

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

EFEITO DA CAFEÍNA SOBRE A QUALIDADE DE OVOS
E DESEMPENHO DE GALINHAS POEDEIRAS
MAILSON DA SILVA TEIXEIRA

Belo Horizonte – MG
2019

Mailson da Silva Teixeira

**EFEITO DA CAFEÍNA SOBRE A QUALIDADE DE OVOS
E DESEMPENHO DE GALINHAS POEDEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Benito Soto Blanco.

Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo José Camargos Lara

Belo Horizonte

2019

T266e Teixeira, Mailson da Silva, 1988-
Efeito da cafeína sobre a qualidade de ovos e desempenho de galinhas poedeiras / Mailson da Silva Teixeira. - 2019.
54 p. : il.

Orientador: Benito Soto Blanco

Co-orientador: Leonardo José Camargos Lara

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

I. Poedeira (Galinha) - Alimentação e rações - Teses. 2. Dieta em veterinária - Teses.
3. Cafeína - Teses. 4. Ração - Consumo - Teses. 5. Ovos - Qualidade - Teses. 6. Ovos -
Produção - Teses. 7. Desempenho produtivo - Teses. I. Soto Blanco, Benito. II. Lara,
Leonardo José Camargos, III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
IV. Título.

CDD - 636.513 085

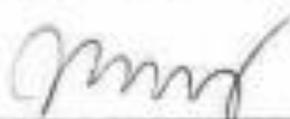
FOLHA DE APROVAÇÃO**MAILSON DA SILVA TEIXEIRA**

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração MEDICINA E CIRURGIA VETERINÁRIAS ,

Aprovada em 28 de Março de 2019, pela banca constituída pelos membros:



Prof. Benito Soto Blanco
Presidente - Orientador



Prof. Nelson Rodrigo da Silva Martins
Escola de Veterinária - UFMG



Dr.ª. Patrícia Alves Dutra
Fundação Fead Minas

AGRADECIMENTOS

Ao meu Orientador, Professor Benito Soto Blanco, pelos ensinamentos, amizade, disposição e principalmente pela confiança de que as coisas irão dar certo.

Ao meu Co-Orientador Professor Leonardo José Camargos Lara, obrigado pela inspiração, amizade, pelas boas ideias, por ser uma pessoa exemplo de competência profissional.

A Professora Marília Martins Melo, por ter sido minha orientadora na graduação, e ter colaborado grandemente em minha formação profissional como Médico Veterinário, grande exemplo de competência e uma grande mãe.

A minha mãe Mirtes por todo amor, fé, incentivo e dedicação total.

Ao meu pai Márcio por tudo e principalmente por incentivar a conquista dos meus objetivos.

A minha esposa Thaís Costa e meus filhos (Maya e Cauã) que me inspiram a ser uma pessoa melhor. Amo vocês.

A minha família por todo o apoio, durante toda essa jornada. Agradeço aos meus avós, tios, irmãos e primos, pelo apoio e incentivo. Agradeço também ao Mileto e Rosane pelo apoio e ajuda na vida.

A todos os professores colaboradores, obrigado pelo exemplo, conhecimento e conselhos.

Aos colegas e funcionários da Fazenda Experimental Prof. Hélio Barbosa, obrigado pela disponibilidade e prontidão para ajudar. Agradeço principalmente ao pessoal do setor de Avicultura (Fabiana, Léia e Rafael), agradeço ao Evaldo, Carlinhos, Gilson, Laurindo e todos que contribuíram de alguma forma.

A todos do Laboratório de Toxicologia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG.

A todos do Laboratório de Inspeção de Aves e Ovos da EV-UFMG, Prof.^a Silvana, Prof.^a Débora e Prof. Tadeu, e as alunas Jade, Caroline Alves e Raisal pela ajuda nas análises de qualidade de ovos.

A todo o pessoal do Laboratório de Aves da UFMG, Professor Oliveiro Caetano, Prof. Nelson Rodrigo, Professora Sandra Marín-Gómez e todas as residentes (Alexandra, Priscila, Mariana e Salene) e alunas de iniciação científica que contribuíram com os trabalhos, muito obrigado pela ajuda.

Aos colegas do mestrado e da residência pelo auxílio nas coletas e análises laboratoriais, Adriano Corteze, Joelma Kellen, Guilherme Lemos, Rodrigo Palhano e Naiara Barcelos.

Ao pessoal do Laboratório de Nutrição da Escola de Veterinária da UFMG, especialmente a Prof.^a Eloísa, pela atenção e cortesia no auxílio nas análises de cálcio e fósforo.

Ao pessoal do setor de Operações, Processamento e Tecnologia de alimentos do Departamento de Alimentos da Escola de Farmácia da UFMG, especial agradecimento a Prof.^a Maria Aparecida Vieira Teixeira Garcia e aos técnicos de laboratórios Igor Hiroschi e Marina Ladeira, obrigado pela ajuda na análise de resistência da casca de ovos.

Aos meus amigos da Escola de Veterinária, que estão espalhados em diversas áreas, mas que sempre que preciso é só solicitar ajuda que eles fazem o impossível para contribuir. Muito obrigado Pedro Muniz, Estevão e Djesihre Rippel.

Aos amigos da área de Avicultura, pelo apoio na conclusão desse projeto. Grupo Geav (Ítalo, Jennifer, Marcela, Anna Rosa, Larissa, Mariana Maseo, Mateus, Paula, Catharina, Izadora e Bruno) e todos os agregados. Também ao estagiário Ricardo Ferreira.

À Escola de Veterinária da UFMG, pela estrutura, ensino e família veterinária.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

A UFMG pela estrutura, corpo docente e técnico, pelos pilares importantes: ensino, pesquisa e extensão. Tenho orgulho em fazer parte desta universidade.

As aves que participaram do experimento, galinhas produtoras de ovos que são animais extremamente inteligentes e interessantes que nos trazem paz. Aves curiosas, e às vezes, engraçadas, que ao mesmo tempo são uma grande fábrica de produção de ovos e proteína animal, ovos que se transformam em um alimento divino e que mata a fome de muita gente.

“Façamos da interrupção um caminho novo. Da queda um passo de dança,
do medo uma escada, do sonho uma ponte, da procura um encontro!”
Fernando Sabino, 1956.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	12
ABSCTRACT	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Interferência da cafeína sobre o metabolismo ósseo.....	15
2.2. A casca de café usada na alimentação como fonte de fibra.....	15
2.3 A casca de café usada em experimentos na alimentação animal.....	16
2.4 Composição da Casca de café.....	16
2.5 Sistema reprodutivo de galinhas produtoras de ovos.....	17
2.6 Desenvolvimento folicular.....	18
2.7 Requerimento energético.....	19
2.8 Uso de alimentos alternativos na dieta de aves.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Condições experimentais.....	20
3.2. Aves e manejo.....	20
3.3. Grupos experimentais.....	20
3.4. Rações	21
3.5. Dados coletados.....	23
3.5.1 Produção de ovos.....	23
3.5.2 Peso dos ovos.....	23
3.5.3 Espessura da casca.....	23
3.5.4 Resistência da casca.....	23
3.6. Teor de cálcio e fósforo da casca dos ovos.....	23
3.7. Determinação da porcentagem de cálcio das amostras.....	24
3.8 Determinação da porcentagem de fósforo das amostras.....	25
3.9 Unidades Haugh.....	25
3.10 Porcentagem da gema, casca e albúmen.....	26
3.11 Peso específico.....	26
3.12 Coloração da gema.....	27

3.13	Custo por caixa de ovos produzida.....	27
3.14	Consumo diário de ração.....	27
3.15	Conversão alimentar.....	27
3.16	Peso das aves.....	27
3.17	Mortalidade.....	27
3.18	Histopatologia do sistema reprodutivo.....	28
3.19	Análise Estatística.....	28
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.	CONCLUSÕES.....	43
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	43
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
8.	ANEXOS.....	49
	Anexo I- Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CEUA/UFMG).....	49
	Anexo II- Estatística: análises de regressão de acordo com os tratamentos..	50

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Teores de cafeína na casca do café	15
Tabela 2. Composição e teores nutricionais calculados das rações de produção	22
Tabela 3. Classificação por qualidade segundo Unidades Haugh (UH)	26
Tabela 4. Peso vivo inicial (kg), consumo de ração (g/dia), peso vivo final (kg) e ganho de peso (kg), de poedeiras, no período de 56 a 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	30
Tabela 5. Viabilidade, produção de ovos (%), número de ovos/ ave alojada, conversão alimentar (kg/dúzia) e conversão alimentar (kg/kg) de poedeiras, no período de 56 a 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	31
Tabela 6. Peso de ovos de poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	31
Tabela 7. Análise de qualidade de ovos de poedeiras em Unidades Haugh com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	32
Tabela 8. Porcentagem de gema de ovos de poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	32
Tabela 9. Porcentagem de albúmen de ovos de poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	33
Tabela 10. Porcentagem de casca de ovos de galinhas poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	33
Tabela 11. Espessura da casca (mm) ² de ovos de galinhas poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	33
Tabela 12. Resistência da casca (kg/cm ²) de ovos de galinhas poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	34
Tabela 13. Cor de gema de ovos de galinhas poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	34
Tabela 14. Custo das rações por caixa de ovos (R\$/ caixa) para poedeiras de acordo com os tratamentos.	35
Tabela 15. Peso dos órgãos reprodutivos na 62 ^a e 68 ^a semanas de idade de acordo com os tratamentos	37
Tabela 16. Temperatura cloacal (°C) das aves no momento da eutanásia com 62 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	37
Tabela 17. Peso ao primeiro abate (kg), peso ao segundo abate (kg) de poedeiras, no período de 62 a 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos	38
Tabela 18. Teores de Cálcio e Fósforo da Casca do Ovo em (%)	38

LISTA DE FIGURAS

	Página	
Figura 1	Média Semanal de produção de ovos em unidades	29
Figura 2.	Porcentagem de Postura de ovos	29
Figura 3.	Consumo Médio Semanal de Ração (gramas)/ave	30
Figura 4.	Mortalidade	36
Figura 5.	Mortes durante todo o período experimental	36
Figura 6.	Segmento de oviduto (Infundíbulo)	40
Figura 7.	Segmento de oviduto (Magno)	40
Figura 8.	Segmento de oviduto (Istmo)	41
Figura 9.	Segmento de oviduto (Útero)	41
Figura 10.	Cloaca de aves poedeiras	42

LISTA DE ABREVIATURAS

ANSA	Ácido 1-amino-2-hidroxinaftaleno-4-sulfônico
Ca	Cálcio
CaCO₃	Carbonato de cálcio
CEUA	Comité de Ética de Uso Animal
CMO	Conteúdo mineral ósseo
CNF	Carboidratos não fibrosos
CV	Coefficiente de Variação
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DMO	Densidade mineral óssea
DP	Desvio Padrão
DZ	Dúzia
EE	Extrato etéreo
EV	Escola de Veterinária
FAG	Folículo amarelo grande
FB	Fibra bruta
Fe	Ferro
FEPHB	Fazenda Experimental Professor Hélio Barbosa
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
g	Gramas
HCl	Ácido clorídrico
HE	Hematoxilina-Eosina
Kg	Quilograma
MS	Matéria seca
mg	Miligramas
NIDA	Nitrogênio indigestível em detergente ácido
PB	Proteína bruta
PVC	Policloreto de vinila
PNA	Polissacarídeos não amiláceos
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de cafeína pura adicionada à dieta de galinhas poedeiras com idades de 56 a 68 semanas. Foram utilizadas 576 galinhas da linhagem comercial Lohmann® LSL, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos eram compostos por três dosagens na ração (150 ppm, 300 ppm e 450 ppm) e um grupo sem adição da cafeína (controle), totalizando quatro tratamentos, com seis repetições/tratamento. Durante as doze semanas experimentais, foram avaliados vários aspectos produtivos das aves como o consumo de ração, a produção diária de ovos, a porcentagem de produção, o peso dos ovos, a qualidade da casca e parâmetros de resistência da casca por meio da medida da força necessária para a quebra/perfuração. Foram medidas as espessuras de casca em três pontos diferentes e obtida a média, e realizadas as dosagens referentes aos teores de cálcio e de fósforo presentes nas cascas dos ovos e avaliação histopatológica de todo o oviduto. Houve redução do consumo de ração pelas aves, provavelmente por interferência na palatabilidade do alimento. Como consequência do menor consumo da ração pelas aves, a produção de ovos diminuiu e a estrutura da casca apresentou-se reduzida a sua força de resistência, prejudicando, dessa forma, os padrões qualitativos dos ovos. O consumo da maior concentração de cafeína na dieta (450 ppm de ração) promoveu aumento significativo na mortalidade das aves. Por outro lado, foi constatado que até 150 ppm de cafeína na ração (equivalente à utilização de 40 kg por tonelada de casca de café na dieta), não causa alterações significativas na qualidade de ovos e não interfere na saúde e desempenho das galinhas produtoras de ovos. No exame histológico do oviduto, foram observados infiltrados inflamatórios mononucleares. Conclui-se que é viável utilizar fontes contendo cafeína na dieta de galinhas poedeiras com concentração até 150 ppm de cafeína na ração.

Palavras-chaves: toxicologia, cafeína, casca de café, galinhas, ovos, galinhas poedeiras.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of different concentrations of pure caffeine added to the diet of laying hens aged 56 to 68 weeks. A total of 576 chickens from the commercial Lohmann® LSL strain were used, distributed in a completely randomized design. The treatments consisted of three doses in the diet (150 ppm, 300 ppm, and 450 ppm) and one group without addition of caffeine (control), totaling four treatments with six replicates per treatment. During the twelve experimental weeks, several productive aspects of the birds were evaluated, such as feed intake, daily egg production, percentage of production, egg weight, bark quality and bark resistance parameters force required for breaking/drilling. The thickness of the bark was measured in three different points and the mean was obtained, and the dosages of calcium and phosphorus present in egg shells and histopathological evaluation of the whole oviduct were performed. There was a reduction in feed consumption by chickens, probably due to interference in the palatability of the food. As a consequence of the lower consumption of feed by birds, the egg production decreased and the shell structure was reduced to its resistance force, thus harming the qualitative standards of the eggs. The consumption of the highest concentration of caffeine in the diet (450 ppm of food) promoted a significant increase in the mortality of the chicken. On the other hand, it was found that up to 150 ppm of caffeine in the food (equivalent to the use of 40 kg per tonne of coffee husk in the diet) did not cause significant changes in egg quality and did not interfere with the health and performance of eggs. In the histological examination of the oviduct, infiltration by mononuclear inflammatory cells was observed. It was concluded that it is feasible to use caffeine-containing sources in the diet of laying hens with a concentration of up to 150 ppm of caffeine in the diet.

Keywords: toxicology, caffeine, coffee husks, chicken, eggs, laying hens.

1. INTRODUÇÃO

A produção de ovos no Brasil em 2017 alcançou a marca de quase 40 bilhões de ovos, com 1.086.976 matrizes alojadas e teve consumo *per capita* de 192 ovos. Em 2010, a produção de ovos era de pouco mais de 29 bilhões e consumo *per capita* de 148 ovos (ABPA, 2018). A partir deste fato nota-se a importância do produto na economia do país e a necessidade de estudos que possibilitem a melhoria da qualidade e produção, visando reduzir os custos de produção e melhorar a qualidade do produto. Para a produção de ovos, as aves necessitam de dieta equilibrada, balanceada, sendo a fibra um importante fator nutricional, que deve estar presente na dieta.

O farelo de trigo, a casca de soja e o feno de tifton são alternativas viáveis como fonte alimentar em poedeiras na fase de produção. A principal matéria prima utilizada para reduzir o teor de energia da ração de poedeiras e aumentar o teor de fibra em detergente neutro (FDN) é o farelo de trigo. No entanto, este ingrediente apresenta-se com frequência preço elevado no mercado em relação ao milho, e sua fração fibrosa é rica em polissacarídeos não amiláceos (PNA) solúveis, substâncias consideradas fatores antinutricionais para as aves. Esses fatos isoladamente já justificariam a busca por fontes alternativas de fibra na nutrição de poedeiras (Amaral, 2014).

A fonte de fibra deve ser de baixo custo e com mínimos impactos ambientais. Neste contexto a casca de café pode ser utilizada como uma fonte de fibra em dietas para galinhas poedeiras.

A casca de café é um subproduto da indústria cafeeira, geralmente descartada ou utilizada como adubo orgânico. O Brasil é o maior produtor de café do mundo, produzindo 49.640.000 milhões de sacas de café por ano (CONAB, 2016), e ocupando 1.949.916 hectares de área plantada. A casca representa entre 16 a 18 % da composição do grão (Silva et al., 2010). Dessa forma podemos estimar que aproximadamente nove milhões de toneladas de casca de café são produzidas anualmente no Brasil.

A casca de café é uma fonte de fibra que tem em sua composição 88 % de matéria seca (MS), 50 % de FDN e 42,2% de fibra em detergente ácido (FDA). (Souza et al., 2017). De acordo com Cardoso et al, (2011), a casca de café in natura possui 0,36 % de cafeína.

A cafeína é pertencente ao grupo das metilxantinas, e é um alcaloide natural encontrado em plantas como o café e o cacau (Spinosa et al., 2008). A cafeína é um insumo empregado em indústrias de bebidas e farmacêuticas, por suas reconhecidas características, tais como o amargor e efeito estimulante. Apesar de ser um importante produtor de café, o Brasil, importa a maior parte da cafeína que consome (MDIC, 2009).

A cafeína age no metabolismo ósseo por interferência na homeostase do cálcio, elevando sua taxa de filtração renal e reduzindo sua absorção nos túbulos renais (Ashizawa, 1997; Massey e Sutton, 2004). Altas doses de cafeína na dieta, portanto, promovem hipocalcemia com consequente aumento da taxa de reabsorção óssea compensatória, alterando a microestrutura desse tecido e reduzindo a densidade mineral óssea (DMO) nos animais (Heaney et al., 2002).

Não foram encontrados na literatura trabalhos sobre níveis de cafeína na dieta e qualidade interna de ovos, desempenho dessas aves e pesquisas com dosagem segura para o uso da substância cafeína em aves. Assim, o objetivo deste estudo foi administrar níveis crescentes de

caféina na alimentação das galinhas poedeiras, avaliar os possíveis prejuízos nos animais e na qualidade da casca de ovos e também definir uma dosagem segura para o uso desta substância na alimentação das galinhas poedeiras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Interferência da cafeína sobre o metabolismo ósseo

Estudos realizados com ratos jovens mostraram que a cafeína pode prejudicar o desenvolvimento normal do esqueleto (Huang et al., 2002). Este prejuízo se dá pela redução do número de osteócitos por área de seção transversa, destruição dos osteoblastos, retardo do remodelamento estrutural ósseo, além da diminuição da densidade mineral óssea (DMO), do conteúdo mineral ósseo (CMO) e do conteúdo de cálcio da matriz óssea (Huang et al., 2002; Massey e Sutton, 2004).

2.2. A casca de café usada na alimentação como fonte de fibra

Na nutrição das galinhas poedeiras, além dos constituintes nutricionais, os alimentos também podem conter os chamados fatores antinutricionais, que interferem na absorção dos nutrientes. São exemplos desses fatores os inibidores de proteínas, oxalatos, taninos e nitritos (Benevides et al., 2011).

As aves domésticas exigem uma quantidade mínima de fibra dietética para o bom funcionamento dos órgãos digestivos (Mateos et al., 2012). A casca de café pode ser considerada um alimento volumoso, com altos teores de Fibra em Detergente Neutro - FDN e Fibra em Detergente Ácido - FDA (Barcelos et al., 2001). Trata-se de um subproduto da agricultura com potencial para utilização na alimentação de monogástricos. Porém, os fatores antinutricionais provenientes da casca do café incluem taninos, cafeína, lignina e sílica (Barcelos et al., 2001) e podem interferir na aceitação do alimento e na absorção dos nutrientes (Mehansho et al., 1987), tendo, portanto, seu uso limitado na alimentação animal.

A casca de café como fonte alternativa de fibra pode minimizar o custo da dieta, por se tratar de um subproduto de baixo custo, representando 40% do fruto maduro, que geralmente retorna às lavouras de café como adubo orgânico ou perde-se por não ter utilização (Poveda Parra et al., 2008). Deve ser ressaltado que a casca de café possui como constituinte uma porção considerável de cafeína (Cardoso et al., 2011).

Os teores de cafeína encontrados na casca de café arábica *in natura* e após tratamentos térmicos, assim como as respectivas médias e desvios padrão (Cardoso et al., 2011), estão listados na Tabela 1.

Tabela 1. Teores de cafeína na casca do café

Tipo de Casca	Média (%)	Desvio padrão
Casca <i>in natura</i>	0,36	±0,06
Casca seca 72°C – 24 hs	0,36	±0,04
Casca torrada 160°C – 5 min	0,47	±0,05

Fonte: (Cardoso et al., 2011).

Considerando que a ingestão de altas dosagens de cafeína pode aumentar a excreção urinária de cálcio e afetar negativamente o processo de remodelamento ósseo, e, sabendo-se que a casca do ovo é composta principalmente de CaCO_3 (Rodrigues et al., 2017), o referido aumento da excreção de cálcio orgânico poderia afetar diretamente a densidade óssea da ave, assim como a qualidade da casca do ovo.

2.3 – A casca de café usada em experimentos na alimentação animal

Em experimentos realizados com a espécie suína, na fase de terminação, alimentados com cinco níveis de inclusão (0, 5, 10, 15 e 20%) de casca de café melosa (fração da casca com menor presença do pergaminho), não tiveram alteração no consumo diário de ração (Oliveira et al., 2001).

Da mesma forma, Poveda Parra et al. (2008), ao testarem níveis de inclusão da casca de café na dieta de suínos, concluíram que a casca de café melosa pode ser incluída em níveis de até 5,0 e 9,5%, nas fases de crescimento e terminação, respectivamente, sem prejudicar o desempenho, sendo economicamente viável, além de produzir carcaças mais magras.

Ao adicionarem 0; 2,5 ;5,0 ;7,5 e 10% de casca de café na MS da dieta de ovinos, em substituição ao milho da ração concentrada, Souza et al. (2004) não verificaram alterações no consumo e na digestibilidade da MS e dos nutrientes da dieta.

Souza et al. (2017), ao testarem o efeito da fonte de fibra sobre desempenho, qualidade de ovos e biometria dos órgãos gastrointestinais de poedeiras leves concluíram que as fontes de fibra (incluindo a casca de café), alteram os parâmetros de qualidade de ovos. Além disso, a casca de café reduziu os custos de ração por caixa de ovos em relação ao uso de farelo de trigo. Não houve efeito dos tratamentos sobre o consumo de ração pelas aves ($p>0,05$).

2.4. Composição da casca de café

A cafeicultura destaca-se por ser uma atividade agrícola que origina elevado volume de resíduos. Dos resíduos provenientes do grão de café, a casca obtida pelo método via seca, em virtude da disponibilidade e das características químico-bromatológicas, apresenta grande potencial para utilização na alimentação animal. Os componentes da casca de café contêm a polpa, a mucilagem e o pergaminho ou casquinha (Bártholo, 1989).

A casca de café pode apresentar variações significativas em sua composição, especialmente nos teores de proteína bruta (PB), FDN e lignina (Barcelos et al., 1997; Vilela, 1999; Baião, 2002). Ao descrever, a composição química da casca de café, Souza et al. (2004) verificaram valores, na MS, de 6,9 % de PB (contendo 24,4 % na forma de nitrogênio indigestível em detergente ácido (NIDA), 59,4 % de FDN, 12% de lignina, 30,1 % de carboidratos não fibrosos (CNF), 1,8% de extrato etéreo (EE) e 37,7 % de FDA indigestível. Barcelos et al. (2001) descreveram valor médio de 0,87% de cafeína na casca de café de três variedades analisadas.

Pensando no conteúdo de fibra na ração de aves, no passado era recomendado para aves jovens, rações com pouca fibra visando um aumento no consumo e melhor desempenho. Esse conceito vem mudando, devido aos dados obtidos em novas pesquisas, que indicam ser vantajosa a inclusão moderada de fibra na ração. Essa inclusão pode trazer benefícios no desenvolvimento

do trato digestório e na eficiência alimentar durante a fase de crescimento (Scheideler et al., 1998; Gonzáles Alvarado et al., 2007).

2.5. Sistema reprodutivo de galinhas produtoras de ovos

Apesar de sua importância de caráter nutricional para o ser humano, as aves, em especial a galinha, e o ovo, não são objetos de pesquisa do mesmo nível de outros animais que são fonte de proteína para o ser humano (Costa, 2007).

A reprodução em aves é caracterizada por oviparidade. Os órgãos reprodutivos encontrados na fêmea são o ovário e o oviduto. O último se divide em infundíbulo, magno, istmo, útero e vagina. O ovário dá origem ao ovo, já o oviduto tem a função de conduzir o ovo até a cloaca. (Freitas et al., 2011).

O ovário e oviduto esquerdos se desenvolvem da forma normal superando em tamanho as mesmas estruturas do lado direito, de modo que na vida adulta as estruturas do lado esquerdo são funcionais, enquanto as estruturas do lado direito persistem de forma rudimentar (Sisson e Grossman, 1986).

Devido ao grande volume de ovos formados, acredita-se que seria incompatível dois ovidutos funcionais, pois não seria possível comportar dois ovos na parte baixa da cavidade do corpo da ave (Garcia e Fernández, 2001).

O oviduto apresenta diversos giros em forma espiral, porém após removido e organizado de forma retilínea pode atingir de 70 a 80 cm de comprimento. O oviduto apresenta estrutura típica de um órgão tubular oco, ou seja, uma camada de mucosa rodeada por uma túnica muscular que é envolvida pela serosa. (Freitas et al., 2011).

O infundíbulo é um fino tecido membranoso e com filamentos que envolvem o ovo no momento da sua liberação pelo ovário. O magno é a região em espiral e que secreta o albúmen. O istmo é pequeno e está localizado próximo ao útero, é uma pequena região menos espiralada onde depositam-se as fibras de queratina que viram a formar as membranas da casca. O útero é uma porção dilatada, local onde a casca é formada e o ovo estará completo. A vagina é a região terminal que vai desembocar na cloaca, da mesma forma que o tubo digestório e o rudimento do oviduto direito (Garcia e Fernández, 2001).

O ovário está preso pela dobra do peritônio que é o mesovário. A ave que já iniciou a postura irá apresentar várias fases de maturação de seus ovócitos, desde ovócitos microscópicos até os que já estão bem próximos de se romperem (Garcia e Fernández, 2001).

São vários os constituintes da gema amarela do ovo, água, lipídio, proteína, vitaminas e minerais e numerosos outros micronutrientes. A maior parte dos lipídios ocorre na forma de lipoproteínas e estes compostos estão frequentemente complexados ao Ca ou Fe (Swenson e Reece, 1996).

A cor da gema dos ovos resulta da deposição de xantofilas (grupo de pigmentos carotenoides) na gema. Este pigmento não pode ser sintetizado pelos animais e, portanto, devem ser obtidos

através da dieta, sendo que as fontes desses pigmentos podem ser naturais ou sintéticas (Garcia et. al., 2002).

A galinha leva para a formação de um ovo, o tempo entre 25 a 26 horas para que esteja pronto para a postura. Desde que o ovócito é liberado pelo ovário até o momento no qual percorreu todo o oviduto e ser liberado na forma de ovo. O oviduto tem a função de armazenar e transportar os espermatozoides, captar o oócito, proporcionar local adequado para a fertilização, promover o desenvolvimento embrionário e adicionar as camadas nutritivas e protetoras ao redor do embrião. (Freitas et al., 2011).

O Infundíbulo tem a função de transporte e servir de local para a fertilização e normalmente leva-se o tempo de 15 minutos nesse segmento para a realização dessas funções. O magno tem a função de armazenar e secretar albumina e liberação de materiais protéicos no momento de passagem do óvulo, este processo dura três horas. No istmo são depositadas as membranas da casca, são duas membranas que são depositadas ao redor da albumina, também é o local onde ocorre a calcificação inicial de pontos específicos na membrana, o tempo de duração deste processo é em torno de 1 hora e 30 minutos. O Útero ou glândula da casca tem a função de produção da casca e é o local onde o ovo mais demora para passar, cerca de 20 a 21 horas. A vagina e a cloaca funcionam como um local de passagem e têm a função de transporte para o exterior, é um processo rápido e que leva em torno de 1 minuto para que ocorra (Freitas et al., 2011).

2.6 Desenvolvimento Folicular

O número de dias em que ocorre a oviposição seguida de um dia de pausa é o período que determina o ciclo ovulatório. Uma ave é capaz de produzir ovos após atingir a maturidade sexual. Para que este processo ocorra os mecanismos de feedback entre ovário, pituitária e hipotálamo devem estar bem estabelecidos (Robinson et al., 1993). Existe uma hierarquia folicular qual permite uma ovulação diária e esta hierarquia é estabelecida pelos folículos pequenos (6 a 8 mm). O folículo amarelo grande (FAG) que ultrapassar 8 mm de diâmetro continua se desenvolvendo e irá ovular (Rutz et al., 2007).

Os folículos podem ser classificados em folículos de repouso, folículos brancos de crescimento lento, estágio de seleção do folículo e a diferenciação final. Em aves de postura, é esperado que apenas um folículo fosse liberado de cada vez. Dessa forma, os folículos amarelos grandes entram em hierarquia e o folículo de maior tamanho fica destinado a ovular primeiro (F1); o segundo maior pode ovular no dia seguinte (F2) e assim sucessivamente (Johnson, 1993).

Os folículos amarelos grandes (FAG) podem estar associados com longa sequência de posturas, normalmente são de seis a oito FAG um número considerado normal para as aves poedeiras de alta produção (Williams e Sharp, 1978). A produção e maturação excessiva de FAG pode estar relacionada com fatores de manejo, como por exemplo o programa de luz artificial realizado de forma inadequada, aves submetidas ao estresse térmico e um manejo alimentar inadequado. Dessa forma causando perdas como a presença de ovos de gema dupla, ovos com deformidades na casca, ovulação e postura interna (Robinson et al.; 1993, Yu et al., 1992). Existe uma tendência de o peso médio dos ovos aumentar à medida que o peso corporal das aves aumenta (Becker et al., 2014).

2.7. Requerimento energético

De acordo com os níveis nutricionais recomendados para galinhas poedeiras da linhagem Lohmann® LSL. Aves no período de pré-postura, da semana 18 até atingir 5% de produção essas aves requerem 2.750 a 2.800 Kcal de Energia Metabolizável. (Guia de Manejo Lohmann LSL Lite, 2017).

Com relação às fontes de fibra, elas são pobres em energia o que acaba limitando o seu uso na alimentação de galinhas poedeiras. As fontes alternativas de fibras, mesmo tendo um custo inferior não são boas fornecedoras energéticas, o que nos leva a ter que aumentar a inclusão de óleo na dieta para compensar esse déficit energético, o que acaba acrescentando novamente um aumento no custo da dieta. Em função de uma elevada concentração fibrosa (fibra bruta), e por consequência baixos teores de energia metabolizável, os ingredientes e subprodutos obtidos do processamento de grãos se mostram com menores potenciais para serem usados nas dietas de galinhas poedeiras (Ludke, et. al., 2010).

A concentração de fibra do farelo de gérmen de milho desengordurado pode ser fator limitante ao seu uso em quantidades elevadas na alimentação de poedeiras e frangos de corte. O elevado conteúdo de fibra na ração reduz a energia, aumenta a velocidade do trânsito da digesta (Van Soest, 1985) e diminui a digestibilidade dos nutrientes.

As bases para a formulação da ração em termos nutricionais e de teor mineral em cada fase são as exigências nutricionais diárias e o consumo diário real de ração. A dieta na fase 1 é elaborada para atender as exigências para obter a maior massa de ovos possível. A recomendação nutricional presume uma concentração energética dietética de 11,4 MJ/kg (2725 kcal) de energia metabolizável, temperatura de 20°C no aviário e bom empenamento. Sob essas condições, prevê-se que o consumo diário de ração pela LOHMANN® LSL, seja de 105 a 110 g/dia. A formulação das rações fase dois e três leva em consideração a redução da necessidade de nutrientes orgânicos e o aumento das exigências de cálcio conforme a idade das aves aumenta. O momento correto de mudar o tipo de dieta é determinado mais pelo nível de produção e pela necessidade de cálcio do que pela idade das aves. A cada 10 semanas, ao longo do período de postura, a composição da dieta deve ser adaptada ao nível de produção e às exigências nutricionais das aves. Devem-se evitar mudanças significativas na composição das matérias-primas nas dietas de múltiplas fases e alterações acentuadas na consistência da ração. (Guia de Manejo Lohmann LSL Lite, 2017).

2.8. Uso de alimentos alternativos na dieta de aves

Atualmente, temos um grande avanço na área de avaliação de alimentos e das exigências nutricionais de aves, é cada vez maior, a busca por alimentos alternativos que possam permitir a todo o setor avícola menores custos de produção, tornando a atividade de avicultura brasileira ainda mais competitiva e atrativa no cenário mundial (Fernandes et al, 2012).

É grande a gama de produtos e subprodutos provenientes da agroindústria que têm potencial para serem utilizados na alimentação animal, os teores nutricionais destes produtos são resultados de várias interações complexas entre os constituintes que são provenientes de

interações entre microrganismos do trato digestivo, no processo de digestão e absorção, no transporte e na utilização de metabólitos e das condições fisiológicas dos animais (Oliveira et al., 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Condições experimentais

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental “Prof. Hélio Barbosa” (FEPHB), da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada no município de Igarapé/MG. Todos os procedimentos descritos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso Animal CEUA – UFMG, sob protocolo Número: 28/2018 (Anexo I).

As aves foram selecionadas por meio de uma avaliação de saúde geral, foram realizados exames físicos de forma individual, determinando se a ave estava em produção de ovos, não apresentava nenhuma injúria, sinal ou sintoma de doenças que poderiam impedir a participação no estudo em questão. As aves foram alojadas em um galpão de postura convencional, não climatizado, equipado com gaiolas na densidade de 333 cm²/ave, com um total de seis aves por gaiola. As repartições dos animais foram isoladas por um separador de madeira, impedindo o acesso das aves à ração de outra repartição. Todas as aves foram incluídas no experimento na mesma data.

3.2. Aves e Manejo

Foram utilizadas 576 aves poedeiras Lohmann[®] - LSL, de 56 a 68 semanas de idade, distribuídas em 24 parcelas experimentais, durante 13 semanas experimentais, sendo que a primeira semana foi utilizada para a padronização da dieta. As aves selecionadas para o experimento apresentavam uniformidade de peso.

O manejo das aves obedeceu à rotina adotada na Fazenda Experimental. O arraçamento foi realizado diariamente, e a coleta de ovos feita quatro vezes ao dia. O programa de luz utilizado foi de 14 horas de luz/dia, sendo 12 horas de luz natural e 2 horas de luz artificial, sendo 1 hora de luz artificial durante a madrugada e 1 hora durante o início da noite.

As gaiolas estavam equipadas com comedouros tipo calha de PVC, com arraçamento manual e bebedouro automático contendo válvula acoplada ao copinho (um bebedouro para cada duas gaiolas). As aves receberam água e ração à vontade.

3.3. Grupos Experimentais

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, compreendendo quatro tratamentos com três diferentes quantitativos de cafeína por tonelada de ração, os quais estão descritos abaixo:

Tratamento A - Ração sem inclusão de cafeína em pó (0 gramas / tonelada).

Tratamento B – Ração com inclusão de cafeína em pó (150 gramas / tonelada).

Tratamento C – Ração com inclusão de cafeína em pó (300 gramas / tonelada).

Tratamento D – Ração com inclusão de cafeína em pó (450 gramas / tonelada).

Optou-se pela compra da cafeína pura pela facilidade de obtenção, pois seria necessária uma grande quantidade de café para sua extração. A cafeína utilizada foi a Cafeína Pura Anidra USP da marca Sulfal Química Limitada, lote de produção número: ALL3/FP/170856 e validade até maio de 2022.

3.4. Rações

Para formulação das rações foram utilizados os valores dos ingredientes indicados nas tabelas brasileiras para aves e suínos (Rostagno et al., 2011). A composição das rações de cada tratamento com seus respectivos valores nutricionais encontra-se na tabela a seguir:

Tabela 2. Composição e teores nutricionais calculados das rações de produção.

Ingredientes	A	B	C	D
Milho grão	62,000	61,985	61,970	61,955
Farelo de soja (45%)	20,402	20,402	20,402	20,402
Farelo de trigo	3,000	3,000	3,000	3,000
Calcário	9,820	9,820	9,820	9,820
Farinha de carne (40%)	4,000	4,000	4,000	4,000
Sal	0,380	0,380	0,380	0,380
Suplemento vit. e min. ¹	0,200	0,200	0,200	0,200
DL Metionina	0,140	0,140	0,140	0,140
L-Lisina	0,040	0,040	0,040	0,040
Cafeína	0,000	0,015	0,030	0,045
TOTAL (%)	100,000	100,000	100,000	100,000

Teores nutricionais:

Cálcio (%)	4,0458	4,0458	4,0458	4,0458
EMAn (kcal/kg)	2677,9954	2677,9954	2677,9954	2677,9954
Fósforo disponível (%)	0,3205	0,3205	0,3205	0,3205
Lisina digestível (%)	0,7470	0,7470	0,7470	0,7470
Metionina+cistinadig. (%)	0,5879	0,5879	0,5879	0,5879
Metionina dig. (%)	0,3681	0,3681	0,3681	0,3681
Proteína bruta (%)	16,3585	16,3585	16,3585	16,3585
Sódio (%)	0,1821	0,1821	0,1821	0,1821
Treonina digestível (%)	0,5403	0,5403	0,5403	0,5403
Cafeína (%)	0,0000	0,0150	0,0300	0,0450

¹ Suplemento vitamínico mineral (composição por kg do produto): Vit. A 8.000.000 UI, Vit. D3 2.100.000 UI, Vit. E 7.000 mg, Vit. K3 2.000 mg, Vit. B₁ 1.000 mg, Vit. B₂ 3.000 mg, Vit. B₆ 700 mg, Vit. B₁₂ 6.000 mg, Ácido Fólico 100 mg, Biotina 10 mg, Niacina 20.000 mg, Pantotenato 2.000 mg, Manganês 55.000 mg, Zinco 40.000 mg, Ferro 50.000 mg, Cobre 6.000 mg, Cobalto 100 mg, Iodo 1.000 mg, Selênio 200 mg, de cálcio 10.000 mg, Antioxidante.

3.5. Dados coletados

3.5.1 -Produção de ovos

A produção de ovos foi anotada em planilha diária dividida por repetição experimental. Em seguida foi calculada a porcentagem de postura semanal. Ao final do experimento foi calculado o percentual médio de produção. Também foi calculada a produção de ovos por ave alojada e ao final do período experimental foi calculado o número de ovos por ave alojada.

3.5.2- Peso dos ovos

Foram realizadas pesagens dos ovos produzidos a cada período de 28 dias, totalizando três pesagens durante o experimento.

Nos dias de pesagem, todos os ovos produzidos foram identificados e pesados em balança de precisão. Posteriormente foi calculado o peso médio dos ovos (em gramas), de acordo com as repetições de cada grupo experimental. Ao término do período experimental foi calculado o peso médio de todos os ovos produzidos.

3.5.3. Espessura da casca

A avaliação da espessura da casca foi realizada quando as aves completaram 59, 63 e 68 semanas de idade, ou seja, a cada período de 28 dias. Foi coletada uma amostra ao acaso de quatro ovos por repetição, sendo cada ovo considerado uma repetição. A espessura da casca foi medida utilizando-se um micrômetro digital da marca AMES[®], com precisão de 0,01mm, em três pontos distintos da casca (região apical, equatorial e basal). O resultado foi obtido pela média dos três pontos, expresso em (mm).

3.5.4. Resistência da casca

A avaliação da resistência da casca à fratura foi realizada quando as aves apresentaram 59, 63 e 68 semanas de idade. Foi coletada uma amostra ao acaso de quatro ovos por repetição, sendo cada ovo considerado uma repetição. A força necessária para quebrar a casca (g) foi determinada utilizando-se o Texturômetro para alimentos - TAX T2 Texture Analyser (Stable Micro Systems, Surrey, England). Foi utilizada a sonda P4 DIA Cylinder de aço inoxidável, de 4 mm de diâmetro a velocidade pré, durante e pós-teste de 3,0; 0,5; e 5,0; mm/s e uma distância de 6 mm com força de gatilho de 3.0g. O teste utilizado foi o de fratura por compressão, no qual o ovo inteiro é colocado longitudinalmente (Rodriguez-Navarro, 2002) sobre suporte de metal em forma de anel (5 cm de diâmetro) dentro de um cadinho de porcelana e a casca é pressionada até que se ocorra a fratura.

3.6. Teor de cálcio e fósforo da casca dos ovos

As amostras de cascas de ovos receberam um pré-tratamento (limpeza com detergente e posterior enxague com água corrente seguido de água destilada). Em seguida, secas em estufa a 110 °C por um período de seis horas (Santos et al., 2012), após as amostras de cascas foram trituradas com o auxílio de um gral com pistilo.

Os cadinhos de porcelana foram identificados e deixados na mufla a 600 °C durante 1 hora, após a temperatura da mufla baixar para 100 °C, os cadinhos foram transferidos para o dessecador com auxílio de uma pinça e foi aguardado o tempo para que se atinja o equilíbrio com a temperatura ambiente, cerca de 40 minutos. Após os cadinhos foram pesados vazios para se obter a tara na balança, foi pesada 1 grama de cada amostra de cascas de ovos. Os cadinhos com a amostra foram colocados na chapa aquecedora dentro da capela de exaustão realizando a pré-queima, e aguardou-se até que a fumaça cessasse. Os cadinhos com as amostras foram transferidos para a mufla a 600 °C por um período de 4 horas, após o término, aguardou-se a temperatura da mufla abaixar até 100 °C para abrir a porta da mesma. Novamente foram transferidos para o dessecador e aguardou-se até que atinja o equilíbrio com a temperatura ambiente, cerca de 40 minutos, após foram pesados o conjunto cadinho mais amostra e realizou o cálculo da % de matéria mineral, que consiste em peso do cadinho com amostra após a mufla menos o peso do cadinho vazio dividido pelo peso da amostra vezes 100, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Matéria mineral} = \frac{\text{Cadinho com amostra após mufla} - \text{Cadinho vazio}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$$

Após determinar a % de Matéria mineral, realizou-se a abertura de solução mineral, com o auxílio de um bastão de vidro foi transferido quantitativamente as cinzas do cadinho para um béquer de 250 ml, foram medidos 10 ml da solução de HCL 1:1 e transferido para o cadinho lavando-o para retirar todo resíduo de cinzas, começou pelas bordas e depois verteu-se este ácido com os resíduos no mesmo béquer para o qual foram transferidas as cinzas, foi repetido o processo de lavagem do cadinho com mais 10 ml da solução de HCL 1:1 e transferido para o béquer.

Os cadinhos foram lavados com um pouco de água destilada utilizando a pisseta e o mínimo de água possível, o béquer foi para a chapa aquecedora dentro de uma capela de exaustão e aguardou-se até fervura, após retirou o béquer cuidadosamente da chapa com o auxílio de uma pinça ou um pegador de borracha, esperar esfriar um pouco para saída do vapor ácido e filtrou para um balão de 100 ml utilizando o papel de filtro qualitativo, o béquer foi lavado com água destilada por duas vezes para garantir que todo o resíduo de minerais seja transferido e realizou a filtração, o filtro foi lavado com água destilada e completou-se o volume do balão com água destilada. Em seguida, foi feita a homogeneização e acondicionamento em frasco devidamente identificado e fechado para a posterior análise de minerais. (Adaptado de Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, 2005).

3.7 - Determinação da porcentagem de cálcio das amostras

Para a realização da análise de cálcio, a amostra a ser testada é a solução (chamada de solução estoque) que foi retomada após a determinação da % de Matéria mineral. Primeiramente foram pipetados 5 mL da solução estoque, em um frasco de Erlenmeyer. Foram adicionadas duas gotas do indicador vermelho de metila 0,1% e o Erlenmeyer transferido para a chapa até aquecer, quando foram adicionados 20 mL de oxalato de amônio em ebulição. Em seguida, foi realizada a neutralização com hidróxido de amônio 1:1 até atingir uma cor amarela. Foi adicionado ácido clorídrico 1:3, gota a gota até uma coloração rósea, deixou decantar por no mínimo 1 hora e no máximo 3 horas. Foi adicionado ácido sulfúrico 5% para esquentar a solução. A solução foi filtrada do Erlenmeyer no funil sobre um frasco Kitasato, usando o vácuo. O Erlenmeyer foi lavado com hidróxido de amônio 1:50 (duas vezes, usando 20 mL do hidróxido), filtrando a

cada lavagem. Depois foram lavadas as bordas do Erlenmeyer com o ácido sulfúrico quente onde estava a solução, colocando no mesmo um funil de vidro de boca larga e lavando o funil com o ácido sulfúrico quente (colocado em uma pisseta), Todo o precipitado foi lavado, retornando para o Erlenmeyer num volume de 100 a 150ml. O Erlenmeyer foi colocado para ferver e titular a quente com o permanganato de potássio 0,05N até a primeira viragem para cor rosa claro.

Cálculo da Porcentagem de Cálcio:

V= quantidade de permanganato de potássio gasto na titulação

N= normalidade do permanganato

0,02004= miliequivalente-grama do cálcio

D= quantidade de solução mãe que foi preparada

Alíquota = quantidade de solução estoque pipetada (em geral, 25 mL)

$$\%Ca = \frac{(V \times N \times 0,02004 \times D \times 100)}{\text{Alíquota} \times \text{peso da amostra}}$$

3.8- Determinação da porcentagem de fósforo das amostras

Para a determinação das porcentagens dos teores de fósforo foi feita a análise colorimétrica. O aparelho (colorímetro) foi utilizado o comprimento de onda na faixa de 720 nm . O aparelho foi ligado alguns minutos antes de começar a marcha. Foi pipetado 5 ml de solução – estoque e transferido para um balão de 50 ml, sempre diluindo com um pouco de água destilada. Foram pipetados 5 ml de molibdato de amônio e diluídos com mais um pouco de água destilada, adicionados 2 ml de ANSA e o volume do balão foi completado até o menisco e homogeneizado. O ANSA foi colocado por último em todas as soluções e após 20 minutos de espera foi realizado a leitura. O branco do reagente continha apenas o molibdato e o ANSA, como coloração incolor para ajustar a leitura no colorímetro em 100 % de transmitância e zero de absorbância.

Para o cálculo foi realizada a conversão dos valores lidos em transmitância ou absorbância em mg, de fósforo, usando o gráfico de transmitância X concentração em mg de fósforo.

V= volume da solução estoque

T: transmitância

$$\% P = [(T \times V \times 100) / \text{Alíquota}] / \text{peso da amostra}$$

3.9. Unidades Haugh

Os ovos foram pesados individualmente em balança analítica digital com precisão de 0,01 e posteriormente quebrados em mesa com superfície lisa, onde foi aferida a medida da altura de albúmen, utilizando-se um aparelho medidor de Unidades Haugh (UH) – Ames modelo S-8400, Massachusetts, EUA (Haugh, 1937). A partir dos dados de peso do ovo e a altura do albúmen, a UH foi obtida pela fórmula seguinte, de acordo com (Brant et al., 1951).

$$UH = 100 \log \left[\left[H - \frac{\sqrt{G(30W^{0,37} - 100)}}{100} \right] + 1,9 \right]$$

em que:

H = altura do albúmen denso (milímetros);

G = constante gravitacional de valor 32;

W = peso do ovo (gramas).

Os dados para o cálculo foram obtidos das mesmas amostras utilizadas para peso dos ovos.

Após realizados os cálculos, o valor obtido irá determinar a classificação por qualidade, assim como mostrado na tabela a seguir:

Tabela 3- Classificação por qualidade segundo Unidades Haugh (UH)

UH	Qualidade
100 – 72	AA
71 – 60	A
59 – 30	B
29 – 0	C

Fonte: USDA, 2000.

3.10. Porcentagem da gema, casca e albúmen

Para as avaliações das proporções de gema, de albúmen e de casca em relação ao peso do ovo, foram utilizados os mesmos ovos previamente pesados para análise de Unidades Haugh. Após a quebra dos ovos, foram separados o albúmen, a gema e a casca. A separação da gema foi realizada manualmente, e o resíduo da clara, aderido à gema foi removido com auxílio de papel absorvente. Após este procedimento, as gemas foram pesadas individualmente. As cascas, depois de lavadas com água corrente para retirada de resíduos do albúmen, secaram a temperatura ambiente durante 24 horas e pesadas individualmente. O peso do albúmen foi obtido pela diferença entre o peso do ovo inteiro e o peso da gema somado ao da casca:

Peso do albúmen = Peso do ovo inteiro – (Peso da gema + Peso da casca).

3.11. Peso específico

As avaliações de peso específico foram realizadas quando as aves apresentaram 59, 63 e 68 semanas de idade. O método de análise foi baseado no princípio de Arquimedes, onde os valores de peso específico, expressos em (g/mL H₂O) foram obtidos pela seguinte fórmula:

$$\frac{\text{(Peso do ovo no ar)}}{\text{(Peso do ovo no ar – Peso do ovo na água)}}$$

O equipamento utilizado para esta avaliação foi montado com uma balança de precisão de 0,5 g, e suporte de ferro utilizado para sustentar um recipiente contendo água destilada, que possuía espaço adequado para a pesagem do ovo no ar. Lateralmente, foi colocada uma estrutura de ferro, que possui uma haste com aro apropriado para a pesagem do ovo dentro da água. O equipamento foi colocado sobre a balança que em seguida foi zerada para iniciar a pesagem dos

ovos, com o cuidado de sempre zerar a balança antes de cada pesagem. Os pesos dos ovos dentro e fora da água foram anotados para o cálculo posterior do peso específico.

3.12 - Coloração da gema

Está análise foi realizada quando as aves apresentaram 59, 63 e 68 semanas de idade. De forma casual foram coletados quatro ovos por repetição, sendo cada ovo considerado como uma repetição. A coloração das gemas foi realizada utilizando o leque colorimétrico (DSM YOLK COLOR FAN, 2005 – HMB 51548). Imediatamente após o ovo ser quebrado, a cor da gema foi comparada com a cor correspondente mais aproximada da paleta de cores disponível, com escala variando de 1 a 15. Por ser uma análise subjetiva foi sempre realizada no mesmo local e pelos mesmos avaliadores, dessa forma, reduzindo variações.

3.13. Custo por caixa de ovos produzida

Conhecendo o custo de cada ração experimental e a conversão alimentar por quilo ou dúzia de ovos, foi calculado o custo da ração/ kg e por caixa de ovos (30 dúzias).

3.14. Consumo diário de ração

A ração foi armazenada em recipientes plásticos adequados, identificados e ordenados de acordo com cada grupo experimental. Foram realizadas as pesagens da ração fornecida no início e também da sobra dos comedouros no final de cada semana, dessa forma, foi possível determinar o consumo de ração diário por grupo, e dividindo-se pelo número de aves em cada grupo, tem-se o consumo de ração individual (gramas/dia/ave).

3.15. Conversão alimentar

Foi obtida de duas maneiras: 1- dividindo-se o total de ração consumida para cada dúzia de ovos produzida pelas aves de cada repetição durante o experimento (Kg ração/ quantidade ovos [dúzias]); 2- divisão do total de ração consumida pelas aves de cada repetição pelo peso total de ovos postos no mesmo período (Kg ração/ Kg ovos).

3.16. Peso das aves

O peso corporal foi obtido no início e no final da fase de produção, ou seja, com 56 e 68 semanas de idade, com a pesagem de todas as aves de cada repetição em conjunto, e expresso em gramas.

3.17. Mortalidade

Foi anotado o número de aves mortas diariamente, calculada a taxa de mortalidade, utilizando-se esse dado como fator importante na taxa de viabilidade.

3.18. Histopatologia do sistema reprodutivo

Após o abate das aves, o oviduto foi pesado e coletadas as porções referentes aos segmentos: infundíbulo, magno, istmo, útero e vagina. Os segmentos foram acondicionados em cassetes para histologia e fixados em formol tamponado a 10% por no mínimo 48 horas. Posteriormente foi feita a desidratação com álcool, nas concentrações de 70%, 80%, e 90% e na sequência álcool absoluto. Depois, foi feita a diafanização com xilol, e a técnica rotineira de inclusão em parafina e, finalmente, a microtomia dos blocos, transferência para a lâmina e coloração Hematoxilina-Eosina (HE), configurando as lâminas histológicas.

3.19. Análise estatística

Para as avaliações de desempenho, o delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC), composto por quatro tratamentos e seis repetições com 24 aves em cada.

Para análises de qualidade dos ovos o delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, composto por quatro tratamentos, no qual foram coletados 24 ovos por tratamento, sendo cada ovo considerado como uma repetição. Para análise de resistência da casca foram utilizados ovos diferentes da análise anteriormente citada (coletada nova amostra), da mesma forma foram quatro ovos por repetição, ou seja, 24 ovos por tratamento, sendo cada ovo considerado uma repetição.

Os dados foram analisados com o auxílio do programa SAS e submetidos à análise de variância, para verificar os efeitos significativos entre os fatores simples e em seguida foi feito um teste de regressão entre os tratamentos. Também anova seguida pelo teste de Tukey e os testes de Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1, observa-se a média de produção semanal de ovos dividida por grupo experimental em valores unitários de ovos. A primeira semana, denominada de semana zero, é correspondente a semana de padronização da dieta experimental. Nota-se uma menor produção média semanal dos grupos C e D, principalmente após a terceira semana experimental, essa tendência se mantém até o final do experimento com doze semanas.

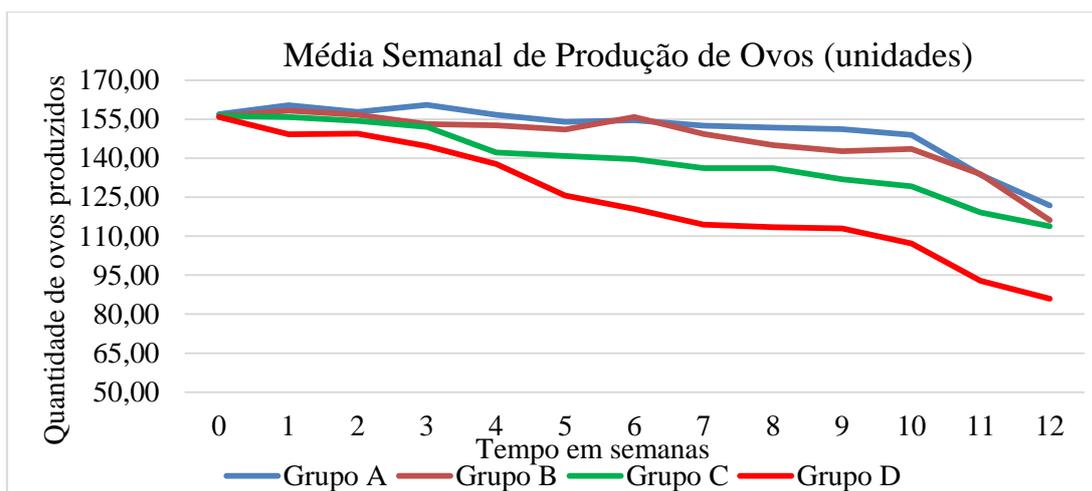


Figura 1 – Média Semanal de produção de ovos em unidades

A Figura 2 apresenta a porcentagem de postura de ovos durante as doze semanas experimentais. A análise da porcentagem de postura leva em consideração a quantidade de ovos produzidos dividida pelo número de aves de cada grupo; dessa maneira, permite-se a comparação entre os grupos.

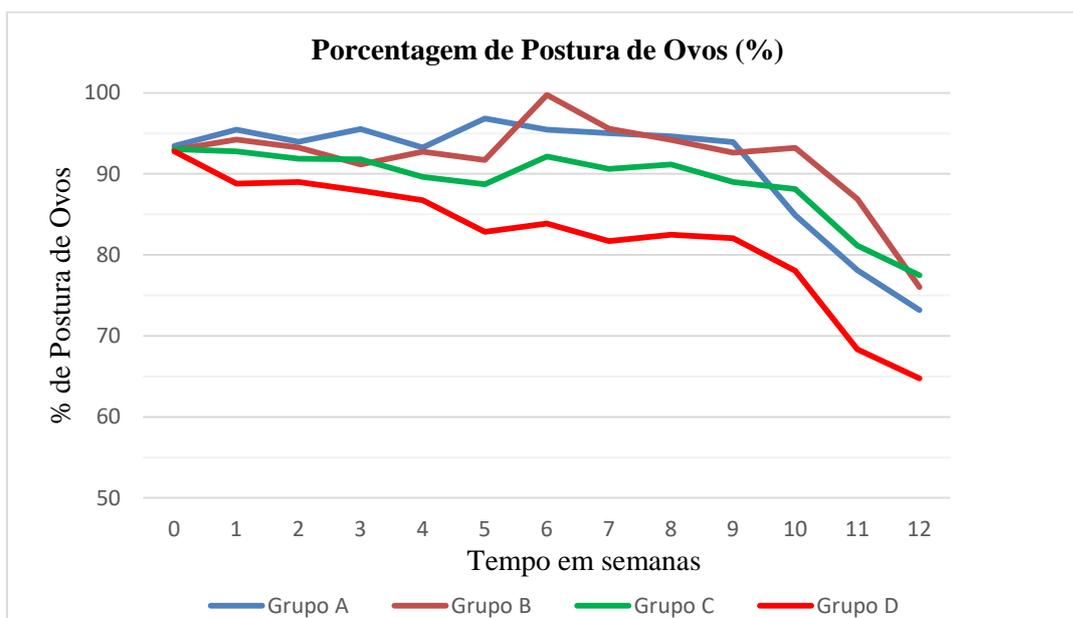


Figura 2 – Porcentagem de Postura de ovos

Nota-se na Figura 3, um menor consumo de ração médio semanal em gramas por parte do grupo D, grupo que consumia uma maior inclusão de cafeína pura na dieta.

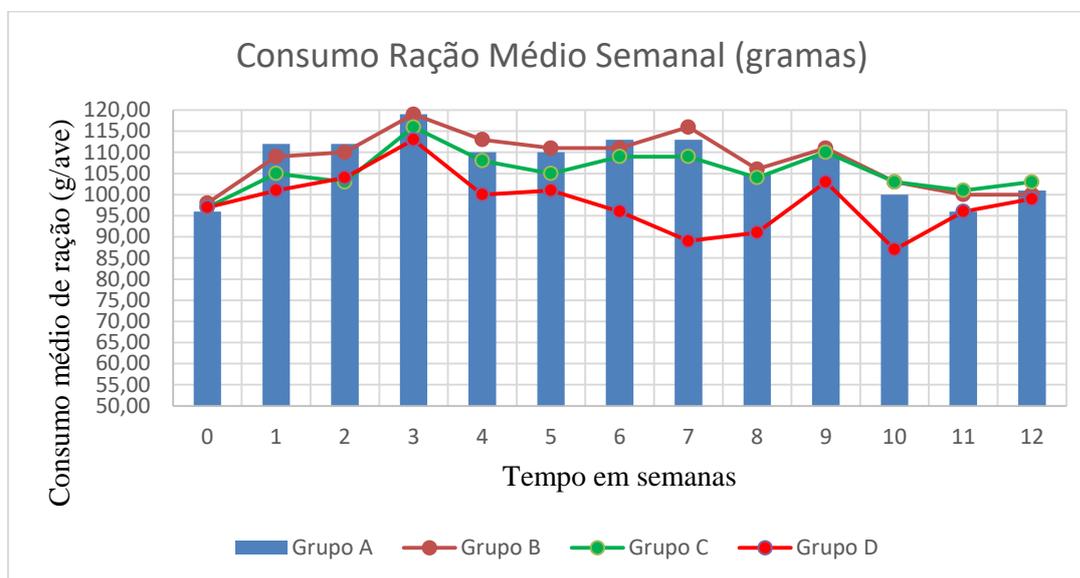


Figura 3 – Consumo Médio Semanal de Ração (gramas) / ave

Os dados atuais para referência de peso e consumo de ração da linhagem das aves utilizadas no presente estudo estão apresentados no guia da linhagem Lohmann® LSL (Lohmann, 2017). O peso de galinhas poedeiras na idade de 56 semanas deve apresentar um valor médio de 1.699 gramas, variando entre 1.648 a 1.750 gramas. Enquanto que o peso médio de galinhas poedeiras da linhagem em questão na faixa etária de 68 semanas é de 1.708 gramas e tem em média uma variação entre 1.656 a 1759 gramas. Já o consumo médio de ração varia entre 105 e 110 gramas/dia. O fornecimento de ração visando ao ganho de peso/aumento da estrutura das aves leva ao aumento do peso dos ovos ao longo de todo o período de postura (Lohmann, 2017). Podemos observar os valores contabilizados durante o período experimental na Tabela 3:

Tabela 4- Peso vivo inicial (kg), consumo de ração (g/dia), peso vivo final (kg) e ganho de peso (kg), de poedeiras, no período de 56 a 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos /Quantitativo de Cafeína	Peso Inicial ¹ (kg)	Consumo ² de Ração (g/dia)	Peso final ¹ (Kg)	Ganho peso ¹ (kg)
A (0 ppm)	1,586 ± 0,029 a	107,38±7,17a	1,603 ± 0,019 a	0,017 a
B (150 ppm)	1,633 ± 0,039 b	108,23±6,44a	1,582 ± 0,024 a	- 0,051 b
C (300 ppm)	1,634 ± 0,042 b	105,61±4,79a	1,536 ± 0,024 b	-0,098 c
D (450 ppm)	1,600 ± 0,038 ab	98,23±6,88b	1,486 ± 0,016 c	-0,114 c
Valor de p	0,09	0,011	< 0,001	< 0,001

1 Diferenças significativas: letras distintas se diferem pela Anova seguida pela análise de regressão.

2- Diferenças significativas: letras distintas se diferem pela Anova seguida pelo teste de Tukey.

Durante a fase de recria, busca-se obter uma viabilidade entre 97 a 98 % e durante o período de postura entre 92 a 93 % são índices aceitáveis para a linhagem em questão. A taxa de postura esperada para aves com idade entre 56 a 68 semanas é de 92,4 % na faixa etária de 56 semanas e 87,9 % nas aves com 68 semanas. Em relação ao número de ovos acumulados por ave alojada,

espera-se que se atinja a marca de 233,5 com idade de 56 semanas e que atinja 305,7 nas 68 semanas. Já para a conversão alimentar esperada é de 2,0 a 2,1 kg/ kg de massa (Lohmann, 2017). Na Tabela 4 estão representados os valores encontrados durante o período experimental. A produção de ovos e o número de ovos por ave alojada apresentaram menores valores nas aves que consumiam a maior concentração de cafeína na dieta.

Tabela 5 – Viabilidade, produção de ovos (%), número de ovos/ ave alojada, conversão alimentar (kg/dúzia) e conversão alimentar (kg/kg) de poedeiras, no período de 56 a 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	Viabilidade ¹	Produção Ovos ² (%)	Nº de ovos/ ave alojada	Conversão Alimentar (kg/dúzia) ²	Conversão Alimentar (kg/kg ovos) ²
A (0 ppm)	99,70 ab	90,85 ± 7,78 a	75,17 a	1,43 a	1,67 a
B (150 ppm)	99,60 a	91,79 ± 5,79 a	73,26 ab	1,48 a	1,68 ab
C (300 ppm)	99,30 ab	88,70 ± 4,68 a	68,80 d	1,54 a	1,66 ab
D (450 ppm)	98,50 b	81,38 ± 7,70 b	60,60 c	1,63 a	1,57 b
Valor de p	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05

1- Letras distintas se diferem pelo teste de Kruskal-Wallis seguido por Mann Whitney.

2- Diferenças significativas: letras distintas se diferem pela Anova seguida pelo teste de Tukey.

O peso médio de ovo esperado para a linhagem Lohmann® LSL aos 12 meses de postura é 61 gramas, aos 14 meses é 61,4 (Lohmann, 2017). Na Tabela 5 são demonstrados os valores médios de peso de ovos de acordo com os tratamentos. Foi observado somente nas 68 semanas redução no peso de ovos no grupo que recebeu a maior dosagem de cafeína.

Tabela 6 – Peso de ovos de poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	60 semanas ¹	64 semanas ¹	68 semanas ²
A (0 ppm)	66,182 ± 5,18 a	66,357 ± 5,56 a	62,274 ± 4,70 a
B (150 ppm)	65,026 ± 5,04 a	65,478 ± 4,50 a	64,109 ± 3,90 ab
C (300 ppm)	64,103 ± 4,82 a	63,097 ± 4,03 a	64,128 ± 5,11 a
D (450 ppm)	64,164 ± 3,59 a	64,250 ± 5,36 a	60,498 ± 5,26 b
Valor de p	0,39	0,11	0,017

1- Peso de ovo – não significante pela Anova seguida pelo teste de Tukey.

2- Peso Ovo - diferenças significantes: letras distintas se diferem pela Anova seguida pelo teste de Tukey.

A menor produção de ovos por galinha e o menor peso dos ovos, nos grupos que consumiram a dieta contendo a maior concentração de cafeína podem ser atribuídos à interferência desse composto no metabolismo basal, pois apresenta um conhecido efeito estimulante nos diversos

sistemas. Uma das consequências dessa estimulação é a redução no consumo de alimentos, gerando um déficit energético e proteico. Além disso, a cafeína altera o metabolismo ósseo por interferência na homeostase do cálcio, elevando sua taxa de filtração renal e reduzindo sua absorção renal (Ashizawa, 1997; Massey e Sutton, 2004). Nesse sentido, altas doses de cafeína na dieta, podem promover hipocalcemia com aumento da taxa de reabsorção óssea compensatória e reduzir a densidade mineral óssea (DMO) nos animais (Heaney et al., 2002).

A unidade Haugh é uma expressão matemática que correlaciona o peso do ovo com a altura da clara espessa. Quanto maior o valor da unidade Haugh, melhor é a qualidade do ovo (Rodrigues, 1975). Na Tabela 6 estão listadas as unidades Haugh encontradas nas análises de qualidade. Com 68 semanas todos os grupos que consumiram a cafeína apresentaram maiores valores de Unidades Haugh que os ovos do grupo controle. Apesar dessa variação, todos os ovos do presente estudo são considerados como ovos de qualidade AA. De acordo com o manual do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos - USDA Egg – Grading Manual (2000), o que não prejudica o valor comercial desses ovos.

Tabela 7 – Análise de qualidade de ovos de poedeiras em Unidades Haugh com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	60 semanas ¹	64 semanas	68 semanas ¹
A (0 g)	91,84 ± 3,30 a	87,94 ± 3,77 a	86,82 ± 3,98 a
B (150 ppm)	92,89 ± 3,26 ac	87,50 ± 3,87 a	92,94 ± 3,29 b
C (300 ppm)	94,93 ± 5,23 bc	90,14 ± 4,21 a	91,77 ± 3,69 b
D (450 ppm)	95,69 ± 3,62 b	90,20 ± 3,96 a	94,46 ± 4,06 b
Valor de p	0,010	0,205	< 0,001

1- Letras distintas se diferem pelo teste Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls.

Os cálculos de porcentagem dos componentes dos ovos (% de gema, % de albúmen e % de casca) foram feitos conforme descrito por Wu et al. (2005). Observe nas Tabelas 7, 8 e 9 os resultados de acordo com os tratamentos. Com o consumo de 300 ppm e com 450 ppm de cafeína na dieta observou-se aumento da porcentagem de gema dos ovos com 68 semanas de idade, mas a porcentagem de albúmen não foi afetada. Além disso, a ingestão da cafeína foi responsável pela redução da porcentagem de casca dos ovos em todos os momentos avaliados.

Tabela 8 – Porcentagem de gema de ovos de poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	60 semanas ¹	64 semanas ¹	68 semanas ²
A (0 ppm)	28,05 ± 2,05 a	27,91 ± 2,02 a	27,41 ± 1,35 a
B (150 ppm)	27,95 ± 1,96 a	28,57 ± 1,73 a	27,61 ± 2,00 ab
C (300 ppm)	28,35 ± 1,82 a	28,78 ± 2,21 a	28,38 ± 2,81 b
D (450 ppm)	28,19 ± 1,94 a	28,26 ± 1,47 a	28,87 ± 2,41 b
Valor de p	0,949	0,334	0,038

1- não significante.

2- Letras distintas se diferem pelo teste Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls

Tabela 9 – Porcentagem de albúmen de ovos de poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	60 semanas ¹	64 semanas ¹	68 semanas ¹
A (0 ppm)	62,34 ± 2,23	62,45 ± 2,32	62,73 ± 1,56
B (150 ppm)	62,62 ± 2,09	62,27 ± 2,16	63,67 ± 1,87
C (300 ppm)	62,60 ± 2,02	62,25 ± 2,13	63,11 ± 3,12
D (450 ppm)	62,88 ± 2,07	63,01 ± 1,67	62,36 ± 2,46
Valor de p	0,947	0,469	0,244

1- Diferenças não significantes pelo teste Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls.

Tabela 10 –Porcentagem de casca de ovos de galinhas poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	60 semanas ¹	64 semanas ¹	68 semanas ¹
A (0 ppm)	9,61 ± 0,70 a	9,64 ± 0,56 a	9,87 ± 0,71 a
B (150 ppm)	9,42 ± 0,55 a	9,16 ± 0,71 ab	8,72 ± 0,90 b
C (300 ppm)	9,05 ± 0,59 b	8,97 ± 0,49 b	8,50 ± 0,95 b
D (450 ppm)	8,93 ± 0,68 b	8,73 ± 0,75 b	8,78 ± 0,85 b
Valor de p	< 0,001	0,0002	< 0,0001

1- Letras distintas indicam diferenças significantes pelo teste de Anova seguido pelo teste de Tukey.

As medidas de espessura da casca foram realizadas em três pontos distintos, correspondentes às regiões: apical (extremidade afilada), região equatorial e basal (extremidade alargada que contém a câmara de ar). Foram realizadas as três medidas e na sequência calculou-se a média dessas três regiões, de acordo com os tratamentos. Aves mais jovens possuem maiores valores de resistência da casca de ovos, e a medida que as aves envelhecem apresentam alterações nas características estruturais da casca (Barbosa, et. al., 2012). Nas Tabelas 10 e 11 estão listadas as análises de espessura da casca e resistência da casca. Podemos verificar que a ingestão de cafeína em todos os tratamentos foi responsável por menor espessura da casca em todos os momentos avaliados. Por outro lado, a cafeína afetou a resistência da casca das aves com 60 semanas, mas foi verificada uma compensação desse efeito nos momentos posteriores.

Tabela 11 –Espessura da casca (mm)² de ovos de galinhas poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	60 semanas ¹	64 semanas ¹	68 semanas ¹
A (0 ppm)	39,40 ± 3,09 a	39,58 ± 2,36 a	39,58 ± 2,63 a
B (150 ppm)	38,01 ± 1,75 b	37,46 ± 1,82 b	37,46 ± 3,25 b
C (300 ppm)	36,87 ± 2,19 b	36,57 ± 1,95 b	36,57 ± 3,34 b
D (450 ppm)	36,53 ± 2,87 b	36,14 ± 3,18 b	36,14 ± 3,59 b
Valor de p	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

1- - Letras distintas se diferem pelo teste Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls

Tabela 12 – Resistência da casca (kg/cm²) de ovos de galinhas poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	60 semanas ¹	64 semanas ²	68 semanas ²
A (0 ppm)	5,19 ± 0,82 a	4,41 ± 0,78 a	4,88 ± 0,11 a
B (150 ppm)	3,34 ± 0,78 b	4,22 ± 0,10 a	4,53 ± 0,92 a
C (300 ppm)	3,27 ± 0,54 b	4,19 ± 0,83 a	4,20 ± 0,94 a
D (450 ppm)	3,52 ± 0,71 b	4,48 ± 0,95 a	4,35 ± 0,10 a
Valor de p	<0,0001	0,618	0,115

1- - diferenças significantes: letras distintas se diferem pela Anova seguida pelo teste de Tukey.

2- diferenças não significantes pela Anova seguida pelo teste de Tukey.

Os dados obtidos no presente estudo demonstram que a ingestão de cafeína afetou negativamente a casca dos ovos, com menor espessura e porcentagem de casca. Esse efeito pode ser atribuído a interferência da cafeína no metabolismo do cálcio, em decorrência de sua maior perda renal (Ashizawa, 1997; Massey e Sutton, 2004), resultando em menor quantidade desse mineral disponível para a formação das cascas dos ovos.

A cor da gema está relacionada com a deposição dos pigmentos carotenoides na dieta e é uma característica sensorial que tem grande influência sobre a aceitação do produto pelos consumidores no mercado. Alguns carotenoides, além de pigmentar os alimentos, têm capacidade de serem precursores da vitamina A, potencializar a resposta imune, e apresentarem atividades antioxidantes (Sandeski, 2013). A cor da gema foi determinada usando o método subjetivo leque colorimétrico. A Tabela 12 apresenta os resultados encontrados de acordo com os tratamentos.

Tabela 13 – Cor de gema de ovos de galinhas poedeiras com 60, 64 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	60 semanas	64 semanas ¹	68 semanas ¹
A (0 ppm)	7,22 ± 0,68a	6,39 ± 0,58 a	6,04 ± 0,98 a
B (150 ppm)	7,08 ± 0,65a	7,25 ± 0,61 b	6,58 ± 0,78 ab
C (300 ppm)	6,96 ± 0,47a	6,96 ± 0,47 b	6,96 ± 1,07 b
D (450 ppm)	7,00 ± 0,60a	7,00 ± 0,60 b	7,22 ± 1,13 c
Valor de p	0,370	<0,0001	0,0005

1- Letras distintas se diferem pelo teste Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls

A Tabela 14 demonstra os custos das rações utilizadas no experimento de acordo com os tratamentos e também demonstra uma simulação do custo de uma ração utilizando a casca de café como fonte de fibra. Atualmente, é expressiva a busca por ingredientes alternativos visando uma dieta com menores custos de produção, o uso da casca de café reduziu os custos de ração por caixa de ovos quando comparada ao farelo de trigo (Souza, et. al. 2017), aparecendo como uma alternativa viável, principalmente em regiões produtoras de grãos de café.

Tabela 14 – Custo das rações por caixa de ovos (R\$/ caixa) para poedeiras de acordo com os tratamentos

Caféina	Casca de Café	Ração Experimental	Médias
A -(0 ppm)	36,24 (0 kg de casca de café/ ton)	36,24	36,24
B- (150 ppm)	36,54 (40 kg de casca de café/ ton)	41,31	38,92
C- (300 ppm)	38,99 (80 kg de casca de café/ ton)	46,91	42,95
D- (450 ppm)	42,24 (120 kg de casca de café/ ton)	53,74	47,99
Médias	38,50	44,55	41,52

Nas Figuras 4 e 5, observamos os valores referentes às taxas de mortalidade, em porcentagem e em números absolutos, respectivamente, durante todo o período experimental de acordo com os tratamentos durante as doze semanas experimentais. Pelo teste Qui-Quadrado houve diferença significativa entre as mortalidades do grupo controle com o grupo D ($p < 0,0001$). Por outro lado, não houve diferença do grupo A com os grupos B ($p = 0,522$) e C ($p = 0,110$). Analisando os trabalhos presentes na literatura, em quais utilizaram caféina ou mesmo a casca de café incluída na dieta animal, não são encontrados relatos de aumento da mortalidade, assim como foram encontrados neste estudo.

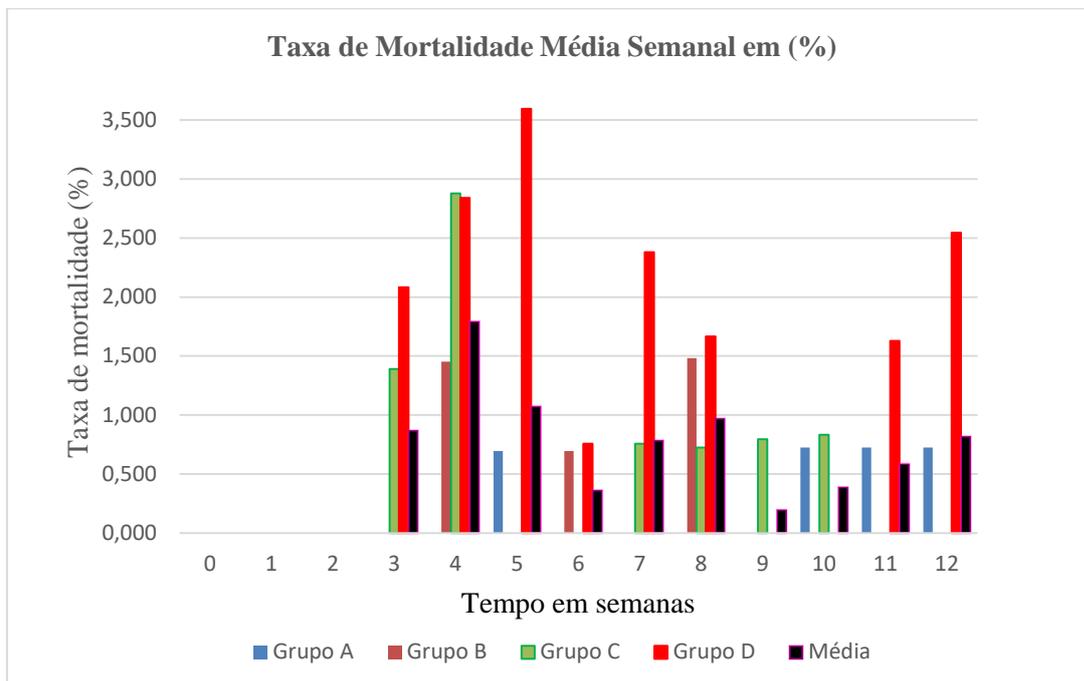


Figura 4- Mortalidade

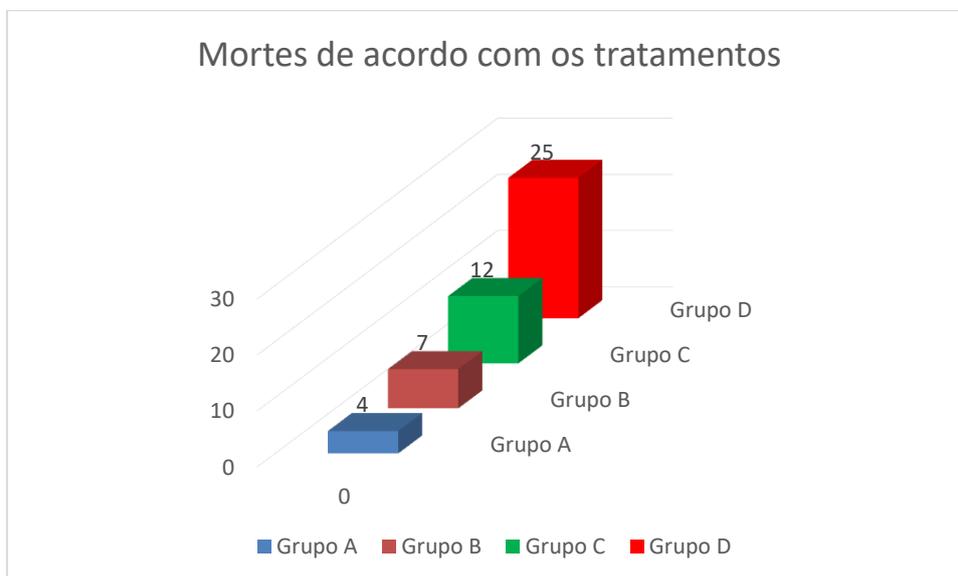


Figura 5 –Mortes durante todo o período experimental

*diferença significativa com o grupo controle pelo teste Qui-Quadrado.

No momento, não é possível saber qual o motivo da cafeína aumentar a mortalidade das galinhas em postura. É possível que o efeito estimulante da cafeína tenha induzido redução no consumo de alimentos, gerando um déficit energético e proteico. A interferência da cafeína na homeostase do cálcio também pode ter aumentado a sensibilidade das aves (Ashizawa, 1997;

Massey e Sutton, 2004). Ainda, a cafeína interfere no adequado funcionamento do sistema imune (Ramanaviciene et al., 2004; Chavez-Valdez et al., 2009; Barcelos et al., 2014; Al Reef e Ghanem, 2018), o que pode ter aumentado a susceptibilidade das galinhas às infecções.

De acordo com o apresentado na Tabela 15, o peso dos ovários não apresentou diferenças significantes entre os grupos pesquisados, em nenhum dos dois períodos avaliados, com 62 e 68 semanas de idade. Também para o peso do oviduto na avaliação com 62 semanas de idade não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos, porém com 68 semanas de idade houveram diferenças significantes para peso de oviduto entre os grupos.

Tabela 15 – Peso dos órgãos reprodutivos na 62^a e 68^a semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	Peso dos Ovários ¹	
	62 Semanas	68 Semanas
A (0 ppm)	53,912 ± 2,017	52,838 ± 12,425
B (150 ppm)	46,483 ± 6,146	50,323 ± 6,527
C (300 ppm)	48,368 ± 10,340	49,928 ± 8,436
D (450 ppm)	45,800 ± 12,790	52,120 ± 9,248
Valor de p	0,206	0,204
Grupos	Peso do Oviduto ^{2 e 3}	
	62 Semanas	68 Semanas
A (0 ppm)	118,30 ± 26,643	67,930 ± 14,310 a
B (150 ppm)	94,840 ± 2,922	100,820 ± 5,266 b
C (300 ppm)	96,87 ± 11,200	57,140 ± 26,162 a
D (450 ppm)	88,170 ± 18,476	77,420 ± 13,420 a
Valor de p	0,304	0,002

1- Peso do ovário: não significante – 62 e 68 semanas de idade.

2- Peso do oviduto: não significante com 62 semanas de idade.

3- Peso do oviduto: diferenças significantes com 68 semanas de idade: letras distintas se diferem pelo teste Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls

A temperatura superficial e cloacal das aves reflete o efeito do ambiente térmico sobre as aves revelando a condição de bem-estar térmico das aves (Andrade, 2017). Na Tabela 16, estão listados os resultados da temperatura cloacal das aves no momento da eutanásia de acordo com os tratamentos. Não houve diferença nas temperaturas cloacal das aves no momento da eutanásia em nenhum dos dois momentos analisados.

Tabela 16 – Temperatura cloacal (°C) das aves no momento da eutanásia com 62 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupo	62 Semanas	68 Semanas
	°C	°C
A (0 ppm)	41,17 ± 0,175	39,93 ± 1,701
B (150 ppm)	40,74 ± 0,537	39,75 ± 1,415
C (300 ppm)	40,82 ± 0,591	40,70 ± 0,872
D (450 ppm)	41,28 ± 0,556	41,18 ± 0,248
Valor de p	0,206	0,186

1- Temperatura: não significante na 62 e 68 semanas. Letras distintas se diferem pelo teste Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls

A média de peso da linhagem Lohmann® LSL pesquisada, com idade de 62 semanas tem variação entre 1.653 a 1.756 gramas, enquanto o peso médio esperado para aves com 68 semanas varia entre 1.656 a 1.759 gramas (Lohmann, 2017). Na Tabela 17 estão listados os resultados referentes às médias de peso das aves no momento da eutanásia não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos nos dois momentos pesquisados.

Tabela 17- Peso ao primeiro abate (kg), peso ao segundo abate (kg) de poedeiras, com 62 e 68 semanas de idade de acordo com os tratamentos

Grupos	Peso 1º Abate ¹ (kg)	Peso 2º Abate ¹ (Kg)
A (0 ppm)	1.632,000 ± 112,674	1.563,000 ± 150,968
B (150 ppm)	1.571,000 ± 150,166	1.706,000 ± 94,445
C (300 ppm)	1.472,000 ± 109,153	1.599,000 ± 224,843
D (450 ppm)	1.419,000 ± 168,165	1.497,000 ± 105,128
Valor de p	0,446	0,392

1- Diferenças não significantes pelo teste Kruskal-Wallis seguido por Student- Newman- Keuls.

Na Tabela 18, estão listados os resultados referentes às análises de cálcio e fósforo de acordo com os tratamentos. Ainda que a espessura da casca esteja reduzida em comparação ao controle (Tabela 11), a composição de cálcio e fósforo não foi afetada. Apesar da interferência da cafeína com o mecanismo do cálcio ser relatada na literatura (Ashizawa, 1997; Massey e Sutton, 2004), as proporções minerais se mantiveram, provavelmente devido a um mecanismo de compensação da ave.

Tabela 18 – Teores de Cálcio e Fósforo da Casca do Ovo em (%)

Grupos	Coleta	Cálcio	Média	Fósforo	Média
A	1 ^a	43,82		0,017	
	2 ^a	43,77		0,017	
	3 ^a	45,28	44,29 ± 0,86	0,027	0,020 ± 0,006
B	1 ^a	42,31		0,013	
	2 ^a	45,35		0,019	
	3 ^a	45,42	44,36 ± 1,78	0,031	0,021 ± 0,009
C	1 ^a	42,68		0,007	
	2 ^a	42,84		0,009	
	3 ^a	43,74	43,09 ± 0,57	0,025	0,014 ± 0,010
D	1 ^a	43,04		0,018	
	2 ^a	46,92		0,012	
	3 ^a	43,86	44,61 ± 2,04	0,032	0,021 ± 0,010
Valor de p			0,601		0,719

Ca e P da casca: não significantes pela Anova seguida pelo teste de Tukey.

Alguns trabalhos tem indicado que o consumo da cafeína poderia interferir no sistema reprodutor feminino (Christian e Brent, 2001). Por exemplo, há evidências experimentais que a cafeína poderia apresentar interferência nos contraceptivos orais e hormônios no pós-menopausa em mulheres (Butt e Sultan, 2011). Esse fato de interferência hormonal nos faz acreditar que provavelmente a cafeína irá afetar de alguma forma o sistema reprodutivo. No entanto, as evidências que a cafeína poderia ter impacto negativo sobre o sistema reprodutor feminino ainda não são consideradas convincentes (Leviton e Cowan, 2002; Brent et al., 2011), o que torna necessária a continuidade dos estudos.

Nas Figuras de 6 a 10, estão listadas as imagens referentes ao exame da histopatologia do sistema reprodutivo das galinhas. As aves que consumiam dieta contendo cafeína nas concentrações de 300 e 450 ppm apresentaram infiltrado inflamatório mononuclear moderado no infundíbulo, magno e útero e discreto no istmo. Além disto, o magno das aves tratadas com 450 ppm de cafeína na dieta apresentaram menor secreção de albúmen e vacuolizações das células do epitélio. Por outro lado, nenhuma alteração foi observada na cloaca das galinhas avaliadas.

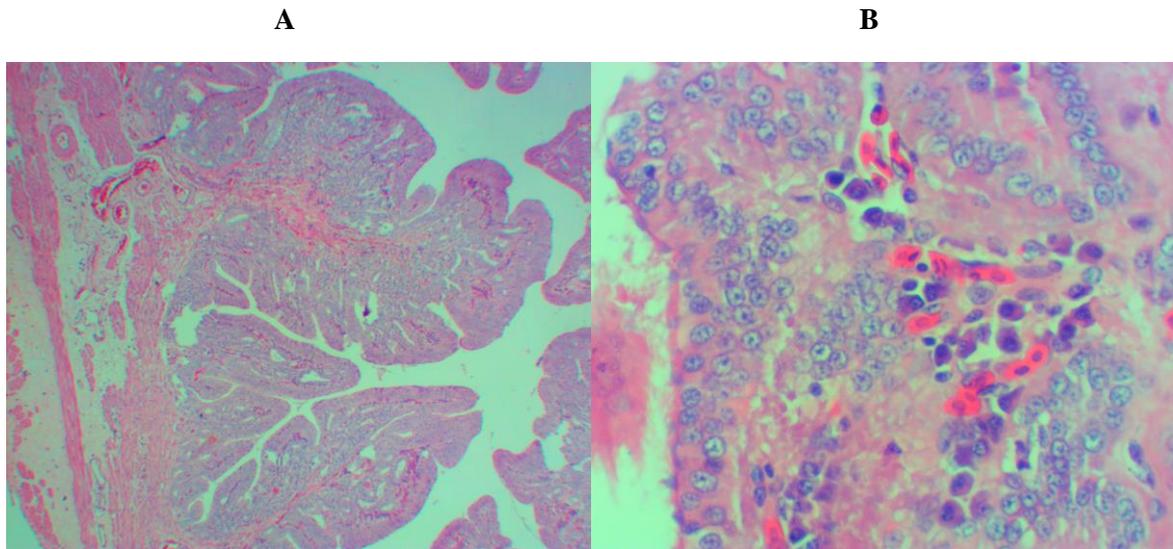


Figura 6: Segmento de oviduto (infundíbulo) em aves poedeiras produtoras de ovos. Em **A** observa-se lâmina de ave do grupo controle, sem alterações e/ou lesões visíveis na histologia. (HE, objetiva de 4x). Em **B** observa-se infundíbulo de ave que consumia dieta contendo cafeína pura no teor de 450 ppm, observa-se moderado infiltrado inflamatório mononuclear. (HE, objetiva de 40x).

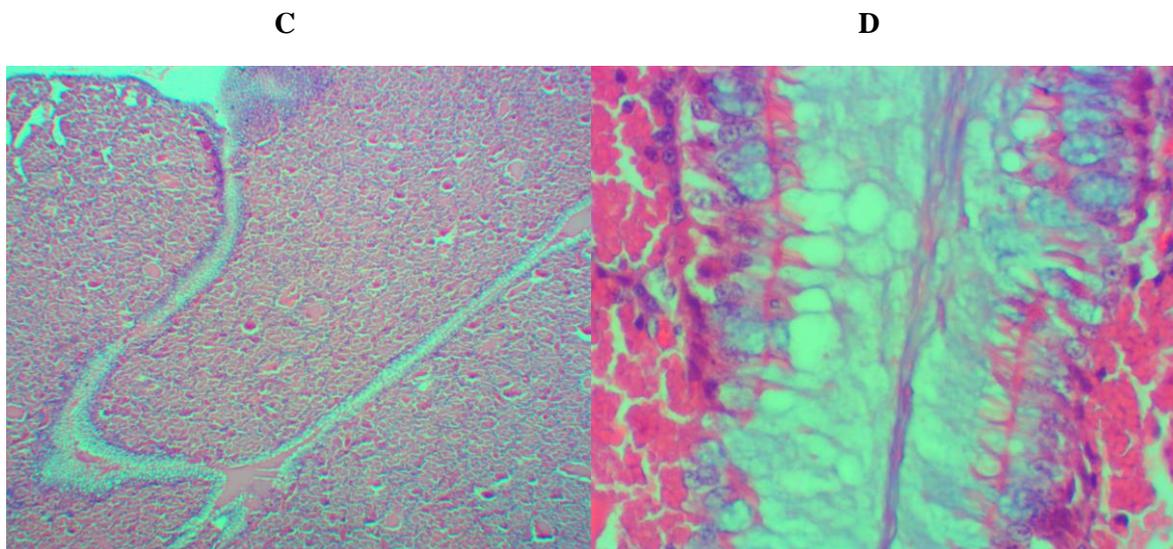


Figura 7: Segmento de oviduto (Magno), em aves poedeiras produtoras de ovos. Em **C** observa-se lâmina de ave do grupo controle, sem alterações e/ou lesões visíveis na histologia. (HE, objetiva de 4x). Em **D** observamos Magno de ave que consumia dieta contendo cafeína pura no teor de 450 ppm, observa-se menor produção/secreção de albúmen e as células estão vacuolizadas. (HE, objetiva de 40x).

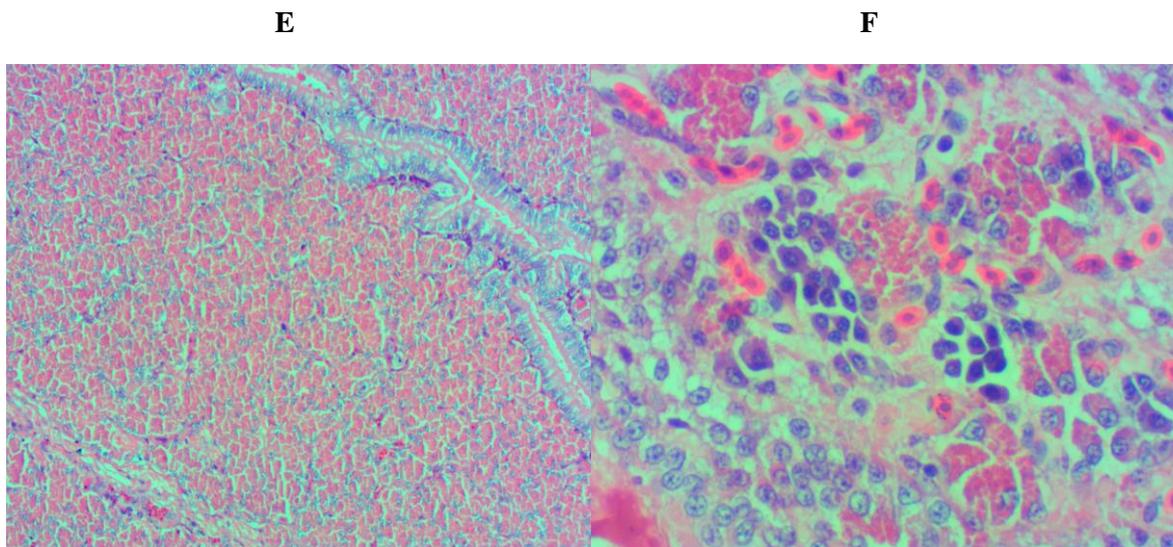


Figura 8: Segmento de oviduto (Istmo) em aves poedeiras produtoras de ovos. Em **E** observa-se lâmina de ave do grupo controle, sem alterações e/ou lesões visíveis na histologia. (HE, objetiva de 10x). Em **F** a imagem apresenta o útero de ave que consumia dieta contendo cafeína pura no teor de 450 ppm, observa-se discreto infiltrado inflamatório mononuclear. (HE, objetiva de 40x).

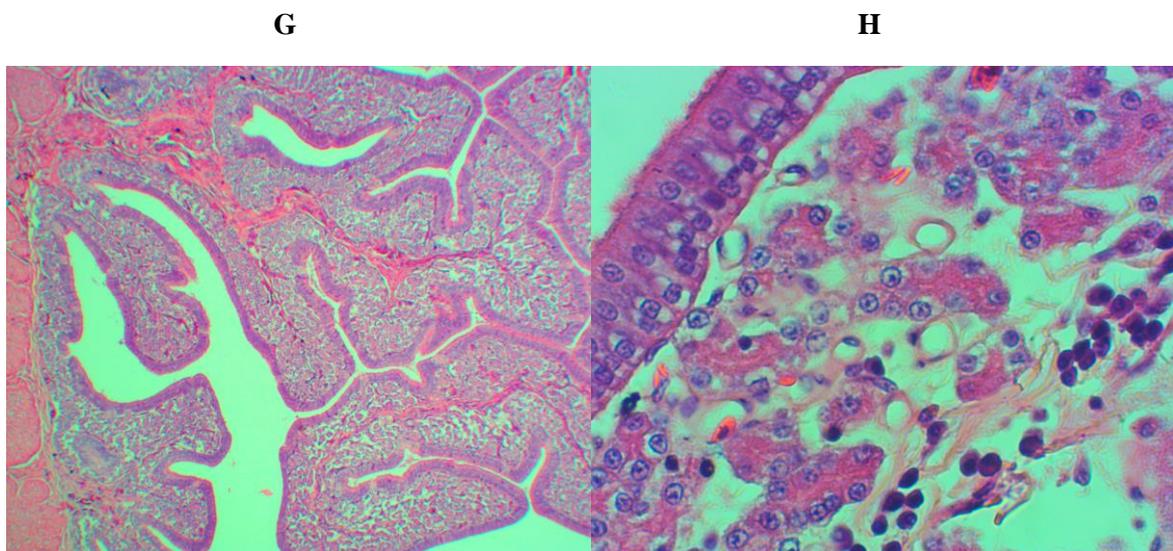


Figura 9: Útero em aves poedeiras produtoras de ovos. Em **G** observa-se lâmina de ave do grupo controle, sem alterações e/ou lesões visíveis na histologia. (HE, objetiva de 4x). Em **H** observa-se o útero de ave que consumia dieta contendo cafeína pura no teor de 300 ppm, observa-se moderado infiltrado inflamatório mononuclear. (HE, objetiva de 40x).

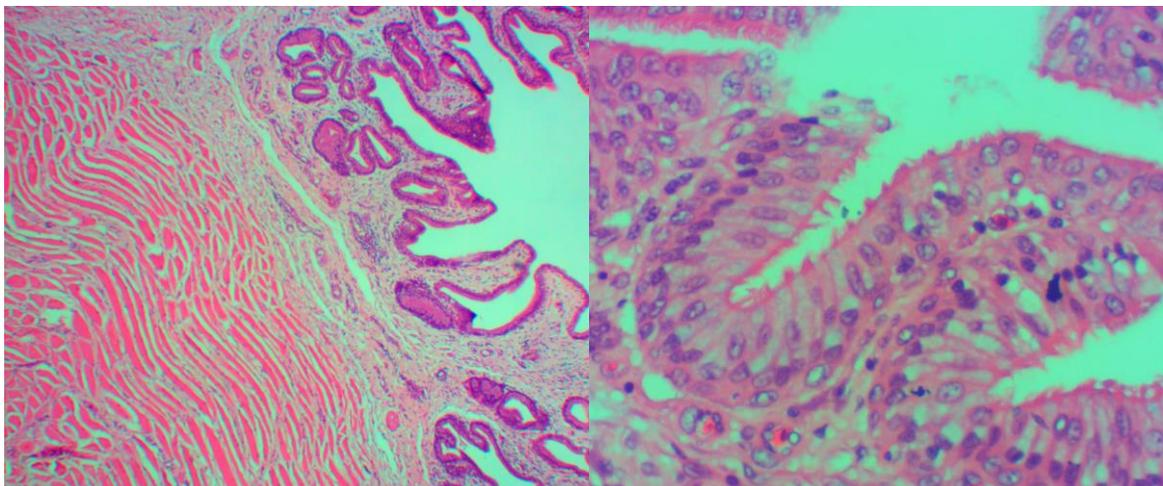
I**J**

Figura 10: Cloaca de aves poedeiras. Em **I** a imagem apresenta ave do grupo controle, sem alterações e/ou lesões visíveis na histologia. (HE, objetiva de 4x). Em **J** observa-se a cloaca normal de ave que consumia dieta contendo cafeína pura na dieta, na dosagem de 150 ppm. (HE, objetiva de 40x).

A avaliação histopatológica do oviduto das galinhas no presente estudo demonstrou que a cafeína apresentou efeitos deletérios diretamente sobre esse aparelho. Assim, a menor produção de ovos pelas galinhas que consumiram a cafeína não pode ser atribuída exclusivamente à indução da maior perda renal do cálcio, interferindo no metabolismo desse mineral (Ashizawa, 1997; Massey e Sutton, 2004). A presença do infiltrado leucocitário no oviduto aqui relatado pode ser atribuído à interferência da cafeína no funcionamento do sistema imune (Ramanaviciene et al., 2004; Chavez-Valdez et al., 2009; Barcelos et al., 2014; Al Reef e Ghanem, 2018). Nos macrófagos, a cafeína promove bloqueio de receptores de adenosina do tipo A1R, aumentando a produção de AMP cíclico e inibindo a produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (Chavez-Valdez et al., 2009). Além disto, ratos tratados com cafeína apresentaram menor atividade plasmática da enzima mieloperoxidase, cuja mensuração serve como indicador da infiltração por neutrófilos (Barcelos et al., 2011). De fato, no presente estudo o infiltrado leucocitário observado no oviduto foi majoritariamente de células mononucleares, sem presença significativa de neutrófilos.

Avaliando todos os resultados obtidos neste estudo, verificamos que a cafeína promoveu efeitos deletérios na produção, no sistema reprodutivo e na qualidade de ovos das galinhas quando sua concentração na dieta foi de 300 e 450 ppm. Por outro lado, o consumo de até 150 ppm de cafeína na dieta não causou interferências significantes nas aves e nos ovos produzidos. Essa concentração de cafeína na dieta é equivalente a aproximadamente 40 kg de casca de café por tonelada de ração, considerando que o conteúdo dessa substância na casca de café in natura seja de aproximadamente 0,36% (Cardoso et al., 2011).

5. CONCLUSÕES

A inclusão de cafeína na dieta de galinhas poedeiras leves altera o consumo de ração e, por consequência, causa menor produção de ovos e aumento da mortalidade de aves.

A ingestão de cafeína altera parâmetros de qualidade dos ovos e afeta o sistema reprodutivo dessas aves com observação de infiltrados inflamatórios na histopatologia.

O consumo de até 150 ppm de cafeína na dieta (quantidade equivalente a utilizar 40 kg de casca de café por tonelada) não causou interferências significantes nas aves e nos ovos produzidos. Porém, doses acima desse valor podem gerar consequências indesejáveis na produção, no sistema reprodutivo das aves e na qualidade de ovos.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Correlacionar alterações secundárias com provável queda de imunidade causada pela cafeína.
- Que este estudo sirva de modelo para os nutricionistas de aves, e que possa ser muito útil no momento de calcular uma dieta contendo casca de café, e/ou qualquer subproduto usado como fonte de fibra que contenha cafeína.
- Dar continuidade a este trabalho esclarecendo ainda mais o mecanismo de atuação da cafeína no organismo de aves produtoras de ovos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (São Paulo). 2018 Relatório Anual. 2018. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2019.
- AL REEF, T.; GHANEM, E. Caffeine: Well-known as psychotropic substance, but little as immunomodulator. *Immunobiology*, v.223, n.12, p.818-825, 2018.
- AMARAL, L.M.M. Teores de energia e fibra bruta para poedeiras nas fases de recria e produção. Belo Horizonte, MG. Universidade Federal de Minas Gerais, 2014. 53p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.
- ANDRADE, R. R. Determinação da faixa de conforto térmico para galinhas poedeiras na fase inicial de criação Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017.64p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, 2017.
- ASHIZAWA, N.; FUJIMURA, R.; JOKUYAMA, K.; SUZUKI, M. A bout of resistance exercise increases urinary calcium independently of osteoclastic activation in men. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v. 83, n. 4, p. 1.159-1.163, 1997.
- BAIÃO, A.F. Desempenho de novilhos nelore suplementados a pasto com diferentes níveis de concentrado. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2002. 43p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras, 2002.
- BARBOSA, V.M., BAIÃO, N.C., MENDES, P.M.M., ROCHA, J.S.R., POMPEU, M.A., LARA, L.J.C. et. al. Avaliação da qualidade da casca dos ovos provenientes de matrizes pesadas com diferentes idades. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, v.64, n.4, p.1036-1044, 2012.
- BARCELOS, A. F., ANDRADE, I.F., VON TIESENHAUSEN, I.M.E.V. et al. Aproveitamento da casca de café na alimentação de novilhos confinados – resultados do primeiro ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.26, n.6, p.1208-1214, 1997.
- BARCELOS, A.F.; PAIVA, P.C.A.; PÉREZ, J.R.O. et al. Fatores antinutricionais da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica* L.) armazenadas em diferentes períodos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.4, p.1325-1331, 2001.
- BARCELOS A. F.; PAIVA P.C.A.; PÉREZ J.R.O; SANTOS, V.B; E CARDOSO, R.M . Composição química da casca e polpa de café (*Coffea arabica* L.) armazenadas em diferentes períodos. *Anais...II Simpósio de pesquisa dos cafés do Brasil*. 2001.
- BARCELOS, R.P.; SOUZA, M.A.; AMARAL, G.P.; STEFANELLO, S.T.; BRESCIANI, G.; FIGHERA, M.R.; SOARES, F.A.; VARGAS BARBOSA, N. Caffeine intake may modulate inflammation markers in trained rats. *Nutrients*, v.6, n.4, p.1678-1690, 2014.
- BÁRTHOLO, G.F.; MAGALHÃES FILHO, A.A.R.; GUIMARÃES, P.T.G. et al. Cuidados na colheita, no preparo e no armazenamento do café. *Informe Agropecuário*, v.14, n.162, p.33-44, 1989.

BECKER, P.; FAVERO, A.; PIRES, A.; MACEDO, A.; TASCHETTO, D. y MORSCHEL, J. Desenvolvimento folicular e desempenho produtivo no início do ciclo de postura em duas raças de poedeiras. *Ciência Rural*. 44 (3): 548-554, 2014. Acesso em 21 de mar de 2019]. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33130091026>>

BENEVIDES, C. M. J. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, v. 18, n.2, p. 67-79, 2011.

BRENT, R.L.; CHRISTIAN, M.S.; DIENER, R.M. Evaluation of the reproductive and developmental risks of caffeine. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, v.92, p.152-187, 2011.

BUTT, M. S. e SULTAN, M.T. Coffee and its consumption: benefits and risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2011; 51: 363-73.

COMPÊNDIO Brasileiro de Alimentação Animal. São Paulo: Sindirações, paginação irregular, 2005.

CARDOSO, C. R., TELLES, F. F. G., NICOLINI, J.V., SANTÓRIO, R. HALASZ, M. R. T. Extração de cafeína a partir da casca do *Coffea arabica*. *Cleaner Production initiatives and challenges for a sustainable world*. São Paulo – Brasil, Maio, 2011.

CHAVEZ-VALDEZ, R.; WILLS-KARP, M.; AHLAWAT, R.; CRISTOFALO, E.A.; NATHAN, A.; GAUDA, E.B. Caffeine modulates TNF-alpha production by cord blood monocytes: The role of adenosine receptors. *Pediatric Research*, v.65, p.203-208, 2009.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: café. V.3, n.1 (2016). Brasília: Conab, 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>.

CHRISTIAN, M.S.; BRENT, R.L. Teratogen update: Evaluation of the reproductive and developmental risks of caffeine. *Teratology*, v.64, p.51-78, 2001.

COMPÊNDIO Brasileiro de Alimentação Animal. São Paulo: Sindirações, paginação irregular, 2005.

COSTA, D. P. S. Aproveitamento de Vísceras (não comestíveis) de Aves para Elaboração de Farinha de Carne: Um Perfil Comparativo entre Frango (*Gallus domesticus*) e Ratitas Avestruz (*Strithia camellus*) e Ema (*Rhea americana*). 2007. 71. Tese de Mestrado. Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, 2007.

Egg grading manual. Washington: USDA, 2000. 56p. (Agricultural Handbook, 75).

FERNANDES, T. R., VASCONCELOS, N. V., LOPES, F.F. et al. Aspectos gerais sobre alimentos alternativos na nutrição de aves. *Revista Verde (Mossoró – RN - BRASIL)*, v. 7, n. 5, p. 66 – 72, dezembro de 2012 (Edição Especial) (Revisão de Literatura).

FREITAS, E.B., MURAKAMI, V.Y., RANIERI NETO, R., FILADELPHO, A.L., MONTANHA, F.P. e PEREIRA, R.E.P. Estudo anatomo-fisiológico do sistema reprodutivo feminino das aves na formação dos ovos- revisão de literatura. *Revista Científica eletrônica de medicina veterinária*, ano IX, número 17, julho de 2011.

GARCIA, E. A.; MENDES, A. A.; PIZZOLANTE, C. C.; GONÇALVES, H. C.; OLIVEIRA, R. P.; SILVA, M. A. Efeitos dos Níveis de Cantaxantina na Dieta sobre o Desempenho e Qualidade dos Ovos de Poedeiras Comerciais. Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia Avícolas. Campinas, v. 4, n. 1, p. 51 – 61, 2002.

GARCIA, S. M. L.; FERNÁNDEZ, C. G. Embriologia. 2ª ed. Editora Artmed São Paulo Brasil 2001. 416 p.

GONZÁLEZ - ALVARADO, J.M.; JIMÉNEZ - MORENO, E.; VALENCIA, D.G. et al. Effect of type of cereal, heat processing of the cereal, and inclusion of fiber in the diet on productive performance and digestive traits of broilers. Poultry Science, v.86, p.1705-1715, 2007.

HEANEY, R. P. Effects of caffeine on bone and the calcium economy. Food and Chemical Toxicology, Richmond, v. 40, n. 9, p. 1.263-1.270, 2002.

HUANG, T. H.; YANG, R. S.; HSIEH, S. S.; LIU, S. H. Effects of caffeine and exercise on the development of bone: a densitometric and histomorphometric study in young wistar rats. Bone, Boston, v. 30, n. 1, p. 293-299, 2002.

JOHNSON, A.L. Regulation of follicle differentiation by gonadotropins and growth factors. Poultry Science, v.72, p.867-873, 1993. Disponível em: <http://ps.fass.org/search?fulltext=Regulation+of+follicle+differentiation+by+gonadotropins+and+growth+factors&submit=yes&x=18&y=4>>. Acesso em: 08 jan. 2019. doi: 10.3382/ps.0720867.

LOHMANN - Lohmann do Brasil (São Paulo). 2017. Guia de Manejo LSL LITE. 2017. Disponível em: <https://ltz.com.br/guia-manejo> . Acesso em: 02 mar. 2019.

LUDKE, J. V., FIGUEIREDO, E.A.P., AVILA, V.S., MAZZUCO, H. Alimentos e alimentação de galinhas poedeiras em sistemas orgânicos de produção. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2010.16p. (Embrapa Suínos e Aves. Circular Técnica, 55).

MASSEY, L. K.; SUTTON, R. A. Acute caffeine effects on urine composition and calcium kidney stone risk in calcium stone formers. Journal of Urology, Charlottesville, v. 172, n. 2, p. 555-558, 2004.

MATEOS, G.G.; JIMÉNEZ-MORENO. E.; SERRANO . M.P.; LÁZARO, R.P. Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. J. appl. Poult. Res. 21 :156–174. 2012.

MEHANSHO, H.; BUTLER, L.G.; CARLSON, D.M. et al. Dietary tannins and prolinerich proteins: interactions, induction and defense mechanisms. Annual Review of Nutrition, v.7, p.423-440, 1987.

(MDIC) - MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR, Balança Comercial Brasileira: Caféina. 2009. Disponível em: <http://alicesweb.mdic.gov.br/>, Acesso em 10 de abr. de 2017.

OLIVEIRA S.L. Avaliação da casca de café em rações para suínos em terminação. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. 74p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2001.

OLIVEIRA, H.F., SANTOS, J.S. e CUNHA, F.S.A. Utilização de alimentos alternativos na alimentação de codornas. Rev. Eletrônica Nutritime, 2014. Artigo 272 Volume 11 - Número 05– p. 3683– 3690 Set-Out 2014. Disponível em: http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/ARTIGO272.pdf. Acesso em 20 mar 2019.

POVEDA PARRA, A.R; MOREIRA, I; FURLAN, A. C; PAIANO, D; SCHERER, C; CARVALHO, P, L, O. Utilização da casca de café na alimentação de suínos nas fases de crescimento e terminação. R. Bras. Zootec., v.37, n.3, p.433-442, 2008.

RAMANAVICIENE, A.; ACAITE, J.; RAMANAVICIUS, A.; RAMANAVICIUS, A. Chronic caffeine intake affects lysozyme activity and immune cells in mice. Journal of Pharmacy and Pharmacology, v.56, p.671-676, 2004.

ROBINSON, F.E. et al. The relationship between body weight and reproductive efficiency in meat-type chickens. Poultry Science, v.72, p.912-922, 1993. Disponível em: <<http://ps.fass.org/content/72/5/912.full.pdf+html>>. Acesso em: 08 jan. 2019. doi: 10.3382/ps.0720912.

RODRIGUES, A.S.; ÁVILA, S. G. Caracterização físico-química da casca de ovo de galinha e utilização como fonte para produção compostos de cálcio. Rev. Virtual Quim., 2017, 9 (2), no prelo. Data de publicação na web:6 de jan de 2017. Disponível em: <http://rvq.sbgq.org.br>.

RODRIGUEZ-NAVARRO, A.; KALIN, O.; NYS, Y. et al. Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. British Poult. Sci., v.43, p.395-403, 2002.

RODRIGUES, P.C. Contribuição ao estudo da conversão de ovos de casca branca e vermelha. Piracicaba, 1975. 57p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 252, 2011.

RUTZ, F. et al. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves. Revista Brasileira Reprodução Animal, v.31, n.3,p.307-317, 2007. Disponível em: <<http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/307.pdf>>. Acesso em: 08 jan. 2019.

SANDESKI, L.M. Otimização da pigmentação da gema do ovo. Araçatuba, SP: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária, 2013. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2013.

SANTOS, S.T.S., GOIS, M.A.C., SIMÕES, A.O., GARCIA, C.A.B. Análises dos constituintes inorgânicos da casca do ovo. Scientia Plena, v.8, n.3. 2012.

SCHEIDELER, S.E.; JARONI, D.; PUTHPONGSIRIPRON, U. Strain, fiber source, and enzyme supplementation effects on pullet growth, nutrient utilization, gut morphology, and subsequent layer performance. *Journal of Applied Poultry Research*, v.7, p.359-371, 1998.

SILVA, S.A.; LIMA, J.S.S.; ALVES, A.I.; Estudo espacial do rendimento de grãos e porcentagem de casca de duas variedades de *Coffea arabica l.* visando a produção de café de qualidade. *Biosci. J.*, Uberlândia, v.26, n.4, p.558-565, Julho/Agosto, 2010.

SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. *Anatomia dos Animais Domésticos*. 5ª ed. Editora Guanabara Rio de Janeiro Brasil 1986, 2000 p.

SOUZA, A.L.; GARCIA, R.; BERNARDINO, F.S. et al. Casca de café em dietas de carneiros: consumo e digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.2170-2176, 2004 (supl. 2).

SOUZA, A. L. et al. Casca de café em dietas para novilhas leiteiras: consumo, digestibilidade e desempenho. *Rev. Bras. Zootec.*, v.35, n.3, p.921- 927,2006.

SOUZA, L. S. Efeito da fonte de fibra e uso de xilanase sobre desempenho, qualidade de ovos e biometria dos órgãos gastrointestinais de poedeiras leves. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2017. 56p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

SPINOSA, H. de S., GÓRNIK, S.L., NETO, J.P. *Toxicologia aplicada a medicina veterinária*. Manole, 2008.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. *Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos* 11ª ed. Editora Guanabara Koogan Rio de Janeiro Brasil 1996, 856 p.

VILELA, F.G. Uso da casca de café melosa em diferentes níveis na alimentação de novilhos confinados. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 1999. 46p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, 1999.

WU, G., M. M. BRYANT, R. A. VOITLE, AND D. A. ROLAND. Effect of dietary energy on performance and egg composition of Bovans White and Dekalb White hens during phase I. *Poult. Sci.* 84:1610–1615.2005.

WILLIAMS, J.B.; SHARP, P.J. Ovarian morphology and rates of ovarian follicular development in laying broiler breeders and commercial egg producing hens. *British Poultry Science*, v.19, p.387-395, 1978. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00071667808416490>>. Acesso em: 14 dez. 2018. doi: 10.1080/00071667808416490.

YU, M.W. et al. Effect of feed allowance during rearing and breeding on female broiler breeders. 2. Ovarian morphology and production. *Poultry Science*, v.71, p.1750-1761, 1992. Disponível em: <<http://ps.fass.org/content/71/10/1750.full.pdf+html?sid=07aa9e2a-3f81-4615-99c4-8baf3a961e82>>. Acesso em: 02 jan. 2019. doi: 10.3382/ps.0711750.

8. ANEXOS

Anexo I. Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CEUA/UFMG)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na solicitação

Protocolo CEUA: 28/2018

Título do projeto: Efeito da cafeína sobre a qualidade da casca de ovos e desempenho de aves poedeiras

Finalidade: Pesquisa

Pesquisador responsável: Benito Soto Blanco

Unidade: Escola de Veterinária

Departamento: Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária

Situação atual: Decisão Final – Aprovado

Aprovado na reunião do dia 09/07/2018. Validade: 09/07/2018 à 08/07/2023

Belo Horizonte, 09/07/2018.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 - Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516

Decisão Final - Aprovado - Protocolo CEUA: 28/2018 (CEUA-UFMG)

Anexo II.

Estadística: análises de regressão de acordo com os tratamentos

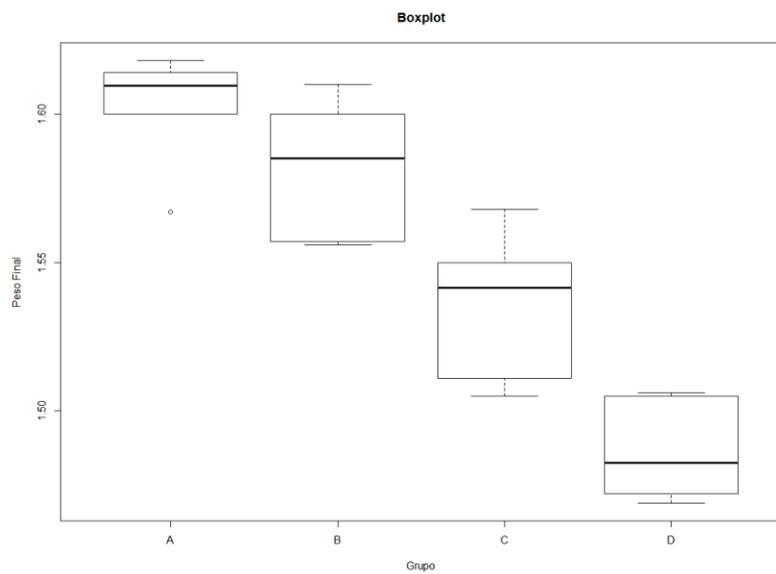


Figura 11: Peso final versus Grupo.

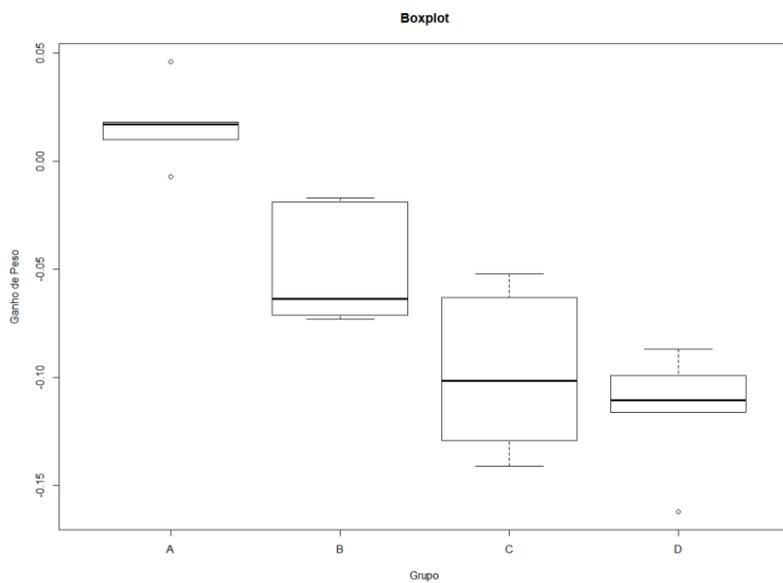


Figura 12: Ganho de Peso x Grupo

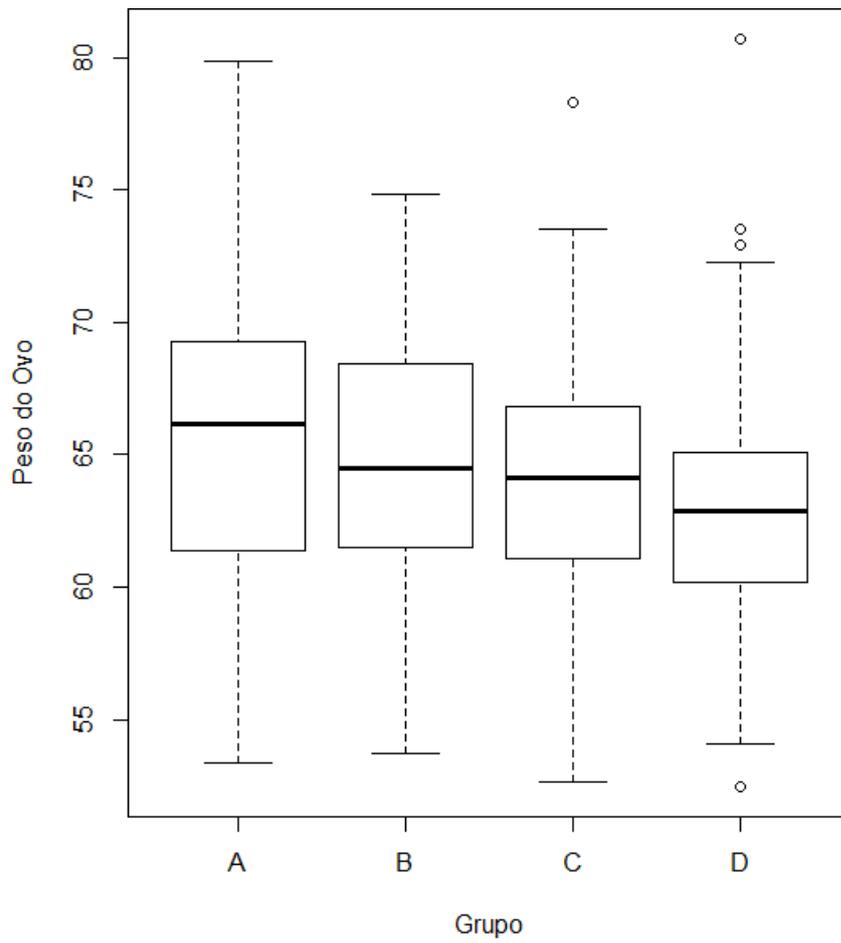


Figura 13: Boxplot do peso do ovo versus grupo.

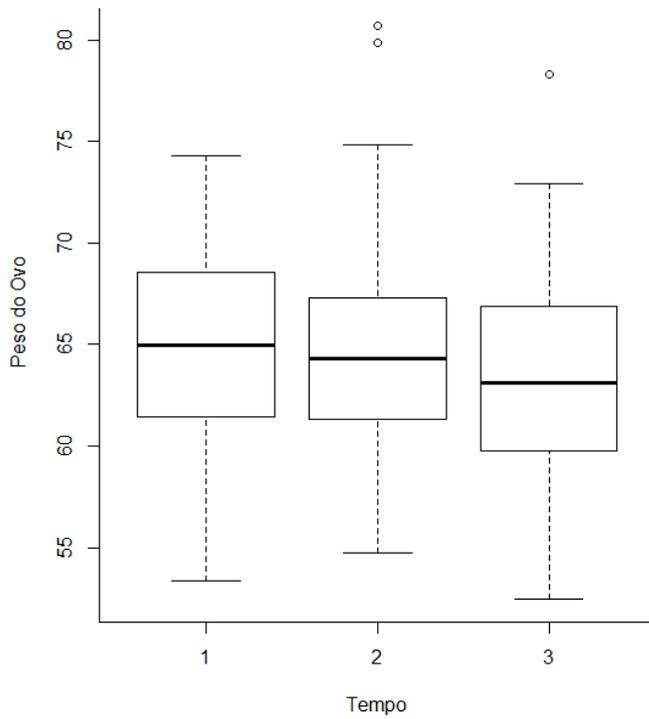


Figura 14: Boxplot Peso do Ovo versus Tempo

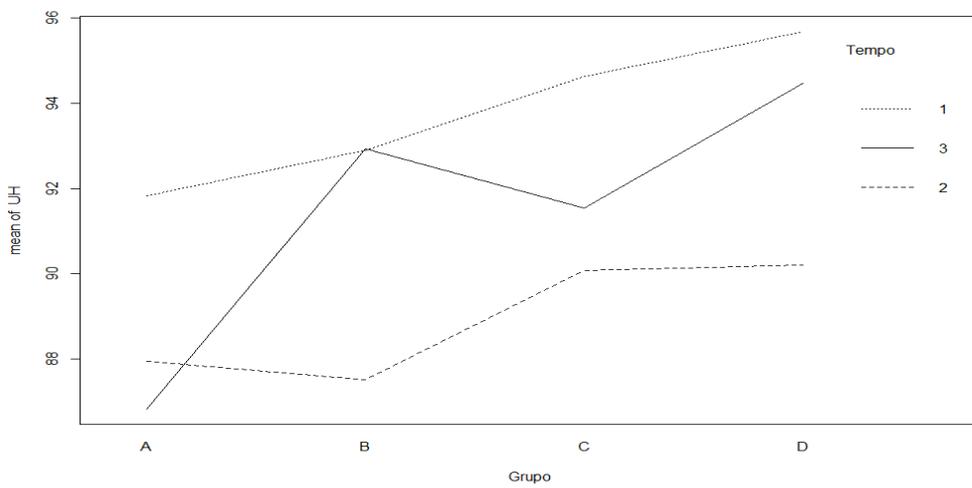


Figura 15: Interação entre Grupo e Tempo para análise de Unidades Haugh.

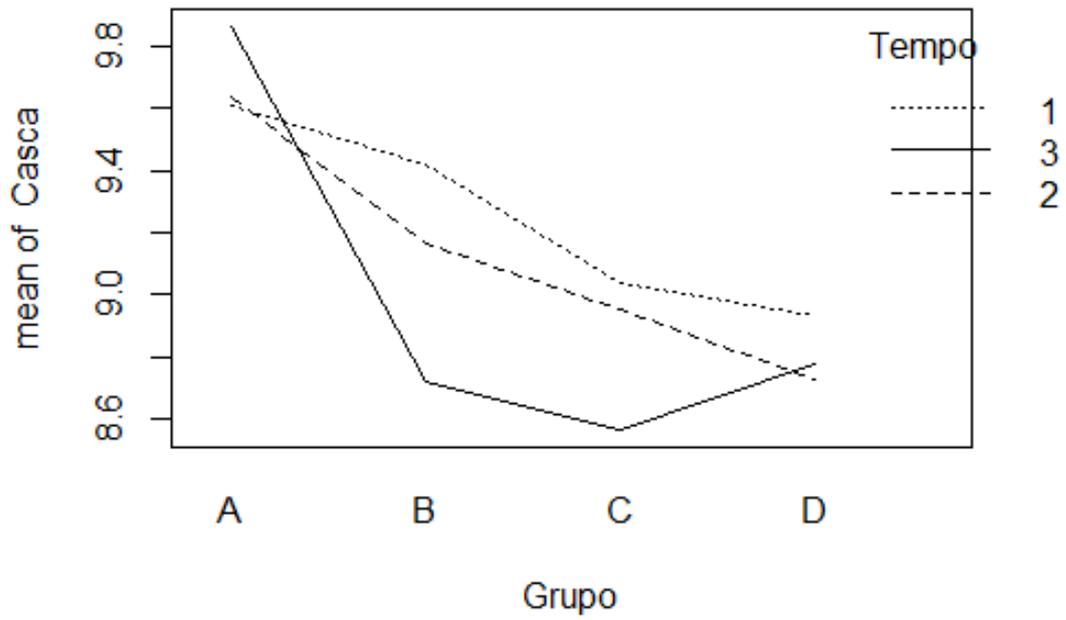


Figura 16: Interação entre casca e grupo

A Figura 16 apresenta uma ilustração da interação entre grupo e tempo. Nota-se como a média da % de casca cai consideravelmente quando passamos do grupo A para o grupo B no tempo 3.

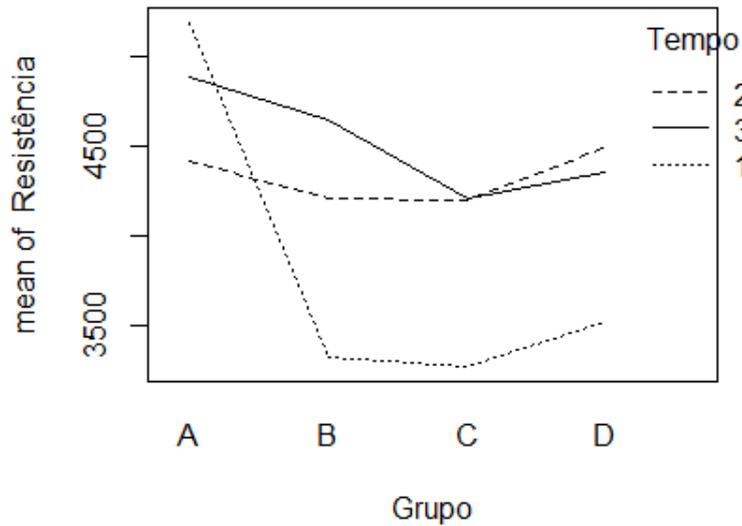


Figura 17 -Interação Grupo x Tempo para a análise de Resistência da Casca de Ovos.

A Figura 17 apresenta o gráfico que ilustra interação entre tempo e grupo. Nota-se a grande queda na média da resistência na primeira semana e na transição do grupo A para o B. Nota-se também que a média da resistência na transição do grupo C para o grupo D em todas as semanas aumenta.

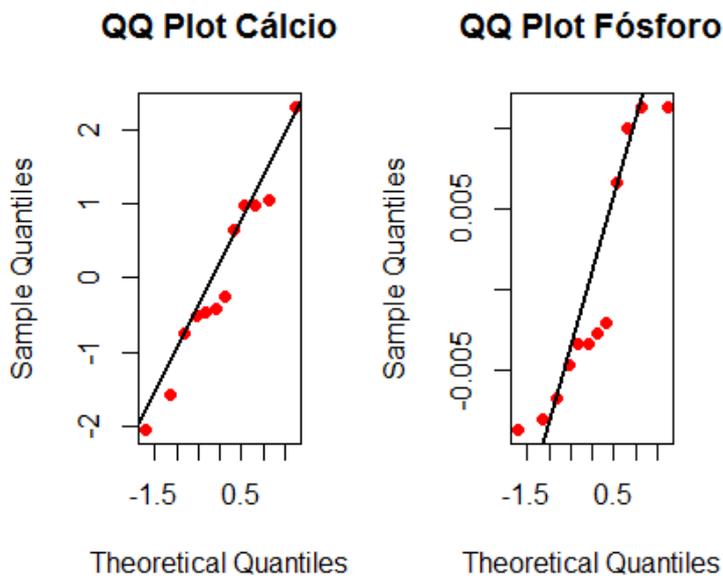


Figura18: Gráfico de probabilidade da normal para análises de cálcio e fósforo.