MUTUCUMARANA, R. K.; RAVINDRAN, V. Measurement of true ileal phosphorus digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. **Animal Feed Science and Technology**. V. 219, p. 249–256, 2016.
- OSO, A. O., IDOWU, A. A., NIAMEH, O. T. Growth response, nutrient and mineral retention, bone mineralisation and walking ability of broiler chickens fed with dietary inclusion of various unconventional mineral sources. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 95, p. 461-467, 2011.
- PANSU, D.; BELLATON, C.; BRONNER, F. Effect of Ca intake on saturable and nonsaturable components of duodenal Ca transport. **American Journal of Physiology**, V. 240, p. 32-37, 1981.
- PEREZ, A. V., PICOTTO, G., CARPENTIERI, A. R., RIVOIRA, M. A., PERALTA LOPEZ, M. E., TOLOSA DE TALAMONI, N. G. Minireview on regulation of intestinal calcium absorption. **Digestion**, v. 77, p. 22-34, 2008.
- PINTAR, J., HOMEN, B., GAZIC, K., JANJECIC, Z., SIKIRIC, M. AND CERNY, T. Effects of supplemental phytase on nutrient excretion and retention in broilers fed different cereal based diets. **Czech Journal of Animal Science**, v. 50, p. 40-46, 2005.
- PLUMSTEAD, P.W.; LEYTEM, A.B.; MAGUIRE, R.O.; SPEARS, J.W.; KWANYUEN, P.; BRAKE, J. Interaction of calcium and phytase in broiler diets. 1. Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. **Poultry Science**, v. 87, p. 449-458, 2008.
- PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M., ANGEL, R., JIMENEZ-MORENO1, E., KIM, S. W., PLUMSTEAD, P. W. Method development to determine digestible calcium and phosphorus in single ingredients for poultry 2: Impact of time and diet Ca and P deficiencies on their digestibility. **Poultry Science**, v. 92, p. 149 (Abstract), 2013.
- QIAN, H., KORNEGAY, E., DENBOW, D. Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. **Poultry Science**, v. 76, p. 37-46, 1997.

- RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W. L. Amino acid availability in poultry - In vitro and in vivo measurements. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 889-908, 1999.
- RAVINDRAN, V., MOREL, P. C. H., PARTRIDGE, G. G., HRUBY, M., SANDS, J. S. Influence of an Escherichia coli-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. **Poultry Science**, v. 85, p. 82-89, 2006.
- RODEHUTSCORD, M.; KAPOCIUS, M.; TIMMLER, R.; DIECKMANN, A. Linear regression approach to study amino acid digestibility in broiler chickens. **Brasilian Journal Poultry Science**. V. 45, p. 85-92, 2004.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos - composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. Ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488p.
- SÁ, L. M.; GOMES, P. C.; ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; CECON, P. R.; D'AGOSTINI, P. Exigência nutricional de cálcio para frangos de corte, nas fases de crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.397-406, 2004.
- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. 2. Ed. Jaboticabal: FUNEO, 2016. 262p.
- SEBASTIAN, S., TOUCHBURN, S., CHAVEZ, E., LAGUE, P. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. **Poultry Science**, v. 75, p. 729-736, 1996b.
- SEBASTIAN, S., TOUCHBURN, S., CHAVEZ, E., LAGUE, P. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 75, p. 1516-1523, 1996a.
- SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**. v.124, p.126-141, 2009.
- SHAFEY, T.; MCDONALD, M.; PYM, R. Effects of dietary calcium, available phosphorus and vitamin D on growth rate, food utilisation, plasma and bone constituents and calcium and phosphorus retention of commercial broiler strains. **British Poultry Science**. v. 31 p. 587-602, 1990.
- SHAFEY, T.; MCDONALD, M.; DINGLE, J. Effects of dietary calcium and available phosphorus concentration on digesta pH and on the availability of calcium, iron, magnesium and zinc from the intestinal contents of meat chickens. **British Poultry Science**, v. 32, p. 185-194, 1991.
- SHASTAK, Y., RODEHUTSCORD, M. Determination and estimation of phosphorus availability in growing poultry and their historical development. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, p. 569-586, 2013.

- SHORT, F. J.; WISEMAN, J.; BOORMAN, K. N.; Application of a method to determine ileal digestibility in broilers of amino acids in wheat. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v. 79, p. 195–209, 1999.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. Principles and procedures of statistics. A biometrical approach, 2nd Edition, McGraw-Hill Book Company, New York. 1980.
- STEIN, H. H.; ADEOLA, O.; CROMWELL, G. L.; KIM, S. W.; MAHAN, D. C.; MILLER, P.S. Concentration of dietary calcium supplied by calcium carbonate does not affect the apparent total tract digestibility of calcium but decreases digestibility of phosphorus by growing pigs. **Journal of Animal Science**. V. 89, p. 2139–2144, 2011.
- SULABO, R.; STEIN, H.H. Digestibility of phosphorus and calcium in meat and bone meal fed to growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 91, p.1285-1294, 2013.
- TAMIM, N.M.; ANGEL, R. Phytate phosphorus hydrolysis as influenced by dietary calcium and micro-mineral source in broiler diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4687-4693, 2003.
- TAMIM, N.M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 83, p. 1358-1367, 2004.
- TAYLOR, T. G., DACKER, C. G. Calcium metabolism and its regulation, in: B. M. Freeman (Eds.). *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*, (pp. 125- 170). Academic Press, London, UK, 1984.
- THOMAS, D. V.; RAVINDRAN, V. Mineral retention in young broiler chicks fed diets based on wheat, sorghum or maize. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, p. 68-73, 2010.
- VELLASCO, C.R.; GOMES, P.C.; DONZELE, J.L.; ROSTAGNO, H.S.; CALDERANO, A.A.; MELLO, H.H.C.; PASTORE, S.M. Níveis de cálcio e relação cálcio: fósforo em rações para poedeiras leves de 24 a 40 semanas de idade. **Ciência Animal Brasileira**, v.17, n. 2, 2016.
- VIEIRA, J. H. Considerações sobre os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sua utilidade prática. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**, v. 43, n. 6, p. 415-422, 1999.
- VIEITES, F.M.; BRUSAMARELO, E.; CORRÊA, G. DA S.S.; SOUZA, C.S.; OLIVEIRA, C.F.S.; MORAES, G.H.K. CARAMORI JÚNIOR, J.G. 1,25-dihidroxicolecalciferol de origem herbal (*Solanum glaucophyllum*) mantém o desempenho e a qualidade óssea de frangos de corte fêmeas durante restrição de cálcio e fósforo. **Arch. Zootec**. V. 67, n.259, p. 414-419. 2018.
- WALK, C. L. ADDO-CHIDIE, E. K.; BEDFORD, M. R.; ADEOLA, O. Evaluation of a highly soluble calcium source and phytase in the diets of broiler chickens. **Poultry Science**, V. 91, p. 2255–2263, 2012a.

- WALK, C. L., BEDFORD, M. R., MCELROY, A. P. Influence of limestone and phytase on broiler performance, gastrointestinal pH, and apparent ileal nutrient digestibility. **Poultry Science**, v. 91, p. 1371-1378, 2012b.
- WALK, C. L. The influence of calcium on phytase efficacy in non-ruminant animals. **Animal Production Science**, v. 56, p.1345-1349, 2016.
- WASSERMAN, R. Vitamin D and the dual processes of intestinal calcium absorption. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3137-3139, 2004.
- WILKINSON, S.J.; RUTH, B.; COWIESON, A. J. Mineral composition of calcium sources used by the Australian poultry feed industry. In Proceedings of the 24th Annual Australian Poultry Science Symposium, Sydney, New South Wales, Australia, v. 27, p.45-48. 2013.
- ZANOTTO, L. Z.; CUNHA Jr., A.; LUDKE, J. V.; COLDEBELLA, A. **Análise de granulometria de milho moído**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 2016. 5 p. (EMBRAPA-CNPSA. Comunicado Técnico, 536). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1062014/1/Cot536.pdf>>. Acesso em: 7 de julho de 2018.
- ZHANG, B; COON, C. N. The relationship of calcium intake, source, size, and solubility in vitro and in vivo, and gizzard limestone retention in laying hens. **Poultry Science**, v. 76, p. 1702-1706, 1997.