



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ADIEL VIEIRA DE LIMA

**SUBSTITUIÇÃO DO FOSFATO BICÁLCICO E FARINHA DE CARNE E OSSOS
POR BLEND DE ENZIMAS E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM DIETAS DE GALINHAS
POEDEIRAS**

AREIA

2023

ADIEL VIEIRA DE LIMA

**SUBSTITUIÇÃO DO FOSFATO BICÁLCICO E FARINHA DE CARNE E OSSOS
POR BLEND DE ENZIMAS E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM DIETAS DE GALINHAS
POEDEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa

Coorientadores: Prof. Dr. Cleber Franklin Santos de Oliveira e Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra

AREIA

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L732s Lima, Adiel Vieira de.

Substituição do fosfato bicálcico e farinha de carne e ossos por blend de enzimas e ácidos orgânicos em dietas de galinhas poedeiras / Adiel Vieira de Lima. - Areia:UFPB/CCA, 2023.
49 f. : il.

Orientação: Fernando Guilherme Perazzo Costa.

Coorientação: Cleber Franklin Santos de Oliveira, Ricardo Romão Guerra.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Ácido cítrico. 3. Ácido fumárico. 4. Fitase. 5. Protease. I. Costa, Fernando Guilherme Perazzo. II. Oliveira, Cleber Franklin Santos de. III. Guerra, Ricardo Romão. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.3)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “SUBSTITUIÇÃO DO FOSFATO BICALCICO E FARINHA DE CARNE E OSSOS POR BLEND DE ENZIMAS E ÁCIDOS ORGÂNICOS EM DIETAS DE GALINHAS POEDEIRAS”

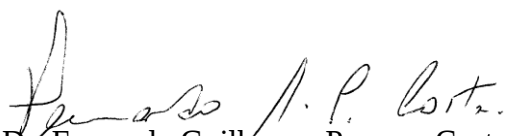
AUTOR: Adiel Vieira de Lima

ORIENTADOR: Fernando Guilherme Perazzo Costa

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa
Presidente
Universidade Federal da Paraíba



Prof. Dr. Matheus Ramalho de Lima
Examinador
Universidade Federal Rural do Semi-árido


Profa. Dra. Isabelle Naemi Kaneko
Examinadora
Universidade Federal de Rondônia

Areia, 28 de fevereiro de 2023.

*Dedico este trabalho aos meus pais,
**Nadiel Francisco da Silva Lima e Quitéria
Vieira da Silva**, pilares da minha formação
como ser humano. Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, que mais uma vez me fortaleceu para chegar ao fim desse desafio.

Aos meus pais, Nadiel e Quitéria, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória.

Aos meus irmãos, tios, primos, avós, que entenderam a minha ausência, acompanharam a minha dedicação e torceram por mim.

À minha namora Layane, que acima de tudo é uma grande amiga, sempre presente nos momentos difíceis com uma palavra de incentivo.

À Universidade Federal da Paraíba e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ), na pessoa do Prof. Edilson Paes Saraiva, coordenador do PPGZ, pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

Ao meu orientador, Fernando Guilherme Perazzo Costa, pela oportunidade e por confiar no meu trabalho.

Ao corpo docente do PPGZ, que demonstrou estar comprometido com a qualidade e excelência do ensino.

Aos servidores Edjânio Galdino (Técnico do Laboratório de Histologia – CCA/UFPB), José Evangelista (Técnico do Laboratório de Cromatografia e Espectrometria – CCHSA/UFPB), Taína Barreto (Técnica do Laboratório de Nutrição Animal – CCHSA/UFPB), Profa. Daniele Idalino (Chefe do Laboratório de Toxicologia - IPEFARM-UFPB), Jaldir Oliveira (Secretário do PPGZ) e Bruno Lobato (Zootecnista do Módulo de Avicultura – CCA-UFPB).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Grupo de Estudos em Tecnologias Avícolas, em especial à Carlos Henrique e Paloma Lopes, que me deram bastante apoio na execução do experimento.

Aos funcionários do Módulo de Avicultura, Josivaldo Roque e José Ramalho.

Aos professores Cleber Franklin, Ricardo Guerra, Isabele Naemi e Matheus Ramalho pelas contribuições na execução e finalização do projeto.

Aos habitantes da Batcaverna, Cláudio Cruz, Witalo Sales e Hactus Souto, pela convivência e irmandade durante esses anos morando juntos, contem sempre comigo.

Aos amigos, Kika Cavalcante, Marileide Sá e Almy Sá, Venúcia Dinela que me acolheram em minha chegada na cidade de Areia.

Aos amigos que fiz durante o curso, Arthur dos Anjos, Isabelly Maia, Jorge Medeiros, Valéria Falcão, Wanderlan Cardoso, Raiane Santos e Paloma Gabriela, obrigado por todo apoio e momentos de descontração.

Aos meus colegas da turma de 2021.2, Cavalcante, Cláudio, Daniela, Gabriele, Jorge, Paloma, Raiane, Valéria e Maria Victória, foi um prazer estudar com vocês, desejo sucesso a todos.

Aos meus ex-professores da graduação, Marco Aurélio Carneiro de Holanda, Mônica Calixto Ribeiro de Holanda e Thieres George Freire da Silva, pela inspiração e motivação.

De coração, o meu muito obrigado!

*“Os que confiam no Senhor são como os montes de Sião
Os dias difícil vem, mas eles não se abalarão
O tempo tá ruim, tudo tá horrível
Deus não disse que era fácil, só que era possível*

*Ele abriu o Mar Vermelho pro povo passar
Disse que eu ia vencer, é só acreditar
Cada fase pra avançar e meta a ser vivida
E o prêmio é chegar à terra prometida”*

(João Gomes)

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de um aditivo, a base de enzimas e ácidos orgânicos, associado à redução da farinha de carne e ossos e do fosfato bicálcico, em dietas de galinhas poedeiras. Foram utilizadas 320 galinhas poedeiras leves da linhagem Hy-Line com 44 semanas de idade. O experimento teve duração de quatro períodos de 28 dias. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 8 repetições de 8 aves cada. Foram formuladas três dietas: 1AD, sem farinha de carne e osso e fosfato bicalcico e com 1% do aditivo; 100FCO, sem aditivo e sem fosfato bicálcico, mas com uso livre de farinha de carne e osso; e 100FB, sem aditivo e sem farinha de carne e ossos, mas com uso livre de fosfato bicálcico. As dietas 100FCO e 100FB foram reformuladas em 50% do uso de farinha de carne e ossos e fosfato bicálcico, respectivamente, e suplementadas com 0,05% do aditivo, formando os tratamentos 0,5AD50FCO e 0,5AD50FB. O aditivo adicionado as dietas é um *blend* de enzimas e ácidos orgânicos na seguinte composição: ácido fumárico (59,70g/kg), ácido cítrico (59,40g/kg), fitase (1.200U/g), protease (4.000U/g) e xilanase (1.000U/g). Foi avaliado o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, tempo de prateleira dos ovos, viabilidade e qualidade óssea. O desempenho zootécnico foi avaliado a partir da produção de ovos, do peso de ovo, do consumo de ração, da massa de ovos, e da conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos. Na qualidade dos ovos foram avaliadas as percentagens de gema, albúmen e casca, espessura da casca, gravidade específica, cor da gema e Unidade Haugh. Na avaliação do tempo de prateleira realizou-se as mesmas avaliações de qualidade acima nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de armazenamento. A análise econômica foi realizada a partir do custo da alimentação, dúzia de ovos, custo da ração por dúzia de ovos, receita bruta, margem bruta e margem bruta relativa. Nas análises ósseas foram mensurados o índice Seedor, resistência óssea e teores de matéria mineral, cálcio e fósforo e relação cálcio:fósforo. Os resultados foram submetidos a ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O aditivo testado obteve percentuais de produção elevados, não diferindo dos tratamentos 100FB e 100FCO, promoveu um menor consumo de ração, melhores índices de conversão alimentar. O percentual de casca foi maior no 0,5AD50FB. O valor de percentual de albúmen foi maior para o tratamento 100FB, entretanto não difeiriu dos tratamentos que continham os aditivos. A unidade Haugh, assim como o percentual de albúmen, foi maior no tratamento 100FB, entretanto não diferiu no tratamento com o aditivo isolado e com o aditivo associado ao fosfato bicálcico. Os tratamentos com farinha de carne e ossos obtiveram os piores resultados de unidade Haugh. O tempo reduziu a espessura da casca, percentual de casca, percentual de albúmen, unidade Haugh, gravidade específica e cor da gema, e aumentou o percentual de gema, o que resulta em uma pior qualidade dos ovos. Entretanto, ao avaliar o tratamento 1AD, observou-se que o aditivo proporcionou ovos de qualidade melhor, quando comparado a outros tratamentos. 1AD proporcionou uma margem bruta 16,76 e 10,05% maior do que 100FB e 100FCO, respectivamente. 1AD proporcionou melhoras na resistência óssea e no índice Seedor e aumentou os tores de matéria mineral e fósforo. Conclui-se que a inclusão de 1,0 kg/ton do aditivo à base enzimas e ácidos orgânicos pode substituir o fosfato bicálcico e a farinha de carne e ossos em rações de galinhas poedeiras, de forma viável e sem comprometer a produção, qualidade de ovos e óssea, além de promover um melhor tempo de prateleira.

Palavras-chave: ácido cítrico; ácido fumárico; fitase; protease; xilanase.

SUBSTITUTION OF BICALCIUM PHOSPHATE AND MEAT AND BONE MEAL BY BLEND OF ENZYMES AND ORGANIC ACIDS IN DIETS FOR LAYING HENS

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of the inclusion of an additive, based on enzymes and organic acids, associated with the reduction of meat and bone meal and dicalcium phosphate, in laying hen diets. 320 Hy-Line light laying hens with 44 weeks of age were used. The experiment lasted four periods of 28 days. A completely randomized design was adopted with 5 treatments and 8 replications of 8 birds each. Three diets were formulated: 1AD, without meat and bone meal and dicalcium phosphate and with 1% of the additive; 100FCO, without additive and without dicalcium phosphate, but with free use of meat and bone meal; and 100FB, without additive and without meat and bone meal, but with free use of dicalcium phosphate. The 100FCO and 100FB diets were reformulated in 50% of the use of meat and bone meal and dicalcium phosphate, respectively, and supplemented with 0.05% of the additive, forming the 0.5AD50FCO and 0.5AD50FB treatments. The additive added to the diets is a blend of enzymes and organic acids in the following composition: fumaric acid (59.70g/kg), citric acid (59.40g/kg), phytase (1,200U/g), protease (4,000U/g). g) and xylanase (1,000U/g). Zootechnical performance, egg quality, egg shelf life, viability and bone quality were evaluated. The zootechnical performance was evaluated from egg production, egg weight, feed intake, egg mass, and feed conversion per dozen and per egg mass. In terms of egg quality, the percentages of yolk, albumen and shell, shell thickness, specific gravity, yolk color and Haugh Unit were evaluated. In the evaluation of shelf life, the same quality evaluations as above were carried out on days 0, 7, 14, 21 and 28 of storage. The economic analysis was performed based on the cost of feed, dozen eggs, cost of feed per dozen eggs, gross revenue, gross margin and relative gross margin. In the bone analyses, the Seedor index, bone strength and mineral matter, calcium and phosphorus and calcium:phosphorus ratio were measured. The results were submitted to ANOVA and the means were compared by Tukey's test at 5% probability. The tested additive obtained high production percentages, not differing from the 100FB and 100FCO treatments, it promoted a lower feed intake, better feed conversion indices. The percentage of bark was higher in 0.5AD50FB. The albumen percentage value was higher for the 100FB treatment, however it did not differ from the treatments that contained the additives. The Haugh unit, as well as the percentage of albumen, was higher in the 100FB treatment, however it did not differ in the treatment with the additive alone and with the additive associated with dicalcium phosphate. Meat and bone meal treatments had the worst Haugh unit results. Time reduced shell thickness, shell percentage, albumen percentage, Haugh unit, specific gravity and yolk color, and increased yolk percentage, which resulted in poorer egg quality. However, when evaluating the 1AD treatment, it was observed that the additive provided better quality eggs when compared to other treatments. 1AD provided a gross margin 16.76 and 10.05% higher than 100FB and 100FCO, respectively. 1AD provided improvements in bone strength and in the Seedor index and increased mineral matter and phosphorus torques. It is concluded that the inclusion of 1.0 kg/ton of the additive based on enzymes and organic acids can replace dicalcium phosphate and meat and bone meal in diets for laying hens, in a viable way and without compromising the production, quality of eggs and bone, in addition to promoting a better shelf life.

Keywords: citric acid; fumaric acid; phytase; protease; xylanase.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efeito do tempo de prateleira sobre a qualidade externa de ovos de galinhas poedeiras leves, com 50 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo.....	34
Figura 2 – Efeito do tempo de prateleira sobre a qualidade interna de ovos de galinhas poedeiras leves, com 50 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo.....	34
Figura 3 – Níveis de cálcio, fósforo e relação cálcio:fósforo no sangue de galinhas poedeiras leves, com 55 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais	27
Tabela 2 – Desempenho zootécnico de galinhas poedeiras leves, de 40 a 55 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo.....	31
Tabela 3 – Qualidade de ovos de galinhas poedeiras leves, de 40 a 55 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo.....	33
Tabela 4 – Análise econômica da inclusão de aditivos substitutivos às fontes de cálcio e fósforo em dietas de galinhas poedeiras leves de 40 a 55 semanas de idade	37
Tabela 5 – Qualidade óssea de galinhas poedeiras leves, com 55 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo.....	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	Fontes de cálcio e fósforo.....	13
2.1.1	<i>Fosfato bicálcico</i>	<i>14</i>
2.1.2	<i>Farinha de carne e ossos.....</i>	<i>15</i>
2.2	Metabolismo do cálcio e fósforo.....	16
2.3	Enzimas.....	18
2.3.1	<i>Fitase</i>	<i>19</i>
2.3.2	<i>Protease.....</i>	<i>20</i>
2.3.3	<i>Xilanase</i>	<i>21</i>
2.3.4	<i>Associação enzimática.....</i>	<i>22</i>
2.4	Ácidos orgânicos	23
2.4.1	<i>Ácido fumárico</i>	<i>24</i>
2.4.2	<i>Ácido cítrico</i>	<i>24</i>
2.4.3	<i>Associação de ácidos.....</i>	<i>25</i>
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1	Local, dietas e esquema experimental.....	26
3.2	Desempenho zootécnico	26
3.3	Qualidade dos ovos	28
3.4	Tempo de prateleira dos ovos	29
3.5	Análise econômica.....	29
3.6	Análises ósseas.....	29
3.7	Análise sanguínea.....	30
3.8	Análise estatística	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

No ano de 2021 a avicultura de postura gerou um valor bruto da produção de R\$17,7 bilhões, produziu aproximadamente 55 bilhões de ovos, onde destes, 99,5% são consumidos no mercado interno, resultando em um consumo per capita de 257 ovos (ABPA, 2022). Por trás desses índices de produção há nutricionistas que formulam rações com custos reduzidos, buscando atender o aporte nutricional das aves e qualidade do produto. Segundo Araújo et al. (2007) a utilização de modernos compostos, advindos da biotecnologia, é primordial, pois podem aumentar a produtividade e/ou reduzir os custos de produção.

Já é bem constatado que na avicultura as despesas com ração correspondem à aproximadamente 70% dos custos de produção. Quando são utilizados, por exemplo, alimentos alternativos, na maioria dos casos, se consegue diminuir os custos com a alimentação, entretanto os índices zootécnicos ficam comprometidos, devido à piora da utilização da energia e/ou proteína destes ingredientes pelos animais, principalmente pela presença de fatores tidos como antinutricionais (ARAÚJO et al., 2007).

Existem várias fontes de cálcio e fósforo, para cálcio destaca-se carbonato de cálcio, calcário calcítico, fosfato bicálcico, farinha de osso calcinada e entre outras; para fósforo é encontrado os fosfatos (monocálcico, bicálcico e tricálcico), farinha de carne e ossos e demais fontes (BERTECHINI, 2004; CRUZ e RUFINO, 2017;). Essas fontes convencionais possuem baixa disponibilidade de Ca e P, o que resulta em baixo aproveitamento pelo animal e maior excreção, o que torna um problema zootécnico, ambiental e de saúde pública.

O uso de aditivos, como enzimas e ácidos orgânicos, nas rações tem a finalidade de melhorar o aproveitamento dos nutrientes (MENTEN et al., 2014). O mecanismo de ação desses ácidos se dá pela redução do pH das dietas, consequentemente redução do pH do trato digestório, favorecendo uma melhor digestão dos nutrientes e inibição do crescimento de microrganismos patogênicos (DIBNER e BUTTIN, 2002; MENTEN et al.; WOONG KIM et al., 2014).

Com relação a utilização de aditivos enzimáticos na nutrição teve muitos avanços nos últimos anos. Segundo Dourado et al. (2014) esse aumento se deu devido a um aumento no número de empresas e produtos lançados no mercado e elevado número de pesquisas relacionadas na área.

A utilização de enzimas exógenas permite maior digestão e absorção dos nutrientes, remoção de fatores antinutricionais, melhora a eficiência das enzimas endógenas, hidrólise dos polissacarídeos não amiláceos e diversificação da microbiota intestinal, promovendo um

melhor desempenho das aves e uma melhor eficiência produtiva (ANNISON e CHOCT, 1991; LIMA et al., 2007; BEDFORD e COWIESON, 2012; KIARE et al., 2013; CHAMORRO et al.; DIÓGENES et al., 2017). As principais enzimas exógenas utilizadas são β -glucanase, amilase, celulase, xilanase, galactosidases, fitase, proteases e lipases (MINAFRA, 2007; DOURADO et al. 2014).

Diante disto, nota-se que há necessidade de investigar a utilização de aditivos com alternativas para melhorar o desempenho, reduzir custos e diminuir o impacto ambiente. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a utilização de um aditivo a base de ácidos orgânicos e enzimas exógenas como substituto às fontes de cálcio e fósforo em dietas de galinhas poedeiras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1.Fontes de cálcio e fósforo

Os compostos minerais podem ser definidos como elementos químicos que não podem ser decompostos ou sintetizados por reações químicas ordinárias, tendo formato sólido. Em função do organismo animal não conseguir sintetizar os minerais, é necessário adicionar na dieta e dependendo da forma que foi fornecido, sua absorção pode ser influenciada, como também a quantidade pode interferir tanto em deficiência ou excesso (MACARI e MAIORKA, 2017).

Os minerais representam 3 a 4% do peso vivo das aves, exercendo funções essenciais na nutrição destes animais, atuando na estrutura esquelética e na modulação de enzimas dos processos de anabolismo e catabolismo (SAKOMURA et al., 2014). Os minerais que tem maior participação nas rações de aves são o cálcio, fósforo, potássio, sódio, enxofre, cloro e magnésio, também chamados de macro-elementos. O ferro, cobre, iodo, manganês, cobalto e selênio, são presentes em menores quantidades nas dietas e conhecidos por micro-minerais, mas são igualmente essenciais para poedeiras (ARAÚJO et al., 2008).

Na indústria avícola de postura, uma das características mais avaliadas nas aves é a qualidade da casca e óssea, no qual o cálcio e o fósforo têm grande influência na formação da casca e em razão disso possuem uma participação maior nas formulações das dietas, quando comparados a outros minerais. Segundo a pesquisa de Almeida (2011) verificou-se que o aumento dos níveis de cálcio causou aumento linear sobre o peso e porcentagem de casca, gravidade específica dos ovos, porcentagem e valor absoluto de matéria mineral da casca, peso

da tíbia, valor absoluto de matéria mineral na tíbia, porcentagem e valor absoluto de cálcio na tíbia e no valor absoluto de fósforo na tíbia.

Os coeficientes de digestibilidade de Ca e P para poedeiras são influenciados pela idade das galinhas, solubilidade do calcário, granulometria do calcário e pela concentração de Ca e P presente no alimento (TAVERNARI et al., 2019). A granulometria das fontes de cálcio e fósforo tem um papel importante na disponibilidade destes nutrientes. Diana et al. (2020) verificaram que para as aves com 40 e 72 semanas de idade, o fosfato bicálcico e o calcário calcítico fino apresentaram maiores coeficiente de digestibilidade aparente, quando comparado ao calcário calcítico grosso.

Couto et al. (2008) avaliaram fontes alternativas de cálcio e fósforo para poedeiras comerciais e identificaram que o fosfato monoamônio pode ser utilizado como fonte alternativa de fósforo em substituição ao fosfato bicálcico e que a utilização de calcário Paraíso (maior teor de magnésio) é tecnicamente viável na alimentação de galinhas e que não interfere nos resultados zootécnicos.

Dentre os fatores que interferem na absorção de minerais, destaca-se a solubilidade, em que os minerais são solúveis em pH ácido. O uso de minerais complexados vem crescendo, devido ser produtos da ligação química de íons metálicos com uma molécula orgânica, aumentando a estabilidade e a biodisponibilidade. Esses minerais ligam-se a aminoácidos ou polissacarídeos por ligações covalentes entre o grupo amino ou oxigênio. A associação dos íons metálicos com um grupo doador de um par de elétrons pode aumentar a absorção por utilizar as vias das matérias orgânicas e reduzir a competição por sítios de ligação com outros minerais (MACARI e MAIORKA, 2017). Em relação a forma, a disponibilidade pode ser limitada, um exemplo é a forma fítica do fósforo nos ingredientes, ocorrendo excesso de fósforo nas excretas e causando risco de poluição (FIREMAN e FIREMAN, 1998).

2.1.1. Fosfato bicálcico

É obtido da transformação do fosfato de rocha em ácido fosfórico, submetido ao processo de defluorização. É composto por 23% de cálcio, 18% de fósforo e flúor (máx. 1% do teor de fósforo). Utiliza-se até 2% em rações de aves, dependendo da adição ou não de farinha de carne e ossos, podendo ser substituído pelo fosfato monocálcico ou fosfato tricálcico (CRUZ e RUFINO, 2017). A biodisponibilidade relativa para cálcio e fósforo varia, 77 para cálcio e de 95-100 para fósforo (BERTECHINI, 2004).

Araújo et al. (2010) verificaram que o consumo de ração, a produção de ovos, a massa de ovos, a conversão alimentar, a porcentagem de casca, a gravidade específica e os teores de cinzas, cálcio, fósforo e magnésio nos ossos não foram afetados pelos níveis de fósforo disponível e tamanho de partícula do fosfato bicálcico. Dietas contendo fosfato bicálcico (fino ou granulado) e 0,28% de fósforo disponível atenderam às exigências de fósforo de galinhas poedeiras semipesadas de 24 a 58 semanas de idade.

Diana (2022) verificou que a digestibilidade verdadeira é maior nas aves mais jovens e que consumiram o fosfato bicálcico e o calcário fino em relação às aves que consumiram o calcário grosso. É considerada a principal fonte suplementar de fósforo utilizada nas dietas das aves, o fosfato bicálcico é extraído de jazidas minerais conhecidas como Apatita (SILVA, 2012).

2.1.2. *Farinha de carne e ossos*

É uma das principais fontes proteicas de origem animal, sendo um subproduto de graxarias e frigoríficos, oriundo de ossos e resíduos de tecidos animais, logo após a desossa completa da carcaça de bovinos e/ou suínos. O teor de proteína bruta varia de 40 a 50%, ótima fonte de minerais com nível de fósforo superior a 3,6%, rica em aminoácidos essenciais e a relação cálcio/fósforo não deve ultrapassar 2,2:1. Os teores de proteína, cálcio e fósforo depende da participação da quantidade de carne em relação a entrada de ossos. É um ingrediente com risco de contaminação microbiológica e oxidação, participando até 5% da composição das rações para aves e suínos devido a restrições em função de transferência de sabor para carne e ovos ou zoonoses (CRUZ e RUFINO, 2017).

Conforme Boskurt et al. (2004) a gravidade específica dos ovos das galinhas alimentadas com a dieta controle foi inferior àqueles que receberam as dietas contendo 2,0 e 4,0% de farinha de carne e ossos. O valor da Unidade Haugh dos ovos com 6,0% de farinha de carne e ossos foi superior do que nos demais tratamentos e a espessura de casca foram melhores com a inclusão de farinha de carne e ossos em diferentes níveis.

Segundo Denadai et al. (2011) ao rastrearem a inclusão de farinha de carne e ossos bovinos em dietas para poedeiras comerciais, através da análise dos ovos e de suas frações (gema e albúmen), pela técnica dos isótopos estáveis do carbono e nitrogênio e avaliando o índice analítico mínimo detectável, observaram que é possível rastrear o uso de farinha de carne e ossos bovinos na alimentação de poedeiras; no albúmen, o nível mínimo de inclusão detectável é de 1,5% e, no ovo e na gema, 3,0%.

2.2. Metabolismo do cálcio e fósforo

O esqueleto consiste no reservatório de Ca e P do organismo e nas poedeiras essa função é crucial, uma vez que a casca do ovo contém aproximadamente 10% do Ca corporal total da ave (SOUZA et al., 2017). O cálcio pode ser oriundo da circulação sanguínea através da absorção intestinal do cálcio fornecido na dieta ou reabsorção óssea a partir dos ossos medulares, a tíbia e o úmero, ou em situações de deficiência de cálcio, também de ossos estruturais como o osso cortical (MAZZUCO, 2006).

O tecido ósseo é um tecido dinâmico que sofre constantes alterações nas condições de estado de equilíbrio. Existe balanço entre a formação e a reabsorção óssea. Além da função mecânica, o osso serve como grande reservatório de Ca^{2+} , pois cerca de 1% do Ca^{2+} do esqueleto é livremente trocado junto com 1% do Ca^{2+} do espaço periosteal (PIZAURO JÚNIOR et al., 2017). O cálcio plasmático existe complexado com ácidos orgânicos, ligado às proteínas e ionizado. Cerca de 6% do Ca total encontram-se complexados com citrato, fosfato e outros ânions, o restante está dividido em partes quase iguais entre a forma ligada à proteína albumina e a forma livre ionizada (DACKE et al., 1993). O nível do cálcio ionizado é mantido em concentração entre 1,1 e 1,3 mmol/L na maioria dos mamíferos, aves e peixes de água doce, sendo a forma biologicamente ativa (MATOS, 2008; PROSZKOWIEC-WEGLARZ e ANGEL, 2013). Segundo González e Silva (2019) o cálcio no organismo é encontrado na forma livre ionizada (cerca de 45%) e na forma orgânica, associada a moléculas tais como proteínas, principalmente albumina (cerca de 45%) ou a ácidos orgânicos (cerca de 10%).

No metabolismo do cálcio e fósforo, a Vitamina D é a responsável por regular o cálcio no organismo, ao realizar a homeostase de cálcio e fósforo em condições de desbalanceamento, elevando a absorção intestinal e reduzindo a excreção renal. Quando ocorre uma hipocalcemia há uma liberação do PTH (hormônio da paratireoide) que atua nos rins, fígado e osso. Nos rins, o PTH estimula a reabsorção de Ca e excreção de fosfato. Além disso, o PTH atua a nível hepático estimulando a conversão da Vitamina D3 em 1,25-Dihidroxicolecalciferol, que por sua vez estimula a reabsorção de Ca no rim, a absorção de Ca no intestino e mobilização de Ca nos ossos. Esse conjunto de fenômenos provoca um aumento da concentração de Ca plasmático e, por consequência, uma redução da secreção do PTH. Em uma situação de hipercalcemia ocorre a secreção da calcitonina. Esse hormônio inibe a mobilização do Ca ósseo e estimula a excreção de Ca e P. Independente do mecanismo de absorção de Ca, a vitamina D instiga um aumento na absorção de P através de mecanismos que estimulam um aumento no número de

transportadores de P no intestino. Quando ocorre menor absorção de cálcio, há um aumento da desmineralização óssea para suprir as exigências, e em excesso pode causar problemas ósseos (VERAS, 2020).

A vitamina D é classificada como lipossolúvel e absorvida no intestino e apresenta duas designações alternativas, Ergocalciferol (D2) e Colecalciferol (D3) (MUNIZ et al., 2018). O colecalciferol, forma não ativa, quando na corrente sanguínea é transportado na forma de portomicrons para o fígado, passa por uma hidroxilação que gera o 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD3), hidroxilação no rim produzindo a forma ativa 1-25-dihidroxicolecalciferol ou calcitriol (SANTOS, 2017). Com o aumento da idade a eficiência da primeira hidroxilação no fígado é reduzida. A deficiência de vitamina D, causa o raquitismo, redução no crescimento, hipocalcemia e entre outras ocorrências. Suas funcionalidades é absorver, transportar e utilizar o cálcio e fósforo eficientemente (RODRIGUES et al., 2005). A suplementação é uma forma de melhorar a qualidade do ovo na fase de postura, quando executada, zinco e manganês, vitamina D3, ou combinando esses dois minerais orgânicos com a vitamina D3, estudo mostra que a espessura da casca do ovo de poedeiras apresenta valores superiores (SANTOS, 2017).

Os minerais são essenciais no organismo animal, o cálcio e o fósforo em maiores quantidades devido as suas funcionalidades no metabolismo e importância para a qualidade da casca do ovo (MUNIZ et al., 2018). O fósforo auxilia nos níveis de bicarbonato, evitando a acidose. Já o manganês em conjunto com o zinco, são co-fatores de metaloenzimas que sintetizam o mucopolissacarídeo e o carbonato, que formam a matriz orgânica da casca, diminuindo a incidência de ovos sem casca. E o zinco, co-fator da anidrase carbônica que irá fornecer os íons carbonato para a formação da casca (CARVALHO e FERNANDES, 2013).

O PTH atua na absorção de cálcio e fósforo por meio da atividade óssea. Os níveis de PTH no sangue se mantêm elevados principalmente durante a fase de calcificação do ovo, ao elevar os níveis de cálcio e reduzir os níveis de fósforo. Tais hormônio agem regulando os fluxos de cálcio entre esses três órgãos e o fluido extracelular, de tal forma que, em condições normais, a concentração do cálcio varia menos do que 5%. Isso também assegura que o balanço do cálcio seja zero, ou seja, a quantidade de cálcio excretada é repostada pela absorvida no intestino (PROSZKO-WIEC-WEGLARZ e ANGEL, 2013).

Os genes da calbidina e transportadores atuam na codificação de proteínas que funcionam como canais de cálcio e transporte de íons, em associação com a calmodulina, onde sinaliza os canais. Para o controle do cálcio, a calcitonina inibe a desmineralização óssea, enquanto no rim diminui a reabsorção de Ca e fósforo nos túbulos. (SALMÓRIA et al., 2022; GONZALÉZ e SILVA, 2019).

A maioria do fósforo não esquelético concentra-se nas hemácias, nos músculos e no tecido nervoso. Auxilia na manutenção do equilíbrio ácido-base, sendo o principal sistema tamponante intracelular, na forma de fosfatos. Atua na utilização e transferência de energia via ATP, GTP, AMP, ADP, creatina-fosfato, glicídios fosfatados, além de que todos os monossacarídeos precisam estar fosforilados para entrarem nas vias metabólicas. Compõe os ácidos nucleicos e na atividade da bomba sódio/potássio. Envolvido na utilização de lipídeos, glicídeos, proteínas e nucleotídeos envolvidos na ação hormonal. Atua como componente estrutural e ativador de coenzimas (NAD, NADP), essenciais no metabolismo (GONZALÉZ e SILVA, 2019). De acordo com Dourado et al. (2014), a cinza óssea é o parâmetro que melhor avalia a liberação do P fítico da molécula de fitato, utilizando-se uma curva padrão (AUGSPURGER et al., 2003), elaborada com base em controles negativos deficientes em fósforo.

O tamanho do ovo está correlacionado com peso corporal da ave, e para que a ave corresponda com peso esperado, a nutrição está envolvida e requer manejos adequados desde a cria e recria. É observado que a espessura de casca dos ovos é influenciada linearmente com o aumento dos níveis de cálcio na dieta (BARRETO et al., 2007). Alguns estudos corroboram com estes resultados (FIGUEIREDO JÚNIOR et al., 2013; REIS et al., 2021). O cálcio influencia no aumento de cinza da tíbia, no tamponamento do pH intestinal, no aumento da digestibilidade, maior gravidade específica e percentual de casca e a reduzir a ocorrência de problemas em relação a deficiência (VIEIRA, 2009; PINTO et al., 2012). Os níveis de cálcio e fósforo depende de diferentes fatores, como a idade da ave, a fase produtiva, genética, ambiente e entre outros.

A alta exigência de minerais pelas aves, principalmente cálcio, é relacionada com a manutenção óssea ou formação da casca do ovo. Vellasco (2010) afirmou que rações contendo 4,5% de cálcio e relação cálcio:fósforo de 12,12:1, correspondendo a um consumo de cálcio de 3,71 g/ave/dia e de fósforo de 306 mg/ave/dia, garantem desempenho satisfatório em dietas para poedeiras leves no período de 24 a 40 semanas. Barreto et al. (2007) recomendam 3,2% de Ca na ração de codornas japonesas na fase inicial da fase de produção, correspondendo a um consumo diário de 882 mg de Ca/ave, ou de 87 mg de Ca/g de ovo, como exigência para obtenção de maior produção, excelente conversão alimentar (massa e dúzia de ovos) e conservação da qualidade dos ovos.

2.3.Enzimas

São conhecidas e classificadas, cerca de 2.000 enzimas e caracterizam-se por ter um alto grau de especificidade, consideradas catalisadores que não geram subprodutos, ou seja, não sofrem alterações durante a catálise e sua eficiência catalisadora é de 100 % e atuam em soluções intracelulares, isto é, em soluções aquosas sob condições de temperatura e pH moderadas (GONZALÉZ e SILVA, 2017).

Os objetivos da adição de enzimas exógenas em rações são eliminação de fatores antinutricionais, hidrólise de polissacarídeos não amiláceos, potencialização das enzimas endógenas e melhorar a digestibilidade dos nutrientes (ANNISON e CHOCT, 1991; LIMA et al., 2007; BEDFORD e COWIESON, 2012; KIARE et al., 2013; CHAMORRO et al.; DIÓGENES et al., 2017). Uma finalidade da adição de enzimas exógenas é melhorar a digestão de ingredientes alternativos como trigo, aveia, centeio e cevada (MURAKAMI et al., 2007). Todavia, em dietas a base de milho e soja, a adição de enzimas promove um melhor aproveitamento dos nutrientes, resultando em altos índices zootécnicos e redução nos efeitos ambientais, ao passo que alguns nutrientes como nitrogênio, fósforo, zinco e cobre, em excesso, não são absorvidos pelo trato gastrointestinal e eliminados nas excretas (NYACHOTI et al., 2006; DERSJANT-LI et al., 2015).

Barbosa et al. (2014) tratam a utilização das enzimas exógenas na dieta de aves como uma das melhores alternativas em termos financeiros ao produtor, pois melhoram a viabilidade do setor trazendo melhores resultados na digestibilidade dos alimentos, com isso acarretando melhoria no desempenho produtivo.

Segundo Dourado et al. (2014) estão sendo pesquisadas novas gerações de enzimas, com foco na melhoria da qualidade e da segurança dos alimentos, no potencial de atividade em diferentes idades da ave, com diversos locais de ação, diferentes faixas de pH e em diferentes doses, com intuito de promover melhor preditibilidade do efeito dessas enzimas no organismo dos animais de acordo com o tipo de alimento utilizado.

2.3.1. *Fitase*

O fósforo que é um importante mineral para a realização de atividades do metabolismo do animal, se encontra na forma indisponível, o fitato. As aves não produzem a enzima para degradar o fitato. A enzima fitase degrada o fitato, melhorando a digestibilidade por atuar nos fatores antinutricionais, inibindo o complexo proteína – fitato e tornando disponível outros minerais ao ocorrer a hidrólise do fitato (ALBINO et al., 2014).

De acordo com Dourado et al. (2014) no trato gastrointestinal superior, onde o meio é ácido, as fitases são mais eficientes, e sua molécula está no estado solúvel. No entanto, no intestino delgado (pH 6-7), a molécula de ácido fítico se liga a minerais como o cálcio e o zinco e forma precipitados insolúveis, que inibem a ação da fitase, dificultando a desfosforilação (AUGSPURGER e UGALDE, 2009).

A enzima fitase produzida pelo *Aspergillus niger* e tem como função de liberar parte do fósforo complexado na forma de fitato e melhorar a digestibilidade da proteína bruta e dos aminoácidos e a absorção de minerais (COSTA et al., 2004). Ligeiro (2007) observou que a adição de fitase nas rações possibilitou decréscimo na excreção do fósforo e redução de todos os parâmetros econômicos avaliados.

Segundo a pesquisa de Viana et al. (2009) os componentes de ovo não foram influenciados pelas rações, com exceção do peso da casca, que aumentou com a suplementação de fitase nas dietas e, a adição de 600 FTU de fitase melhorou o metabolismo dos nutrientes da dieta em poedeiras comerciais.

A pesquisa de Lima et al. (2010) observaram uma melhora no aproveitamento da energia das rações à base de milho e farelo de soja com a inclusão de fitase na ração e determinaram que os níveis de 195 e 186 uf/kg resultaram em maior aproveitamento da EMA e EMAn.

2.3.2. *Protease*

A utilização de exoenzimas, a protease por exemplo, contribui ao minimizar os custos da ração e melhorar a digestibilidade das proteínas dos grãos, além de visar a redução dos fatores anti-nutricionais em grãos ao realizar a hidrólise das proteínas que apresentam ligações peptídicas resistentes (kafirina no sorgo), e, portanto, incrementar a energia das rações com o melhor aproveitamento do amido, em conjunto com as proteases endógenas (SANTOS, 2020).

A adição de proteases exógenas aumenta o potencial desejável para a inativação de fatores antinutricionais, como lectinas, proteínas antigênicas e inibidores de tripsinas, presente, particularmente, nas leguminosas, podendo também auxiliar na atividade proteolítica das enzimas endógenas em animais jovens (DOURADO et al., 2014).

Conforme Vieira et al. (2016) relataram que a adição da protease reverteu os efeitos adversos da restrição nutricional sobre o peso do ovo, a altura do albúmen e a unidade Haugh e na morfologia intestinal aumentou a profundidade das criptas. A pesquisa de Rosário et al. (2018) identificaram que a inclusão de protease recupera o desempenho em relação às aves

consumindo dietas com níveis menores de nutrientes, estes resultados sugerem que a protease tem uma influência significativa na utilização de nutrientes.

Barbosa et al. (2020) avaliaram o efeito da adição de proteases em dietas de poedeiras em pico de produção e relataram que as galinhas alimentadas com redução nutricional apresentaram resultados piores quanto à massa e conversão por massa de ovos, no entanto, a adição de enzimas reverteu esses resultados.

Poudel et al. (2023) indicaram que a inclusão de protease em dietas com 5 e 10% de redução de aminoácidos digestíveis pode ajudar a melhorar a digestibilidade do PB e aminoácidos essenciais e manter o desempenho produtivo de dietas à base de milho e farelo de soja em postura de galinhas entre 30 a 50 semanas de idade.

2.3.3. *Xilanase*

As xilanases são glicosidases (enzimas) que realiza a hidrólise das ligações β -1,4 encontradas na xilana vegetal, componente da hemicelulose. Os compostos antinutricionais como os polissacarídeos não amiláceos (NSP) estão presentes em cereais viscosos utilizados na alimentação de aves. Portanto, enzimas exógenas são comumente adicionadas à alimentação de animais não ruminantes para degradar os polissacarídeos não amiláceos. A xilanase não apenas melhora o desempenho e a digestibilidade de galinhas poedeiras, mas também induz uma mudança significativa na composição microbiana no trato intestinal e, portanto, pode exercer um efeito prebiótico (VAN HOECK et al., 2021; FRANZINI et al., 2022).

No caso das xilanases, fontes de fibras com alta concentração de xilanos promovem um meio adequado para maior eficiência enzimática. Outro ponto é o pH do meio, xilanases apresentam atividade ótima em pH mais baixo, valores encontrados no proventrículo e moela, e podem perder eficiência ao encontrar meios com pH não ótimos (SILVA, 2019).

Conforme Pascoal e Watanabe (2014) a fibra solúvel é caracterizada por ser altamente fermentável e ter a capacidade de aumentar a viscosidade da digesta. Desta forma, a presença de PNA solúveis na dieta pode aumentar a viscosidade do quimo, levando à queda da taxa da difusão de partículas na digesta, com diminuição do contato enzimas-substratos (WENK, 2001; MONTAGNE et al., 2003; DROCHINER et al., 2004). Desta forma, a digestibilidade de nutrientes é prejudicada, sua absorção diminuída e o tempo de retenção da digesta no trato gastrointestinal aumentando (PASCOAL e WATANABE, 2014).

De acordo com o estudo de Morgan et al. (2021) ao examinar o fornecimento de um estimbiótico (xilanase + xilo-oligossacarídeos) e uma combinação de xilanase e beta-glucanase

para frangos de corte alimentados com dietas à base de trigo-cevada e resultados mostram que a suplementação com estímbiótico promoveu um efeito positivo comparativamente maior na hidrólise de polissacarídeos não amiláceos.

Conforme Machado et al. (2020) ao avaliar os efeitos da suplementação com xilanase e probiótico em frangos de corte alimentados com dietas com farelo de trigo, relataram que durante a fase inicial, a suplementação com xilanase, probióticos ou sua combinação proporcionou maiores ganhos de peso do que a dieta controle.

Em relação a parâmetros relacionados a qualidade dos ovos, Papadopoulou et al. (2022) relataram que enzima xilanase exógena suplementada em todos os níveis em dietas de galinhas poedeiras à base de trigo melhorou a cor da gema do ovo em comparação com o controle da dieta. A enzima suplementada no nível mais alto (90.000 U/g) melhorou o teor de gorduras poliinsaturadas e incluiu a gema de ovo monoinsaturada. Cufadar et al. (2011) concluíram que o trigo pode ser utilizado em substituição ao milho como alimento energético em dietas de galinhas poedeiras ao incluir a xilanase nas dietas.

2.3.4. Associação enzimática

Os complexos enzimáticos são a associação de enzimas exógenas comerciais com a finalidade de melhorar o aproveitamento dos nutrientes e os resultados zootécnicos, ao digerir frações pouco digestíveis ou indigestíveis dos ingredientes utilizados nas dietas das aves. Segundo Dourado et al. (2014) as enzimas exógenas que são adicionadas à dieta de forma suplementar às enzimas endógenas podem apresentar *feedback* negativo para a síntese de enzimas endógenas a longo prazo. Na prática, é comum a comercialização de *blends* com proteases ou amilases junto com PNAses para atuarem sobre os constituintes (proteína e amido) disponíveis para digestão pela degradação da parede celular

Quando utilizadas em dietas suplementadas com fitase, o tipo de protease interfere no desempenho, qualidade do ovo, ingestão de nutrientes e morfometria da mucosa intestinal de galinhas em pico de postura (VIEIRA et al., 2016). A fitase, quando usada sozinha, tem a atividade limitada por falta de acesso ao fitato, seu substrato, que se encontra na matriz dos PNAs. Adicionalmente, alguma ligação fibra solúvel-fósforo pode ser hidrolisada pelas glicosidases (xilanase, β -glucanase, α -galactosidase), liberando esse mineral para ser aproveitado pelo metabolismo energético do animal (DOURADO et al., 2014).

Ribeiro et al. (2015) avaliaram os efeitos da suplementação das enzimas amilase, fitase e protease de formas isoladas e em associação, em dietas para codornas japonesas em postura

e indicaram que as enzimas têm efeito benéfico, isoladamente ou em associação, mantendo o desempenho e qualidade dos ovos de codornas japonesas.

Lima et al. (2019) concluíram que o uso de um complexo multcarboidrase contendo fitase é capaz de compensar o impacto negativo de menores teores de nutrientes, melhorando o desempenho produtivo de poedeiras no segundo ciclo de produção. Conforme Walk e Poernama (2019) indicaram que a suplementação de fitase + xilanase restaurou o peso corporal e a conversão alimentar de frangos de corte alimentados com dietas reduzidas em Ca, energia e aminoácidos, e suplementação de protease em dietas contendo fitase e xilanase precisa de mais investigação.

Silva et al. (2018) afirmaram que o uso das enzimas de forma isolada ou associada se mostraram capazes de compensar as valorizações nutricionais consideradas por ocasião da formulação das dietas, o que indica que existe ainda margem para uma maior exploração dos benefícios do uso de enzimas na nutrição de poedeiras sobre cama.

De acordo com Ribeiro et al. (2015) ao avaliarem os efeitos da suplementação das enzimas amilase, fitase e protease isoladas e associadas em dietas para codornas japonesas em postura, identificaram influência benéfica das enzimas no desempenho e qualidade de ovos. Gouveia et al. (2020) avaliaram a produtividade e o metabolismo de codornas japonesas na fase de postura, ofertando rações à base de milho ou sorgo incluindo ou não xilanase e β -glucanase e identificaram que massa total de ovos foi maior nos tratamentos com inclusão das enzimas.

2.4. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são substâncias acidificantes que reduzem o pH na porção inicial do trato digestório para melhorar os níveis de pepsina e potencializar um efeito bactericida ou bacteriostática ao reduzir a capacidade das bactérias ligarem-se a parede intestinal da ave e aumentar a disponibilidade de cálcio, magnésio, ferro, cobre e zinco (ALBINO et al., 2014).

Os ácidos orgânicos reduzem o pH intracelular, causando modificações na permeabilidade da membrana com o bloqueio do substrato do sistema de transporte de elétrons. Os ácidos lipofílicos fracos como láctico, acético ou propiônico são capazes de passar através da membrana celular de microrganismos na forma não dissociado e dissociam-se no interior da célula, liberando os íons H^+ que diminuem o pH da célula. As células microbianas reagem eliminando os prótons tentando manter o pH constante e esse mecanismo apresenta um gasto de energia, reduzindo o crescimento celular microbiano (BELLAYER e SCHEUERMANN, 2004).

Soma-se a ação ácida e a capacidade de a ânion ácido ligar-se com diferentes cátions no meio, como cálcio, fósforo, manganês e zinco, aumentando a capacidade de absorção desses minerais (BLANCKARD,2000; LAWLOR et al., 2005)

Tavares (2017) verificou que a suplementação de ácidos orgânicos na dieta de poedeiras com idade avançada de produção não influenciou o desempenho produtivo, porém manteve a qualidade externa dos ovos. Gül et al. (2014) observaram um aumento da altura das vilosidades do intestino delgado. De acordo com Fascina et al. (2012) os ácidos orgânicos estão relacionados com o desenvolvimento da morfologia intestinal e com isso a absorção dos nutrientes é mais eficiente, proporcionando melhores resultados em desempenho e qualidade de ovos.

2.4.1. *Ácido fumárico*

De acordo com Bellaver e Scheuermann (2004) o ácido fumárico (COOHCH:CHCOOH) apresenta pKa de 3,03 e 4,47, solubilidade em H_2O baixa, forma sólida e com atividade tamponante relativa de 1,55. Faria et al. (2008) o ácido fumárico promoveu redução do pH, podendo contribuir para a inibição do desenvolvimento de microorganismos indesejáveis. Demonstrando que o mecanismo de ação dos ácidos orgânicos pode ser eficaz contra patógenos.

A adição dos níveis de ácido fumárico às rações proporciona redução no consumo, sem influir no ganho de peso, melhorando, assim, a conversão alimentar (RUNHO et al, 1997). Reda et al. (2021) uma suplementação de ácido fumárico (especialmente 15 g/kg de dieta) em dietas de pintainhas de codornas japonesas melhorou seu crescimento, digestibilidade de nutrientes, resposta imune, status antioxidante, enzima digestiva e saúde intestinal.

Fernández et al. (2021) avaliaram a força da imersão do peito de frango em soluções de ácido láctico, málico e fumárico a 3% por 15s na contagem de *Salmonella*, bem como na qualidade e características sensoriais da carne de frango. O ácido fumárico foi o mais eficaz na redução de *Salmonella*, e a qualidade da carne de frango e as características sensoriais foram significativamente apreciadas, mesmo cozido.

2.4.2. *Ácido cítrico*

Segundo Bellaver e Scheuermann (2004) o ácido cítrico ($\text{COOHCH}_2\text{C}(\text{OH})(\text{COOH})\text{CH}_2\text{COOH}$), com pKa de (3,14; 5,95; 6,39), solubilidade de H_2O boa, forma sólida e atividade tamponante relativa de 1,41. O pKa refere-se ao valor do pH em que o ácido está disponível, 50% em sua forma dissociada e 50% na indissociada, a forma indissociada é a que possui ação antimicrobiana e o alto valor de pKa são presentes em ácidos mais fracos.

O ácido cítrico é o segundo com maior capacidade de reduzir o pH das dietas (MENTEN et al., 2014). É metabolizado no ciclo de Krebs para gerar energia e consequentemente melhora o desempenho dos animais. Este ácido também pode prevenir a oxidação de lipídios, apresentando capacidade antioxidante (BRAZ, 2007; VILAS BOAS, 2014).

Watanabe (2021) identificou que doses isoladas de anacardato de cálcio ou associadas com o ácido cítrico podem ser adicionadas na ração de poedeiras leves até o nível de 0,75%, sem que ocorram alterações no desempenho, qualidade dos ovos e bioquímico sérico no período de 63 a 75 semanas de idade.

Mirakzehl et al. (2022) concluíram que a suplementação de *S. cerevisiae* e ácido cítrico como alimento funcional aditivos, isoladamente ou em combinação, podem ser uma alternativa potencial a antibióticos na dieta de codornas japonesas em postura.

Fikry et al. (2021) avaliaram a adição de ácido cítrico em dietas de codornas japonesas e observaram que os níveis de imunoglobulina (IgG) foram maiores nos grupos com inclusão de 5 ou 10 g/kg de ácido cítrico do que no grupo controle, melhorando a resposta imune da ave e contribuindo para sua saúde e crescimento. E identificaram menor conteúdo cecal de bactérias patogênicas, incluindo Coliformes, *E. coli* e *Salmonella*.

2.4.3. Associação de ácidos

A associação de ácidos tem o intuito de ampliar o poder de ação. De acordo com Park et al. (2009) os ácidos orgânicos efetivamente controlam o crescimento de microrganismos patogênicos. Quando adicionados na alimentação pode diminuir o pH gástrico. O baixo pH gástrico acelera a conversão de pepsinogênio em pepsina, o que melhora a taxa de absorção de proteínas, aminoácidos e minerais.

Maiorka et al. (2004) ao avaliar o melhor uso de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico na dieta de aves jovens, demonstraram que ácidos orgânicos são capazes de melhorar o desempenho de aves de 1 a 21 dias de idade até mesmo na ausência do promotor de

crescimento na dieta, porém não apresentaram nenhum efeito sobre a morfologia intestinal das aves, bem como sobre a utilização dos lipídios em aves até os 21 dias de vida.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local, dietas e esquema experimental

O experimento foi conduzido no Módulo de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, no município de Areia – PB, no período de agosto a dezembro de 2022.

Foram utilizadas 320 galinhas poedeiras leves da linhagem Hy-Line a partir de 44 semanas de idade, distribuídas em cinco tratamentos, organizados em um delineamento inteiramente casualizado com oito repetições e oito aves por unidade experimental. O experimento teve duração de 112 dias, divididos em quatro períodos de 28 dias.

As galinhas foram alojadas em galpões cobertos com telhas de barro e abertos, com renovação constante do ar e em gaiolas de arame galvanizado com dimensões de 45×50×30cm.

A ração e a água foram fornecidas à vontade em comedouros do tipo calha e bebedouros do tipo copinho, respectivamente. O fotoperíodo utilizado foi de 17 horas de luz e 7 horas de escuro. As dietas foram formuladas com base nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2017).

O aditivo adicionado as dietas, como substituto das fontes convencionais de fósforo e cálcio (fosfato bicálcico e farinha de carne), é um blend de enzimas e ácidos orgânicos na seguinte composição: ácido fumárico (59,70g/kg), ácido cítrico (59,40g/kg), fitase (1.200U/g), protease (4.000U/g) e xilanase (1.000U/g). O aditivo substituiu o fosfato bicálcico e a farinha de carne em 50 e 100%, com adições de 0,5 e 1,0 kg/ton, compondo cinco tratamentos, como mostra na Tabela 1.

3.2. Desempenho zootécnico

O desempenho zootécnico foi avaliado a partir da produção de ovos (%), do peso de ovo (g), do consumo de ração (g/ave/dia), da massa de ovos (g/ave/dia), e da conversão alimentar por dúzia (kg/dúzia) e por massa de ovos (kg/kg).

A produção foi calculada pela relação do número de ovos produzidos pelo número de aves alojadas, por período, multiplicando-se o valor por 100.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Tratamentos*				
	1AD	0,5AD50FCO	100FCO	0,5AD50FB	100FB
Milho	65,735	63,034	60,584	61,118	56,758
Farelo de soja	24,323	23,789	23,214	26,531	28,690
Óleo de soja	-	1,216	2,348	1,748	3,410
Calcário fino	4,483	4,202	3,910	4,381	4,269
Calcário grosso	4,483	4,202	3,910	4,382	4,269
Far.Carne/ossos	-	2,550	5,100	-	-
Fosfato Bicálcico	-	-	-	0,889	1,776
Bicarbonato de sódio	0,134	0,139	0,145	0,107	0,080
Sal comum	0,298	0,272	0,245	0,304	0,309
L- Lisina	0,042	0,060	0,079	0,030	0,020
DL – Metionina	0,199	0,210	0,220	0,202	0,204
L- Treonina	0,023	0,040	0,057	0,027	0,030
Adsorvente ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Premix vitamínico ³	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Cloreto de colina	0,005	0,013	0,021	0,008	0,011
Caulin	-	0,050	-	0,050	-
Aditivo ⁴	0,100	0,050	-	0,050	-
Total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Custo (R\$/kg)	1,48	1,59	1,69	1,63	1,77
Níveis nutricionais					
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.900,00	2.900,00	2.900,00	2.900,00	2.900,00
Proteína Bruta (%)	17,500	17,500	17,500	17,500	17,500
Gordura bruta (%)	2,770	4,118	5,389	4,382	5,916
Cálcio (%)	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000
Fósforo disponível (%)	0,420	0,420	0,420	0,420	0,420
Lisina digestível (%)	0,812	0,812	0,812	0,812	0,812
Metionina digestível (%)	0,439	0,447	0,455	0,441	0,442
Met+Cis digestível (%)	0,674	0,674	0,674	0,674	0,674
Treonina digestível (%)	0,581	0,581	0,581	0,581	0,581
Tritofano digestível (%)	0,183	0,177	0,170	0,188	0,192
Colina (mg/kg)	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200
Sódio (%)	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180
Cloro (%)	0,240	0,240	0,240	0,240	0,240
Balanço eletrolítico (mEq/kg)	188,000	188,000	188,000	188,000	188,000

*1AD= 1,0 kg de aditivo por tonelada; 0,5AD50FCO= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% da farinha de carne e ossos; 100FCO= 100% de farinha de carne e ossos; 0,5AD50FB= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% de fosfato bicálcico; 100FB= 100% de fosfato bicálcico;

¹Bentonita;

²Fornecido (por quilo de dieta): 66 mg de Fe (FeSO₄.7H₂O), 83 mg de Zn (ZnSO₄.7H₂O), 80 mg de Mn (MnSO₄.H₂O), 1 mg de I (KI) e 6,8 mg de Cu (CuSO₄.5H₂O).

³Fornecido (por quilo de dieta): 11.700 UI de vitamina A; 3600 UI de vitamina D₃; 21 UI de vitamina E; 4,2 mg de vitamina K₃; 3,0 mg de vitamina B₁; 10,2 mg de vitamina B₂; 0,9 mg de ácido fólico; 15 mg de pantotenato de cálcio; 45 mg de niacina; 5,4 mg de vitamina B₆; 24 µg de vitamina B₁₂ e 150 µg de biotina.

⁴Fornecido (por quilo de dieta): 59,70g de ácido fumárico, 59,40 g de ácido cítrico, 1.200.000 U de fitase, 4.000.000 U de protease e 1.000.000 de xilanase.

O consumo de ração foi determinado a partir da diferença entre a quantidade de ração fornecida no início e as sobras existentes no final de cada período, sendo corrigido de acordo com a mortalidade das aves.

Para determinar o peso dos ovos, todos os ovos da parcela foram pesados em balança digital de quatro dígitos (0,0001g) e em seguida foi calculado o peso médio dos ovos.

A massa de ovos foi calculada multiplicando-se a produção pelo peso dos ovos.

A conversão por dúzias foi calculada dividindo o consumo de ração pelo número de dúzias de ovos produzidos, sendo corrigida para a mortalidade das aves.

A conversão por massa de ovos foi obtida a partir da razão entre consumo de ração e o peso do ovo.

3.3. Qualidade dos ovos

Nos três últimos dias de cada período foram realizadas as avaliações de qualidade de ovo. Foram avaliadas a percentagem de gema (%), albúmen (%) e casca (%), espessura da casca (mm), gravidade específica (g/cm³), cor da gema e Unidade Haugh.

A gravidade específica foi determinada de acordo com o método descrito por Freitas et al. (2004) que se baseia no princípio de Arquimedes, no qual a gravidade específica é obtida pelo cálculo em que se divide o valor do peso do ovo no ar pelo peso da água quando o ovo é completamente submerso, corrigido pelo fator de correção em função da temperatura da água.

A cor da gema e a Unidade Haugh foram determinadas utilizando o Egg Tester Plus™ (ORKA Food Technology Ltd). O sistema detecta, calcula e relata valores para a cor da gema (escala de 1 a 15 cores com base no leque de cores da gema DSM/Roche).

O peso da gema de cada ovo foi obtido separadamente em balança digital de quatro dígitos (0,0001g).

O peso de albúmen foi determinado a partir da diferença entre o peso do ovo subtraído o peso da gema e o peso da casca do ovo.

As porcentagens de gema e de albúmen foram determinadas pela relação entre o peso médio de cada um dos componentes e o peso médio do ovo.

As cascas dos ovos foram identificadas, secas em estufa a 55-60°C por 24 horas e pesadas em balança digital com precisão de 0,0001g para obtenção do peso médio das cascas. A percentagem da casca foi obtida através da relação entre o peso médio da casca sobre o peso médio do ovo multiplicado por 100.

Para determinar a espessura de casca, foi utilizado um micrômetro digital Mitutoyo de 0-25 mm, com precisão de 0,001 mm.

3.4. Tempo de prateleira dos ovos

Os ovos foram acondicionados sob temperatura ambiente e as mesmas avaliações de qualidade acima descritas foram realizadas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de armazenamento. Foram quebrados 2 ovos por parcela em cada dia de avaliação.

3.5. Análise econômica

A análise econômica foi realizada a partir do custo da alimentação, dúzia de ovos, custo da ração por dúzia de ovos, receita bruta, margem bruta e margem bruta relativa, utilizando a metodologia de Bezerra et al., (2015).

O custo de alimentação no período foi calculado dividindo-se o consumo de ração pelo custo por tonelada de ingredientes.

O custo de arração por dúzia de ovos foi obtido dividindo-se o custo de arração no período pela quantidade de dúzias de ovos.

A renda bruta foi calculada multiplicando-se o custo de uma dúzia de ovos (R\$4,80) pelo número de dúzias de ovos produzidos por tratamento.

A margem bruta foi calculada reduzindo a renda bruta pelo custo de alimentação no período.

A margem bruta relativa foi calculada com base em 100% para o primeiro tratamento (referência) e a margem bruta relativa dos demais tratamentos foi calculada usando a razão entre a margem bruta do tratamento e a margem bruta do tratamento referência, multiplicado por 100.

3.6. Análises ósseas

Ao final do experimento, foi realizado o abate de oito aves por tratamento e coletadas as tíbias esquerdas de cada ave. As tíbias foram coletadas, descarnadas e congeladas. As análises realizadas foram índice Seedor, resistência óssea e teores de matéria mineral, cálcio e fósforo.

Para avaliação do índice Seedor as tíbias foram descongeladas em estufa à 30°C por 2 horas e em seguida retirou-se os músculos e cartilagens remanescentes. Para a determinação do Índice de Seedor (SEEDOR et al., 1991), pesou-se as tíbias em balança digital de precisão 0,0001 g e mediu-se o comprimento com o auxílio de um paquímetro eletrônico digital, e então, utilizou-se a seguinte fórmula: $IS = \text{peso do osso (mg)} / \text{comprimento do osso (mm)}$.

A resistência óssea foi realizada em um texturômetro universal de teste TA-XT Plus Stable Micro Systems (Surrey, UK) com uma célula de carga de 50 kg a uma velocidade de 50 mm/min. O acessório para fratura Point Bend Rig (HDP/3PB), Stable Micro Systems, foi regulado para permitir que o vão livre da diáfise fosse de 3,0 cm, e os valores foram expressos em kilograma força (kgf) (PARK et al., 2003).

Para as análises dos teores de matéria mineral, cálcio e fósforo, as tíbias ficaram em estufa por 72 horas à 65°C, em seguida foram moídas. Foi preparado solução mineral das amostras conforme os métodos de Silva e Queiroz (2002).

Para a determinação de Ca, as amostras foram analisadas em espectrômetro de absorção atômica, com atomizador de chama, modelo iCE 3500 (Thermo scientific, Cambridge, Inglaterra). Como fonte de radiação primária foi utilizada uma lâmpada de cátodo oco contendo Ca (Photron, Victoria, Austrália), e a correção de fundo foi feita com uma lâmpada de deutério acoplada ao equipamento. A curva padrão foi preparada com uma solução padrão de Cálcio (Specsol, São Paulo, Brasil). Os parâmetros instrumentais foram utilizados de acordo com as recomendações do fabricante e os dados foram processados utilizando-se o software SOLAAR (Thermo scientific, Cambridge, Inglaterra).

O teor de fósforo foi analisado por espectrofotometria em espectrofotômetro UV-VIS modelo UV-5100 (Metash Instruments, Shanghai, China) de acordo com metodologia proposta por Rangana (1979)

3.7. Análise sanguínea

A coleta das amostras foi realizada através de sangria do plexo braquial, o sangue foi coletado em tubos com gel separador – Microtainer Becton Dickson® – que foram centrifugados por 10 minutos a 3500 rpm, obtendo o soro para determinação dos parâmetros bioquímicos. E nesse processo foram verificadas as dosagens do íon Cálcio e Fósforo no aparelho bioquímico automatizado ChemWell-T®.

3.8. Análise estatística

As análises foram feitas com uso do SAS (2011). Os resultados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, para verificar a normalidade. Em seguida foram submetidos a ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa para as variáveis de produção, consumo de ração, massa de ovos e conversão alimentar por massa e por dúzias (Tabela 2). Não houve diferença significativa na variável de peso do ovo.

Tabela 2. Desempenho zootécnico de galinhas poedeiras leves, de 40 a 55 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo

Variáveis**	Tratamentos*					P-valor	CV, %
	1AD	0,5AD50FCO	100FCO	0,5AD50FB	100FB		
PR, %	98,20a	96,03b	98,11 ^a	97,20ab	97,97 ^a	<0,0001	0,875
CR, g/ave/dia	111,55 b	108,54c	111,02b	111,02b	114,31 ^a	<0,001	1,222
PO, g	65,68	64,73	65,12	65,68	65,74	0,3548	1,802
MO, g	64,49a	62,15c	63,90 ^a	63,84ab	64,41 ^a	0,0008	1,500
CAM, kg/kg	1,73b	1,75ab	1,74ab	1,74ab	1,78 ^a	0,0059	1,272
CADZ, kg/dúzia	1,36b	1,36b	1,36b	1,37ab	1,40 ^a	0,0004	1,238

*1AD= 1,0 kg de aditivo por tonelada; 0,5AD50FCO= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% da farinha de carne e ossos; 100FCO= 100% de farinha de carne e ossos; 0,5AD50FB= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% de fosfato bicálcico; 100FB= 100% de fosfato bicálcico;

**PR= produção; CR= consumo de ração; PO= peso do ovo; MO= massa de ovo; CAM= conversão alimentar por massa de ovo; CADZ= conversão alimentar por dúzia de ovos; CV= coeficiente de variação. Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

O aditivo testado obteve percentuais de produção elevados, não diferindo dos tratamentos com 100% fosfato bicálcico e 100% de farinha de carne e ossos. Entretanto, ao associar o aditivo com as fontes convencionais, houve uma queda na produção. Ainda promoveu um consumo de ração menor do que o tratamento com fosfato bicálcico, resultando em índices de conversão alimentar mais baixos.

Provavelmente as enzimas exógenas facilitaram a disponibilização de nutrientes, o que não afetou o desempenho e qualidade dos ovos das aves. Conforme Campos et al. (2017) e Maciel et al., (2020), a utilização do complexo enzimático pode melhorar o aproveitamento de todos os nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho zootécnico das aves. Já está bem

documentado que a fitase dietética tem efeitos positivos sobre o desempenho produtivo das aves (Selle e Ravindran, 2007). Os benefícios resultam do fato de que a fitase aumenta a utilização de P e outros nutrientes, como Ca e aminoácidos (Singh, 2008).

Acredita-se também que os ácidos orgânicos tenham reduzido o pH intestinal e, de acordo com Menten et al. (2014), essa redução no pH pode aumentar a atividade enzimática e, por consequência, potencializar a digestão e absorção dos nutrientes. Além disso, os ácidos se complexam com minerais, o que resulta em aumento da retenção (BLANCKARD, 2000; LAWLOR et al., 2005)

Segundo Sugiyama et al. (2007), em todo o intestino das aves ocorre expressão do gene da proteína ligadora de cálcio e de acordo com Bergard (2000), essa expressão sofre influência positiva do aumento da concentração de H^+ . Provavelmente, no lúmen intestinal, os ácidos orgânicos dissociados podem ter promovido um aumento da retenção de Ca e por isso a retirada do fosfato bicálcico e farinha de carne das rações não prejudicou o desempenho das aves. Habib et al. (2021) ao suplementar poedeiras com fitase observaram redução no consumo de ração, melhora na conversão alimentar e aumento da produção, mas não observaram diferença para o peso do ovo.

Taylor et al. (2018) observaram uma associação positiva entre fitase e xilanase para a conversão alimentar. Segundo os autores, a melhora dessa relação é atribuída ao aumento da disponibilidade de nutrientes no substrato degradado pela fitase. Além disso, a presença da xilanase aumenta a permeabilidade da aleurona da parede celular vegetal, presente nas dietas, melhorando a ação da fitase na degradação do fitato.

Com relação a qualidade dos ovos, os dados encontram-se na Tabela 3. Não houve diferença significativa para espessura da casca e. Foi encontrado diferença significativa para percentuais de albúmen, gema e casca, além da unidade Haugh e gravidade específica.

O percentual de casca foi maior na associação do aditivo com o fosfato bicálcico, os demais tratamentos não diferiram. O valor de percentual de albúmen foi maior para o tratamento com 100% de fosfato bicálcico, entretanto não difereu dos tratamentos que continham os aditivos. A unidade Haugh, assim como o percentual de albúmen, foi maior no tratamento com 100% fosfato bicálcico, entretanto não diferiu no tratamento com o aditivo isolado e com o aditivo associado ao fosfato bicálcico. Os tratamentos com farinha de carne e ossos obtiveram os piores resultados de unidade Haugh.

Tabela 3. Qualidade de ovos de galinhas poedeiras leves, de 40 a 55 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo

Variáveis**	Tratamentos*					P-valor	CV, %
	1AD	0,5AD50FCO	100FCO	0,5AD50FB	100FB		
EC, mm	0,380	0,386	0,383	0,377	0,384	0,1041	1,6842
PC, %	9,92b	9,92b	9,95b	10,28 ^a	9,99b	<0,0001	1,4863
PA, %	64,24ab	64,41ab	63,63b	64,53ab	65,01 ^a	0,04	1,2960
PG, %	25,84ab	25,67ab	26,42 ^a	25,20b	25,00b	<0,0001	1,4109
GE, g/cm ³	1,0881a	1,0828b	1,0826b	1,0825b	1,0826b	0,0346	0,3736
UH	82,77ab	80,69c	82,47b	82,96ab	83,895 ^a	<0,0001	1,0943
CG	5,6a	5,3c	5,5b	4,9d	4,9d	<0,0001	1,1868

*1AD= 1,0 kg de aditivo por tonelada; 0,5AD50FCO= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% da farinha de carne e ossos; 100FCO= 100% de farinha de carne e ossos; 0,5AD50FB= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% de fosfato bicálcico; 100FB= 100% de fosfato bicálcico;

**EC= espessura da casca; PC= percentual de casca; PA= percentual de albúmen; PG= percentual de gema; GE= gravidade específica, UG= unidade Haugh; CG= cor da gema; CV= coeficiente de variação. a,b,c= médias na mesma linha seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Ao adicionarem um blend, contendo ácido fumárico e ascórbico, nas dosagens de 300 e 450 mg/kg, em dietas de galinhas poedeiras, Wang et al. (2019) notaram um aumento na resistência da casca e cor da gema. Gong et al. (2021) adicionaram ácido benzóico nas dosagens 1 e 2 mg/kg e observaram aumento na altura do albúmen e da unidade de Haugh, fatores que estão relacionados com a proteína do ovo.

Com relação ao tempo de prateleira dos ovos, os resultados encontram-se nas Figuras 1 e 2. Durante o período de armazenamento a temperatura e umidade relativa do ar foram 27°C e 62,48%, respectivamente.

Como esperado, o tempo reduziu a espessura da casca, percentual de casca, percentual de albúmen, unidade Haugh, gravidade específica e cor da gema, e aumentou o percentual de gema, o que resulta em uma pior qualidade dos ovos. Entretanto, ao avaliar os a inclusão de 1 kg/ton do aditivo em estudo dentro dos tempos, observou-se que o aditivo proporcionou ovos de qualidade melhor, quando comparado a outros tratamentos

Segundo Brandão et al. (2014), ovos com 7 e 14 dias apresentam perda de peso significativa quando comparado a ovos armazenados de 21 dias em diante, independente da temperatura de estocagem e, de acordo com Holanda e Holanda (2020), a qualidade interna do ovo diminui de maneira contínua e gradual desde o dia da postura. Por isso ocorre de acordo com Nadia et al. (2012) a umidade do ovo é perdida pela evaporação através dos poros presentes na casca. De acordo com Santos et al. (2009) ovos armazenados em temperatura ambiente perdem mais peso do que estocados sob refrigeração. Quanto mais tempo armazenado em

temperatura ambiente, maior alteração na qualidade interna dos ovos, resultando em redução dos valores de albúmen e unidade Haugh (RAMOS et al., 2010).

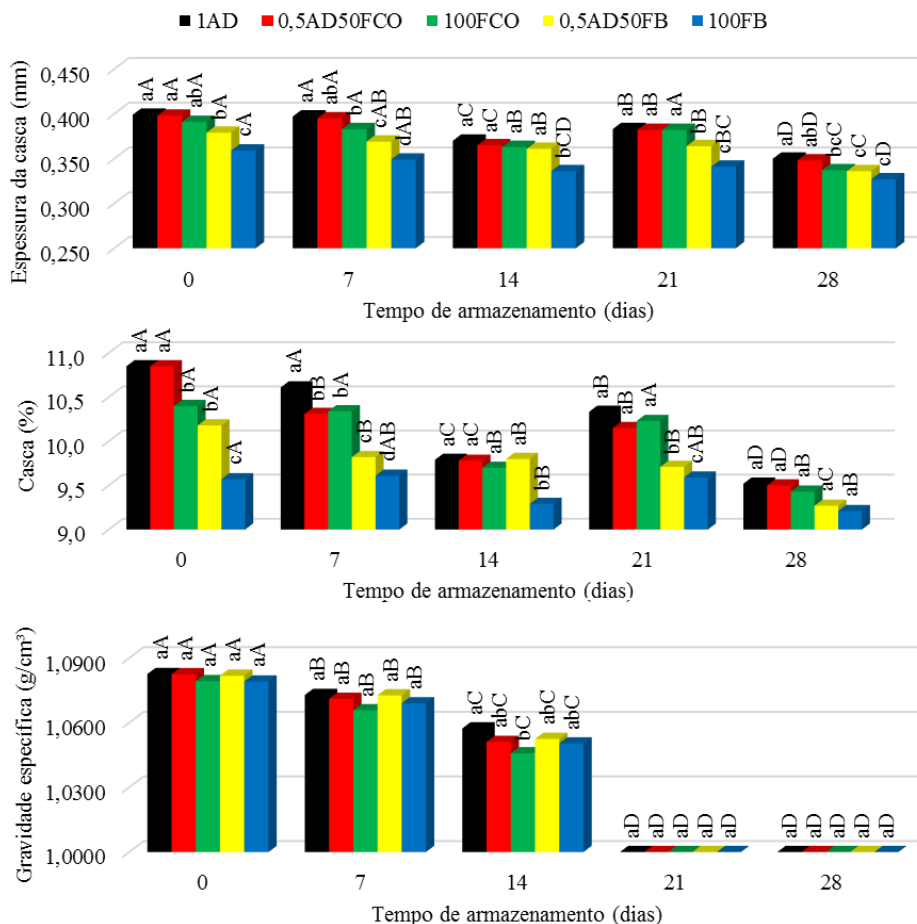


Figura 1. Efeito do tempo de prateleira sobre a qualidade externa de ovos de galinhas poedeiras leves, com 50 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo. 1AD= 1,0 kg de aditivo por tonelada; 0,5AD50FCO= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% da farinha de carne e ossos; 100FCO= 100% de farinha de carne e ossos; 0,5AD50FB= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% de fosfato bicálcico; 100FB= 100% de fosfato bicálcico. Letras minúsculas comparam as rações em um mesmo tempo de armazenamento, as letras maiúsculas fazem o inverso. Letra igual não diferem pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Conforme Hassan e Aylin (2009), durante a perda de umidade, há também perda de dióxido de carbono. A perda de umidade e de dióxido de carbono aumentam o pH da gema e albúmen, fatores relacionados com a queda da qualidade (EKE et al., 2013).

Há inúmeros trabalhos que confirmam uma redução na qualidade dos ovos em função do tempo de armazenamento (GARCIA et al., 2010; FIGUEIREDO et al., 2011; FREITAS et al., 2011; QUADROS et al., 2011), entretanto há poucos trabalhos avaliando os efeitos de blends de enzimas e ácidos orgânicos.

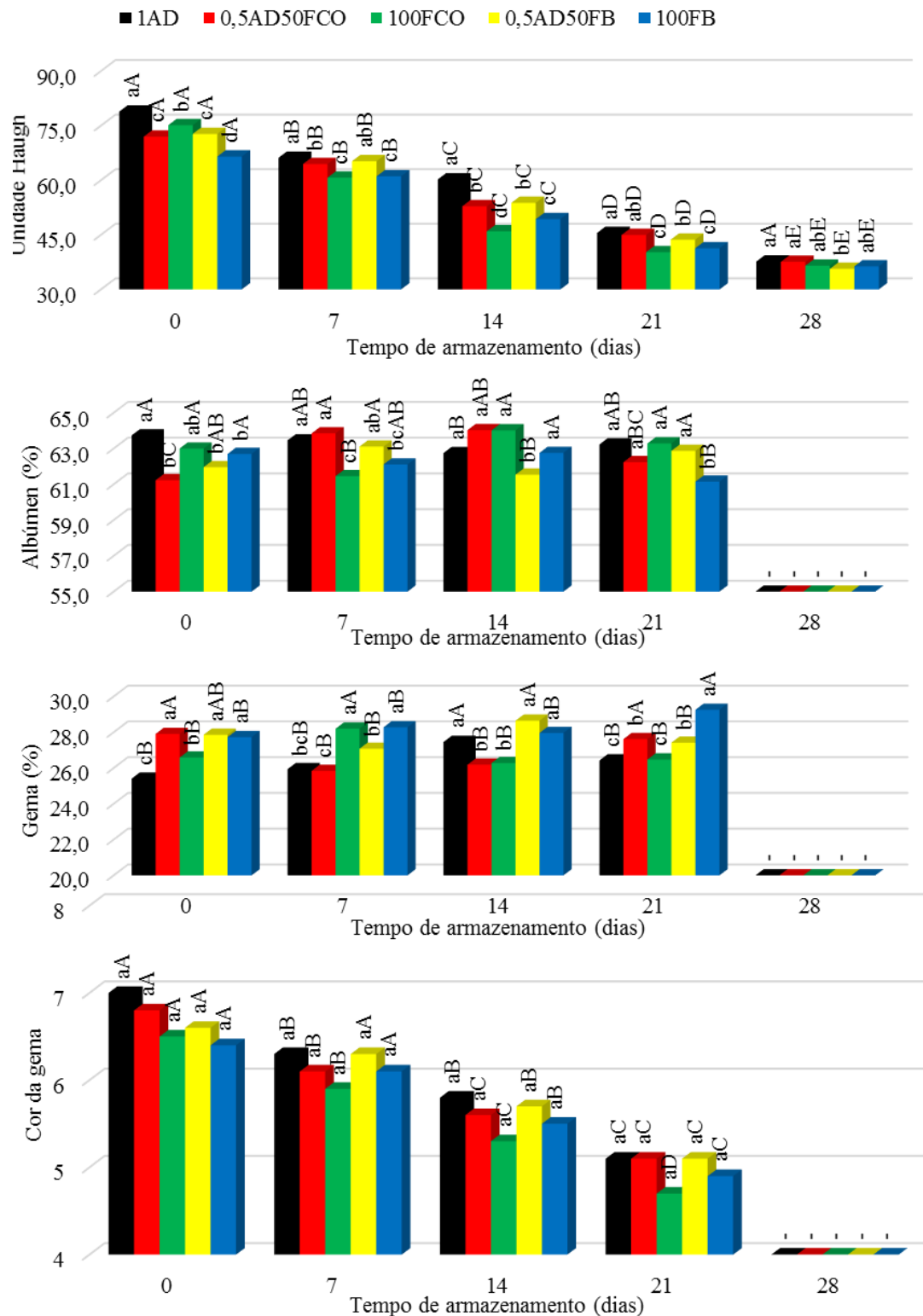


Figura 2. Efeito do tempo de prateleira sobre a qualidade interna de ovos de galinhas poedeiras leves, com 50 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo. 1AD= 1,0 kg de aditivo por tonelada; 0,5AD50FCO= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% da farinha de carne e ossos; 100FCO= 100% de farinha de carne e ossos; 0,5AD50FB= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% de fosfato bicálcico; 100FB= 100% de fosfato bicálcico. Letras minúsculas comparam as rações em um mesmo tempo de armazenamento, as letras maiúsculas fazem o inverso. Letra igual não diferem pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Hassanien e Sanaa (2011) relataram que a inclusão de fitase melhoram a formação da casca do ovo, levando à uma estrutura mais rígida, provavelmente, devido a maior disponibilidade minerais. É provável que as enzimas no aditivo promoveram uma casca menos porosa, que resultou em menor troca de gases dos ovos mantendo a qualidade melhor que os demais tratamentos. Como o tempo de armazenamento influencia no aumento do pH dos componentes do ovo, e o mesmo está relacionado com a qualidade, os ácidos orgânicos da dieta podem ter resultado em um pH mais baixo e melhorado a qualidade dos ovos.

Aos 28 dias não foi possível determinar os pesos de gema e albúmen pois havia o rompimento da membrana da gema, dificultando a separação. De acordo com Marinho (2011) o ácido carbônico (H_2CO_3), que faz parte do sistema tampão do albúmen, dissocia-se, formando água e gás carbônico, que é perdido para o meio externo, resultando em um aumento do pH. À medida que o pH da gema também aumenta, as ligações entre as moléculas que compõem a membrana da gema e enfraquece, a água do albúmen passa para a gema podendo rompê-la.

A respeito da cor da gema nota-se que as enzimas e ácidos promoveram gemas mais pigmentadas e com relação ao tempo, a cor da gema diminuiu em todos os tratamentos. Segundo Souza (2022) a gema absorve água do albúmen e se torna mais translúcida, isso diluí a coloração avermelhada para amarelo. Nos estudos de Garcia et al. (2015), os autores identificaram redução da coloração da gema de ovos de codornas a partir de 7 dias, dados que corroboram com o presente trabalho. De acordo com Barbosa Filho (2004) a cor da gema está relacionada com a presença de agentes pigmentantes presentes na dieta dos animais. É provável que as enzimas tenham disponibilizado mais agentes pigmentantes contidos na ração para as aves, consequentemente ovos com gema mais escura.

Com relação a análise econômica, pode-se observar na Tabela 4 que a inclusão de 1 kg/ton do aditivo proporcionou uma margem bruta 16,76 e 10,05% maior do que a utilização de fosfato bicálcico e farinha de carne e ossos, respectivamente. Isso mostra que a utilização do aditivo é uma alternativa viável.

As dietas com inclusão de aditivo possuem um menor custo por tonelada de ração. As inclusões do fosfato bicálcico e farinha de carne e ossos são 17,76 e 51 vezes, respectivamente, maior que a inclusão do Aditivo. Adição do *blend* promoveu uma redução de custo por reduzir a inclusão de fosfato e farinha de carne nas formulações. Em dietas formuladas apenas com fosfato, a redução de custo é mais evidentemente, o aditivo reduz a inclusão de fosfato, e o ajuste na formulação será realizado pelo aumento da proporção de milho e saída de óleo, uma

vez que as enzimas também disponibilizam energia. Por outro lado, em dietas com farinha de carne, a redução de custos não é acentuada como nas dietas com fosfato, porém a entrada do aditivo diminui a inclusão de farinha de carne e aumenta a de farelo de soja, sendo ajustada a proporção de outros ingredientes na formulação.

Tabela 4. Análise econômica da inclusão de aditivos substitutivos às fontes de cálcio e fósforo em dietas de galinhas poedeiras leves de 40 a 55 semanas de idade

Variáveis**	Tratamentos*				
	1AD	0,5AD50FCO	100FCO	0,5AD50FB	100FB
CRP, kg/ave	12,49	12,16	12,43	12,43	12,80
CTR, R\$/ton	1480,00	1590,00	1690,00	1630,00	1770,00
CAP, R\$/ave	18,49	19,33	21,01	20,27	22,66
DOP, dz/ave	9,17	8,96	9,16	9,07	9,14
CAD, R\$/dz	2,02	2,16	2,29	2,23	2,48
RB, R\$	43,99	43,02	43,95	43,55	43,89
MB, R\$	25,50	23,69	22,94	23,28	21,23
MBR, %	100,00	92,90	89,95	91,27	83,24

*1AD= 1,0 kg de aditivo por tonelada; 0,5AD50FCO= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% da farinha de carne e ossos; 100FCO= 100% de farinha de carne e ossos; 0,5AD50FB= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% de fosfato bicálcico; 100FB= 100% de fosfato bicálcico.

**CRPT= consumo de ração no período; CTR= custo por tonelada de ração; CAP= custo de arraçãoamento no período; DOP= dúzia de ovos produzidos no período; CAD= custo de arraçãoamento por dúzia de ovo; RB= renda bruta; MB= margem bruta; MBR= margem bruta relativa.

Certamente a retirada desses ingredientes reduz o os custos, uma vez que, segundo Roque (2018), o fósforo é o nutriente mais caro das rações. De acordo com Fukayama et al. (2008) o uso da fitase e uma alternativa que melhora a disponibilidade do fósforo para o animal, que ao quebrar o fitato liberam, além de fósforo, minerais (cálcio, ferro, manganês, cobre, zinco), energia e proteínas.

Plumstead (2008) verificou uma redução de aproximadamente 0,53 €/t com redução de 30% dos níveis de fosfato bicálcico e inclusão de 600 FTU fitase/kg em dietas em poedeiras. Roque (2018) observaram o custo da dieta com 30% de redução do fosfato bicálcico e suplementado com 600 FTU fitase foi reduzido em BRL 0,353/100g em comparação com a dieta controle (dieta convencional, não suplementada com fitase). Segundo Dorneles (2017), do ponto de vista econômico, a suplementação de complexo multi-enzimático é uma estratégia na redução dos custos de produção, sem alterar o desempenho de suínos.

Há muitos estudos avaliando a utilização de ácidos orgânicos sobre o despenho e qualidade de ovos, mas há poucos trabalhos que avaliem a viabilidade econômica. Vasconcelos et al. (2016) não verificaram efeito econômico na utilização de ácidos orgânicos em dietas para poedeira.

Os dados de qualidade óssea encontram-se na Tabela 5. O tratamento com inclusão de 1,0 kg/ton do aditivo proporcionou melhoras na resistência óssea e no índice Seedor e aumentou os teores de matéria mineral e fósforo. Não houve diferença nos níveis de cálcio, entretanto os ácidos orgânicos e enzimas tiveram menor relação cálcio:fósforo.

Paz et al. (2009) avaliaram a mobilização de fósforo e cálcio ósseos para a formação da casca dos ovos e acompanharam as variações na qualidade óssea ao longo do ciclo de produção de galinhas poedeiras alimentadas com níveis dietéticos de cálcio reduzidos e, concluíram que, independente dos níveis de cálcio na ração, as aves mobilizaram minerais dos ossos para a produção de ovos. Provavelmente as enzimas e ácidos disponibilizaram mais minerais, resultando em uma menor retirada de cálcio dos ossos, e, conseqüentemente, ossos mais rígidos e densos.

Tabela 5. Qualidade óssea de galinhas poedeiras leves, com 55 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo

Variáveis**	Tratamentos*					P-valor	CV, %
	1AD	0,5AD50FCO	100FCO	0,5AD50FB	100FB		
RO, kgf/cm ²	17,71a	10,86c	14,43b	7,51d	9,92c	<0,0001	12,12
IS	92,04a	91,52a	87,79ab	85,14b	83,29b	<0,0001	4,10
MM, %	40,84a	37,89b	37,08b	39,39ab	41,17a	<0,0001	4,15
Ca, %	19,62	20,44	21,54	20,34	21,02	0,2113	8,03
P, %	7,45a	6,84ab	6,48ab	7,20 ^a	5,62b	0,0071	14,71
Ca:P	2,63b	2,98ab	3,32ab	2,83ab	3,74a	0,0195	13,04

*1AD= 1,0 kg de aditivo por tonelada; 0,5AD50FCO= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% da farinha de carne e ossos; 100FCO= 100% de farinha de carne e ossos; 0,5AD50FB= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% de fosfato bicálcico; 100FB= 100% de fosfato bicálcico;

**RO= resistência óssea; IS= índice Seedor; MM= teor de matéria mineral; Ca= teor de cálcio; P= teor de fósforo; Ca:P= relação cálcio:fósforo.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Gentilini et al. (2009) testaram a suplementação de um complexo multi-enzimático (fitase, celulase, protease, amilase, xilanase, β -glucanase e pectinas) em dietas de galinhas poedeiras com níveis nutricionais reduzidos e não observaram efeito significativo na qualidade óssea.

A Figura 3 mostra os valores de cálcio, fósforo e relação cálcio:fósforo no sangue das aves. Os tratamentos com fosfato bicálcico e farinha de carne apresentaram maiores concentrações de cálcio no sangue. A inclusão do aditivo promoveu maiores concentrações de fósforo. A relação cálcio:fósforo foi menor com a inclusão do aditivo.

As concentrações de cálcio no sangue elevadas nos tratamentos com fosfato e farinha de carne e ossos podem ser decorrente de uma maior mobilização óssea para manter a produção e qualidade de ovos, o que também justifica valores reduzidos de resistência óssea, matéria mineral e índice Seedor. Segundo Paz et al. (2009), as aves mobilizaram minerais dos ossos para a produção de ovos independente dos níveis de cálcio na ração.

De acordo com Scott et al. (1982), o cálcio e fósforo interagem entre si durante a absorção, o metabolismo e a excreção, o que faz com que haja uma relação em torno de 2:1, havendo pouca variação nestes valores. Quando há um aumento na relação cálcio:fósforo, a utilização do fósforo pode ser comprometida (ANDERSON et al., 1995). Quando o cálcio está em excesso, pode haver interferência na disponibilidade de outros minerais, como fósforo, magnésio, manganês e zinco, causando deficiência secundária (PELÍCIA, 2008).

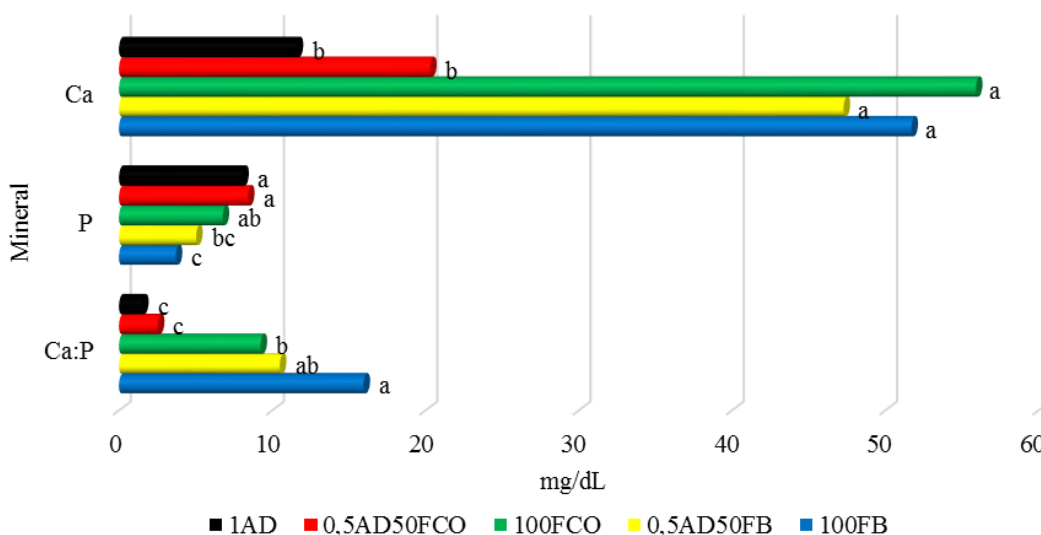


Figura 3. Níveis de cálcio, fósforo e relação cálcio:fósforo no sangue de galinhas poedeiras leves, com 55 semanas de idade, alimentadas com aditivos substitutivos das fontes de cálcio e fósforo. 1AD= 1,0 kg de aditivo por tonelada; 0,5AD50FCO= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% da farinha de carne e ossos; 100FCO= 100% de farinha de carne e ossos; 0,5AD50FB= 0,5 kg de aditivo por tonelada + 50% de fosfato bicálcico; 100FB= 100% de fosfato bicálcico. Letra iguais não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

5. CONCLUSÃO

A inclusão de 1,0 kg/ton do aditivo à base enzimas e ácidos orgânicos pode substituir o fosfato bicálcico e a farinha de carne e ossos em rações de galinhas poedeiras, de forma viável e sem comprometer a produção, qualidade de ovos e óssea, além de promover um melhor tempo de prateleira.

REFERÊNCIAS

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. ABPA. **Relatório Anual 2022**, 2022 - Disponível em: <<https://abpa-br.org/relatorios/>> Acesso em: 10 fevereiro 2023.

ALBINO, L. F. T.; CARVALHO, B. R.; MAIA, R. C.; BARROS, V. R. S. M.; TARVENARI, F. C.; COSTA, F. G. P.; STRINGHINI, J. H. **Galinhas poedeiras: criação e alimentação**. Viçosa: Aprenda fácil. 376 f. 2014.

ALMEIDA, R. L. de. **Levels of calcium and calcium/available phosphorus ratio in forced molting lightweight laying hens**. 2011. 60 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

ANDERSON, K. E. et al. 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.

ANNISON, G.; CHOCT, M. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. **World's Poultry Science Journal**, v. 47, p. 32-242, 1991.

ARAÚJO, J. A. et al. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p.53-60, 2008.

ARAUJO, J. A. et al. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.1, n.3, p.69-77, 2007.

ARAÚJO, L. F. et al. Níveis de fósforo disponível e tamanho de partícula do fosfato bicálcico na dieta de poedeiras comerciais de 24 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 1223-1227, 2010.

AUGSPURGER, N. I. et al. Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytase-bound phosphorus in young chicks e pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 2, p. 474-483, 2003.

AUGSPURGER, N.; UGALDE, E. Comparative phytase utilization in pigs and broiler chickens. In: Congresso Sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos. **Anais...** Campinas: CBNA, 2009. p. 117-128.

BARBOSA FILHO, J. **Avaliação do bem-estar de aves poedeiras em diferentes sistemas de produção e condições ambientais, utilizando análise de imagem**. Dissertação de Mestrado. ESALQ/USP. 123 p. São Paulo, Brasil. 2004.

BARBOSA, N. A. A. et al. Digestibilidade ileal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com enzimas exógenas. **Comunicata Scientiae**, v.5, n.4, p.361-369, 2014.

BARBOSA, S. A. V. Effects of different proteases on commercial laying hens at peak production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 49, e20200026, 2020.

BARRETO, S. L. D. T.; PEREIRA, C. A.; UMIGI, R. T.; ROCHA, T. C. D., ARAUJO, M. S. D.; SILVA, C. S.; TORRES FILHO, R. D. A. Determinação da exigência nutricional de cálcio de codornas japonesas na fase inicial do ciclo de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 68-78. 2007.

BEDFORD, M. R.; COWIESON, A. J. Exogenous enzymes and their effects on intestinal microbiology. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, p. 76-85, 2012.

BELLAVER, C.; SCHEUERMANN, G. Aplicações dos ácidos orgânicos na produção de aves de corte. In: AVESUI. **Anais...** Florianópolis: Gessulli. 2004. P. 1-16.

BERGGARD, T. et al. Ca^{2+} and H^{+} dependent conformational changes of calbindin D28k. **Biochemistry**, v.39, p.6864-6873, 2000.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogástricos**. Lavras: Editora UFLA/FAEPE, 450p. 2004.

BEZERRA, R. M. et al. Glutamic acid supplementation on low protein diets for laying hens. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.37, n.2, p.129-134, 2015.

BLANCKARD, P. Less buffering... more enzymes and organic acid. **Feed Mix**, v. 1, n. 1, p. 14-16, 2000.

BOSKURT, M. et al. Efeito da inclusão dietética de farinha de carne e ossos sobre o desempenho de poedeiras de postura na velhice. **Jornal sul-africano de ciência animal**, v. 34, n. 1, 2004.

BRANDÃO, M. D. et al. The effect of eggshell apex abnormalities on table egg quality during storage in 2 seasons of the year. **Poultry Science**, v.93, n.10, p.57-62, 2014.

BRAZ, D. B. **Acidificantes como alternativas aos antimicrobianos melhoradores de desempenho de leitões na fase de creche**. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

CAMPOS, C. F., et al., Enzimas fúngicas em dietas com alimentos alternativos para frangos de crescimento lento. **Revista Desafios**, v.4, p.35-53, 2017.

CARVALHO, L. S. S.; FERNANDES, E. A. Formação e qualidade da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 7, n. 1, p. 35-44, 2013.

CHAMORRO, S. et al. Addition of exogenous enzymes to diets containing grape pomace: Effects on intestinal utilization of catechins and antioxidant status of chickens. **Food Research International**, v. 96, p. 226-234, 2017.

COSTA, F. G. P. et al. Níveis de fósforo disponível e de fitase na dieta de poedeiras de ovos de casca marron.. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, n.2, p. 73-81, 2004.

COUTO, H. P. Fontes alternativas de cálcio e fósforo para poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.8, p.1419-1423, 2008.

CRUZ, J. P. F.; RUFINO, J. P. F. **Formulação e fabricação de rações (aves, suínos e peixes)**. Manaus: EDUA, 2017.

CUFADAR, Y. et al. Efeitos da suplementação da enzima xilanase em dietas à base de milho/trigo sobre o desempenho e a qualidade dos ovos de poedeiras. **Jornal canadense da ciência animal**, v. 90, n. 2, p. 207-212, 2011.

DACKE, C. G. et al. Medullary bone and avian calcium regulation. **Journal of Experimental Biology**, v. 184, p. 63-88, 1993.

DENADAI, J. C. et al. Traceability of bovine meat and bones meal in eggs of commercial laying hens through carbon and nitrogen stable isotopes technique. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 2760-2766, 2011.

DERSJANT-LI, Y. et al. Effect of multi-enzymes in combination with a direct-fed microbial on performance and welfare parameters in broilers under commercial production settings. **Poultry Science**, v. 24, n. 1, p. 80-90, 2015.

DIANA, T. F. **Calcium digestibility of inorganic sources for laying hens**. 2022. 56 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2022.

DIANA, T. F., ALBINO, L. F. T., TAVERNARI, F. D. C., ROSTAGNO, H., TEIXEIRA, A. D. O., CALDERANO, A. Efeito da idade, das fontes e da granulometria de calcários na digestibilidade aparente do cálcio para galinhas poedeiras. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AGROPECUÁRIA SUSTENTÁVEL, X. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2020. p. 241-244.

DIBNER, J.J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **The Journal of Applied Poultry Research**, Oxford, v. 11, p. 453-463, 2002.

DIÓGENES, A. F. et al. Exogenous enzymes supplementation enhances diet digestibility and digestive function and affects intestinal microbiota of turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles fed distillers' dried grains with solubles (DDGS) based diets. **Aquaculture**, n. 486, p. 42-50, 2017.

DORNELES, J. M. **Desempenho de leitões suplementados com enzimas**, 2017. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso II) – Programa de Graduação em Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

DOURADO, L. R. B.; BARBOSA, N. A. A. Enzimas na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (org.). **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 466-484.

DROCHINER, W. et al. Pectin in pig nutrition, a comparative review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, n. 11, p. 367-380, 2004.

EKE, M. O. et al. Effect of Storage Conditions on the Quality Attributes of Shell (Table) Eggs. **Nigerian Food Journal**, v.31, n.2, p.18-24, 2013.

FARIA, D. E. et al. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: 2. ácidos orgânicos e probióticos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 29-39, 2008.

FASCINA, V. B. et al. Aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 10, 2012.

FIGUEIREDO JÚNIOR, J. P. et al. Exigência de cálcio e fósforo para poedeiras leves em todas as fases de criação e “ciclos de produção”. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 10, n. 4, p. 2583 – 2626, 2013.

FIGUEIREDO, T. C. et al. Qualidade de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63 n.3, p.712-720, 2011.

FIKRY, A. M. et al. Dietary citric acid enhances growth performance, nutrient digestibility, intestinal microbiota, antioxidant status, and immunity of Japanese quails. **Poultry science**, v. 100, n. 9, p. 101326, 2021.

FIREMAN, A. K. B. A. T. FIREMAN, F. A. T. Fitase na alimentação de poedeiras. **Ciência Rural**. v. 38, n. 3, p. 529-534, 1998.

FRANZINI, B. D. et al. Beta-glucanases e xilanases na nutrição de não ruminantes. **Veterinária e Zootecnia**, v. 29, p. 1–13, 2022.

FREITAS, E. R. et al. Comparação de métodos de determinação da gravidade específica de ovos de poedeiras comerciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 509-512, 2004.

FREITAS, L.W. et al. Aspectos qualitativos de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento. **Rev. Agrar. Dourados**, v.4, n.11, p.66-72, 2011.

FUKAYAMA, E. H. et al. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 629-635, 2008.

GARCIA, E. R. M. et al. Qualidade de ovos de codornas japonesas: efeito da idade da ave, temperatura de conservação e período de armazenamento. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.**, v. 18, n. 4, p. 211-220. 2015.

GARCIA, E. R. M. et al. Qualidade de ovos de poedeiras semipesadas armazenados em diferentes temperaturas e períodos de estocagem. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v. 11, n.2, p. 505-518, 2010.

GENTILINI, F.P. et al. Produtividade e resistência óssea de poedeiras suplementadas com Allzyme® ssf nas dietas. **Archivos de zootecnia**, v.58, n.222, p.645-653, 2009.

- GONZALEZ, F. H. D. SILVA, S. C. **Minerais e Vitaminas no Metabolismo Animal**. Porto Alegre: Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2019.
- GONZALÉZ, F. H. D., SILVA, S. C. D. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2017. Porto Alegre: UFRGS Editora. 2017, 541 p.
- GOUVEIA, A. B. V. S. et al. Xilanase e β -glucanase em dietas para codornas japonesas em postura. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 51, n. 3, 2020.
- GÜL, M. et al. Efeito de ácidos orgânicos na dieta sobre o desempenho de poedeiras, índices de qualidade de ovos, microflora intestinal e altura das vilosidades do intestino delgado. **European Poultry Science**, v. 78, 2014.
- HABIB, et al. A. B. Impact of Phytase Enzyme Usage on Performance and Egg Quality of laying hens. **Global Journal of Animal Scientific Research**, v.9, n.1, p.21-29, 2021.
- HASSAN, A.; AYLIN, A.O. Effect of storage time, temperature and hen age on egg quality in free range layer. **Journal of Animal and Veterinary Advances – Medwell Journals**, v.8, n. 10, p.1953- 1958, 2009.
- HASSANIEN, H.; SANAA, H. M. E. Comparison difference levels of phytase enzyme supplementation on laying hen performance, egg quality and some blood parameters. **Asian Journal of Poultry Science**, v.5, n.2, p.77-85, 2011.
- HOLANDA, M. A. C.; HOLANDA, M. C. R. Processamento industrial de ovos para consumo. In: **Ciências Rurais em Foco**, v. 1, Cap. 9. Organização: Ezequiel Redin - Belo Horizonte - MG: Poisson, p. 91-101, 2020.
- ISMAIL, I. E. et al. Effect of dietary supplementation of garlic powder and phenyl acetic acid on productive performance, blood haematology, immunity and antioxidant status of broiler chickens. **Asian-Australas J. Anim. Sci.** v. 34, p. 363–370, 2020.
- KIARIE, E.; ROMERO, L.F.; NYACHOTI, C.M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and Poultry. **Nutrition Research Reviews**, v.26, n.1, p.71-88, 2013.
- LAWLOR, P. G. et al. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**, v. 58, n. 8, p. 447-452, 2005.
- LIGEIRO, E. C. **Efeito da utilização da fitase sobre o desempenho, qualidade dos ovos, avaliação econômica e excreção de fósforo e nitrogênio de poedeiras comerciais alimentadas com rações contendo ingredientes alternativos**. 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.
- LIMA, H. J. D. A. et al. Aproveitamento de nutrientes e energia da ração de codornas japonesas em postura com o uso de fitase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1517-1522, 2010.

LIMA, M. R. et al. Enzimas exógenas na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.1, n.4, p.99-110, 2007.

LIMA, M. R. et al. Xylanase, glucanase, and phytase in the diet of light laying hens, **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 4, p. 1150-1155, 2019.

MACARI, M.; MAIORKA, A. **Fisiologia das Aves Comerciais**. Jaboticabal: Funep, 2017.

MACHADO, N. J. B. et al. Efeitos da suplementação com xilanase e probióticos em dietas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 49, 2020.

MACIEL, J. T. L. et al., Enzimas exógenas sobre a microbiota intestinal: a expressão de genes e o desempenho de frangos de corte. **Ciência Animal**, v.30, n.2, p.138-152, 2020.

MAIORKA, A. et al. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascorbico em dietas iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2004.

MARINHO, A. L. **Qualidade interna e externa de ovos de codornas japonesas em diferentes temperaturas e períodos de estocagem**. Dissertação: Programa de pós graduação em Zootecnia-CECA. Rio Largo. 2011.

MATOS, R. Calcium metabolismo in birds. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice**. v. 11, p. 59-82.

MAZZUCO, H. Integridade Óssea em Poedeiras Comerciais: Influência de Dietas Enriquecidas com Ácidos Graxos Poliinsaturados e Tipo de Muda Induzida. EMBRAPA, **Circular Técnica**, 47. 12 p. Concórdia, 2006.

MENTEN, J. F. M.; LOMGO, F. A.; VIOLA, E. S.; RIZZO, P. V. Antibióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais na nutrição de monogástricos. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (org.). **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 511-536.

MINAFRA, C.S. **Produção e suplementação com α -amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM 203 na dieta de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade**. 2007. 141p. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

MIRAKZEHI, M. T. et al. The effects of *saccharomyces cerevisiae* and citric acid on productive performance, egg quality parameters, small intestinal morphology, and immune-related gene expression in laying japanese quails. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 24, n. 4, n. 1-12, 2022.

MONTAGNE, L. et al. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animal. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, n. 4, p. 95-117, 2003.

MORGAN, N. K. et al. Comparing the efficacy of stimbiotic and a combination of xylanase and beta-glucanase, in broilers fed wheat-barley based diets with high or low AME. **Poultry science**, v. 100, n. 10, 2021.

MUNIZ, J. C. L.; SILVA, A. D.; TIZZIANI, T.; ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. T. **Criação de codornas: Para produção de ovos e carne**. 2. ed. Viçosa: Aprenda Fácil editora. 2018.

MURAKAMI, A. E. et al. Efeito da suplementação enzimática no desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Acta Sci. Anim. Sci.**, Maringá, v.29, n.2, p.165-172, 2007.

NADIA, N. A. A. et al. Effect of coating materials (gelatin) and storage time on internal quality of chicken and quail eggs under refrigeration storage. **Poultry Science**, v.32, n.1, p.07 – 115, 2012.

NYACHOTI, C. M. et al. Effect of micronized pea and enzyme supplementation on nutrient utilization and manure output in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v.84, n.8, p.2150-2156, 2006.

PAPADOPOULOS, G. A. et al. Suplementação de xilanase em dietas à base de trigo para galinhas poedeiras afeta a cor da gema do ovo, os carotenóides e os processos de ingestão de gorduras. **Alimentos**, v. 11, n. 15, 2022.

PARK, K.W. et al. Effect of dietary available phosphorus and organic acids on the performance and egg quality of laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, n. 3, p. 598-604, 2009.

PARK, S. Y. et al. Effect of storage condition on bone breaking strength and bone ash in laying hens at different stages in production cycles. **Poultry Science**. v. 82, p. 1688–1691. 2003.

PASCOAL, L. A. F.; WATNABE, P. H. Fibra dietética na nutrição de suínos. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (org.). **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 358-374.

PAZ, I. C. L. A. et al. Efeito do cálcio na qualidade óssea e de ovos de poedeiras. **Archivos de zootecnia**, v.58, n.222, p.174, 2009.

PELÍCIA, K. **Efeito dos níveis de cálcio, fósforo e granulometria de calcário na dieta de poedeiras comerciais no primeiro e segundo ciclo de produção**. 2008. 118 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008.

PINTO, S. et al. Cálcio e fósforo na dieta de galinhas de postura: uma revisão. **Scientia Agraria Paranaensis**. v. 11, n. 1, p. 5-18, 2012.

PIRZADO, S. A. et al. Effect of azomite on growth performance, immune function and tibia breaking strength of broiler chickens during starter period [e-pub ahead of print]. **Ani. Biotechnol.** 2021.

PIZAURO JÚNIOR, J. M.; GONÇALVES, A. M.; SANTOS, L. F. J. Regulação do metabolismo ósseo por hormônios e íons orgânicos. *In*: MACARI, M.; MAIORKA, A. (org.). **Fisiologia das Aves Comerciais**. Jaboticabal: Funep, 2017. 806 p.

PLUMSTEAD, P. W. A fitase ajuda reduzir custo com alta de preço do fósforo. 2008. Disponível em: < <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/a-fitase-ajuda-reduzir-custo-com-alta-de-preco-do-fosforo/20080902-093908-3066>>. Acesso em: fevereiro. 2023.

POUDEL, I. et al. Effects of protease enzyme supplementation and varying levels of amino acid inclusion on productive performance, egg quality, and amino acid digestibility in laying hens from 30 to 50 weeks of age. **Poultry Science**, v. 102, n. 3, 2023.

PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M.; ANGEL, R. Calcium and phosphorus metabolism in broilers: Effect of homeostatic mechanism on calcium and phosphorus digestibility. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, p. 609-627.

QUADROS, D. G. et al. Qualidade de ovos de galinha comercializados em Barreiras, BA, estocados em diferentes condições de temperatura. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias Ambiental**, v. 9, n. 4, p. 363-369, 2011.

RAMOS, K. C. B. T. et al. Avaliação da idade da poedeira, da temperatura de armazenamento e do tipo embalagem sobre a qualidade de ovos comerciais. **Revista Ciências da Vida**, v.30, n.2, p.55-66, 2010.

RANGANA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. Tata: McGraw Hill, 1979.

REDA, F. M. et al. Use of fumaric acid as a feed additive in quail's nutrition: its effect on growth rate, carcass, nutrient digestibility, digestive enzymes, blood metabolites, and intestinal microbiota. **Poultry science**, v. 100, n. 12, 2021.

REIS, T. L. et al. Acurácia de dias de avaliação da gravidade específica como medida da qualidade de casca de ovos de galinhas. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, e40410515148, 2021

RIBEIRO, J. et al. Suplementação de enzimas amilase, fitase e protease para codornas japonesas em postura. **Boletim de Indústria Animal**, v. 72, n. 2, p. 163-169, 2015.

RODRIGUES, E. A. et al. Desempenho e qualidade da casca para poedeiras recebendo vitamina D nas rações de pré-postura e postura. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 27, n. 1, p. 55-59, 2008.

ROQUE, F. A. **Enzimas exógenas para poedeiras comerciais**. 2018. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

ROSÁRIO, R. S.; NASCIMENTO, L. A.; FAUSTINO, L. S. L.; RIBEIRO, J. L.; SOUZA, G. S.; CORRÊA, G. S. S.; BARBOSA, S. A. P. V.; CORRÊA, A. B. Desempenho de poedeiras com adição de protease na dieta. *In*: Reunião Anual de Zootecnia, LV; Congresso Brasileiro

de Zootecnia, XXVIII. **Construindo saberes, formando pessoas e transformando a produção animal**. Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2018.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed., Viçosa: UFV, 403p, 2017

RUNHO, R. C. et al. Uso do ácido orgânico (Ácido fumárico) nas rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p. 1183-1191, 1997.

SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014.

SALMÓRIA, L. A., IBELLI, A. M. G., TAVERNARI, F. D. C., PEIXOTO, J. D. O., MARCELINO, D. E. P., DAL PIZZOL, M. S., LEDUR, M. C. Expressão de genes candidatos no rim de poedeiras submetidas a dietas com diferentes níveis de cálcio e fósforo. *In*: Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, XIV. **Anais...** On-line: Embrapa Suínos e Aves, 2022. p. 86-88.

SANTOS, E. O. **Zinco e manganês orgânicos e vitamina D3 em rações de poedeiras com idade avançada**. 2017. 53 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

SANTOS, M.W.; RIBEIRO, A.G.P.; CARVALHO, L.S. **Criação de galinha caipira para produção de ovos em regime semi-intensivo**. Niterói: Programa Rio Rural. (Manual Técnico, 18).30p. 2009.

SANTOS, S. K. A. **Exoenzima protease em rações base sorgo grão inteiro ou moído em dietas para frangos de corte e galinhas poedeiras**. 2020. 84 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

SAS Institute Inc. (2011). **SAS User's guide: Statistics**. SAS Inst. Inc., Cary, NC

SCOTT, M.L.; NESHEIM, M.C.; YOUNG, R.J. **Essential inorganic elements: nutrition of the chicken**. 3.ed. New York: M.L Scott Associates, 1982, 562 p.

SEEDOR, J. G. et al. The biophosphonate alendronate (MK – 217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 6, n.4, p. 339-346. 1991.

SELLE, P. H., RAVINDRAN, V. Fitase microbiana na nutrição de aves. **Anim Feed Sci Technol**, v.135, p.1-14, 2007.

SILVA, A. F. DA. **Exigência de fósforo disponível para poedeiras comerciais após o pico de postura**. 2012. 56 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia, Recife, 2012.

SILVA, D. J. e QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos, Métodos Químicos e Biológicos**. Viçosa: Editora UFV, 2 ed., 235p. 2002.

SILVA, V. S. **Associação enzimática em dietas de poedeiras criadas em sistema Free Range**. 2019. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, 2019.

SILVA, V., CONTREIRA, C. L., ROSSI, A. C., KRABBE, E. L., SAATKAMP, M. G. Estratégias de associação enzimática em dietas de poedeiras semi-pesadas e seu efeito na qualidade de ovos. *In: CONFERÊNCIA FACTA-WPSA BRASIL, Avicultura 4.0: otimização dos processos de produção avícola*. Campinas: FACTA, 2018.

SINGH, P. K. Significado de ácido fítico e fitase suplementar na nutrição de frangos: uma revisão. **Worlds Poult Sci J**. 2008; 64 :553–80.

SOUZA, C. S. et al. Cálcio e fósforo na nutrição de codornas japonesas em postura. **Science and Animal Health**, v.5, n.3, p. 260-281, 2017.

SOUZA, P. E. L. **Influência do tempo e da temperatura de armazenamento sobre a qualidade de ovos de codornas japonesas**.(2022). Monografia (Bacharelado em Zootecnia). Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, Garanhuns, 42 p. 2022.

SUGIYAMA, T. et al. Expression and localisation of calbindin D28k in all intestinal segments of the laying hen. **British Poultry Science**, v.48, n.2, p.233—238, 2007.

TAVARES, J. M. N. **Desempenho produtivo e qualidade de ovos de poedeiras alimentadas com dietas contendo ácidos orgânicos**. 2017. 31 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2017.

TAVERNARI, F. D. C.; SORDI, C.; PETROLI, T.; ALBINO, L.; MAZZUCO, H.; BERTECHNI, A. Digestibilidade de cálcio e fósforo de fontes inorgânicas para galinhas poedeiras em diferentes fases de postura. *In: Salão Internacional de Avicultura e Suinocultura*. 2019, São Paulo. **Anais...** São Paulo: ABPA, 2019. p. 116-118.

TAYLOR, A. E. et al. Os efeitos da suplementação com fitase e xilanase sobre o desempenho e a qualidade dos ovos de poedeiras. **British Poultry Science**, v.59, p.554-561, 2018.

VAN HOECK, V. et al. Xylanase impact beyond performance: A microbiome approach in laying hens. **Plos One**, v. 16, n. 9, 2021.

VASCONCELOS, F. C. et al. Ácidos orgânicos, óleos essenciais e simbiótico na dieta de poedeiras semipesadas: desempenho produtivo e análise econômica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.10, n.3, p.194-200, 2016.

VELLASCO, C. R. **Levels of calcium and calcium/phosphorus relation in diets for white laying hens from 24 to 40 weeks of age**. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

VERAS, A. G. **Desenvolvimento ósseo em poedeiras comerciais nas fases de cria e recria**. 2020. 121 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2020.

VIANA, M. T. D. S. et al. Efeito da suplementação de enzima fitase sobre o metabolismo de nutrientes e o desempenho de poedeiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 1074-1080, 2009.

VIEIRA, B. S. et al. Phytase and protease supplementation for laying hens in peak egg production. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 6, p. 4285-4293, 2016.

VIEIRA, M. M. **Metabolismo do cálcio em aves de corte e postura com ácidos orgânicos e fitase na dieta**. 2009. 127 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande de Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 2009.

VILAS BOAS, A. D. C. V. **Suplementação de ácidos orgânicos em dietas para leitões na fase de creche**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em produção animal sustentável). Instituto de Zootecnia da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, 2014.

WALK, C. L.; POERNAMA, F. Evaluation of phytase, xylanase, and protease in reduced nutrient diets fed to broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 1, p. 85-93, 2019.

WATANABE, G. C. A. **Anacardato de cálcio e suas associações com ácido cítrico na alimentação de poedeiras comerciais**. 2021. 101 f. Tese (Tese em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

WENK, C. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, n. 1, p. 21-33, 2001.

WOONG KIM, J. et al. Dietary organic acids for broiler chickens : a review Ácidos orgânicos en la dieta de pollos de engorde : revisión de literatura. **Rev. Colombiana de ciencias pecuarias**, v. 28, p. 109–123, 2014.