



**VERÔNICA MARIA PEREIRA BERNARDINO**

**FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA NA  
ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE  
EM DIFERENTES FASES DE CRIAÇÃO**

**LAVRAS-MG  
2012**

**VERÔNICA MARIA PEREIRA BERNARDINO**

**FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA NA  
ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE  
EM DIFERENTES FASES DE CRIAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos para obtenção do título de Doutor em zootecnia.

Orientador

Dr. Paulo Borges Rodrigues

**LAVRAS-MG  
2012**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Bernardino, Verônica Maria Pereira.

Fontes e níveis de glicerina na alimentação de frangos de corte em diferentes fases de criação / Verônica Maria Pereira Bernardino. – Lavras : UFLA, 2012.

215 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Paulo Borges Rodrigues.

Bibliografia.

1. Aves. 2. Atividade enzimática. 3. Glicerol. 4. Desempenho. 5. Qualidade de carne. 6. Nutrição avícola. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.508557

**VERÔNICA MARIA PEREIRA BERNARDINO**

**FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA NA  
ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE  
EM DIFERENTES FASES DE CRIAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos para obtenção do título de Doutor em zootecnia.

**APROVADA em 02 de julho de 2012.**

**Dr. Luiz Fernando Teixeira Albino UFV**

**Dr. Adriano Geraldo IFMG**

**Dr. Roberto Maciel de Oliveira UFLA**

**Dr. Vinícius de Souza Cantarelli UFLA**

Dr. Paulo Borges Rodrigues  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2012**

*A Deus pela vida.*

*Aos meus pais Emília e Claudiston pelo amor incondicional.*

*Ao meu marido Henrique por todo amor e apoio, sem ele eu não teria  
conseguido!*

*Aos meus filhos Pedro e André pelo incentivo e amor.*

*Aos meus irmãos Rafael e Cinthia: Me orgulho muito de vocês!*

*À dona Julieta e seu Afonso pelo carinho e apoio,*

**Dedico**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador, professor Paulo Borges Rodrigues pela confiança e pelos ensinamentos durante o curso de pós-graduação.

Aos professores Priscila Vieira e Rosa, Márcio Zangerônimo, Rilke Tadeu Fonseca, Antonio Gilberto Bertechini e Maria Emília de Sousa Gomes Pimenta pela orientação.

Aos professores Roberto Maciel, Adriano Geraldo, Vinícius Cantarelli pela colaboração científica.

Ao meu eterno orientador e amigo, professor Luiz Fernando Teixeira Albino por sempre me apoiar quando precisei. Muito obrigada por tudo!

À Luciana pelo apoio nas análises, pela amizade, paciência, e dedicação.

Às minha amigas que estarão sempre no meu coração Camila Meneghetti, Letícia Makiyama, Nídia Gamboa obrigada pelo apoio sempre.

Aos estagiários David (braço direito, esquerdo e as duas pernas, rs), Rodrigo (vulgo, Mortadela), Nicole, Pâmela, Juliana, Polliana, Joice, Amanda, Fábio, Alisson, Débora, Evelyn e Lucas pela dedicação durante o experimento.

Aos amigos de curso Antônio (Juninho), Matheus, Renata, Luziane, Levy, Leonardo (Chokito), Carol, Eduardo (Dudu), Raquel (Geninha) pela ajuda prestada, e pela amizade.

Às minhas afilhadas Sarah, Rafaela, e Débora pelo carinho.

À minha amiga Camila Antunes por auxílio na revisão ortográfica.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia (UFLA), em especial Luiz Carlos Oliveira (Borginho), Bambuzinho, Keila, Joelma e Carlos pela colaboração.

À minha tia Ângela e minha “cumade” Alice pelo carinho que tem por mim e pela minha família.

À todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

VERÔNICA MARIA PEREIRA BERNARDINO, filha de Glaudivon Frade Pereira e Emília Maria Carlos Pereira, nasceu em Belo Horizonte, no estado de Minas Gerais no dia 10 de janeiro de 1982.

Iniciou seus estudos na Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, MG) em abril de 2001, obtendo o título de Zootecnista em 2006.

Em outubro de 2006 ingressou no Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, em nível de Mestrado, concentrando os seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos, obtendo o título de Mestre no dia 15 de julho de 2008.

Em agosto de 2008, iniciou o Curso de Doutorado em Zootecnia na Universidade Federal de Lavras, concentrando os seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos, submetendo-se à defesa de tese no dia 02 de julho de 2012.

## RESUMO

Foram realizados experimentos de desempenho e metabolismo com frangos de corte em três fases de criação, objetivando avaliar nutricionalmente glicerinas provenientes da produção de biodiesel. Foram avaliadas três glicerinas, sendo uma bruta de soja (GBOS), bruta mista (GBM) e uma semi-purificada (GOSSP), em quatro níveis de inclusão (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g/kg) e um tratamento adicional sem inclusão de glicerina. No período de 08 a 21 dias de idade, verificou-se que a inclusão das glicerinas estudadas não prejudica o desempenho das aves, podendo ainda promover melhora no desempenho. No período de 22 a 35 dias, verificou-se que a inclusão de 35,5 g/kg da GBS e 70,0 g/kg da GOSSP proporcionam os melhores resultados de desempenho em relação ao controle. No período de 33 a 42 dias de idade, verificou-se que a inclusão de 68,37 g/kg da GBOS e GOSSP proporciona os melhores resultados de desempenho, e a inclusão das três glicerinas resultou em menor perda de água por descongelamento no peito dos frangos em relação ao controle. Para perda de água do peito por cocção houve redução linear com a inclusão das glicerinas, e entre as fontes, GBOS promoveu perda maior que a GOSSP, porém não houve diferença em relação ao controle. Houve aumento linear da textura com o aumento da inclusão da GBOS e GBM, e redução linear para a GOSSP e, somente a inclusão de 70 g/kg da GBM resultou em textura superior ao controle. Níveis crescentes de inclusão das glicerinas resultaram em melhora na aceitação da carne para as fontes estudadas, porém, não diferiu do controle. E no ensaio de metabolismo, observou-se que a metabolizabilidade das dietas contendo glicerina é similar ao controle. Nos períodos de 22 a 35 e 33 a 42 dias de idade, os níveis crescentes da GBM reduziu linearmente a atividade da glutamato desidrogenase hepática (GD) enquanto que para a GBOS e a GOSSP a atividade desta enzima aumentou linearmente com o aumento do teor de glicerina da dieta, porém, não diferiram do controle. No período de 33 a 42 dias, a GBM inibiu a atividade da GD. Na fase de 22 a 35 dias, a maior deposição de proteína no peito dos frangos foi determinada quando a ração continha a GOSSP, e em relação ao controle, a inclusão 52,5 e 70,0 g/kg da GOSSP promoveram deposição de

proteína superior. No período de 33 a 42 dias, a deposição de proteína não diferiu do controle. No período de 22 a 35 e 33 a 42 dias de idade, a GBOS proporcionou maior concentração de glicerol plasmático e, independente da fonte de glicerina, o aumento do nível de inclusão deste ingrediente aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ) a concentração plasmática de glicerol, e todas as dietas experimentais resultaram em teor de glicerol plasmático superior ao observado no controle. De acordo com a atividade da glicerol quinase nas fases de 22 a 35 e 33 a 42 dias de idade, os frangos podem fosforilar o glicerol, aproveitando-o metabolicamente até a inclusão de 70 g/kg. Pode-se incluir no período de 08 a 21 dia e 33 a 42 dias 70,0 g/kg das GBOS e GOSSP e no período de 22 a 35 dias 52,5g/kg da GBOS e 70,0g/kg da GOSSP.

Palavras-chave: aves, atividade enzimática, glicerol, desempenho, qualidade de carne

## ABSTRACT

The experiments were carried out performance and metabolism in broilers with three phases, to evaluate nutritionally glycerins from the production of biodiesel. We evaluated three glycerins, being a gross soy (GBOS), gross mixed (GBM) and a semi-purified (GOSSP) at four levels (17.5, 35.0, 52.5 and 70.0 g / kg) without additional treatment and addition of glycerin. In the period from 08 to 21 days old, it was found that the inclusion of glycerins studied not affect bird performance, and may promote improved performance. From 22 to 35 days, it was found that the inclusion of 35.5 g / kg of GBS and 70.0 g / kg of GOSSP provide the best performance results as compared to control. During the 33 to 42 days of age, it was found that the addition of 68.37 g / kg of GBOS GOSSP and gives the best performance results, and the inclusion of three glycerins resulted in lower water loss by thawing the chest chickens compared to control. For water loss by cooking breast was linearly reduced with the inclusion of glycerides, and between sources, GBOS promoted greater loss than GOSSP, but there was no difference compared to control. Linearly increased texture with increasing addition of GBOS and GBM, and the linear reduction for GOSSP and only the inclusion of 70 g / kg resulted in the GBM texture than the control. Increasing levels of glycerins resulted in improved acceptance of meat to the sources studied, however, did not differ from control. And in the metabolism assay, it was observed that the metabolizable diets containing glycerin is similar to the control. In periods 22-35 and 33-42 days of age, rising levels of GBM linearly reduced activity of hepatic glutamate dehydrogenase (GD) while for GBOS GOSSP and the activity of this enzyme increased linearly with increasing glycerol content diet, however, did not differ from control. During the 33 to 42 days, the GBM inhibited the activity of GD. At the stage of 22 to 35 days, most protein deposition in the chicken breast was determined when the feed contained GOSSP, and compared to control, the inclusion 52.5 and 70.0 g / kg of protein deposition promoted GOSSP above. During the 33 to 42 days, protein deposition did not differ from control. In the period from 22 to 35 and 33 to 42 days of age, GBOS provided higher plasma concentrations of glycerol and regardless of the source of glycerin, increasing the inclusion level of this ingredient is linearly increased ( $P < 0.05$ ) plasma concentration glycerol, and all the experimental diets resulted

in plasma glycerol content above that observed in the control. According to the activity of the glycerol kinase stages 22-35 and 33-42 days of age, the chickens can phosphorylate glycerol, availing to the metabolically adding 70 g / kg. You can include the period 08-21 day and 33-42 diass 70.0 g / kg of GBO and GOSSP and from 22 to 35 days 52.5 g / kg of GBOS and 70.0 g / kg of GOSSP

Keywords: poultry, enzymatic activity, glycerol, performance, meat quality

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>17</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
2.1 Produção do Biodiesel no Brasil.....	18
2.2 Glicerol: conceito e características .....	19
2.3 Transporte do glicerol.....	20
2.4 Principais enzimas envolvidas no metabolismo do glicerol .....	20
2.4.1 Metabolismo do glicerol no período absorptivo .....	22
2.4.2 Destino do glicerol proveniente da dieta .....	23
2.4.2.1 Glicólise .....	24
2.4.2.2 Biossíntese de glicerofosfolípidos.....	25
2.4.2.3 Biossíntese de triglicérides .....	25
2.5 Metabolismo do glicerol no período pós-absorptivo e jejum .....	29
2.6 Relação do glicerol e a retenção de água .....	30
2.7 Distúrbios metabólicos .....	31
2.7.1 Lesão Renal.....	31
2.7.2 Aumento de umidade nas excretas.....	32
2.8 Resultados do metabolismo do glicerol em aves .....	33
2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>35</b>
<b>FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE 08 A 21 DIAS.....</b>	<b>40</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>40</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>41</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>43</b>

<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>55</b>
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>57</b>
<b>FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE 22 A 35 DIAS</b> .....	<b>57</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>57</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>58</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>59</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>59</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>65</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>72</b>
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>75</b>
<b>FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE 33 A 42 DIAS</b> .....	<b>75</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>75</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>76</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>77</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>77</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>83</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>89</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>90</b>
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>92</b>
<b>ATIVIDADE DA GLUTAMATO DESIDROGENASE E TEOR DE PROTEÍNA NO PEITO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES GLICERINAS</b> .....	<b>92</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>92</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>94</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>95</b>

<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>96</b>
2.1 <i>Procedimentos experimentais, aves e dietas</i> .....	96
2.2 <i>Análises químicas</i> .....	99
2.2.1 <i>Preparo do extrato hepático e determinação da atividade da glutamato desidrogenase</i> .....	99
2.2.2 <i>Determinação do teor de proteína bruta no peito</i> .....	108
2.3 <i>Análise estatística</i> .....	108
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>109</b>
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>113</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>119</b>
<b>6 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>119</b>
<b>CAPÍTULO 6 .....</b>	<b>122</b>
<b>GLICEROL PLASMÁTICO E ATIVIDADE DA GLICEROL QUINASE HEPÁTICA EM FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA .....</b>	<b>122</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>122</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>124</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>126</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>127</b>
2.1 <i>Procedimentos experimentais, aves e dietas</i> .....	127
2.2 <i>Análises químicas</i> .....	130
2.2.1 <i>Determinação do teor de glicerol livre no plasma</i> .....	130
2.2.2 <i>Preparo do extrato hepático e determinação da atividade da glicerol quinase</i> .....	139
2.3 <i>Análise estatística</i> .....	141
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>142</b>
3.1 <i>Experimento I (período de 22 a 35 dias de idade)</i> .....	142
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>148</b>
4.1 <i>Experimento I (período de 22 a 35 dias de idade)</i> .....	148

4.2 Experimento II (período de 33 a 42 dias de idade) .....	150
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>152</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>153</b>
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>156</b>
<b>METABOLIZABILIDADE DE RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE CONTENDO GLICERINAS</b> .....	<b>156</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>156</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>157</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>158</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>158</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>173</b>
<i>Experimento I (08 a 21 dias de idade)</i> .....	173
<i>Experimento II (22 a 35 dias de idade)</i> .....	176
<i>Experimento III (33 a 42 dias de idade)</i> .....	178
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>180</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>181</b>
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	<b>183</b>
<b>QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS ALIMENTOS COM DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA</b> .....	<b>183</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>183</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>184</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>185</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>186</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>194</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>199</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>199</b>

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUÇÃO GERAL**

#### **1 INTRODUÇÃO**

Atualmente, a preocupação ambiental e o crescimento na produção de biodiesel impulsionaram o aumento do número de estudos relacionados com a inclusão da glicerina bruta na nutrição animal.

A glicerina bruta é um co-produto resultante da produção de biodiesel que, por sua vez, é obtido a partir de reações de transesterificação, ou seja, reações entre lipídios (óleos e/ ou gorduras) e um álcool, na presença de um catalisador. Assim, o aumento da produção de biodiesel nos últimos anos acarretou na produção de glicerina bruta em quantidades superiores à capacidade de utilização desta pelo mercado químico. Todavia, como não há legislação para a regulamentação do descarte de glicerina, a produção do biodiesel pode causar graves problemas ambientais, caso a glicerina não seja devidamente aproveitada. Observa-se então a necessidade do incentivo ao desenvolvimento de novas tecnologias que utilizem a glicerina, evitando seu descarte no ambiente.

Diante disso, a glicerina bruta vem sendo estudada na nutrição animal. Além de dar destino para o excesso deste co-produto, seu uso na alimentação de aves pode contribuir para a redução dos custos de produção, uma vez que com o aumento da inclusão obrigatória de biodiesel ao diesel de petróleo aumentará a oferta de glicerina bruta no mercado, estimulando a redução dos preços deste alimento alternativo. Além disso, o glicerol pode ser empregado nas dietas para melhorar a qualidade dos peletes e também pode reduzir o pó das dietas e dos suplementos minerais e vitamínicos. Groesbeck (2007), trabalhando com dietas de suínos, demonstrou que a inclusão de glicerol melhorou a qualidade dos peletes e diminuiu o custo energético da peletização, obtendo os melhores resultados com 3 e 6% de glicerol adicionado.

A glicerina contém glicerol em sua composição, o qual possui um alto valor energético, apresentando potencial para ser utilizado na alimentação animal como fonte de energia. Diante do exposto, objetivou-se nesta pesquisa, conhecer o metabolismo do glicerol e conseqüentemente, o desempenho e a qualidade da carne de frangos de corte alimentados com glicerina bruta de soja, glicerina bruta mista e glicerina de óleo de soja semi-purificada em diferentes níveis de inclusão em três fases de criação.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Produção do Biodiesel no Brasil**

O biodiesel é um combustível proveniente de fontes renováveis e surgiu como alternativa ao petróleo e seus derivados, principalmente por ser bem menos poluente que os combustíveis derivados do petróleo (BOYLE, 1998). As matérias-primas para produção de biodiesel podem ser os óleos vegetais (algodão, amendoim, babaçu, canola, dendê, girassol, mamona, soja, etc;), gordura animal (sebo bovino, óleos de peixes, banha suína), e óleos e gorduras residuais (originários do processamento doméstico, comercial e industrial).

No Brasil, a Lei 11.097/05 estabeleceu que a partir de janeiro de 2008 todo óleo diesel comercializado no Brasil deveria conter 2% de biodiesel. No entanto, em 2010 entrou em vigor a resolução número seis/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) a qual determinou a inclusão obrigatória de 5,0% de biodiesel ao diesel de petróleo, sendo a produção de biodiesel em 2011 no Brasil de 2,4 bilhões de litros (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL, 2012).

O biodiesel é obtido pelo processo de transesterificação dos óleos vegetais ou da gordura animal e este processo de produção, gera como co-produto, a glicerina bruta (MA; HANNA, 1999; VAN GERPEN, 2005). Esta

glicerina bruta pode ser neutralizada com ácido clorídrico ou fosfórico, promovendo sua semi-purificação e resultando na “glicerina loira” Com o aumento da produção de biodiesel, ocorre produção de glicerina acima da demanda do mercado, podendo resultar em redução do preço deste co-produto o que viabilizaria a sua utilização, gerando a necessidade de buscar alternativas para o consumo deste volume extra de glicerina.

## **2.2 Glicerol: conceito e características**

O glicerol ou propano-1,2,3-triol é um composto orgânico pertencente à função álcool, líquido à temperatura ambiente (25°C), com 18°C de ponto de fusão e 290°C de ponto de ebulição. É higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado (INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY, 1993). É derivado tanto dos triglicerídeos das gorduras animais, dos óleos vegetais e co-produtos da indústria petroquímica. A glicerina é o produto composto que contém o glicerol, e é obtida de triglicerídeos a partir do processo de produção de sabões, do isolamento dos ácidos graxos e, atualmente, pela transesterificação durante a produção do biodiesel.

O glicerol é reconhecido como aditivo número 422 pertencendo à classe dos espessantes e umectantes (GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES, 2011), e tem sua inclusão permitida em vários alimentos para humanos e tem sido empregado também na alimentação de diferentes espécies animais. Em maio de 2010, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) autorizou o uso da glicerina (bruta e loira) como insumo na alimentação animal, desde que atenda os seguintes requisitos: mínimo de 800g de glicerol/kg; máximo de 13% de umidade e máximo de 159 mg de metanol/kg. Porém, para usá-lo é imprescindível conhecer o seu metabolismo e a capacidade máxima de uso para cada espécie, em suas diferentes fases de produção. (PAULO, 2010).

### **2.3 Transporte do glicerol**

No que se refere aos aspectos químicos, o glicerol é uma molécula de baixo peso molecular, e por isso, é facilmente absorvido nos enterócitos por difusão. Quando já absorvido, o glicerol é transportado até os tecidos. Já no meio intracelular, o glicerol pode ser então oxidado para a produção de energia por meio da glicólise e do ciclo de Krebs (ROBERGS; GRIFFIN, 1998), sendo metabolizado predominantemente no fígado e nos rins.

As aquaporinas são proteínas integrais de membrana responsáveis pelo transporte de água entre as células. Dentro do grupo das aquaporinas, as proteínas responsáveis pelo transporte de outras substâncias, além da água, como o glicerol e possivelmente outros solutos são denominadas as aquagliceroporinas, classificadas em aquaporina 3, 7 e 9 (FUJIYOSHI et al., 2002; VERKMAN; MITRA, 2000).

A aquaporina 3 (AQP3) atua no transporte de glicerol na epiderme (HARA- CHIKUMA; VERKMAN, 2006). A aquaporina 7 (AQP7) está presente no tecido adiposo, no túbulo proximal, coração, músculo esquelético, testículo e epidídimo. Na lipólise, quando os triglicerídeos são quebrados, o glicerol proveniente desta quebra precisa atravessar a membrana do adipócito até chegar à circulação. E este transporte ocorre através da AQP7.

A aquaporina 9 (AQP9) é expressa em vários tecidos, incluindo o fígado, testículos, cérebro. Devido à importância do fígado no metabolismo do glicerol, a AQP9 destaca-se por permitir a entrada do glicerol nos hepatócitos.

### **2.4 Principais enzimas envolvidas no metabolismo do glicerol**

As principais enzimas envolvidas no metabolismo do glicerol são a glicerol quinase; a glicerol-3-fosfato desidrogenase citosólica também conhecida como glicerol-3-fosfato oxiredutase, e a glicerol-3-fosfato desidrogenase mitocondrial.

A glicerol quinase é a primeira enzima a metabolizar o glicerol e é responsável pela sua fosforilação (Figura 1). Segundo Robson e Newsholme (1969) a constante de Michaelis-Menten (Km) da glicerol quinase hepática é de  $3,16 \times 10^{-6}M$ , um valor considerado baixo, explicando portanto, a alta afinidade desta enzima pelo substrato glicerol.

A atividade da enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase ocorre no fígado, nos músculos, no intestino e no cérebro (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976), também possuindo importante papel no metabolismo do glicerol (VERNON; WALKER, 1970). A glicerol-3-fosfato oxiredutase tem sua ação reversível e dependente do NAD, já a glicerol-3-fosfato desidrogenase mitocondrial é dependente de FAD (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976).

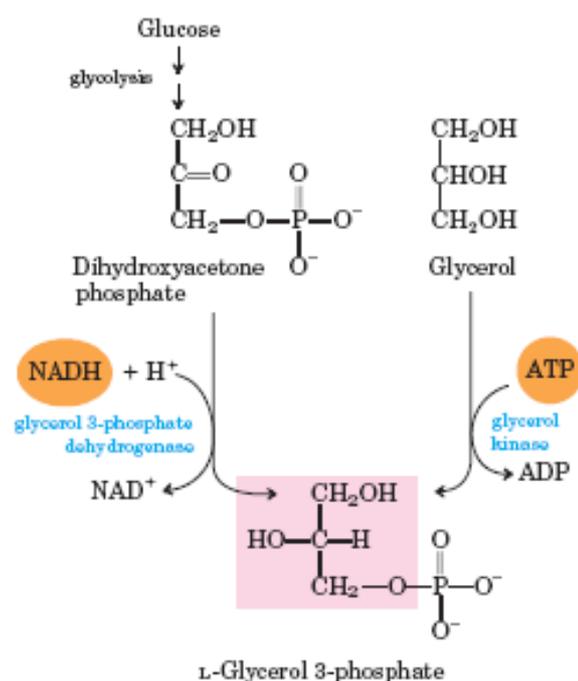


Figura 1: Metabolização do glicerol (NELSON; COX, 2006).

#### **2.4.1 Metabolismo do glicerol no período absorptivo**

O estado absorptivo é o período após a alimentação, quando está ocorrendo a absorção dos nutrientes provenientes da dieta. O tempo de duração do estado absorptivo depende da digestibilidade dos ingredientes contidos na ração. Uma dieta de mais fácil digestão disponibilizará mais rapidamente os nutrientes para absorção e o período absorptivo tende a ser menor que o período de absorção de uma dieta de difícil digestão, na qual os nutrientes serão disponibilizados lentamente para absorção.

Neste período, há uma grande concentração de glicose proveniente da dieta e ação predominante da insulina, com isso, este período é considerado anabólico. O excesso de glicose estimula a glicogênese, a lipogênese, síntese proteica e a produção de aminoácidos. Devido à alta disponibilidade de glicose e a ação da insulina, o glicerol proveniente da dieta não é utilizado para a síntese de glicose, pois, para que haja a gliconeogênese, é necessário que o hormônio predominante seja o glucagon, e este hormônio predomina quando ocorre diminuição na secreção de insulina, devido a redução da glicemia. Portanto, neste período é provável que o glicerol da dieta seja metabolizado para fornecer energia pela via glicolítica e ciclo do ácido cítrico, síntese de lipídios e fosfolipídios.

No fígado, a glicólise e a glicogênese estão significativamente aumentadas no período absorptivo que segue a uma refeição rica em carboidratos. A conversão da glicose em acetil-coA é estimulada pela razão insulina/glucagon elevada, que ativa as enzimas de etapas limitantes da glicólise, como por exemplo a fosfofrutoquinase. A acetil-coA é utilizada como um bloco construtivo para a síntese de ácidos graxos ou para fornecer energia, por sua oxidação no ciclo do ácido cítrico (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2006).

Enquanto a glicólise é estimulada no estado absorptivo, a gliconeogênese é inibida. A piruvato-carboxilase, que catalisa o primeiro passo da gliconeogênese, está predominantemente inativa, devido aos baixos

níveis de acetil-coA, um efetor alostérico positivo para esta enzima. A elevada razão insulina/glucagon observada no período absorptivo também favorece a inativação de outras enzimas exclusivas da gliconeogênese, tais como a frutose-1,6-bifosfatase cística (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2006).

A síntese de triacilgliceróis é favorecida porque o acil-coA graxo está disponível, tanto da síntese *de novo* a partir de acetil-coA, quanto da hidrólise dos triacilgliceróis componentes dos quilomicrons remanescentes, removidos da circulação pelos hepatócitos.

#### **2.4.2 Destino do glicerol proveniente da dieta**

O glicerol proveniente da dieta é facilmente absorvido por difusão no intestino delgado (ROBERGS; GRIFFIN, 1998). E após a absorção, ele é transportado ao fígado, onde será metabolizado. O glicerol é metabolizado principalmente no fígado, devido à presença da enzima glicerol quinase, que é responsável pela fosforilação deste, transformando-o em glicerol-3-fosfato (Figura 1). Se não houver a fosforilação do glicerol por esta enzima, ele não será utilizado pelo organismo animal, e conseqüentemente será excretado pelos rins.

O glicerol-3-fosfato formado pela atividade da enzima glicerol quinase pode seguir diferentes rotas metabólicas: glicólise; biossíntese de glicerofosfolipídeos e de triglicérides. A diidroxiacetona fosfato é um intermediário da glicólise, e o glicerol-3-fosfato é um precursor deste intermediário que possui um importante papel de conexão entre metabolismo de lipídeos e carboidratos.

O glicerol e ácidos graxos devem ser ativados pelo ATP antes de serem incorporados aos acilgliceróis. Se a atividade da glicerol quinase estiver ausente ou baixa no tecido, como no músculo ou tecido adiposo, a maioria

do glicerol-3-fosfato é formada a partir da diidroxiacetona fosfato, pela ação da enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase.

#### 2.4.2.1 Glicólise

O glicerol é precursor de um intermediário da via glicolítica, participando indiretamente desta via, pois o glicerol-3-fosfato através da ação da enzima glicerol-3 fosfato desidrogenase, dá origem à diidroxiacetona fosfato (Figura 2). Por fim, é oxidado no ciclo de Krebs para produção de energia.

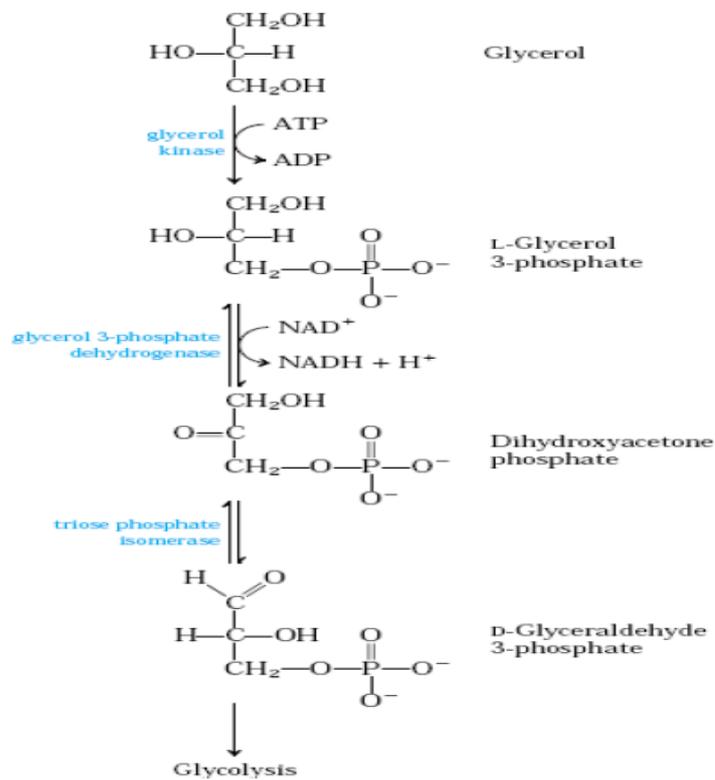


Figura 2: Participação do glicerol na via glicolítica (NELSON; COX, 2006).

Figura 2: Origem e destino do glicerol-3-fosfato. (MURRAY et al., 2003).

#### **2.4.2.2 Biossíntese de glicerofosfolídeos**

Os fosfolípidos são lípidios compostos, formados por um ácido fosfatídico que está ligado a uma substância contendo nitrogênio. O ácido fosfatídico é formado por uma molécula de glicerol, sendo que em duas posições desta molécula estão esterificados ácidos graxos e em uma posição está ligado um ácido fosfórico. O prefixo “fosfo” é utilizado para designar ligações do ácido fosfórico (NELSON; COX, 2006).

O glicerofosfolípido é um fosfolípido que contém um ou mais resíduos de glicerol, sendo composto portanto, por dois ácidos graxos ligados por ligações éster nos carbonos 1 e 2 do glicerol, e no carbono 3 do glicerol está ligado o fosfato (ligação fosfodiéster) que estabelece uma ligação entre o glicerol e uma base que pode ser a colina, a etanolamina, a serina ou o poliálcool inositol. Os glicerofosfolídeos mais comuns são fosfatidilcolina (lecitina), fosfatidiletanolamina (cefalina), fosfatidilglicerol e fosfatidilserina. A síntese de glicerofosfolídeos é feita a partir do ácido fosfatídico (NELSON; COX, 2006).

A regulamentação da biossíntese de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, e triglicerídeo é impulsionada pela disponibilidade de ácidos graxos livres. Os ácidos graxos não oxidados são preferencialmente convertidos em fosfolídeos, e quando esta exigência é satisfeita, o restante é utilizado para a síntese de triglicerídeos (MURRAY et al., 2003).

Segundo Longmore e Hastings (1964), fígados provenientes de ratos criados com deficiência em colina têm menor capacidade de captação de glicerol do que fígados provenientes de ratos normais e têm a síntese de fosfolípidos diminuída.

#### **2.4.2.3 Biossíntese de triglicerídeos**

Os triglicerídeos são os lípidos mais abundantes da dieta e constituem a forma de armazenamento corpóreo de grande parte do excesso de nutrientes. São sintetizados a partir de acil-coA derivadas de ácidos graxos e glicerol-3-

fosfato. No tecido adiposo, o glicerol-3- fosfato é formado por redução da diidroxiacetona fosfato, obtida a partir da glicose. Isto ocorre em aves devido a ausência da glicerol quinase, não permitindo a utilização do glicerol dietético por este tecido. Porém, há relatos da presença desta enzima no tecido adiposo de suínos, possibilitando a utilização do glicerol da dieta no tecido adiposo destes animais. No fígado, existe uma via alternativa para produção da glicerol-3-fosfato, que é a fosforilação do glicerol pela ação da enzima glicerol quinase.

O glicerol-3-fosfato é acilado em duas etapas, formando o ácido fosfatídico (Figura 3), intermediário também da síntese de fosfolipídeos. O triglicerídeo é obtido por hidrólise do grupo fosfato do ácido fosfatídico, seguida por nova acilação (Figura 4).

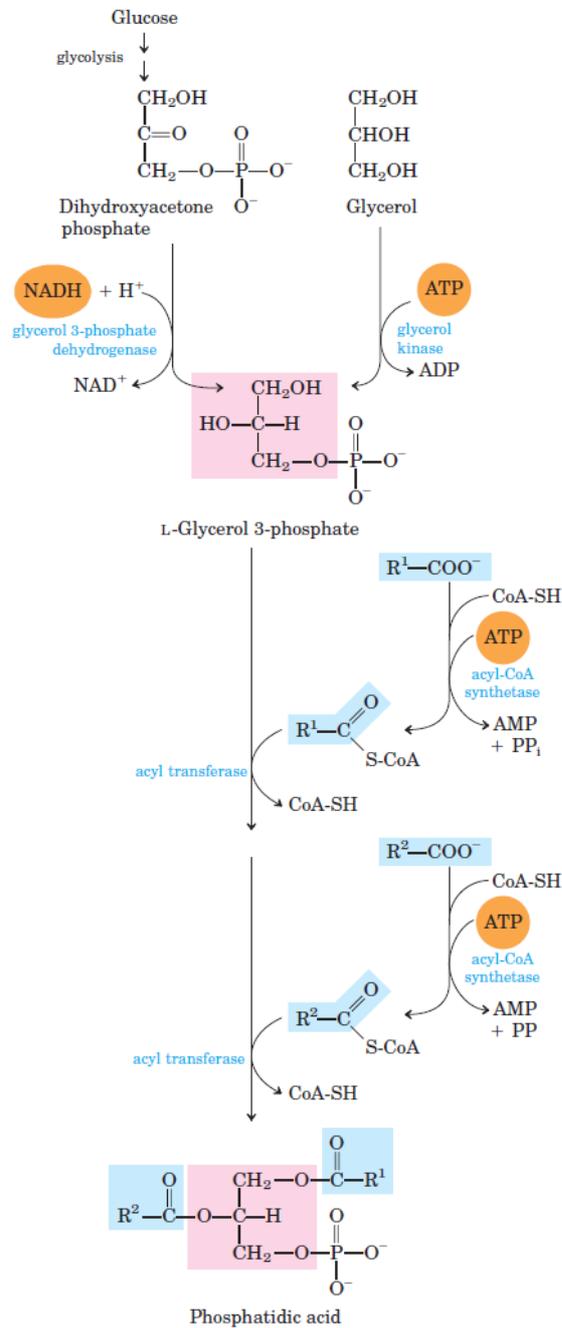


Figura 3: Formação do ácido fosfatídico (NELSON; COX, 2006)

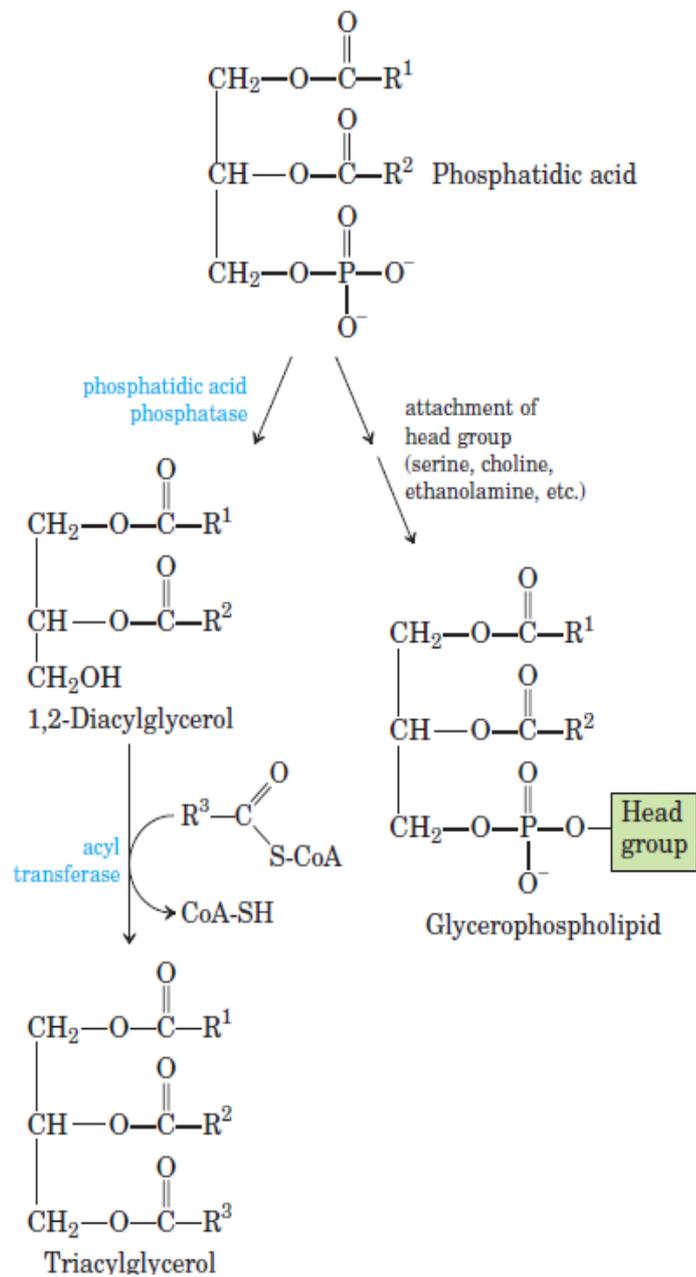


Figura 4: Formação de triglicerídeos e glicerofosfolídeos à partir do ácido fosfatídico (NELSON; COX, 2006)

## **2.5 Metabolismo do glicerol no período pós-absortivo e jejum**

Quando a absorção dos nutrientes provenientes da dieta for finalizada e o nível de glicemia estiver reduzido, denomina-se período pós-absortivo. Neste período, a ação do glucagon começa a prevalecer sobre a ação da insulina.

Por estímulo do glucagon, o fígado promove a glicogenólise e a gliconeogênese, com finalidade de fornecer glicose para o organismo.

A gliconeogênese ocorre principalmente no fígado, e em menor escala no córtex renal. Os precursores da gliconeogênese são o lactato, alanina, propionil-coA e o glicerol.

No jejum, o glicogênio hepático já foi esgotado, portanto, a única forma de obtenção de glicose, é por meio da gliconeogênese. Com isso, há intensificação da proteólise muscular, para obtenção de aminoácidos gliconeogênicos. Também ocorre uma intensa lipólise, quebrando os triglicerídeos em ácidos graxos e glicerol. Os ácidos graxos serão  $\beta$ -oxidados fornecendo energia, e o glicerol cai na circulação sanguínea e é levado ao fígado onde participa da gliconeogênese.

O metabolismo do glicerol no período pós-absortivo e jejum está diretamente relacionado com a gliconeogênese (Figura 5).

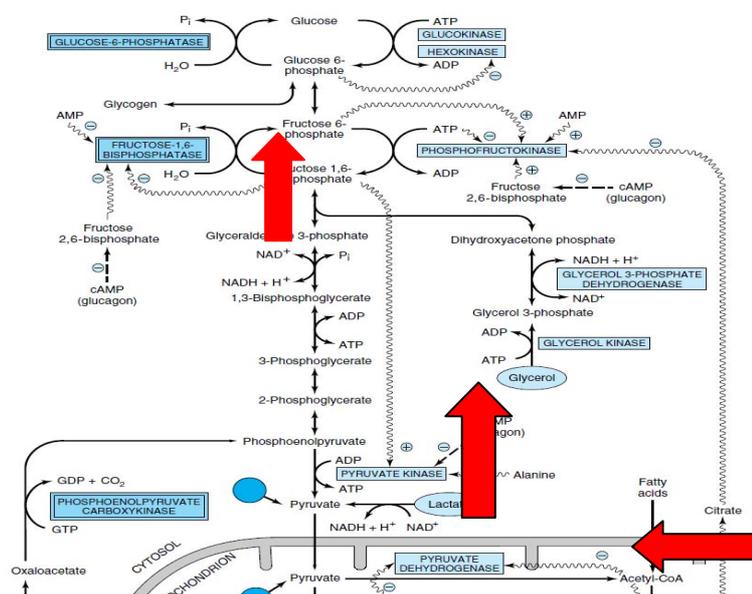


Figura 5. Gliconeogênese à partir do glicerol (MURRAY et al., 2003)

Muitos trabalhos mostraram efeito benéfico do glicerol na dieta sobre a retenção de aminoácidos e nitrogênio em ratos (CHAN; POLLACK; FISHMAN, 1981) e humanos (BRENNAN et al., 1975). Isto por que o glicerol pode poupar aminoácidos gliconeogênicos por inibir a atividade da enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase (CRYER; BARTLEY, 1973; YOUNG; SHRAGO; LARDY, 1964) ou a atividade da glutamato desidrogenase (STEELE; WINKLER; ALTSZULER, 1971). A inclusão de glicerol em dietas de frangos de corte resultou em correlação com a retenção de nitrogênio (SIMON et al., 1996).

## 2.6 Relação do glicerol e a retenção de água

O glicerol desempenha um papel importante no balanço hídrico do corpo. Vários pesquisadores têm relatado que a ingestão de solução de água e glicerol aumenta a retenção de água em atletas quando fornecido algumas horas antes da competição (KAVOURAS et al., 2006).

Acredita-se que o glicerol pode aumentar a osmolaridade do sangue quando acompanhado de grandes volumes de água (WINGO et al., 2004). Ele faz aumentar o volume de líquido, a concentração de glicerol no plasma e compartimentos líquidos intersticiais, elevando conseqüentemente, a reabsorção de água pelos rins e a capacidade de reter líquido do organismo (MONTNER et al., 1999).

Quando é feita a administração endógena de glicerol, há um aumento na concentração de líquido no sangue e nos tecidos. A concentração desses líquidos é mantida constante pelo corpo até que o glicerol seja removido pelos rins (ROBERGS, 1998).

Segundo Simon et al. (1996), o glicerol pode promover efeito benéfico sobre a captação de água na carcaça dos frangos devido a sua fácil retenção no músculo das aves. Retenção provavelmente provocada pela alta pressão osmótica (RIEDESEL et al., 1987).

## **2.7 Distúrbios metabólicos**

### **2.7.1 Lesão Renal**

Dependendo da concentração de glicerol no organismo, este pode provocar lesão renal. Um modelo clássico de lesão renal aguda experimental, é através da administração de glicerol 50% intramuscular.

A solução de glicerol 50% (8mL/kg) intramuscular causa destruição de músculos, levando a miólise e conseqüentemente, ao acúmulo de heme livre no sangue, que são posteriormente transportados até o rim, iniciando o ciclo de lesão oxidativa renal. Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos nesta síndrome são: obstrução tubular, vasoconstrição renal e estresse oxidativo (FERRAZ et al., 2002; FERNÁNDEZ-FÚNEZ et al., 2003; SINGH; CHANDER; CHOPRA et al., 2003).

Martim (2007) confirma em sua pesquisa que a administração intramuscular de glicerol 50% (6 mL/kg) em ratos da raça Winstar provoca lesão renal aguda não oligúrica.

A enzima creatina quinase é o marcador laboratorial mais sensível de lesão muscular, e seu nível aumentado pode ter relação direta com o grau de lesão muscular. Esta enzima está presente na musculatura estriada, sendo, portanto, liberada para circulação quando há lesão muscular.

Se a concentração desta enzima ou da creatinina sanguínea estiver elevada, pode ser indicativo de lesão renal, porque o rim que é responsável pela eliminação deste metabólito.

Além do glicerol, o metanol presente nas glicerinas, dependendo de sua concentração, também pode ser tóxico para os animais. Devido à grande solubilidade em água e afinidade por lipídeos, o metanol é rapidamente absorvido pelo trato digestivo, sendo encontrado em tecidos com altos teores de água e lipídeos. As reações metabólicas do metanol são catalisadas pela enzima álcool desidrogenase hepática. A toxicidade do metanol em si é baixa, porém, no seu processo metabólico, é produzido aldeído fórmico e ácido fórmico. Esses compostos podem provocar acidose metabólica, lesões oculares, degeneração parenquimatosa do fígado, rins e coração, disfunção cerebral progressiva, além de necrose pancreática (BADOLATO; DURAN, 2000).

Desta forma, ao estudar a inclusão de glicerina bruta nas rações de aves e suínos, seria interessante acrescentar à pesquisa a análise da creatina quinase, ou até mesmo da concentração de creatinina circulante, para auxiliar na determinação do melhor nível de inclusão deste ingrediente, que promova um bom desempenho e sem indícios de lesão renal.

### **2.7.2 Aumento de umidade nas excretas**

A enzima glicerol quinase é limitante para o metabolismo do glicerol (VERNON; WALKER, 1970). Quando a ingestão de glicerol for superior à capacidade de sua metabolização pelo organismo, há como consequência um

aumento do nível de glicerol no sangue. Esse glicerol, em excesso, precisa ser eliminado pela urina, e por ser uma substância hidrossolúvel, ao ser excretado arrasta consigo moléculas de água, promovendo um aumento na excreção de água pelos animais (GIANFELICI, 2009).

Gianfelici (2009) testou cinco níveis de inclusão de glicerol com 99% de pureza em dietas de frangos de corte na fase de crescimento e terminação (0; 25, 50; 100g/kg), e verificaram que a partir do nível de 75g/kg de glicerol, ocorreu um aumento no consumo e na excreção de água que podem comprometer a criação dos frangos em condições práticas, em função do aumento de umidade na cama.

## **2.8 Resultados do metabolismo do glicerol em aves**

Fernandes et al. (2010) avaliaram a inclusão de diferentes níveis (40; 60 e 80g/kg) de glicerol purificado para alimentação animal em rações de frangos de corte no período total de criação, e concluíram que este glicerol purificado, cuja a energia metabolizável é de 3500Kcal/kg, pode ser usado para os frangos de corte do alojamento ao abate, com os níveis de inclusão variando de 40 a 80g/kg sem comprometer o desempenho das aves. Discordando destes autores, Silva et al. (2010a) avaliaram níveis crescentes (25; 50; 75 e 100g/kg) de glicerina bruta proveniente de óleo de soja, com o valor de energia metabolizável aparente de 3422 Kcal/kg de ração, e embora a conversão alimentar não tenha sido alterada, estes autores concluíram que a inclusão de níveis crescentes de glicerina bruta na ração promove queda na produtividade de frangos de corte, por ter provocado redução no ganho de peso e na viabilidade destas aves.

Silva et al. (2010b) também avaliaram as características de carcaças dos frangos, umidade da cama e lesão do coxim plantar. Os níveis de inclusão de glicerina testados foram 25; 50; 75 e 100g/kg, e as características de carcaça avaliadas foram rendimento de carcaça, peito, coxa sobrecoxa, asas, dorso e gordura abdominal. Os níveis de glicerina não tiveram efeito sobre o

rendimento de carcaça, de coxa sobrecoxa, asas, dorso e gordura abdominal. Porém, observaram efeito linear crescente dos níveis de glicerina para o rendimento de peito. Em relação à umidade da cama, os autores encontraram diferença significativa entre os tratamentos, apresentando maior umidade de cama para o tratamento com 100g/kg de inclusão de glicerina. Os autores observaram maior gravidade de lesão de coxim plantar nas aves que foram submetidas aos tratamentos com 75 e 100g/kg, possivelmente devido à maior umidade da cama, e atribuíram a alta umidade, devido a alta perda de água nas excretas de frangos. Tendo a umidade da cama como limitante, estes autores recomendaram 50g/kg, como sendo o melhor nível de inclusão de glicerina bruta nas rações de frangos de corte.

Gianfelice (2009) testou a inclusão de glicerol puro em dietas de frangos de corte. Os níveis testados foram 0; 25; 50; 75 e 100g/kg. O autor observou que os frangos que consumiram dietas com 100g/kg de glicerol puro tiveram menores metabolizabilidades da matéria seca e do nitrogênio, e maior nível de glicerol no sangue. Não observou alteração na composição da carcaça quando foram analisadas a matéria seca, a proteína e gordura. Na mesma linha de pesquisa, este autor comparou animais recebendo rações com 0 e 100g/kg de glicerol puro, através do abate após 13 dias de consumo das rações, determinando os níveis de triglicerídeos e de colesterol no fígado. Encontrou como resposta, que o nível de 100g/kg de glicerol promove maior concentração de colesterol no fígado, porém, não ocorreu diferença na concentração de triglicerídeos no fígado para os níveis de 0 e 100g/kg e glicerol.

Swiatkiewicz e Koreleski (2009) avaliaram a inclusão de 20; 40; 60g/kg de glicerina bruta e compararam com um tratamento controle isento de glicerina em rações de poedeiras. Concluíram que é possível utilizar até 60g/kg de glicerina bruta para poedeiras, sem efeito negativo sobre o desempenho das aves, qualidades dos ovos, retenção de nutrientes e metabolizabilidade da energia.

Cerrate et al. (2006) verificaram que a inclusão de 25 e 50g/kg de glicerina na ração promoveu um maior rendimento de peito em frangos de corte, sugerindo que o glicerol melhora a deposição de proteína. Nestes mesmos níveis testados, estes autores verificaram que a incorporação de água na carcaça não foi afetada pela inclusão da glicerina.

## 2.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL. Rio de Janeiro: ANP, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 15 abr. 2012.

BADOLATO, E. S. G.; DURAN, M. C. Risco de intoxicação por metanol pela ingestão de bebidas alcoólicas. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 90-92, 2000. Disponível em: <<http://www.hcnet.usp.br/ipq/revista/vol27/n2/art90.htm>>. Acesso em 07 jun. 2012.

BOYLE, G. **Renewable energy: power for a sustainable future**. New York: Oxford University Press, 1998.

BRENNAN, M. F. et al. Glycerol: major contributor to the short term protein sparing effect of fat emulsions in normal man. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 182, n. 4, p. 386-394, Oct. 1975.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerin from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

CHAN, P. H.; POLLACK, E.; FISHMAN, R. A. Differential effects of hypertonic mannitol and glycerol on rat brain metabolism and amino acids. **Brain Research**, Amsterdam, v. 225, n. 1, p. 143-153, Nov. 1981.

CRYER, A.; BARTLEY, W. Studies of the adaptation of rats to a diet high in glycerol. **International Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 4, n. 21, p. 293-308, 1973.

FERNANDES, E. A. et al. Inclusão de glicerol purificado em dietas de frango de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2010, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco, 2010.

FERNÁNDEZ-FÚNEZ, A. et al. Evolution of total antioxidant status in a model of acute renal insufficiency in rats. **Renal Failure**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 535-543, jul. 2003.

FERRAZ, F. F. et al. Effects of melatonin administration to rats with glycerol-induced acute renal failure. **Renal Failure**, São Paulo, v. 24, n. 6, p. 735-746, nov. 2002.

FUJIYOSHI, Y. et al. Structure and function of water channels. **Current Opinion in Structural Biology**, London, v. 12, n. 4, p. 509-515, 2002.

GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES. **Información sobre el aditivo alimentario**. Geneva: FAO/OMS, 2011. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net/gsfonline/additives/details.html?id=62&lang=es>>. Acesso em: 19 Aug. 2011.

GIANFELICI, M. F. **Uso de glicerol como fonte de energia para frangos de corte**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2009. 129 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GROESBECK, C. N. **The effect of feed ingredients on feed manufacturing and growth performance of pigs**. 2007. 126 f. Dissertation (College of Agriculture) - Kansas State University, Manhattan. Disponível em: <[krex.ksu.edu/dspace/bitstream/2097/523/1/Crystal\\_Groesbeck2007.pdf.pdf](http://krex.ksu.edu/dspace/bitstream/2097/523/1/Crystal_Groesbeck2007.pdf.pdf)>. Acesso em: 16 set. 2011.

HARA-CHIKUMA, M.; VERKMAN, A. S. Physiological roles of glycerol-transporting aquaporins: the aquaglyceroporins. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 63, n. 12, p. 1386-1392, Jun. 2006.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Paris: IUPAC, 1993. Disponível em: <<http://www.iupac.org>>. Acesso em: 23 jul. 2010.

KAVOURAS, S. A. et al. Rehydration with glycerol: endocrine, cardiovascular, and thermoregulatory responses during exercise in the heat. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 100, n. 2, p. 442–450, Feb. 2006.

LIN, M. H.; ROMSOS, D. R.; LEVEILLE, G. A. Effect of glycerol on lipogenic enzyme activities and on fatty acid synthesis in the rat and chicken. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 106, n. 11, p. 1668-1677, 1976.

LONGMORE, W. J.; HASTINGS, A. B. Glycerol metabolism in choline-deficient Rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 83, n. 2, p. 103-106, 1964.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: A review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 70, n. 1, p.1–15, Oct. 1999.

MARTIM, E. C. O. **Lesão renal aguda por glicerol: Efeito antioxidante da *Vitis vinifera* L.** 2007. 65 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

MONTNER, P. et al. Glycerol hiperhydration alters cardiovascular and renal function. **Journal of Exercise Physiology**, London, v. 2, n. 1, Jan. 1999. Disponível em: <<http://faculty.css.edu/tboone2/asep/jan12c.htm>>. Acesso em: 06 Aug. 2010.

MURRAY, R. K. et al. **Harper's illustrated biochemistry**. 26. ed. New York: Mc Graw-Will, 2003.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2006.

PAULO, B. J. A. **Glicerina, subproduto da indústria do biodiesel, perspectivas de uso na alimentação animal**. Brasília: MAPA, 2010. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arqeditor/file/camaras\\_setoriais/Oleaginosas\\_e\\_biodiesel/10\\_reuniao/Apresentacao\\_Glicerina.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arqeditor/file/camaras_setoriais/Oleaginosas_e_biodiesel/10_reuniao/Apresentacao_Glicerina.pdf)>. Acesso em: 25 maio 2012.

RIEDELSEL, M. L. et al. Hyperhydration with glycerol solutions. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 63, n. 6, p. 2262-2268, Dec. 1987.

ROBERGS, R. A. Glycerol hyperhydration to beat the heat? **Sportscience Training & Technology**, Australia, Jan. 1998. Disponível em: <<http://www.sportsci.org/traintech/glycerol/rar.htm>>. Acesso em: 06 ago. 2010.

ROBERGS, R. A.; GRIFFIN, S. E. Glycerol: biochemistry, pharmacokinetics and clinical and practical applications. **Sports Medicine**, Auckland, v. 26, n. 1, p. 145-167, Jan. 1998.

ROBINSON, J.; NEWSHOLME, E. A. Some properties of hepatic glycerol kinase and their relation to the control of glycerol utilization. **Biochemistry Journal**, Ottawa, v. 112, n. 4, p. 455-464, Apr. 1969.

SILVA, C. L. S. S. et al. Características de carcaça de frangos de corte alimentados com rações contendo níveis crescentes de glicerina. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2010, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco, 2010b.

SILVA, C. L. S. S. et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo níveis crescentes de glicerina. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2010, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco, 2010a.

SIMON, A. Administration of glycerol to broilers in the drinking water. **Landbauforschung Voelkenrode**, Braunschweig, v. 169, p. 168-170, 1996.

SINGH, D.; CHANDER, V.; CHOPRA, K. Carvedilol, an antihypertensive drug with antioxidant properties, protects against glycerol-induced acute renal failure. **American Journal of Nephrology**, Basel, v. 23, n. 6, p. 415-421, Nov./Dec. 2003.

STEELE, R.; WINKLER, B.; ALTSZULER, N. Inhibition by infusion glycerol of gluconeogenesis from other precursors. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 221, n. 3, p. 883-888, Sept. 1971.

SWITKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 615-619, Mar. 2009.

VAN GERPEN, J. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam, v. 86, p. 1097–1107, 2005.

VERKMAN, A. S.; MITRA, A. K. Structure and function of water channels. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 278, n. 1, F13-F28, Jan. 2000.

VERNON, R. G.; WALKER, D. G. Glycerol metabolism in the neonatal rat. **Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 118, n. 3, p. 531-536, Jul. 1970.

WINGO, J. E. et al. Influence of Pre-exercise Glycerol Hydration Beverage on Performance and Physiologic Function During Mountain-bike Races in the Heat. **Journal of Athletic Training**, Dallas, v. 39, n. 2, p. 169-175, Apr./June 2004.

YOUNG, J. W.; SHRAGO, E.; LARDY, H. A. Metabolic control of enzymes involved in lipogenesis and gluconeogenesis. **Biochemistry**, New York, v. 3, p. 1687-1692, Nov. 1964.

## **CAPÍTULO 2**

### **FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE 08 A 21 DIAS**

#### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar o desempenho, glicérol sérico e umidade da cama de pintos de corte recebendo rações com diferentes níveis de três glicérols. Foram utilizados 1300 pintos de corte machos, da linhagem Cobb 500, num arranjo fatorial  $4 \times 3 + 1$ , com delineamento inteiramente casualizado, sendo quatro níveis de inclusão (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0g/kg) de três glicérols (bruta de soja, bruta mista e semi-purificada) nas dietas e um tratamento sem glicérol. Utilizou-se quatro repetições e 25 aves por parcela. O consumo de ração foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pelas fontes de glicérol, sendo a glicérol mista a fonte que promoveu menor consumo das aves, porém, não houve diferença dos tratamentos em relação ao controle. Não houve diferença dos níveis, fontes, interação, e nem em relação ao controle para o ganho de peso. Houve interação dos níveis e fontes de glicérol para a conversão alimentar. Para a glicérol de soja a melhor conversão alimentar foi observada com a inclusão de 50,35g/kg, e para a mista, houve piora linear com o aumento da inclusão de glicérol. Houve interação para a concentração de glicérol sérico nas aves, obtendo-se aumento linear na concentração de glicérol nas aves que ingeriram a glicérol de soja e semi-purificada, e redução linear para a glicérol mista. A umidade da cama dos pintos foi influenciada pelas fontes de glicérol, sendo que a mista proporcionou menor umidade. As glicérols estudadas podem ser incluídas nas rações para pintos de corte em 70,0g/kg, sem prejudicar o desempenho dos animais, quando comparado a uma ração sem glicérol.

Palavras-chave: aves, desempenho, glicérol, umidade de cama

### **ABSTRACT**

The objective was to evaluate the performance, serum glycerol and litter moisture of broilers fed diets with different levels of three glycerins. We used male broilers in 1300, the Cobb 500, a 4x3 +1 factorial arrangement with a completely randomized design, with four levels (17.5, 35.0, 52.5 and 70.0 g / kg) three glycerins (crude soy, crude semi-purified and mixed in the diet) and a treatment without glycerin. We used four replicates and 25 birds per cage. Feed intake was affected ( $P < 0.05$ ) for the sources of glycerin, and glycerin mixed source that promoted lower intake of poultry, however, there was no difference in the treatments compared to control. There was no difference in the levels, sources, interaction, and not in relation to control weight gain. There was an interaction of levels and sources of glycerin to feed. For glycerin soybean better feed conversion ratio was observed with the addition of 50.35 g / kg, and the mixed worsened linear with increasing addition of glycerin. There was interaction for the serum concentration of glycerol in birds, yielding a linear increase in glycerol concentration in birds consuming the soy glycerin and semi-purified and reduced to linear glycerin mixed. The litter moisture chicks were influenced by the sources of glycerin, and the mixed provided less moisture. The glycerins studied can be included in diets for broilers at 70.0 g / kg, without affecting animal performance when compared to a diet without glycerin.

Keywords: poultry, performance, glycerol, litter moisture

## **INTRODUÇÃO**

No Brasil há um crescente aumento da produção de biodiesel, sendo produzidos em 2011, 2,4 bilhões de litros de biodiesel, segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (2012). O biodiesel ao ser produzido gera em média 10% de glicerina bruta. Desta forma, para 2,4 bilhões de litros de biodiesel podem ser obtidos cerca de 240 milhões de litros de glicerina bruta. Com isso, ocorre uma produção de glicerina acima da demanda do mercado, sendo importante a busca por novas alternativas de uso deste co-produto. Devido à falta de legislação para o descarte da glicerina produzida em excesso, este co-produto pode tornar-se, desta maneira, um problema ambiental.

Como a glicerina pode ser considerada uma boa fonte de energia dietética para aves e suínos (CERRATE et al., 2006; DOZIER et al., 2008) é possível sugerir a sua inclusão na alimentação animal, sendo esta uma alternativa viável e ambientalmente sustentável para destinar parte deste co-produto no mercado, já que poderá evitar que a produção excedente tenha destinos inadequados, de forma a contaminar o meio ambiente.

Porém, é preciso certificar-se de que o glicerol que está sendo ingerido pelas aves é metabolizado por estas. Isto porque, se o glicerol não for metabolizado, este álcool poderá ser encontrado em grandes concentrações na circulação sanguínea e, conseqüentemente, será excretado pelos animais. Por ser uma substância higroscópica (INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY, 1993), ao ser excretado, pode carrear consigo água, aumentando assim, a umidade de cama.

Com isso, objetivou-se neste trabalho avaliar o desempenho, o glicerol sérico e umidade cama de frangos de corte no período de oito a 21 dias de idade, recebendo rações com diferentes níveis de glicerina bruta proveniente da soja, glicerina bruta mista e glicerina semi-purificada.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, utilizando-se 1300 pintos de corte machos, da linhagem Cobb 500<sup>®</sup>, com peso médio inicial de 177 gramas, num arranjo fatorial 4x3+1, com delineamento inteiramente casualizado, sendo quatro níveis (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g/kg) de inclusão nas dietas da glicerina bruta de óleo de soja (GBOS), glicerina bruta mista proveniente do óleo de fritura e banha suína (GBM) e glicerina de óleo de soja semi-purificada – GENPA<sup>®</sup> (GOSSP), e um tratamento controle, sem inclusão de glicerina, com quatro repetições e 25 aves por unidade experimental. As dietas foram formuladas para atender as exigências nutricionais de acordo com recomendações das tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2005) (Tabela 1). Devido à elevada concentração de sódio nas glicerinas utilizadas, ajustou-se o sal nas fórmulas das rações, com devidas correções para o sódio e o cloro, este último corrigido pela adição de cloreto de cálcio. Na formulação das dietas, utilizou-se um valor médio de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio para a glicerina bruta de óleo de soja (3279 kcal/kg), glicerina bruta mista (3228 kcal/kg) e glicerina de óleo de soja semi-purificada (3304 kcal/kg) na matéria natural, previamente determinados por Lima et al. (2012). A composição nutricional das glicerinas utilizadas encontram-se na Tabela 2. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria, dividido em boxes de 3 m<sup>2</sup>. O piso de cada box foi coberto com maravalha e cada box contendo um comedouro tubular e um bebedouro pendular.

Foram avaliados o consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, ganho de umidade de cama e glicérol sérico de pintos de corte, recebendo as glicerinas, no período de oito a 21 dias de idade. Todos os procedimentos utilizados na condução do experimento foram aprovados pelo Comitê de Bioética da Universidade Federal de Lavras.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais

Ingredientes	Controle	Glicerina bruta de soja					Glicerina bruta mista					Glicerina semi- purificada		
		g/kg												
Glicerina	0,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00	
Milho triturado	600,38	580,02	559,65	538,14	515,91	577,98	555,60	533,20	510,52	580,62	560,89	540,50	519,05	
Farelo de soja	341,76	345,56	349,37	353,39	357,55	345,86	349,96	354,06	358,21	345,45	349,13	352,94	356,95	
Óleo de soja	17,96	18,59	19,22	20,25	21,52	19,75	21,55	23,35	25,25	17,95	17,94	18,15	18,73	
Fosfato bicálcico	17,97	18,02	18,07	18,13	18,18	18,03	18,08	18,14	18,20	18,02	18,07	18,12	18,17	
Calcário	8,81	8,77	8,73	8,11	7,13	8,77	8,72	8,68	8,48	8,77	8,73	8,38	7,48	
Sal comum	2,40	2,41	2,43	1,79	0,75	2,41	2,43	2,44	2,29	2,41	2,42	2,08	1,14	
DL-Metionina 99,0%	2,41	2,43	2,46	2,49	2,51	2,44	2,47	2,50	2,53	2,43	2,46	2,48	2,51	
L-Lisina HCl 79,0%	1,88	1,82	1,75	1,67	1,60	1,81	1,74	1,67	1,59	1,82	1,75	1,68	1,61	
L-Treonina 98,5%	0,48	0,48	0,47	0,47	0,46	0,48	0,47	0,47	0,47	0,48	0,47	0,47	0,46	

Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	0,81	2,14	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,45	1,65
Bicarbonato de sódio	3,70	2,15	0,60	0,00	0,00	2,72	1,73	0,74	0,00	2,30	0,89	0,00	0,00
Núcleo <sup>1</sup>	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25
Total (kg)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Composição calculada													
EM <sup>c</sup> , Kcal/kg	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000
PB <sup>d</sup> , g/kg	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9	207,9
Glicerol <sup>e</sup> g/kg	0,00	12,25	24,50	36,75	49,00	1,71	3,47	5,21	6,94	13,88	27,76	41,64	55,52
Cálcio, g/kg	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84
Fósforo disponível, g/kg	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42
Sódio, g/kg	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14
Cloro, g/kg	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90
Lisina digestível, g/kg	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46
Metionina+cistina	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14

digestível, g/kg													
Treonina													
digestível, g/kg	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45
BE <sup>f</sup> (mEq/kg)	242,4	243,0	243,6	244,2	244,8	242,9	243,4	243,9	244,4	243,1	243,9	244,6	245,3

<sup>1</sup>Núcleo: anticoccidiano (Lasalocida) 0,60g/kg; Suplemento mineral<sup>a</sup> 0,50g/kg; suplemento vitamínico<sup>b</sup> 0,40 g/kg; cloreto de colina(60%) 0,50g/kg; bacitracina de zinco 0,25g/kg.

<sup>a</sup>Conteúdo por kg do produto: zinco, 110g; selênio, 360mg; iodo, 1.400mg; cobre, 20g ; manganês,156g; ferro, 96g.

<sup>b</sup>Conteúdo por kg do produto: ácido fólico, 1.600 mg; ácido pantotênico, 29.000 mg; biotina, 60 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 5.000 mg; niacina, 37.000 mg; vitamina A, 20.000.000 IU; vitamina B1, 3.000 mg; vitamina E, 40.500 IU; vitamina B12, 27.000 mcg; vitamina B2, 12.000mg; vitamina B6, 6.000 mg; vitamina D3, 5.000.000 IU; vitamina K3, 4.800mg.

<sup>c</sup> Energia Metabolizável

<sup>d</sup> Proteína Bruta

<sup>e</sup> Glicerol proveniente da suplementação de glicerina.

<sup>f</sup> Balanço eletrolítico

Tabela 2. Composição das gliceras avaliadas<sup>a</sup>.

Parâmetros	Gliceras		
	Glicerina bruta de soja	Glicerina bruta mista g/kg	Glicerina semi- purificada
Umidade e voláteis	167,50	554,40	110,80
Umidade (Karl Fischer)	124,50	389,50	101,50
Glicerol	700,00	99,10	793,20
Sódio	23,80	15,10	21,60
pH em solução aquosa	6,05	9,85	5,72
Metanol	181,31 (mg/L)	111,90 (g/ kg)	20,62 (mg/L)
Energia bruta, kcal/kg	3661,00	4122,00	3698,00

<sup>a</sup> Análises realizadas pelo CBO análises laboratoriais, Campinas/São Paulo, Brasil.

Para avaliar o desempenho, as aves e as rações foram pesadas no início e no final do período experimental (aos oito e 21 dias de idade), para obter o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar. A mortalidade das aves foi registrada e considerada para a correção dos dados de desempenho.

Aos 21 dias de idade, para avaliação do glicerol sérico, foram selecionadas e abatidas duas aves por parcela (8 aves por tratamento no total) com o peso de aproximadamente 5,0% da média do respectivo boxe. Com intuito de verificar se o glicerol ingerido foi metabolizado, as aves selecionadas para o abate foram submetidas a jejum de duas horas, visando

coletar o sangue no período absorptivo dos animais reduzindo-se, assim, a concentração de glicerol proveniente da lipólise.

O sangue das aves foi coletado em tubos contendo EDTA como anticoagulante. Posteriormente, o sangue foi centrifugado (2.000 x g por 15 minutos) e o plasma foi recolhido e congelado a -80°C até a realização da análise. A determinação da concentração de glicerol livre presente no plasma foi realizada utilizando-se um kit comercial (Abcam, Inc. Código: ab65337) que se baseia na oxidação enzimática do glicerol para gerar um produto que reage com o reagente de trabalho resultando em cor característica. A intensidade da cor do produto final de reação é proporcional à concentração de glicerol na amostra e pode ser monitorada colorimetricamente em comprimento de onda de 570 nm. Inicialmente, realizou-se uma curva padrão de glicerol pipetando concentrações crescentes dessa molécula pura (0; 2; 4; 6; 8 e 10 nmol de glicerol/50µL de tampão) na presença do reagente de trabalho seguido da leitura colorimétrica em 570nm. Com estes dados, uma curva padrão linear crescente foi gerada plotando-se os valores da absorbância no eixo y do gráfico e a concentração de glicerol (nmol) no eixo x. A dosagem de glicerol nas amostras foi realizada em microplacas de 96 poços sendo pipetados em cada poço: 50µL de plasma + 46µL de tampão + 2 µL do reagente enzimático + 2 µL do reagente de trabalho. Em seguida, a placa permaneceu em temperatura ambiente por 30 minutos protegida da luz e então foi lida em  $\lambda=570$  nm por um leitor de microplacas sendo os valores de absorbância substituídos na equação da curva padrão. O teor de glicerol livre foi expresso em mmol de glicerol/mL de plasma.

Para avaliação da variação da umidade da cama, foi realizada a análise de matéria seca da cama antes do início do experimento, e ao final do período experimental, e avaliou-se o ganho de umidade da cama. Para isto, foi coletada uma amostra de 100 gramas de cama, em diferentes pontos contidos na metade do boxe, distante do bebedouro para que não houvesse influência de possíveis vazamentos de água na análise.

As análises estatísticas das variáveis de desempenho, glicerol sérico e

umidade de cama foram realizadas pelo programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 2004). Realizou-se a ANOVA dos dados de desempenho, glicerol sérico e ganho de umidade da cama, e, quando significativos, as fontes de glicerina foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls e os níveis de glicerina por análise de regressão. O tratamento controle foi comparado à média dos tratamentos com glicerina pelo teste de Dunnett.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O consumo de ração foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pelas fontes de gliceras, sendo a glicerina bruta de soja e a glicerina semi-purificada, as fontes que promoveram maior consumo de ração nas aves (Tabela 3). Tais resultados contrariam os encontrados por Mclea et al. (2011), que não observaram diferenças no consumo de ração ao avaliarem a inclusão de duas fontes de glicerina (com valores de energia metabolizável aparente de 3093 e 3487 kcal/kg) em três níveis diferentes (33,0; 67,0 e 100,0 g/kg) para frangos de corte no período de 7 a 28 dias. Jung e Batal (2011) incluíram 0,0; 25,0 e 50,0 g/kg de glicerina e não observaram diferença no consumo de ração pelas aves. No presente experimento, os níveis de glicerina não influenciaram o consumo de ração, contrariando o resultado encontrado por Guerra et al. (2011), que incluíram 0, 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0 g/kg de glicerina bruta mista nas dietas de frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade, e observaram efeito linear crescente para o consumo de ração.

O consumo de ração das aves nos diferentes tratamentos não diferiram ( $P > 0,05$ ) em relação ao controle (Tabela 3), corroborando assim, com Mclea et al. (2011), em que não verificaram diferença no consumo das aves recebendo os diferentes níveis (33,0; 67,0 e 100,0 g/kg) de duas gliceras em relação ao consumo de rações isentas de gliceras.

Tabela 3. Consumo de ração (kg), ganho de peso (kg) e conversão alimentar (kg/kg) de aves alimentadas com rações contendo glicerinas em diferentes níveis no período de 08 a 21 dias de idade

Consumo de ração (kg)					
Glicerinas	Níveis (g/Kg)				Média
	17,5	35,0	52,5	70,0	
Soja	1,301	1,260	1,257	1,235	1,263 A
Mista	1,236	1,208	1,228	1,234	1,227 B
Semi-Purificada	1,275	1,293	1,288	1,295	1,288 A
Probabilidade P<0,05					
Tratamento controle			1,287		
Coeficiente de variação (%)			3,54		
Ganho de peso (kg)					
Glicerinas	Níveis (g/Kg)				Média
	17,5	35,0	52,5	70,0	
Soja	0,837	0,843	0,843	0,821	0,836
Mista	0,845	0,842	0,807	0,811	0,826
Semi-Purificada	0,854	0,829	0,809	0,815	0,827
Probabilidade P>0,05					
Tratamento controle			0,828		
Coeficiente de variação (%)			3,14		
Conversão Alimentar (Kg/Kg)					
Glicerinas	Níveis (g/Kg)				Média
	17,5	35,0	52,5	70,0	
Soja <sup>Q</sup>	1,55 C	1,50*B	1,49*A	1,51*A	1,51
Mista <sup>L</sup>	1,46*A	1,44*A	1,52*B	1,52*B	1,49
Semi-Purificada <sup>L</sup>	1,49*B	1,56 C	1,59 C	1,59 C	1,56
Probabilidade P<0,05					
Tratamento controle			1,56		
Coeficiente de variação (%)			2,19		

A, B diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>L</sup> Efeito linear; <sup>Q</sup> Efeito quadrático.

Não houve diferença significativa (P>0,05) dos níveis, fontes e nem interação quando se avaliou o ganho de peso (Tabela 3). Em relação ao controle, as aves alimentadas com diferentes níveis e fontes de glicerina apresentaram ganho de peso semelhantes (P>0,05). Estes resultados

corroboram com Guerra et al. (2011), que também não observaram diferença no ganho de peso das aves alimentadas com diferentes níveis de glicerina bruta mista. Mclea et al. (2011) e Jung e Batal (2011) também não observaram diferença no ganho de peso de aves alimentadas com rações contendo diferentes níveis de glicerina. Os níveis e as fontes de gliceras avaliados não deprimiram o ganho de peso e, considerando esta característica avaliada, é possível afirmar que a utilização de gliceras brutas ou semi-purificadas na alimentação de frangos de corte até a inclusão de 70 g/kg de ração não prejudica o desempenho do animal.

Houve interação ( $P < 0,05$ ) dos níveis e fontes de glicerina para a conversão alimentar (tabela 3). Os níveis da glicerina bruta de soja proporcionaram efeito quadrático na conversão alimentar ( $Y = 0,000057X^2 - 0,00574X + 1,6325$ ;  $R^2 = 0,97$ ), sendo a melhor conversão alimentar obtida com a inclusão de 50,35g de glicerina bruta de soja por quilo de ração. Para a glicerina bruta mista, houve piora linear da conversão alimentar com o aumento da inclusão de glicerina ( $Y = 0,005X + 1,42$ ;  $R^2 = 0,61$ ). Este resultado está de acordo com o encontrado por Guerra et al. (2011), que incluíram 0,0; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0g de glicerina bruta mista por quilo de ração, e também verificaram aumento linear da conversão alimentar. Os níveis de glicerina semi-purificada pioraram a conversão alimentar das aves ( $Y = 0,0019X + 1,475$ ,  $R^2 = 0,81$ ). Esta piora observada pode ser, provavelmente, devido a maior concentração de glicerol nesta glicerina (Tabela 2) e o aumento do consumo para esta fonte. A maior concentração de glicerol na alimentação de aves na fase inicial pode sobrepôr à capacidade de metabolização desta substância pelo organismo animal, pois animais jovens ainda não possuem o sistema digestivo totalmente desenvolvido, sendo a sua capacidade digestiva menos eficiente em relação aos animais em fase final de criação. O consumo de ração aumentado, porém, como nem todo o glicerol ingerido foi metabolizado, tal consumo não promoveu melhora no ganho de peso e, consequentemente, houve piora na conversão alimentar.

Em relação ao controle, animais que ingeriram rações com glicerina bruta de soja com inclusão a partir de 35,0 g/kg, com a glicerina bruta mista em todos os níveis avaliados e com a glicerina semi-purificada inclusa em 17,50 g/kg apresentaram melhores resultados de conversão alimentar. Entretanto, os demais níveis de inclusão das gliceras avaliadas resultaram em conversão alimentar das aves semelhante à conversão alimentar dos frangos alimentados com a dieta controle. Este resultado permite sugerir que a inclusão das gliceras, em questão, pode ser feita para aves na fase inicial, dentro dos níveis avaliados, sem prejudicar o desempenho das aves, quando comparado à ração controle, sem glicerina.

Houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) para a concentração de glicerol sérico nas aves (Tabela 4), sendo observado aumento linear na concentração de glicerol sanguíneo nos frangos que ingeriram a glicerina bruta de soja ( $Y = 5,6104X - 112,04$ ;  $R^2 = 0,89$ ) e a glicerina semi-purificada ( $Y = 6,3914X - 115,44$ ;  $R^2 = 0,84$ ). A concentração de glicerol na circulação sanguínea dos frangos que ingeriram a glicerina bruta de soja e a glicerina semi-purificada foi superior em relação a concentração deste nos animais que ingeriram a glicerina bruta mista. Isto pode ser devido primeiramente, ao maior consumo de ração pelas aves que ingeriram as gliceras de soja e semi-purificada. Além disso, tanto a glicerina bruta de soja e a glicerina semi-purificada eram compostas por alta concentração de glicerol, estando este acima de 70,0 g/kg de glicerina. A alta concentração de glicerol ingerida pode ter sobreposto à capacidade de metabolização desta substância pelo sistema digestivo das aves na fase inicial, justificando assim, o aumento crescente da concentração de glicerol sérico, com o aumento da inclusão das gliceras em questão. É importante ressaltar, que a coleta de sangue ocorreu após duas horas de jejum das aves, pois o intuito foi avaliar o período pós absorptivo dos animais, ou seja, avaliar o glicerol sanguíneo proveniente da dieta e não da lipólise. Porém, duas horas de jejum, pode não ter sido suficiente para haver metabolização do glicerol pelas aves,

justificando a elevada concentração observada desta substância na circulação das aves em níveis mais elevados de inclusão.

Tabela 4. Glicerol sérico e ganho de umidade de cama em aves alimentadas com rações contendo gliceras em diferentes níveis no período de 08 a 21 dias de idade

Glicerol sérico (mmol de glicerol/mL de plasma)					
Gliceras	Níveis (g/kg)				Média
	17,5	35,0	52,5	70,0	
Soja <sup>L</sup>	26,18	38,84	153,36*B	315,28*A	133,41
Mista <sup>L</sup>	39,74	22,27	34,40 C	18,43 B	28,71
Semi-Purificada <sup>L</sup>	26,06	30,34	287,02*A	313,33*A	164,19
Probabilidade	P<0,05				
Tratamento controle	23,36				
Coefficiente de variação (%)	14,37				
Ganho de umidade de cama (%)					
Gliceras	Níveis (g/kg)				Média
	17,5	35,0	52,5	70,0	
Soja	33,05*	33,02*	31,81*	35,33*	33,30 A
Mista	30,47*	27,61*	27,88*	26,98*	28,24 B
Semi-Purificada	26,10*	31,37*	32,56*	34,15*	31,05 AB
Probabilidade	P<0,05				
Tratamento controle	22,48				
Coefficiente de variação (%)	8,21				

A,B diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>L</sup> Efeito linear.

A concentração sanguínea de glicerol nos frangos alimentados com rações contendo a glicerina bruta mista diminuiu (P<0,05) linearmente ( $Y = -0,296X + 41,66$ ;  $R^2 = 0,45$ ) (Tabela 4), porém, com baixo  $R^2$ , que provavelmente foi consequência da falta de padronização desta glicerina, que está fora dos padrões do MAPA. A baixa concentração de glicerol sérico nestas aves pode ser justificada pela composição da glicerina utilizada, visto que, o teor de glicerol na glicerina bruta mista era muito

baixo (Tabela 2). Por se tratar de aves na fase inicial, onde o sistema enzimático ainda não se encontra totalmente desenvolvido, acredita-se que, apenas em níveis mais elevados de inclusão desta glicerina é que a enzima glicerol quinase pode ter sido ativada, explicando assim, a crescente redução da concentração de glicerol sérico com o aumento da inclusão de glicerina bruta mista. Com a ativação da glicerol quinase, houve metabolização do glicerol ingerido resultando em menor concentração deste no sangue dos frangos utilizados nesta pesquisa.

Apenas diferiu ( $P < 0,05$ ) da concentração de glicerol sérico nas aves que se alimentaram com a dieta controle, a concentração de glicerol observada no sangue das aves que se alimentaram com rações contendo 52,5 e 70,0 g/kg de glicerina bruta de soja e glicerina semi-purificada (Tabela 4). Provavelmente, para estes níveis de inclusão de ambas as glicerinas, houve saturação da enzima glicerol quinase, e conseqüentemente, grande parte do glicerol ingerido não foi aproveitado nutricionalmente pelos pintos de corte.

O ganho de umidade da cama (%) dos frangos foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pelas fontes de glicerinas avaliadas (Tabela 4), diferindo apenas a umidade da glicerina bruta de soja da glicerina bruta mista, sendo que a glicerina bruta mista apresentou menor ganho de umidade da cama. Como o sódio foi corrigido, provavelmente a menor umidade da cama foi devido a menor concentração de glicerol nesta glicerina, ou seja, possivelmente, grande parte do glicerol ingerido foi metabolizado, e não excretado, resultando, desta forma, em menor umidade da cama. Guerra et al. (2011) observaram aumento linear na umidade de cama (%) de frangos no período de 1 a 21 dias, com o aumento do nível de inclusão de um tipo de glicerina bruta mista. Em relação ao ganho de umidade observado na cama dos frangos que se alimentaram da dieta controle, todos os níveis e fontes das glicerinas estudados promoveram maior ganho de umidade, indicando que o glicerol quando não metabolizado, mesmo que esteja em baixas concentrações na circulação sanguínea, pode promover aumento na umidade de cama ao ser excretado, pois, por ser uma substância higroscópica, ele

arrasta consigo água durante a sua excreção. Considerando que as rações experimentais foram corrigidas para o sódio, é possível afirmar que o aumento da umidade de cama verificado nesta pesquisa, foi devido ao glicerol ingerido que não foi metabolizado pelas aves.

## **CONCLUSÃO**

As glicerinas estudadas podem ser utilizadas como ingredientes nas rações para pintos de corte, podendo incluir 70,0g/kg de ração, sem prejudicar o desempenho dos animais. A inclusão de glicerina bruta de soja a partir de 35,0 g/kg, a glicerina bruta mista em todos os níveis avaliados e a glicerina semi-purificada inclusa em 17,50 g/kg promoveram melhores resultados de conversão alimentar em relação ao controle.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal - INCT-CA, pelo apoio financeiro, e à Granol Ind. Com. Exp. S/A pelo fornecimento da glicerina purificada.

## **REFERÊNCIAS**

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL. Rio de Janeiro: ANP, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 15 abr. 2012.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerin from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

DOZIER, W. A. et al. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, p. 317-322, 2008.

GUERRA, R. L. H. et al. Glicerina bruta mista na alimentação de frangos de corte (1 a 42 dias). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v. 12, n. 4, p. 1038-1050, 2011.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Paris: IUPAC, 1993. Disponível em: <<http://www.iupac.org>>. Acesso em: 23 jul. 2010.

JUNG, B.; BATAL, A. B. Nutritional and feeding value of crude glycerin for poultry. 2. Evaluation of feeding crude glycerin to broilers. **Journal Applied of Poultry Science Research**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 514-527, Dec. 2011.

LIMA, E. M. C. et al. The energy value of biodiesel glycerine products fed to broilers at different ages. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 5, n. 10, p. 1515-1520, Aug. 2012.

MCLEA, L. et al. The effect of glycerol inclusion on broiler performance and nutrient digestibility. **British Poultry Science**, London, v. 52, n. 3, p. 368-375, June 2011.

RIVALDI, J. R. et al. Glicerol de biodiesel. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.37, p. 44-51, 2007.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV/DZO, 2005.

SAS INSTITUTE. **User's guide**: version 9.00. 4. ed. Rockville: SAS, 2004.

SIMON, A.; BERGNER, H.; SCHWABE, M. Glycerol-feed ingredient for broiler chickens. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 49, p. 103-112, 1996.

SWITKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 615-619, Mar. 2009.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Sistema de análises estatísticas e genéticas**: versão 9.1. Viçosa: UFV, 2007.

## **CAPÍTULO 3**

### **FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE 22 A 35 DIAS**

#### **RESUMO**

Avaliou-se o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade, recebendo rações com diferentes níveis de glicerina de soja (GBOS) e glicerina purificada (GOSSP). Foram utilizados 792 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500, num arranjo fatorial 4x2+1, com delineamento em blocos casualizados pelo peso das aves, sendo quatro níveis de inclusão (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g/kg) de duas gliceras (bruta de soja e semi-purificada) nas dietas, e um tratamento controle, sem glicerina. Utilizou-se quatro repetições e 22 aves por unidade experimental. O consumo de ração e o rendimento de carcaça não foram influenciados pelos níveis e fontes de glicerina. Houve interação entre níveis e fontes de glicerina para o ganho de peso (GP), sendo observado efeito quadrático para a GBOS, e o maior GP obtido com a inclusão de 35,50g/kg de GBOS. Houve interação entre níveis e fontes de glicerina para a conversão alimentar (CA), sendo observado efeito quadrático para ambas as fontes, e o nível de 35,5g/kg de GBOS promoveu melhor CA e o nível de 39,44 g/kg de GOSSP promoveu a pior CA. Para o rendimento de coxa e sobrecoxa (RCS), houve interação entre níveis e fontes de glicerina, e a inclusão de 40,21 g/kg de GBOS proporcionou menor RCS. Também houve interação para rendimento de peito (RP), sendo os maiores RP para os níveis de 35,15g/kg de GBOS e 43,69 g/kg de GOSSP. O percentual de gordura abdominal (GA) foi influenciado apenas pelas fontes de gliceras, sendo o menor percentual de GA promovido pela GOSSP. Em relação ao controle, a inclusão de 70g/kg de GBOS proporcionou pior GP, CA e RP. Conclui-se que a inclusão de 35,5 g/kg de GBOSS e 70,0 g/kg de GOSSP proporciona os melhores resultados de desempenho das aves de 22 a 35 dias idades, dentro dos níveis avaliados.

Palavras-chave: aves, cortes comerciais, glicerol, gordura abdominal

### **ABSTRACT**

The aim of this experiment was to evaluate the performance and carcass yield of broilers from 22 to 35 days of age, fed diets with different levels of glycerin from soybean (GBOS) and purified glycerin (GOSSP). We used 792 male broiler, the Cobb 500, a 4x2 +1 factorial, randomized block design with the weight of the birds, four levels (17.5, 35.0, 52.5 and 70, 0 g / kg) two glycerins (crude, semi-purified soybean) in the diets and a control without glycerin. We used four replicates of 22 birds each. Feed intake and carcass yield were not affected by the levels and sources of glycerin. There was an interaction between levels and sources of glycerin to weight gain (WG), and quadratic effect for GBOS, and the largest GP obtained by including 35.50 g / kg GBOS. There was an interaction between levels and sources of glycerin for feed conversion (FC), and quadratic effect for both sources, and the level of 35.5 g / kg GBOS CA and promoted better level of 39.44 g / kg promoted GOSSP the worst CA. To yield thigh and drumstick (RCS), there was an interaction between levels and sources of glycerin, and including 40.21 g / kg GBOS provided less RCS. There was also an interaction for breast yield (RP), and the highest levels of RP to 35.15 g / kg GBOS and 43.69 g / kg GOSSP. The percentage of abdominal fat (GA) was affected only by glycerins sources, the lowest percentage of GA promoted by GOSSP. Compared to control, the inclusion of 70g/kg of GBOS afforded worst GP, CA and RP. We conclude that inclusion of 35.5 g / kg GBOSS and 70.0 g / kg GOSSP provides the best performance in poultry aged 22 to 35 days, within the levels evaluated.

Keywords: poultry, commercial cutts, glycerol, abdominal fat

## **INTRODUÇÃO**

A glicerina é um co-produto da produção de biodiesel, obtida a partir de óleos vegetais e gorduras animais (RIVALDI et al., 2007). Segundo Swiatkiewicz e Koreleski (2009), a quantidade de glicerina bruta produzida, representa 10,0% da quantidade produzida de biodiesel.

No Brasil há um crescente aumento da produção de biodiesel, que, segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (2012) a produção de biodiesel em 2011 foi de 2,4 bilhões de litros. Ou seja, para 2,4 bilhões de litros de biodiesel podem ser obtidos cerca de 240 milhões de litros de glicerina bruta. Com isso, ocorre uma produção de glicerina acima da demanda do mercado, aliado à falta de legislação para o descarte da glicerina produzida em excesso, o que pode tornar este co-produto, um problema ambiental, impulsionando os pesquisadores a buscarem novas utilidades deste co-produto.

A glicerina bruta pode ser considerada uma boa fonte de energia dietética para aves e suínos (CERRATE et al., 2006; DOZIER et al., 2008) pois, o glicerol nela contido pode participar de processos metabólicos, produzindo ATP, desta forma, é possível sugerir a sua inclusão na alimentação animal, sendo esta uma alternativa viável e ambientalmente sustentável para destinar parte deste co-produto no mercado, já que poderá evitar que a produção excedente tenha destinos inadequados, de forma a contaminar o meio ambiente. Com isso, objetivou-se neste trabalho avaliar o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte no período de 22 a 35 dias de idade, recebendo rações com diferentes níveis de glicerina bruta proveniente de óleo de soja e glicerina semi-purificada.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, utilizando-se

792 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500, num arranjo fatorial  $4 \times 2 + 1$ , com delineamento em delineamento inteiramente casualizado, sendo quatro níveis de inclusão de duas glicerinas nas dietas (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g/kg de ração) e um tratamento controle, sem inclusão de glicerina, sendo nove tratamentos e quatro repetições cada. As glicerinas utilizadas foram glicerina bruta de óleo de soja (GBOS) e glicerina de óleo de soja semi-purificada – GENPA<sup>®</sup> (GOSSP). Os pintos de corte utilizados no experimento foram adquiridos com um dia de idade e criados em galpão convencional para frangos de corte recebendo uma dieta basal formulada segundo Rostagno et al. (2005) até os 21 dias de idade.

As dietas experimentais foram formuladas para atender as exigências nutricionais de acordo com recomendações da tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2005) (Tabela 1). Devido à elevada concentração de sódio nas glicerinas utilizadas, ajustou-se o sal nas fórmulas das rações, com devidas correções para o sódio e o cloro, este último corrigido pela adição de cloreto de cálcio. Na formulação das rações, utilizou-se um valor médio de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio para cada glicerina (3279; 3228 e 3304 kcal/kg de matéria natural, respectivamente), previamente determinados por Lima et al. (2012). A composição nutricional das glicerinas utilizadas encontram-se na Tabela 2. Foram avaliados o desempenho e rendimento de carcaça e de cortes de frangos no período de 22 a 35 dias de idade.

Para avaliar o desempenho, as aves e as rações foram pesadas no início e no final do período experimental (aos 22 e 35 dias de idade), para obter o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar. A mortalidade das aves foi registrada e considerada para a correção dos dados de desempenho.

Aos 35 dias de idade, pra avaliação de rendimento de carcaça, foram selecionadas e abatidas duas aves por parcela experimental (8 aves por tratamento no total) com o peso de aproximadamente 5,0% da média do respectivo boxe. O rendimento de carcaça foi calculado com o peso da

carcaça limpa e eviscerada sem passar pelo chiller em relação ao peso vivo em jejum. As carcaças resfriadas foram cortadas manualmente em partes (peito, coxa+sobrecoxa) e retirada a gordura abdominal.

As análises estatísticas das variáveis de desempenho e rendimento de carcaça foram realizadas pelo programa estatístico SAEG (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 2007). Realizou-se a ANOVA dos dados de desempenho e rendimento de carcaça e cortes, e, quando significativos, as fontes de glicerina foram comparadas pelo teste de Fisher e os níveis de glicerina por análise de regressão. O tratamento controle foi comparado à média dos tratamentos com glicerina pelo teste de Dunnett.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais

Ingredientes	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina Semi-Purificada			
		g/kg							
Glicerina	0,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho triturado	617,39	597,48	577,55	556,37	534,60	597,44	577,47	556,77	535,13
Farelo de soja	316,02	319,63	323,24	327,08	331,03	319,64	323,26	327,01	330,94
Óleo de soja	29,53	29,91	30,29	31,09	32,11	29,80	30,06	30,58	31,42
Fosfato bicálcico	16,47	16,52	16,57	16,63	16,68	16,52	16,57	16,63	16,68
Calcário	8,36	8,32	8,28	7,61	6,63	8,32	8,28	7,87	6,98
Sal comum	2,24	2,25	2,26	1,57	0,53	2,25	2,26	1,86	0,92
DL-Metionina 99,0%	2,23	2,25	2,28	2,31	2,33	2,25	2,28	2,30	2,33
L-Lisina HCl 79,0%	1,75	1,68	1,62	1,55	1,48	1,68	1,62	1,55	1,48
L-Treonina 98,5%	0,36	0,35	0,35	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	0,34

Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	0,89	2,22	0,00	0,00	0,53	1,73
Bicarbonato de sódio	3,61	2,06	0,51	0,00	0,00	2,20	0,80	0,00	0,00
Lasalocida	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Suplemento Mineral <sup>a</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento Vitamínico <sup>b</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de colina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bacitracina de zinco	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Total (kg)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Composição calculada									
Proteína Bruta, g/kg	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27
EM <sup>c</sup> , Kcal/kg	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Glicerol <sup>d</sup>	0,00	12,25	24,50	36,75	49,00	13,88	27,76	41,64	55,52

Cálcio, g/kg	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24
Fósforo disponível, g/kg	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11
Sódio, g/kg	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50
Cloro, g/kg	1,80	1,80	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Lisina digestível, g/kg	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73
Metionina+cistina digestível, g/kg	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30
Treonina digestível, g/kg	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70
BE (mEq/kg)	230,5	231,0	231,6	232,1	232,7	231,2	231,8	232,5	233,2

<sup>a</sup>Conteúdo por kg do produto: zinco, 110g; selênio, 360mg; iodo, 1.400mg; cobre, 20g ; manganês, 156g; ferro, 96g. <sup>b</sup>Conteúdo por kg do produto: ácido fólico, 1.600 mg; ácido pantotênico, 29.000 mg; biotina, 60 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 5.000 mg; niacina, 37.000 mg; vitamina A, 20.000.000 IU; vitamina B1, 3.000 mg; vitamina E, 40.500 IU; vitamina B12, 27.000 mcg; vitamina B2, 12.000mg; vitamina B6, 6.000 mg; vitamina D3, 5.000.000 IU; vitamina K3, 4.800mg. <sup>c</sup> Energia Metabolizável <sup>d</sup> Glicerol proveniente da suplementação de glicerina.

<sup>e</sup> Balanço eletrolítico.

Tabela 2. Composição das gliceras avaliadas<sup>a</sup>.

Parâmetros	Gliceras	
	GBOS	GOSSP
	g/kg	
Umidade e voláteis	167,5	110,8
Glicerol	700,0	793,2
Sódio	23,8	21,6
Umidade (Karl Fischer)	124,5	101,5
pH em solução aquosa	6,05	5,72
Metanol, mg/L	181,31	20,62
Energia bruta, kcal/kg	3661,00	3698,00

<sup>a</sup> Análises realizadas pelo CBO análises laboratoriais, Campinas –SP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de ração não teve influência ( $P>0,05$ ) das fontes e nem dos níveis de inclusão de glicerina (Tabela 3) e também não diferiram do controle ( $P>0,05$ ). Esse resultado está de acordo com Mclea et al. (2011), que ao avaliarem a inclusão de duas fontes de glicerina (com valores de energia de metabolizável aparente de 3093,11 e 3487,21 kcal/kg de matéria natural) e três níveis (33, 63 e 100g/kg) para frangos de corte no período de 7 a 28 dias e não observaram diferença no consumo de ração. Cerrate et al. (2006) também não observaram diferenças no consumo de ração em frangos

de corte de 0 a 35 dias de idade alimentados com 0, 50 e 100 gramas de glicerina/ kg de ração. Provavelmente, a não diferença no consumo de ração observada no presente experimento foi devido ao fato das rações experimentais serem isonutritivas, com isso, pode-se inferir que a concentração de glicerina da dieta não interfere no consumo de ração, desde que sejam atendidas as exigências nutricionais das aves.

Tabela 3. Consumo de ração (kg), ganho de peso (kg) e conversão alimentar (kg/kg) de aves alimentadas com rações contendo gliceras em diferentes níveis no período de 22 a 35 dias de idade

Consumo de ração (kg)					
	Níveis (g/kg)				
Gliceras	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>ns</sup>	2,210	2,252	2,260	2,251	2,243
Semi-purificada <sup>ns</sup>	2,223	2,241	2,230	2,228	2,231
Probabilidade	P>0,05				
Tratamento controle	2,192				
Coeficiente de variação (%)	3,806				
Ganho de peso (kg)					
	Níveis (g/kg)				
Gliceras	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>Q</sup>	1,410A	1,450A	1,453A	1,256B*	1,392
Semi-purificada	1,391A	1,341B	1,396A	1,434A	1,391
Probabilidade	P<0,05				
Tratamento controle	1,433				
Coeficiente de variação (%)	4,530				
Conversão Alimentar (kg/kg)					
	Níveis (g/kg)				
Gliceras	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>Q</sup>	1,57A	1,55 <sup>a</sup>	1,56A	1,79B*	1,62
Semi-purificada <sup>Q</sup>	1,60A*	1,67B*	1,60A*	1,56A	1,61
Probabilidade	P<0,05				
Tratamento controle	1,53				
Coeficiente de variação (%)	2,052				

A,B diferem entre si pelo teste de Fisher; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>Q</sup> Efeito quadrático.

Houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre fontes e níveis de glicerina para o ganho de peso (Tabela 3), com efeito quadrático dos níveis avaliados para a glicerina de óleo de soja, e para a glicerina semi-purificada os níveis não influenciaram o ganho de peso. O efeito dos níveis de glicerina bruta de soja sobre o ganho de peso nos frangos pode ser expresso pela equação  $Y = -0,0002x^2 + 0,01423x + 1,2119$  ( $R^2 = 0,95$ ), sugerindo o melhor nível de inclusão da GBOS de 35,58 g/kg.

A diferença observada no ganho de peso das aves no presente experimento não foi observada por Mclea et al. (2011), que estudaram a inclusão de fontes de glicerina e nos níveis de 33,67 e 100 g/kg para frangos de corte no período de 21 a 28 dias de idade. Cerrate et al. (2006) verificaram que até a inclusão de 50g/kg de glicerina bruta na dieta de frangos de corte no período de 0-35 dias de idade não alteram o ganho de peso das aves, porém, 100 g/kg de glicerina promove uma piora. Jung e Batal (2011a) incluíram até 75,0 g/kg de glicerina nas rações de frangos de corte no período de 16 a 34 dias de idade e também não observaram diferença no ganho de peso.

A piora no ganho de peso a partir de 35,58 g/kg de inclusão da GBOS e os resultados contraditórios aos encontrados pelos autores supracitados podem ser explicados, em parte, pela composição das gliceras avaliadas. Por exemplo, a glicerina bruta utilizada por Mclea et al. (2011) continha 523g de glicerol por quilo de glicerina bruta; e a glicerina bruta de soja utilizada no presente experimento continha 700g de glicerol por quilo. Possivelmente, a maior concentração de glicerol na glicerina bruta de óleo de soja utilizada no presente trabalho, pode ter superado a capacidade de metabolização deste pelo animal, promovendo uma piora no desempenho com níveis mais altos de inclusão. Visto que o glicerol quando não metabolizado precisa ser excretado, tal processo promove gasto energético podendo comprometer o desempenho dos frangos.

Em relação ao tratamento controle, a inclusão de 70g de glicerina bruta de soja/kg de ração foi o tratamento que diferiu ( $P<0,05$ ), proporcionando às aves pior ganho de peso (Tabela 3). Este resultado pode ser devido à ingestão de quantidade de glicerol superior à capacidade de metabolização deste pelas aves.

Para a conversão alimentar, observou-se interação significativa ( $P<0,05$ ) entre fontes e níveis de gliceras testadas (Tabela 3), sendo verificado efeito quadrático em ambas as fontes. O efeito da glicerina bruta de óleo de soja sobre a conversão alimentar nas aves de 22 a 35 dias de idade ( $Y= 0,0002x^2-0,0142x+1,765$ ;  $R^2=0,94$ ), permitiu uma melhor conversão alimentar com a inclusão de 35,5g de esta glicerina por quilo de ração, semelhante ao resultado obtido para o ganho de peso. Para a glicerina semi-purificada a inclusão de 39,44 g/kg, foi a que promoveu a pior conversão ( $Y= -0,00009x^2+0,0071x+1,5118$ ;  $R^2= 0,77$ ). Esses resultados diferem dos relatados por Cerrate et al. (2006), que ao compararem a inclusão de 25,0 e 50,0g/kg de glicerina não observaram diferença na conversão alimentar de frangos de corte no período de 0 a 35 dias de idade. Simon, Bergner e Schwabe (1996) também encontraram resultados diferentes aos observados neste trabalho, em que os referidos autores incluíram até 25,0 g/kg de glicerol puro em dietas de frangos de corte e não verificaram diferença na conversão alimentar até a inclusão de 10,0g/kg.

Em relação ao controle, o nível de 70 g/kg de glicerina bruta de óleo de soja e 17,5; 35; 52,5 g/kg de glicerina purificada apresentaram a pior conversão alimentar ( $P<0,05$ ) (Tabela 3). Ou seja, ao comparar a glicerina bruta de óleo de soja com uma dieta isenta de glicerina, pode-se sugerir que a inclusão de 70,0g/kg desta glicerina prejudica o desempenho das aves, possivelmente pelo excesso de glicerol ingerido ou pode ser pelo efeito de contaminantes presentes neste co-produto, que em níveis mais altos podem ser tóxicos ao animal, como por exemplo, o metanol que está presente glicerina bruta de óleo de soja na concentração de 181,31 mg/L. Efeito

inverso foi observado para a glicerina semi-purificada, sendo que os níveis abaixo de 70g/kg apresentaram conversão alimentar pior em relação ao controle ( $P < 0,05$ ). A melhora na conversão alimentar no de 70g/kg de glicerina semi-purificada pode ser em parte explicada pela baixa concentração de metanol (20,62 mg/L), o que permitiria fornecer ao animal níveis de glicerina até superiores ao estudados, porém, a limitação para uma maior inclusão desta glicerina semi-purificada seria a concentração de sódio nesta.

Pelos resultados de desempenho nota-se que, é possível incluir 52,5 e 70g/kg das gliceras bruta de óleo de soja e semi-purificada, respectivamente, permitindo um destino sustentável e ambientalmente correto para as gliceras oriundas da produção de biodiesel.

Para o rendimento de carcaça não houve interação ( $P > 0,05$ ), nem influência das fontes e dos níveis de glicerina (Tabela 4). Também não foi observado diferença ( $P > 0,05$ ) no rendimento das aves alimentadas com as diferentes rações em relação ao controle (Tabela 4). O mesmo foi observado por Cerrate et al. (2006), trabalhando com a inclusão de 0; 25,0 e 50,0g/kg de glicerina, porém, estes mesmos autores em outro experimento, incluindo 0; 50,0 e 100,0 g/kg de glicerina, verificaram redução no rendimento de carcaça com a inclusão de 100,0 g/kg.

Tabela 4. Rendimento de carcaça (%), Rendimento de coxa+sobrecoxa (%), Rendimento de peito (%) e Gordura abdominal (%) de aves alimentadas com rações contendo gliceras em diferentes níveis no período de 22 a 35 dias de idade

Rendimento de carcaça (%)					
Gliceras	Níveis (g/kg)				Média
	17,5	35,0	52,5	70,0	
Soja	73,48	72,44	73,22	71,85	72,75
Semi-purificada	72,44	72,44	72,69	73,09	72,67
Probabilidade	NS				
Tratamento controle					72,80

Coeficiente de variação (%)					
1,033					
Rendimento de coxa e sobrecoxa (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>Q</sup>	30,46 <sup>a</sup>	28,96 <sup>B</sup>	29,12 <sup>a</sup>	31,81 <sup>A*</sup>	30,09
Semi-purificada	30,46 <sup>a</sup>	30,31 <sup>a</sup>	29,88 <sup>a</sup>	30,35 <sup>B</sup>	30,25
Probabilidade P<0,05					
Tratamento controle 29,19					
Coeficiente de variação (%)					
2,818					
Rendimento de Peito (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>Q</sup>	37,16 <sup>a</sup>	37,38 <sup>a</sup>	37,77 <sup>A</sup>	33,12 <sup>B*</sup>	36,36
Semi-purificada <sup>Q</sup>	37,33 <sup>a</sup>	37,51 <sup>a</sup>	37,99 <sup>A*</sup>	37,19 <sup>a</sup>	37,51
Probabilidade P<0,05					
Tratamento controle 37,18					
Coeficiente de variação (%)					
1,124					
Gordura abdominal (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	1,97	1,85	1,60 <sup>*</sup>	1,78	1,80 <sup>a</sup>
Semi-purificada	1,64 <sup>*</sup>	1,64 <sup>*</sup>	1,54 <sup>*</sup>	1,59 <sup>*</sup>	1,60 <sup>B</sup>
Probabilidade P<0,05					
Tratamento controle 2,03					
Coeficiente de variação (%)					
11,89					

A,B diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>Q</sup> Efeito quadrático.

Observou-se interação significativa (P<0,05) entre fontes e níveis de glicerina para o rendimento de coxa e sobrecoxa (RCS) (Tabela 4). Os níveis de glicerina bruta de óleo de soja proporcionaram efeito quadrático de RCS ( $Y = 0,0034x^2 - 0,2734x + 34,2520$ ;  $R^2 = 0,99$ ), sendo o menor RCS encontrado com 40,21 g/kg de inclusão da GBOS. Estes resultados são contrários aos de

Cerrate et al. (2006), que não observaram influência dos níveis de glicerina sobre o rendimento de coxa e sobrecoxa. Os níveis de glicerina purificada não influenciaram no RCS ( $P>0,05$ ).

Somente as aves alimentadas com 70,0g/kg de GBOS diferiram do controle em relação ao RCS ( $P<0,05$ ), apresentando melhor resultado.

Segundo Jung e Batal (2011b), existe variação na composição de metanol nas diferentes gliceras produzidas a partir do biodiesel, destacando-se a importância em analisá-las antes de fornecê-las às aves, visto que este álcool, em concentrações mais elevadas, pode ser prejudicial aos animais.

Houve interação significativa ( $P<0,05$ ) entre níveis e fontes de glicerina para rendimento de peito, sendo observados efeitos quadráticos para ambas as fontes (Tabela 4). Um maior rendimento de peito foi obtido com a inclusão 35,15g/kg de glicerina bruta de óleo de soja ( $Y = -0,004x^2 + 0,2812x + 33,19$ ;  $R^2=0,90$ ), e 43,69g/kg de glicerina semi-purificada ( $Y = -0,0008x^2 + 0,0699x + 36,274$ ;  $R^2=0,66$ ). Em níveis de 25,0 e 50,0g de inclusão de glicerina por quilo de ração, Cerrate et al. (2006) não observaram diferença no rendimento de peito para os níveis testados, porém, em relação à dieta isenta de glicerina, a presença deste co-produto proporcionou maior rendimento de peito nos frangos.

A inclusão de 70,0g/kg de glicerina bruta de óleo de soja proporcionou rendimento de peito inferior ao controle, e o a inclusão 52,5g/kg de glicerina purificada resultou em rendimento de peito superior ao controle. Estes resultados não confirmam a teoria de que o glicerol poderia poupar aminoácidos gliconeogênicos (CRYER; BARTLEY, 1973) aumentando a retenção de proteína, resultando em maior rendimento de peito, visto que, os demais níveis das gliceras testadas não diferiram do controle, semelhante aos resultados de Cerrate et al. (2006) que incluíram

0,0; 50,0 e 100,0g de glicerina/kg e não observaram diferença no rendimento de peito.

O percentual de gordura abdominal foi influenciado somente pelas fontes de glicerinas avaliadas ( $P < 0,05$ ), sendo o menor percentual de gordura obtido com a utilização da glicerina semi-purificada. Pode-se inferir que a concentração de glicerol não aumenta a lipogênese, visto que a glicerina com maior percentual de glicerol foi a fonte que proporcionou carcaça mais magra. A inclusão de 17,5; 35,0 e 70,0 g/kg de glicerina bruta de óleo de soja proporcionaram percentual de gordura abdominal semelhante ao controle, já o nível de 52,5 g/kg de glicerina bruta de óleo de soja e todos níveis da glicerina semi-purificada apresentaram menor percentual de gordura abdominal em relação ao controle.

## **CONCLUSÃO**

A inclusão de 35,5g /kg de glicerina bruta de soja e de 70,0 g/kg de glicerina semi-purificada proporcionou os melhores resultados de desempenho das aves no período de 22 a 35 dias, dentro dos níveis avaliados.

## **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal - INCT-CA, pelo apoio financeiro, e à Granol Ind. Com. Exp. S/A pelo fornecimento da glicerina purificada.

## **REFERÊNCIAS**

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL. Rio de Janeiro: ANP, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 15 jan. 2012.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerin from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

CRYER, A.; BARTLEY, W. Studies of the adaptation of rats to a diet high in glycerol. **International Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 4, n. 21, p. 293-308, 1973.

DOPPENBERG, J.; VAN DER AAR, P. Applications of rapeseed meal or expeller and glycerine in diets for non ruminants. In: DOPPENBERG, J.; VAN DER AAR, P. (Ed.). **Biofuels Implications for the feed industry**. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2007. p. 73-88.

DOZIER, W. A. et al. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, p. 317-322, 2008.

JUNG, B.; BATAL, A. B. Nutritional and feeding value of crude glycerin for poultry. 1. Nutritional value of crude glycerin. **Journal Applied of Poultry Science Research**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 514-527, Dec. 2011b.

JUNG, B.; BATAL, A. B. Nutritional and feeding value of crude glycerin for poultry. 2. Evaluation of feeding crude glycerin to broilers. **Journal Applied of Poultry Science Research**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 514-527, Dec. 2011a.

LIMA, E. M. C. et al. The energy value of biodiesel glycerine products fed to broilers at different ages. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 5, n. 10, p. 1515-1520, Aug. 2012.

MCLEA, L. et al. The effect of glycerol inclusion on broiler performance and nutrient digestibility. **British Poultry Science**, London, v. 52, n. 3, p. 368-375, June 2011.

RIVALDI, J. R. et al. Glicerol de biodiesel. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.37, p. 44-51, 2007.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV/DZO, 2005.

SIMON, A.; BERGNER, H.; SCHWABE, M. Glycerol-feed ingredient for broiler chickens. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 49, p. 103-112, 1996.

SWITKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 615-619, Mar. 2009.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Sistema de análises estatísticas e genéticas**: versão 9.1. Viçosa: UFV, 2007.

## **CAPÍTULO 4**

### **FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA PARA FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO DE 33 A 42 DIAS**

#### **RESUMO**

Foram avaliados o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte no período de 33 a 42 dias de idade, recebendo rações com diferentes níveis de glicerina de soja (GBOS) e glicerina purificada (GOSSP). Foram utilizados 900 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500, num arranjo fatorial 4x2+1, com delineamento inteiramente casualizados, sendo quatro níveis de inclusão (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g/kg) de duas gliceras (bruta de soja e purificada) nas dietas e um tratamento controle, sem glicerina. Utilizou-se quatro repetições de 25 aves por unidade experimental. O consumo de ração, o rendimento de carcaça e o rendimento de coxa e sobrecoxa não foram influenciados pelos níveis e fontes de glicerina. Houve interação entre níveis e fontes de glicerina para o ganho de peso (GP), sendo observado efeito linear para a GBOS. Houve efeito quadrático dos níveis de glicerina para a conversão alimentar (CA), sendo que o nível de 68,37 g/kg de ambas as gliceras promoveu melhor CA. Também houve interação para rendimento de peito (RP), obtendo efeito quadrático para a GOSSP, sendo o pior RP para o nível de 40,34 g/kg. Para a GBOS, o rendimento de peito não foi significativo. O percentual de gordura abdominal (GA) foi influenciado apenas pelas fontes de gliceras, sendo o menor percentual de GA promovido pela GOSSP. Conclui-se que a inclusão de 68,37 g/kg de ambas as gliceras proporciona os melhores resultados de desempenho das aves de 33 a 42 dias de idade, dentro dos níveis avaliados.

Palavras-chave: aves, conversão alimentar, cortes comerciais, glicerol, gordura abdominal

## **ABSTRACT**

The objective of the present experiment was to evaluate the performance and carcass yield of broilers in the period of 33 to 42 days of age, fed diets with different levels of glycerin from soybean (GBOS) and purified glycerin (GOSSP). We used 900 male broiler, the Cobb 500, a 4x2 factorial arrangement +1, with completely randomized design, with four levels (17.5, 35.0, 52.5 and 70.0 g / kg) two glycerins (crude and purified soy in the diet) and a control without glycerin. We used four replicates of 25 birds each. The feed intake, dressing percentage and yield of thighs and drumsticks were not affected by the levels and sources of glycerin. There was an interaction between levels and sources of glycerin to weight gain (WG), linear effect was observed for GBOS. A quadratic effect of levels of glycerin for feed conversion (FC), and the level of 68.37 g / kg of both CA glycerins promoted better. There was also an interaction for breast yield (RP), obtaining a quadratic effect for GOSSP, the worst PR to the level of 40.34 g / kg. For GBOS, breast yield was not significant. The percentage of abdominal fat (GA) was affected only by glycerins sources, the lowest percentage of GA promoted by GOSSP. We conclude that inclusion of 68.37 g / kg of glycerins provides both the best performance of the birds 33-42 days of age within the levels evaluated.

Keywords: poultry, feed conversion, commercial cuts, glycerol, abdominal fat

## **INTRODUÇÃO**

No Brasil há um crescente aumento da produção de biodiesel, sendo produzidos em 2011, 2,4 bilhões de litros de biodiesel, segundo a Agência Nacional do Petróleo (2012). A glicerina é um co-produto da produção de biodiesel, obtida a partir de óleos vegetais e gorduras animais (RIVALDI et al., 2007). De acordo com Swiatkiewicz e Koreleski (2009), a cada 1000 kg de biodiesel produzido, obtém-se aproximadamente 100 kg de glicerina.

Ou seja, para 2,4 bilhões de litros de biodiesel podem ser obtidos cerca de 240 milhões de litros de glicerina bruta. Com isso, ocorre uma produção de glicerina acima da demanda do mercado, o que impulsiona os pesquisadores a buscarem novas utilidades deste co-produto. Devido à falta de legislação para o descarte da glicerina produzida em excesso, este co-produto pode tornar-se, desta maneira, um problema ambiental.

Como a glicerina bruta pode ser considerada uma boa fonte de energia dietética para aves e suínos (CERRATE et al., 2006; DOZIER et al., 2008) é possível sugerir a sua inclusão na alimentação animal, sendo esta uma alternativa viável e ambientalmente sustentável para destinar parte deste co-produto no mercado, já que poderá evitar que a produção excedente tenha destinos inadequados, de forma a contaminar o meio ambiente. Com isso, objetivou-se neste trabalho avaliar o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte no período de 33 a 42 dias de idade, recebendo rações com diferentes níveis de glicerina bruta proveniente do óleo de soja e glicerina de óleo de soja semi-purificada.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no setor de Avicultura do Departamento

de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, utilizando-se 900 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500 num arranjo fatorial 4x2+1, com delineamento inteiramente casualizados, sendo quatro níveis de inclusão de duas glicerina nas dietas (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g/kg) e um tratamento controle, sem inclusão de glicerina, com quatro repetições e 25 aves por unidade experimental. As glicerinas utilizadas foram glicerina bruta de óleo de soja (GBOS) e glicerina de óleo de soja semi-purificada – GENPA<sup>®</sup> (GOSSP). Os pintos de corte utilizados no experimento foram adquiridos com um dia de idade e criados em galpão convencional para frangos de corte recebendo uma dieta basal formulada segundo Rostagno et al. (2005) até os 32 dias de idade.

As dietas experimentais foram formuladas para atender as exigências nutricionais de acordo com recomendações da tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2005) (Tabela 1). Devido à elevada concentração de sódio nas glicerinas utilizadas, ajustou-se o sal nas fórmulas das rações, com devidas correções para o sódio e o cloro, este último corrigido pela adição de cloreto de cálcio. Na formulação das rações, utilizou-se um valor médio de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio para cada glicerina (3279 e 3304 kcal/kg de matéria natural, respectivamente), previamente determinados por Lima et al. (2012). A composição nutricional das glicerinas encontram-se na Tabela 2. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria, dividido em boxes de 3 m<sup>2</sup>. O piso de cada box foi coberto com maravalha e cada box continha um comedouro tubular e um bebedouro pendular.

Foram avaliados o desempenho, o rendimento de carcaça e de cortes dos frangos de corte no período de 33 a 42 dias de idade.

Para avaliar o desempenho, as aves e as rações foram pesadas no início e no final do período experimental (aos 33 e 42 dias de idade), para obter o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar. A mortalidade das aves foi registrada e considerada para a correção dos dados de desempenho.

Aos 42 dias de idade, para avaliação de rendimento de carcaça, foram selecionadas e abatidas duas aves por parcela (8 aves por tratamento no total) com o peso de aproximadamente 5,0% da média do respectivo boxe. O rendimento de carcaça foi calculado com o peso da carcaça limpa e eviscerada sem passar pelo chiller em relação ao peso vivo em jejum. As carcaças resfriadas foram cortadas manualmente em partes (peito, coxa+sobrecoxa e gordura abdominal).

As análises estatísticas das variáveis de desempenho e rendimento de carcaça foram realizadas pelo programa estatístico SAEG (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 2007). Realizou-se a ANOVA dos dados de desempenho e rendimento de carcaça e cortes, e, quando significativos, as fontes de glicerina foram testadas pelo teste Fisher e os níveis de glicerina por análise de regressão. O tratamento controle foi comparado à média dos tratamentos com glicerina pelo teste de Dunnett.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais

Ingredientes	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina de óleo de semi-purificada			
		g/kg							
Glicerina	0,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho triturado	647,53	627,33	607,14	585,52	563,44	627,94	608,34	587,83	566,53
Farelo de soja	288,27	291,93	295,60	299,52	303,52	291,82	295,38	299,10	302,96
Óleo de soja	30,70	31,30	31,90	32,99	34,24	30,66	30,63	30,91	31,46
Fosfato bicálcico	14,94	14,99	15,04	15,09	15,15	14,99	15,04	15,09	15,14
Calcário	7,92	7,88	7,84	7,07	6,09	7,88	7,84	7,33	6,44
Sal comum	2,07	2,08	2,10	1,29	0,25	2,08	2,09	1,58	0,64
DL-Metionina 99%	2,02	2,05	2,07	2,10	2,13	2,05	2,07	2,10	2,13
L-Lisina-HCl	1,85	1,79	1,72	1,65	1,58	1,79	1,73	1,66	1,59
L-Treonina 98%	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34
Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	1,03	2,36	0,00	0,00	0,66	1,87
Bicarbonato de sódio	3,45	1,90	0,35	0,00	0,00	2,04	0,64	0,00	0,00
Suplemento	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Míneral <sup>1</sup>									
Suplemento Vitamínico <sup>2</sup>	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Cloreto de colina 60%	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Total (kg)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Valores Calculados									
Proteína Bruta, g/kg	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15
Energia Metabolizável, Kcal/kg	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150
Cálcio, g/kg	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63
Fósforo disponível, g/kg	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80
Sódio, g/kg	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94
Cloro, g/kg	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70

Lisina digestível, g/kg	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17
Metionina+cistina digestível, g/kg	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32
Treonina digestível, g/kg	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61
Balanço eletrolítico (mEq/kg)	217,7	218,3	218,8	219,3	219,9	218,4	219,0	219,7	220,4

<sup>1</sup>Conteúdo por kg de produto: zinco, 110g; selênio, 360mg; iodo, 1.400mg; cobre, 20g ; manganês,156g; ferro, 96g.

<sup>2</sup> Conteúdo por kg de produto: ácido fólico, 1.600 mg; ácido pantotênico, 29.000 mg; biotina, 60 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 5.000 mg; niacina, 37.000 mg; vitamina A, 20.000.000 IU; vitamina B1, 3.000 mg; vitamina E, 40.500 IU; vitamina B12, 27.000 mcg; vitamina B2, 12.000mg; vitamina B6, 6.000 mg; vitamina D3, 5.000.000 IU; vitamina K3, 4.800mg.

Tabela 2. Composição das gliceras avaliadas<sup>a</sup>.

Parâmetros	Gliceras	
	GBOS	GOSSP
	g/kg	
Umidade e voláteis	167,5	110,8
Glicerol	700,0	793,2
Sódio	23,8	21,6
Umidade (Karl Fischer)	124,5	101,5
pH em solução aquosa	6,05	5,72
Metanol, mg/L	181,31	20,62
Energia bruta, kcal/kg	3661,00	3698,00

<sup>a</sup> Análises realizadas pelo CBO análises laboratoriais, Campinas –SP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de ração não foi influenciado ( $P > 0,05$ ) pelas fontes e nem dos níveis de inclusão de glicerina (Tabela 3) e também não diferiram do controle, corroborando desta forma com Cerrate et al. (2006), que não observaram diferenças no consumo de ração em frangos de corte de 0 a 35 dias de idade, alimentados com 0; 50,0 e 100,0 g de glicerina por quilo de ração. Mclea et al. (2011) também não observaram diferenças no consumo de ração ao avaliarem a inclusão de duas fontes de glicerina (com valores de energia metabolizável aparente de 3093 e 3487 kcal/kg) em três níveis diferentes (33,0; 67,0 e 100,0 g/kg) para frangos de corte no período de 7 a 28 dias. Provavelmente, a não diferença no consumo de ração observada no presente experimento foi devido ao fato das rações experimentais serem isonutritivas, com isso, pode-se inferir que a concentração de glicerina da

dieta não interfere no consumo de ração, desde que sejam atendidas as exigências nutricionais das aves.

Tabela 3. Consumo de ração (kg), ganho de peso (kg) e conversão alimentar (kg/kg) de aves alimentadas com rações contendo glicerinas em diferentes níveis no período de 33 a 42 dias de idade

Consumo de ração (kg)					
	Níveis (g/kg)				
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	1,936	1,944	1,917	1,969	1,942
Semi-purificada	2,052	2,029	1,901	1,850	1,958
Probabilidade	P>0,05				
Tratamento controle	1,923				
Coeficiente de variação (%)	4,76				
Ganho de peso (kg)					
	Níveis (g/kg)				
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>L</sup>	1,046	1,108	1,120	1,133	1,102
Semi-purificada <sup>ns</sup>	1,130	1,104	1,115	1,078	1,107
Probabilidade	P<0,05				
Tratamento controle	1,093				
Coeficiente de variação (%)	4,18				
Conversão Alimentar (kg/kg)					
	Níveis (g/kg) <sup>Q</sup>				
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	1,85	1,75	1,71	1,74	1,76
Semi-purificada	1,82	1,84	1,71	1,72	1,77
Média <sup>Q</sup>	1,84	1,80	1,71	1,73	
Probabilidade	P<0,05				
Tratamento controle	1,76				
Coeficiente de variação (%)	4,71				

A,B diferem entre si pelo teste de Fisher; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>L</sup> Efeito linear; <sup>Q</sup> Efeito quadrático.

Houve interação significativa (P<0,05) entre fontes e níveis de glicerinas testadas para o ganho de peso (P<0,05), sendo observado efeito linear dos níveis avaliados para a glicerina bruta de óleo de soja (Y =

$0,0016x + 1,0335$ ;  $R^2 = 0,83$ ), e para a glicerina semi-purificada os níveis não influenciaram o ganho de peso. Os resultados encontrados discordam dos encontrados por Mclea et al. (2011), que estudaram a inclusão de fontes de glicerinas nos níveis de 33,0; 67,0 e 100,0 g/kg para frangos de corte no período de 21 a 28 dias de idade. Assim como Mclea et al. (2011), outros autores também não observaram influência dos níveis de glicerina sobre o ganho de peso, como Cerrate et al. (2006) e Jung e Batal (2011), sendo que Cerrate et al. (2006) incluíram até 50,0 g/kg de glicerina bruta na dieta de frangos no período de 0 a 35 dias de idade; e Jung e Batal (2011) incluíram até 75,0 g/kg de glicerina nas rações de frangos de corte no período de 16 a 34 dias de idade.

O aumento linear no ganho de peso das aves com a inclusão da glicerina bruta de óleo de soja e os resultados contraditórios encontrados pelos autores supracitados pode ser explicado, em parte, pela diferença na idade das aves e na composição das glicerinas nestas pesquisas. As aves utilizadas nesta pesquisa foram avaliadas na fase final de criação, portanto, possuíam maior capacidade de aproveitamento nutricional que aves mais jovens, e provavelmente, foram capazes de melhor metabolizar o glicerol presente nas glicerinas que as aves de idade inferior. Em relação à composição das glicerinas utilizadas nos diferentes estudos, pode-se citar por exemplo, a glicerina utilizada por Mclea et al. (2011) que continha 523g de glicerol por quilo de glicerina bruta; e a glicerina bruta de óleo de soja utilizada no presente experimento continha 700 gramas de glicerol por quilo. Ou seja, maior capacidade de metabolização do glicerol e maior concentração deste componente energético podem justificar o aumento linear no ganho de peso das aves alimentadas com níveis crescentes da glicerina bruta de óleo de soja.

Não houve diferenças significativas no ganho de peso entre aves alimentadas com diferentes níveis e fontes de glicerina em relação ao

controle ( $P>0,05$ ). Tal resultado pode ser explicado pelo fato do consumo de ração não ter sido diferente, e também pelas rações serem isonutritivas.

Para a conversão alimentar, observou-se efeito quadrático ( $P<0,05$ ) dos níveis de glicerina (Tabela 3) para as aves no período de 33 a 42 dias de idade ( $Y=0,000049x^2 -0,0067x + 1,95$ ;  $R^2=0,88$ ). Sendo assim, a inclusão de 68,37 g/kg tanto da glicerina bruta de óleo de soja, quanto da glicerina semi-purificada permite melhor conversão alimentar para as aves na fase final de criação. A influência dos níveis sobre a conversão alimentar observada nesta pesquisa, contradiz os resultados encontrados por Cerrate et al. (2006), que compararam a inclusão de 25,0 e 50,0 g/kg de glicerina bruta e observaram que não houve diferença da conversão alimentar dos frangos de corte no período de 0 a 35 dias de idade. Simon, Bergner e Schwabe (1996), também encontraram resultados diferentes aos observados neste trabalho, em que os referidos autores incluíram até 250 g/kg de glicerol puro em dietas de frangos de corte e não verificaram diferença na conversão alimentar até 100 g/kg de inclusão.

Em relação ao controle, não houve diferença para a conversão alimentar ( $P>0,05$ ) podendo, portanto, incluir até 70,0 g/kg de ambas glicerinas sem prejudicar o desempenho. Tal resultado pode ser justificado pela não diferença observada para o consumo de ração e ganho de peso dos animais.

Para o rendimento de carcaça não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos níveis e fontes de glicerina, e também não houve interação (Tabela 4). O rendimento de carcaça das aves alimentadas com as diferentes rações não diferiu ( $P>0,05$ ) em relação ao controle (Tabela 4); corroborando com Cerrate et al. (2006), que incluíram 0,0; 25,0 e 50,0 g de glicerina por quilo de ração, e não observaram diferença no rendimento de carcaça de frangos de corte. Porém, estes mesmos autores, em outra pesquisa, incluíram 0,0; 50,0 e 100,0

g de glicerina por quilo de ração, e verificaram redução no rendimento de carcaça com a inclusão de 100,0 g/kg.

De acordo com este resultado, pode-se inferir que o glicerol presente nas glicerinas não influencia no rendimento de carcaça de frangos de corte, mesmo estando em concentrações diferentes nas glicerinas estudadas. Tal hipótese, pode ser justificada pelo consumo de ração igual observado nos diferentes tratamentos, e pelas rações estudadas terem sido isonutritivas.

Tabela 4. Rendimento de carcaça (%), Rendimento de coxa+sobrecoxa (%), Rendimento de peito (%) e Gordura abdominal (%) de aves alimentadas com rações contendo glicerinas em diferentes níveis no período de 33 a 42 dias de idade

Rendimento de carcaça (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	74,45	73,81	71,62	74,21	73,52
Semi-purificada	73,90	73,6	72,87	73,78	73,54
Probabilidade	P>0,05				
Tratamento controle	73,58				
Coefficiente de variação (%)	2,41				
Rendimento de coxa e sobrecoxa (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	28,39	28,38	28,53	28,08	28,35
Semi-purificada	28,74	28,84	29,22	28,44	28,81
Probabilidade	P>0,05				
Tratamento controle	29,16				
Coefficiente de variação (%)	3,61				
Rendimento de Peito (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>ns</sup>	37,75	38,54*	38,04	37,45	37,95

Semi-purificada <sup>Q</sup>	37,30	36,80	36,10	38,26*	37,12
Probabilidade	P<0,05				
Tratamento controle	36,61				
Coefficiente de variação (%)	2,39				
Gordura abdominal (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	1,63	1,45	1,39	1,51	1,50A
Semi-purificada	1,34	1,38	1,33	1,03	1,27B
Probabilidade	P<0,05				
Tratamento controle	1,26				
Coefficiente de variação (%)	23,14				

A,B diferem entre si pelo teste de Fisher; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>Q</sup> Efeito quadrático.

Não houve interação (P>0,05), nem efeito dos níveis e fontes de glicerina para o rendimento de coxa e sobrecoxa (Tabela 4). Estes resultados corroboram com os resultados encontrados por Cerrate et al. (2006), que não observaram influência dos níveis de glicerina sobre o rendimento de coxa e sobrecoxa. As aves que foram alimentadas com a ração controle tiveram o mesmo rendimento de coxa e sobrecoxa (P>0,05) que as aves que foram alimentadas com as demais rações experimentais (Tabela 4).

Houve interação significativa (P<0,05) entre níveis e fontes de glicerina para rendimento de peito (Tabela 4), sendo observado efeito quadrático para a glicerina semi-purificada ( $Y = 0,0022x^2 - 0,1775x + 39,895$ ;  $R^2 = 0,81$ ), obtendo-se o pior rendimento de peito com a inclusão de 40,34 g/kg desta glicerina. Em relação ao controle, as aves alimentadas com 35,0 g/kg de glicerina de soja e 70,0 g/kg de glicerina semi-purificada obtiveram rendimento de peito superior. Cerrate et al. (2006), observaram diferença no rendimento de peito ao comparar dietas isenta e com inclusão

de glicerina, concluindo que a presença deste co-produto nas rações proporciona maior rendimento de peito nos frangos. Porém, não é possível afirmar que a presença de glicerina nas rações de aves, sempre proporcionará maior rendimento de peito, visto que as aves que se alimentaram de dietas com diferentes níveis de ambas as glicerinas estudadas apresentaram rendimento de peito semelhante às aves alimentadas com a ração sem inclusão de glicerina.

O percentual de gordura abdominal foi influenciado somente pelas fontes de glicerinas avaliadas ( $P < 0,05$ ), sendo o menor percentual de gordura obtido com a inclusão de glicerina semi-purificada (Tabela 4). Podendo inferir que a concentração de glicerol não aumenta a lipogênese, visto que a glicerina com maior percentual de glicerol foi a fonte que proporcionou carcaça mais magra.

## **CONCLUSÃO**

A inclusão de 68,37 g/kg de ambas as glicerinas (bruta de soja e purificada) proporcionou os melhores resultados de desempenho das aves no período de 33 a 42 dias, dentro dos níveis avaliados. Pode-se, portanto, incluir 70,0g/kg de ambas as glicerinas sem prejudicar o desempenho e rendimento, desde que seja realizada a correção para o sódio.

## **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal - INCT-CA, pelo apoio financeiro, e à Granol Ind. Com. Exp. S/A pelo fornecimento da glicerina purificada.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL. Rio de Janeiro: ANP, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 12 dez. 2011.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerin from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

DOZIER, W. A. et al. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, p. 317-322, 2008.

JUNG, B.; BATAL, A. B. Nutritional and feeding value of crude glycerin for poultry. 2. Evaluation of feeding crude glycerin to broilers. **Journal Applied of Poultry Science Research**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 514-527, Dec. 2011.

LIMA, E. M. C. et al. The energy value of biodiesel glycerine products fed to broilers at different ages. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 5, n. 10, p. 1515-1520, Aug. 2012.

MCLEA, L. et al. The effect of glycerol inclusion on broiler performance and nutrient digestibility. **British Poultry Science**, London, v. 52, n. 3, p. 368-375, June 2011.

RIVALDI, J. R. et al. Glicerol de biodiesel. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.37, p. 44-51, 2007.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV/DZO, 2005.

SIMON, A.; BERGNER, H.; SCHWABE, M. Glycerol-feed ingredient for broiler chickens. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 49, p. 103-112, 1996.

SWITKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 615-619, Mar. 2009.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Sistema de análises estatísticas e genéticas**: versão 9.1. Viçosa: UFV, 2007.

## CAPÍTULO 5

### **ATIVIDADE DA GLUTAMATO DESIDROGENASE E TEOR DE PROTEÍNA NO PEITO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES GLICERINAS**

Artigo submetido à Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition

#### **RESUMO**

Dois experimentos foram conduzidos para avaliar os efeitos de diferentes fontes e níveis de glicerina na dieta sobre a atividade da glutamato desidrogenase hepática e o teor de proteína no peito de frangos de corte, nos períodos de 22 a 35 dias de idade (experimento I) e 33 a 42 dias de idade (experimento II). Em ambos os experimentos, o aumento do nível de inclusão da glicerina bruta mista (GBM) reduziu ( $P < 0,05$ ) linearmente a atividade da glutamato desidrogenase enquanto que para a glicerina de óleo de soja semi-purificada (GOSSP), a atividade desta enzima aumentou ( $P < 0,05$ ) linearmente em função do aumento do teor de glicerina na dieta. Além disso, não houve ( $P > 0,05$ ) efeito isolado do nível de inclusão de glicerina sobre a atividade da glutamato desidrogenase em ambas as fases avaliadas, contudo, no período de 33 a 42 dias de idade a GBM inibiu ( $P < 0,05$ ) a atividade desta enzima em até 34,43%. Na fase de 22 a 35 dias de idade, o maior teor ( $P < 0,05$ ) de deposição protéica no peito dos frangos de corte foi determinado quando a ração continha a GOSSP e, independente da fonte utilizada, houve ( $P < 0,05$ ) efeito quadrático dos níveis de glicerina na dieta sobre o teor percentual de proteína no peito das aves sendo a deposição máxima estimada quando a ração continha 55,08g de glicerina/kg de ração. Por outro lado, não houve ( $P > 0,05$ ) interação nem efeito isolado dos fatores avaliados para o teor de proteína no peito dos frangos de corte no período de 33 a 42 dias de idade e, para esta fase de criação, todas as dietas contendo glicerina proporcionaram teor de deposição protéica no peito semelhante ao determinado quando a dieta controle sem glicerina foi utilizada. Os resultados deste trabalho indicam que o aumento do nível de inclusão da

glicerina na dieta não reduz obrigatoriamente a atividade da enzima glutamato desidrogenase hepática e que a deposição protéica no peito de frangos de corte não pode ser estritamente correlacionada pela atividade desta enzima.

Palavras-chave: aves, biodiesel, glicerol

## **ABSTRACT**

Two experiments were conducted to evaluate the effect of different sources and levels of glycerin in the diet on the activity of hepatic glutamate dehydrogenase and the protein content in the breast of broilers in the period from 22 to 35 days of age (experiment I) and 33 to 43 days of age (experiment II). In both experiments, conducted separately to avoid residual effect of one phase on the other, increase in the level of inclusion of mixed crude glycerin (MCG) reduced the activity of glutamate dehydrogenase linearly ( $P < 0.05$ ). On the other hand, the use of increasing levels of semi-purified glycerin from soybean oil (SPGSO) in the diet increased the enzyme activity linearly ( $P < 0.05$ ). There was no ( $P > 0.05$ ) isolated effect of the level of inclusion of glycerin on the activity of glutamate dehydrogenase in either evaluated phases; however, in the period from 33 to 42 days of age, MCG inhibited ( $P < 0.05$ ) the activity of this enzyme up to 34.43%. In the phase from 22 to 35 days of age, the higher content ( $P < 0.05$ ) of protein deposition in the breast of broilers was determined when the diet contained SPGSO and, regardless of the source utilized, there was ( $P < 0.05$ ) quadratic effect of the levels of glycerin in the diet on the percentage of protein content in the breast of broilers; maximum deposition was estimated when the diet had 55.078g glycerin/kg of diet. There was no ( $P > 0.05$ ) interaction or isolated effects of the factors evaluated for the protein content in the breast of broilers in the period from 33 to 42 days of age and, for this rearing phase, all diets containing glycerin promoted similar content of protein deposition in the breast to that determined for birds which received the diet without glycerin. For both rearing phases, increase in the level of inclusion of glycerin in the diet does not necessarily reduce the activity of enzyme hepatic glutamate dehydrogenase, and the protein deposition in the breast of broilers may not be strictly correlated to the activity of this enzyme.

Keywords: poultry, biodiesel, enzyme, glycerol

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de biodiesel é crescente e, conseqüentemente, a produção de glicerina é cada vez maior por tratar-se de um co-produto deste importante biocombustível (MA; HANNA, 1999; VAN GERPEN, 2005). Todavia, esta glicerina precisa ser aproveitada de alguma forma e devido ao seu alto valor energético, seu uso na alimentação de frangos de corte tem sido considerado e avaliado (GIANFELICI et al., 2011; GUERRA et al., 2011; DOZIER et al., 2008; LAMMERS et al., 2008) porque o glicerol proveniente da glicerina utilizada na dieta pode ser aproveitado metabolicamente por diferentes rotas metabólicas como, por exemplo, ele pode ser convertido enzimaticamente à glicose via gliconeogênese ou ser oxidado para a produção de energia via glicólise e ciclo de Krebs (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009).

O biodiesel pode ser produzido a partir de diferentes fontes de óleos vegetais (provenientes do algodão, amendoim, babaçu, canola, dendê, girassol, mamona, soja, etc), gordura animal (sebo bovino, óleos de peixes, banha suína) e também a partir de óleos ou gorduras residuais (originários do processamento doméstico, comercial e industrial) (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL, 2012; GARCIA; TOOKUNI, 2006) o que influencia diretamente na composição química que a glicerina irá apresentar. Além disso, o processo de produção do biodiesel por si só também pode alterar o tipo de glicerina que será produzida e o uso de distintas glicerinas na alimentação avícola pode resultar em diferentes respostas do frango de corte. Por outro lado, Os níveis de inclusão da glicerina na dieta de frangos de corte também precisam ser avaliados para as diferentes fases de produção, a fim de estabelecer os teores que irão proporcionar os melhores resultados.

A glutamato desidrogenase (EC 1.4.1.2) é uma enzima que converte o glutamato em  $\alpha$ -cetoglutarato e vice-versa. Portanto, ela representa um importante elo entre o metabolismo do carbono e do nitrogênio

(LEHNINGER; NELSON; COX, 2005). Segundo Steele, Winkler, Altszuler (1971), o glicerol presente na dieta pode poupar aminoácidos gliconeogênicos por inibir a atividade de enzimas como a glutamato desidrogenase, podendo favorecer a deposição protéica nos tecidos musculares e quando o assunto é a deposição protéica no frango de corte é importante considerar que a carne do peito contribui com aproximadamente 30% da carne total presente na carcaça desta ave, ou ainda, que ela representa em média 50% da proteína total presente na carcaça comestível (SUMMERS; LEESON; SPRATT, 1988).

Portanto, dois experimentos independentes foram realizados para avaliar os efeitos de diferentes fontes e níveis de glicerina na dieta sobre a atividade da glutamato desidrogenase hepática e o teor de proteína no peito de frangos de corte, nos períodos de 22 a 35 e 33 a 42 dias de idade.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Dois experimentos foram conduzidos no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras para avaliar os efeitos de diferentes fontes e níveis de glicerina na dieta sobre a atividade da glutamato desidrogenase hepática e o teor de proteína no peito de frangos de corte, nos períodos de 22 a 35 dias de idade (experimento I) e 33 a 42 dias de idade (experimento II). Todos os procedimentos utilizados na condução dos experimentos foram aprovados pelo Comitê de Bioética da Universidade Federal de Lavras.

### *2.1 Procedimentos experimentais, aves e dietas*

No experimento I, 1144 pintos de corte machos da linhagem Cobb-500<sup>®</sup> foram adquiridos com um dia de idade e criados em galpão convencional para frangos de corte recebendo uma dieta basal formulada segundo Rostagno et al. (2005) até os 21 dias de idade. No experimento II, 1300 pintos machos da mesma linhagem foram criados do 1<sup>o</sup> até o 32<sup>o</sup> dia de idade recebendo dieta basal para atender as exigências nutricionais das aves

(ROSTAGNO et al., 2005). No início de cada fase experimental (22<sup>o</sup> ou 33<sup>o</sup> dia de idade), as aves foram pesadas individualmente, separadas por faixas de peso e alojadas em galpão de alvenaria de modo que as unidades experimentais (boxes de 3m<sup>2</sup> cobertos com maravalha) apresentassem o peso médio inicial dos frangos semelhante entre si. As aves tiveram acesso livre a ração e água, sendo disponibilizado em cada box um comedouro tubular e um bebedouro pendular.

O delineamento experimental do experimento I foi em blocos casualizados, e do experimento II foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (3 x 4) + 1, sendo três tipos de glicerinas suplementadas na dieta em quatro níveis de inclusão mais uma dieta controle sem glicerina, totalizando 13 tratamentos em quatro repetições de 22 aves (experimento I) ou 25 aves (experimento II) por unidade experimental. As seguintes glicerinas foram avaliadas: uma glicerina bruta oriunda de óleo de soja (GBOS), uma glicerina bruta mista oriunda de óleo de fritura e banha suína (GBM) e uma glicerina de óleo de soja semi-purificada (GOSSP), cujas composições químicas constam na Tabela 1.

Tabela 1 Composição química das glicerinas avaliadas<sup>a</sup>

Parâmetro	Glicerina bruta de óleo de soja	Glicerina bruta mista <sup>b</sup>	Glicerina de óleo de soja semi-purificada <sup>c</sup>
Umidade e voláteis (g/kg)	167,5	554,4	110,8
Umidade Karl Fischer (g/kg)	124,5	389,5	101,5
Glicerol (g/kg)	700,0	99,2	793,1
Energia bruta (kcal/kg)	3661,0	4122,0	3698,0
Proteína bruta (g/kg)	0,3	2,3	0,4
Metanol <sup>d</sup>	181,3	111,9	20,6
Sódio (g/kg)	23,8	15,1	21,6
Fósforo total (g/kg)	0,0	0,0	0,3
Potássio (g/kg)	0,6	0,4	0,9
pH em solução aquosa	6,05	9,85	5,72

<sup>a</sup>Análises químicas realizadas pelo CBO análises laboratorias, Campinas/São Paulo, Brasil.

<sup>b</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>c</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>d</sup>Em mg/L para as glicerinas de soja bruta e semi-purificada. Em g/kg para a glicerina mista.

Foram avaliados os níveis de inclusão de 17,5; 35,0; 52,5 e 70,0g de glicerina/kg de ração tanto no experimento I (Tabela 2) quanto no experimento II (Tabela 3). As dietas foram formuladas para atender as

exigências nutricionais dos frangos de corte, para cada fase de idade avaliada, de acordo com recomendações de Rostagno et al. (2005). Com o aumento do nível de glicerina na dieta, houve redução na inclusão de milho acompanhada de aumento nos níveis de farelo de soja e óleo para manter as dietas isocalóricas e isoprotéicas. A inclusão de sal nas dietas foi ajustada devido à elevada concentração de sódio nas glicerinas utilizadas. Além disso, o nível de cloro e sódio nas rações foi corrigido pela adição de cloreto de cálcio e bicarbonato de sódio a fim de manter o balanço eletrolítico semelhante entre as dietas experimentais. Para a formulação das rações, utilizou-se os valores médios de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn) previamente determinados por Lima et al. (2012) para cada glicerina avaliada, em matéria natural: 3.279kcal de EMAn/kg de glicerina bruta de óleo de soja, 3.228kcal de EMAn/kg de glicerina mista e 3.304kcal de EMAn/kg de glicerina de óleo de soja semi-purificada.

Aos 35 e 42 dias de idade (experimentos I e II, respectivamente), duas aves de cada repetição (totalizando 104 frangos de corte para cada período de idade avaliado) foram selecionadas e abatidas para a retirada do fígado e peito a fim de determinar a atividade da enzima glutamato desidrogenase hepática e teor de proteína bruta no peito. Para a seleção das aves, utilizou-se o critério de abater os frangos que apresentaram o peso individual mais próximo ao peso médio (peso médio  $\pm$  5,0% de variação no máximo) das aves do respectivo boxe.

## *2.2 Análises químicas*

### *2.2.1 Preparo do extrato hepático e determinação da atividade da glutamato desidrogenase*

Após o abate, o fígado das aves foi recolhido e imediatamente congelado em nitrogênio líquido. Para a extração da enzima glutamato desidrogenase (EC 1.4.1.2) 1,5g de fígado congelado foram macerados em gral de porcelana, na presença de nitrogênio líquido, com 3mL de tampão

Tris-HCl 0,05M e pH 7,6. Após completa maceração e homogeneização do tecido, a amostra foi centrifugada (15.000 x g por 20 minutos a 5°C) sendo o sobrenadante recolhido. A determinação da atividade enzimática no sobrenadante foi realizada utilizando-se um kit comercial (Abcam, Inc. Código: ab102527) que se baseia na ação da glutamato desidrogenase presente na amostra sobre o substrato glutamato com a formação de NADH em proporção

Tabela 2 Ingredientes e composição nutricional calculada das dietas (g/kg com base na matéria natural) no período de 22 to 35 dias de idade (experimento I)

Ingrediente	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina bruta mista <sup>a</sup>				Glicerina semi-purificada <sup>b</sup>			
		17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho	617,39	597,48	577,55	556,37	534,60	596,23	575,06	553,90	532,34	597,44	577,47	556,77	535,13
Farelo de soja	316,02	319,63	323,24	327,08	331,03	319,85	323,69	327,53	331,44	319,64	323,26	327,01	330,94
Óleo de soja	29,53	29,91	30,29	31,09	32,11	30,36	31,19	32,01	32,98	29,80	30,06	30,58	31,42
Glicerina	0,00	17,5	35,00	52,50	70,0	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Fosfato bicálcico	16,47	16,52	16,57	16,63	16,68	16,53	16,58	16,64	16,69	16,52	16,57	16,63	16,68
Calcário	8,36	8,32	8,28	7,61	6,63	8,32	8,28	8,24	7,99	8,32	8,28	7,87	6,98
Sal comum	2,24	2,25	2,26	1,57	0,53	2,25	2,27	2,28	2,07	2,25	2,26	1,86	0,92
DL-Metionina	2,23	2,25	2,28	2,31	2,33	2,25	2,28	2,31	2,34	2,25	2,28	2,30	2,33
L-Lisina HCl	1,75	1,68	1,62	1,55	1,48	1,68	1,61	1,54	1,47	1,68	1,62	1,55	1,48
L-Treonina	0,36	0,35	0,35	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	0,34

Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	0,89	2,22	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,53	1,73
Bicarbonato de sódio	3,61	2,06	0,51	0,00	0,00	2,63	1,64	0,65	0,00	2,20	0,80	0,00	0,00
Lasalocida	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Suplemento mineral <sup>c</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento vitamínico <sup>d</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de colina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bacitracina de zinco	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural)													
EM (Kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Proteína bruta	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27
Glicerol <sup>e</sup>	0,00	12,25	24,5	36,75	49,00	1,74	3,47	5,21	6,94	13,88	27,76	41,64	55,52

Cálcio	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24
Fósforo disponível	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11
Sódio	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50
Cloro	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Lisina	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73
Metionina + cistina	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30
Treonina	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70
BE (mEq/kg) <sup>f</sup>	230,5	231,0	231,6	232,1	232,7	231,2	231,8	232,5	233,2	231,2	231,8	232,5	233,2

<sup>a</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína. <sup>b</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A). <sup>c</sup>Suplementado por kg de dieta: Zinco, 55mg; Selênio, 0,18 mg; Iodo, 0,70 mg; Cobre, 10 mg ; Manganês, 78 mg; Ferro, 48 mg. <sup>e</sup>Suplementado por kg de dieta: ácido fólico, 0,48 mg; ácido pantotênico, 8,7 mg; biotina, 0,018 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 1,5 mg; niacina, 11,1 mg; vitamina A, 6000 IU; vitamina B1, 0,9 mg; vitamina E, 12,15 IU; vitamina B12, 8,1 µg; vitamina B2, 3,6 mg; vitamina B6, 1,8 mg; vitamina D3, 1.500 IU; vitamina K3, 1,44 mg. <sup>e</sup>Glicerol proveniente da suplementação de glicerina. <sup>f</sup>Balanco eletrolítico da dieta: calculado de acordo com a equação proposta por Mongin (1981), que correlaciona as concentrações calculadas dos íons de sódio, potássio e cloro ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ ). EM: energia metabolizável.

Tabela 3 Ingredientes e composição nutricional calculada das dietas (g/kg com base na matéria natural) no período de 33 to 42 dias de idade (experimento II)

Ingrediente	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina bruta mista <sup>a</sup>				Glicerina semi-purificada <sup>b</sup>			
		17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho	647,53	627,33	607,14	585,52	563,44	625,21	602,87	580,54	557,60	627,94	608,34	587,83	566,53
Farelo de soja	288,27	291,93	295,60	299,52	303,52	292,32	296,37	300,42	304,58	291,82	295,38	299,10	302,96
Óleo de soja	30,70	31,30	31,90	32,99	34,24	32,48	34,27	36,06	38,05	30,66	30,63	30,91	31,46
Glicerina	0,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Fosfato bicálcico	14,94	14,99	15,04	15,09	15,15	14,99	15,05	15,11	15,17	14,99	15,04	15,09	15,14
Calcário	7,92	7,88	7,84	7,07	6,09	7,87	7,83	7,78	7,44	7,88	7,84	7,33	6,44
Sal comum	2,07	2,08	2,10	1,29	0,25	2,08	2,10	2,11	1,79	2,08	2,09	1,58	0,64
DL-Metionina	2,02	2,05	2,07	2,10	2,13	2,05	2,08	2,11	2,14	2,05	2,07	2,10	2,13

L-Lisina HCl	1,85	1,79	1,72	1,65	1,58	1,78	1,71	1,64	1,56	1,79	1,73	1,66	1,59
L-Treonina	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34
Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	1,03	2,36	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,66	1,87
Bicarbonato de sódio	3,45	1,90	0,35	0,00	0,00	2,47	1,48	0,49	0,00	2,04	0,64	0,00	0,00
Suplemento mineral <sup>b</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento vitamínico <sup>c</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloreto de colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural)													
EM (Kcal/kg)	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150
Proteína bruta	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15

Glicerol <sup>c</sup>	0,00	12,25	24,5	36,75	49,00	1,74	3,47	5,21	6,94	13,88	27,76	41,64	55,52
Cálcio	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63
Fósforo disponível	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80
Sódio	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94
Cloro	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Lisina	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17
Metionina + cistina	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32
Treonina	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61
BE (mEq/kg) <sup>f</sup>	217,7	218,3	218,8	219,3	219,9	218,4	218,19	218,67	219,14	218,4	219,0	219,7	220,4

<sup>a</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína. <sup>b</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A). <sup>c</sup>Suplementado por kg da dieta: Zinco, 55mg; Selênio, 0,18 mg; Iodo, 0,70 mg; Cobre, 10 mg ; Manganês, 78 mg; Ferro, 48 mg. <sup>d</sup>Suplementado por kg da dieta: ácido fólico, 0,32 mg; ácido pantotênico, 5,8 mg; biotina, 0,012 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 1,0 mg; niacina, 7,4 mg; vitamina A, 4000 IU; vitamina B1, 0,6 mg; vitamina E, 8,1 IU; vitamina B12, 5,4 µg; vitamina B2, 2,4 mg; vitamina B6, 1,2 mg; vitamina D3, 1.000 IU; vitamina K3, 0,96 mg. <sup>e</sup>Glicerol proveniente da suplementação de glicerina. <sup>f</sup>Balanco eletrolítico da dieta: calculado de acordo com a equação proposta por Mongin (1981). EM: energia metabolizável.

estequiométrica o qual posteriormente reage com uma solução específica (reagente de cor) originando uma cor característica que pode ser quantificada colorimetricamente em comprimento de onda de 450nm. Inicialmente, realizou-se uma curva padrão de NADH pipetando concentrações crescentes dessa molécula (0; 2; 4; 6; 8 e 10nmol de NADH/50µL de tampão) na presença do reagente de cor seguido da leitura colorimétrica em 450nm. Com estes dados, uma curva padrão linear crescente foi gerada plotando-se os valores da absorbância no eixo y do gráfico e a concentração de NADH (nmol) no eixo x. O ensaio cinético foi realizado em microplacas de 96 poços sendo pipetados em cada poço: 50µL de extrato hepático previamente diluído (20x) + 82µL de tampão Tris-HCl 0,05M e pH 7,6 + 10 µL de glutamato 2M + 8 µL do reagente de cor. Para cada amostra, realizou-se também o branco amostra substituindo-se o substrato pelo tampão. Em seguida, a placa foi incubada à 37°C em um leitor de microplacas automático programado para realizar leituras de absorbância em  $\lambda=450\text{nm}$  a cada um minuto de reação durante um período máximo de 10 minutos. Posteriormente, os dados do ensaio enzimático foram utilizados para gerar uma curva linear crescente sendo os valores da absorbância plotados no eixo y do gráfico e o tempo de reação (em minutos) no eixo x. O cálculo da atividade da glutamato desidrogenase foi feito pelo uso da seguinte equação:

Atividade volumétrica (nmol de NADH/min/mL ou U/mL) =

$$\frac{(IRA - IRBA) \div IRCP}{V \times D}$$

IRA = inclinação da reta resultante do ensaio cinético com a amostra (absorbância/minuto)

IRBA = inclinação da reta do branco amostra (absorbância/minuto)

IRCP = inclinação da reta da curva padrão (absorbância/nmol de NADH)

V = volume de amostra pipetado em mL (0,05mL)

D = diluição da amostra (20 vezes)

O teor de proteína nas amostras (mg de proteína/mL de extrato hepático) foi dosado segundo Bradford (1976) usando a albumina sérica bovina como padrão a fim de permitir o cálculo da atividade específica da glutamato desidrogenase conforme descrito a seguir:

Atividade específica (U/mg de proteína) = atividade volumétrica ÷ teor de proteína na amostra

Portanto, a atividade da glutamato desidrogenase foi expressa em U, sendo que U é a quantidade de enzima que gera 1nmol de NADH por 1 minuto de reação em uma solução de glutamato 2M; pH = 7,6 e 37°C.

#### *2.2.2 Determinação do teor de proteína bruta no peito*

Após o abate das aves, o peito foi recolhido e dele foi retirado uma alíquota de 100 gramas que foram liofilizadas até peso constante. Em seguida o teor de proteína bruta no peito foi determinado de acordo com o método 988.05 (Nx6,25) da AOAC, sendo os resultados expressos em g de proteína bruta/100g de matéria seca. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1990).

#### *2.3 Análise estatística*

Cada período de idade (experimento I e II) foi analisado separadamente. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o General Linear Model do software estatístico SAS Institute (2004) e quando significativa, a ração controle foi comparada as demais rações experimentais pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. As fontes de glicerina foram comparadas entre si pelo teste de comparação de médias de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade. Modelos de regressão polinomial ( $P < 0,05$ ) foram utilizados para avaliar o efeito da suplementação

crescente de glicerina sobre a atividade da glutamato desidrogenase e teor de proteína bruta no peito.

### 3 RESULTADOS

No período de 22 a 35 dias de idade (experimento I), houve interação ( $P < 0,05$ ) entre a fonte e o nível de inclusão de glicerina na dieta para a atividade enzimática da glutamato desidrogenase hepática (Tabela 4). O aumento do nível de inclusão da glicerina bruta mista (GBM) reduziu linearmente ( $y = -0,1235x + 16,880$ ;  $R^2 = 0,90$ ) a atividade da enzima em até 47,30% enquanto que para a glicerina de óleo de soja semi-purificada (GOSSP), a atividade da glutamato desidrogenase aumentou linearmente ( $y = 0,0970x + 9,475$ ;  $R^2 = 0,97$ ) em função do aumento da glicerina na dieta sendo observado um aumento de até 42,50% na atividade desta enzima. Entretanto, o nível de inclusão da glicerina bruta de óleo de soja (GBOS) não influenciou a atividade da glutamato desidrogenase. Além disso, no nível de inclusão de 70,0g de glicerina/kg de dieta, o uso da GBOS e da GOSSP proporcionou a maior atividade da glutamato desidrogenase enquanto que com a utilização da GBM observou-se a menor atividade enzimática. Por outro lado, não houve ( $P > 0,05$ ) efeito isolado da fonte e nível de inclusão de glicerina sobre a atividade da enzima avaliada.

Não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre a fonte e o nível de glicerina na dieta para o teor de proteína no peito dos frangos de corte, no período de 22 a 35 dias de idade (experimento I) (Tabela 4). Todavia, houve ( $P < 0,05$ ) efeito isolado da fonte e nível de suplementação da glicerina na dieta para este parâmetro. O maior teor médio de deposição protéica no peito (70,3g/100g de matéria seca) foi determinado quando a ração continha a GOSSP enquanto que o menor teor protéico (66,3g/100g de matéria seca) foi observado para as demais glicerinias avaliadas (GBOS e GBM). Por outro lado, independente da fonte utilizada, houve efeito quadrático dos níveis de glicerina na dieta sobre o teor percentual de proteína no peito dos

Tabela 4 Atividade da glutamato desidrogenase e teor de proteína no peito de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de glicerina, no período de 22 a 35 dias de idade (Experimento I)

Fonte de glicerina	Atividade da glutamato desidrogenase (U/mg de proteína)					Proteína bruta no peito (g/100g de matéria seca)				
	Nível de inclusão de glicerina (g/kg)					Nível de inclusão de glicerina (g/kg)				
	17,5	35,0	52,5	70,0	Média	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Glicerina bruta de óleo de soja	12,81	11,90	12,00	11,96 <sup>a</sup>	12,17	64,3	67,6	67,8	66,6	66,6b
Glicerina mista <sup>1,2</sup>	15,18	11,40	11,33	8,00b	11,48	61,2	66,5	69,3	69,0	66,5b
Glicerina semi-purificada <sup>3,4</sup>	11,27	12,47	15,07	16,06 <sup>a</sup>	13,72	68,3	69,8	72,4 <sup>y</sup>	70,9 <sup>y</sup>	70,3a
Média <sup>5</sup>	13,09	11,92	12,80	12,01		64,6	68,0	69,8	68,8	
Dieta controle					10,49					57,7
Coefficiente de variação (%)								6,85		
P-value										

FG x NIG	P<0,05	P>0,05
FG	P>0,05	P<0,05
NIG	P>0,05	P<0,05

FG: fonte de glicerina, NIG: nível de inclusão de glicerina.

Médias com letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Student-Newman-Keuls.

<sup>1</sup>Glicerina mista oriunda de óleo de fritura e banha suína. <sup>2</sup>Efeito linear do nível de inclusão da glicerina mista sobre a atividade da enzima glutamato desidrogenase ( $y = -0,1235x + 16,880$ ;  $R^2 = 0,90$ ).

<sup>3</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A). <sup>4</sup>Efeito linear do nível de inclusão da glicerina semi-purificada sobre a atividade da enzima glutamato desidrogenase ( $y = 0,0970x + 9,475$ ;  $R^2 = 0,97$ ).

<sup>5</sup>Efeito quadrático do nível de inclusão de glicerina sobre o teor de proteína no peito ( $y = -0,0036x^2 + 0,3966x + 58,7$ ;  $R^2 = 0,99$ ).

<sup>y</sup>Difere do controle pelo teste de Dunnet (P<0,05).

frangos ( $y = -0,0036x^2 + 0,3966x + 58,7$ ;  $R^2 = 0,99$ ), sendo a deposição protéica máxima de 69,62 estimada quando a ração continha 55,08g de glicerina/kg de ração. O uso de 52,5 e 70,0g de GOSSP/kg de dieta promoveu maior ( $P < 0,05$ ) deposição percentual de proteína no peito dos frangos quando comparado ao teor determinado nas aves que receberam a dieta controle sem glicerina.

No período de 33 a 42 dias de idade (experimento II), houve interação ( $P < 0,05$ ) entre a fonte e o nível de inclusão de glicerina na dieta para a atividade enzimática da glutamato desidrogenase hepática (Tabela 5). O aumento do nível de inclusão da GBM reduziu linearmente ( $y = -0,0733x + 11,945$ ;  $R^2 = 0,82$ ) a atividade da enzima em até 34,74% enquanto que para a GOSSP, a atividade da glutamato desidrogenase aumentou linearmente ( $y = 0,1223x + 7,980$ ;  $R^2 = 0,98$ ) em função do aumento de glicerina na dieta sendo observado um aumento de até 59,15% na atividade desta enzima. Entretanto, o nível de inclusão da GBOS não influenciou a atividade da glutamato desidrogenase. Além disso, nos níveis de inclusão de 52,5 e 70,0g de glicerina/kg de dieta, o uso da GOSSP proporcionou a maior atividade da glutamato desidrogenase e o uso da GBM a menor. Não houve ( $P > 0,05$ ) efeito isolado do nível de inclusão de glicerina sobre a atividade da glutamato desidrogenase, contudo, houve ( $P < 0,05$ ) efeito isolado da fonte de glicerina sendo que, de modo geral, com o uso da GBM a atividade da enzima foi aproximadamente 34,43% menor.

A atividade da glutamato desidrogenase no fígado das aves que alimentaram-se com diferentes níveis e fontes de glicerina não diferenciaram-se em relação a atividade observada no fígado das aves que consumiram a dieta controle em ambos os experimentos (I e II).

Não houve ( $P > 0,05$ ) interação nem efeito isolado entre os fatores para o teor de proteína determinado no peito dos frangos de corte no período de 33 a 42 dias de idade (experimento II), sendo observada uma deposição protéica média de 81,55g/100g de matéria seca (Tabela 5). Todas as dietas contendo

glicerina proporcionaram teor de deposição protéica no peito semelhante ao determinado quando a dieta controle sem glicerina foi utilizada.

#### **4 DISCUSSÃO**

No período de 22 a 35 dias de idade (experimento I), verificou-se que o aumento do nível de inclusão da glicerina na dieta (e conseqüentemente aumento na concentração de glicerol) não reduz obrigatoriamente a atividade da enzima glutamato desidrogenase hepática contrariando a hipótese inicial deste trabalho a qual foi estabelecida com base no relatado por Steele, Winkler e Altszuler (1971) que sugeriram que o glicerol presente na dieta poderia poupar aminoácidos gliconeogênicos por meio da redução da atividade desta enzima favorecendo, conseqüentemente, a deposição protéica nos tecidos musculares do animal. Para a glicerina bruta mista (GBM) este efeito de inibição enzimática pelo aumento do nível de inclusão da glicerina na dieta foi observado, entretanto, para a glicerina de óleo de soja semi-purificada (GOSSP) isso não ocorreu ao contrário do esperado, já que essa glicerina apresentou a maior concentração percentual de glicerol em sua composição. Todavia, é importante considerar que a glutamato desidrogenase é uma enzima que converte o glutamato em  $\alpha$ -cetogluturato e vice-versa, representando um importante elo entre o metabolismo do carbono e do nitrogênio (LEHNINGER; NELSON; COX, 2005). Isso significa que ela atua tanto na degradação quanto na síntese de aminoácidos, sendo o sentido da reação dependente da condição fisiológica do animal num determinado momento (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009).

Tabela 5 Atividade da glutamato desidrogenase e teor de proteína no peito de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de glicerina, no período de 33 a 42 dias de idade (Experimento II)

Fonte de glicerina	Atividade da glutamato desidrogenase (U/mg de proteína)					Proteína bruta no peito (g/100g de matéria seca)				
	Nível de inclusão de glicerina (g/kg)					Nível de inclusão de glicerina (g/kg)				
	17,5	35,0	52,5	70,0	Média	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Glicerina bruta de óleo de soja	11,66	11,56	11,34ab	11,45b	11,50 <sup>a</sup>	81,45	81,82	82,13	82,22	81,90
Glicerina bruta mista <sup>1,2</sup>	11,37	8,57	7,60b	7,42c	8,74b	79,69	80,22	80,63	81,66	80,55
Glicerina semi-purificada <sup>3,4</sup>	10,38	11,72	14,71a	16,52 <sup>a</sup>	13,33 <sup>a</sup>	80,59	81,46	82,40	84,35	82,20
Média	11,14	10,62	11,22	11,80		80,57	81,17	81,72	82,74	
Dieta controle					11,76					82,66
Coefficiente de variação (%)			11,99					3,76		
P-value										

FG x NIG	P<0,05	P>0,05
FG	P<0,05	P>0,05
NIG	P>0,05	P>0,05

FG: fonte de glicerina, NIG: nível de inclusão de glicerina.

Médias com letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Student-Newman-Keuls.

<sup>1</sup>Glicerina mista oriunda de óleo de fritura e banha suína. <sup>2</sup>Efeito linear do nível de inclusão da glicerina mista sobre a atividade da enzima glutamato desidrogenase ( $y = -0,0733x + 11,945$ ;  $R^2 = 0,82$ ).

<sup>3</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A). <sup>4</sup>Efeito linear do nível de inclusão da glicerina semi-purificada sobre a atividade da enzima glutamato desidrogenase ( $y = 0,1223x + 7,980$ ;  $R^2 = 0,98$ ).

Os efeitos contrários do nível de glicerina na dieta sobre a atividade da glutamato desidrogenase observados neste trabalho podem estar relacionados ao teor de glicerol nas dietas. Quando se utilizou a GOSSP, as dietas continham teores de glicerol mais altos que os calculados para a dieta com GBM (entre 13,88 a 55,52g de glicerol/kg da dieta suplementada com a GOSSP e entre 1,74 a 6,94g de glicerol/kg da dieta suplementada com a GBM). Portanto, no caso da GBM, como o teor de glicerol percentual nessa glicerina era menor, a maior parte do glicerol deste ingrediente foi utilizada metabolicamente para a produção de energia via glicólise e ciclo de Krebs inibindo a atividade da glutamato desidrogenase a fim de reduzir a degradação de aminoácidos gliconeogênicos a qual não precisaria estar elevada em função da dieta. Já na ração com a GOSSP, o glicerol pode ter sido convertido em um intermediário da via glicolítica sendo convertido à piruvato que, por sua vez pode ter sido utilizado em grande parte para a síntese de  $\alpha$ -cetogluturato por meio de várias reações bioquímicas seqüenciais. Como uma das possibilidades de uso metabólico do  $\alpha$ -cetogluturato, ele pode ter sido usado como substrato pela glutamato desidrogenase para a síntese de aminoácidos e havendo aumento na concentração celular do  $\alpha$ -cetogluturato devido ao alto teor de glicerol na dieta houve uma regulação positiva (*up regulation*) na atividade catalítica da glutamato desidrogenase. Entretanto, neste trabalho foi verificado que a atividade da glutamato desidrogenase não é apenas regulada pelo nível de glicerol na dieta, mas também pelo processamento da glicerina durante sua produção uma vez que, diferentemente da GOSSP, o nível de inclusão da GBO não influenciou a atividade desta enzima. Embora o processamento da glicerina (semi-purificação) para a produção da GOSSP não seja bem descrito na literatura por se tratar de um produto comercial, é provável que haja uma melhora não só quantitativa, mas também qualitativa no glicerol desta glicerina o que influenciou diretamente na atividade da glutamato desidrogenase.

Além disso, no nível de inclusão de 70,0g de glicerina/kg de dieta, o uso da GBOS e GOSSP proporcionou maior atividade da glutamato desidrogenase enquanto que com o uso da GBM observou-se menor atividade enzimática, com redução de até 50% demonstrando o efeito isolado do glicerol da dieta em poupar a degradação de aminoácidos gliconeogênicos.

Ainda no período de 22 a 35 dias de idade (experimento I), o uso da GOSSP proporcionou aproximadamente 3,7 pontos percentuais a mais de deposição de proteína no peito do que o observado para as duas outras glicerininas o que pode ser justificado pela maior qualidade desta glicerina e maior teor de glicerol presente na GOSSP devido ao seu processamento. Por outro lado, independente da fonte utilizada, houve efeito quadrático dos níveis de glicerina na dieta sobre o teor percentual de proteína no peito dos frangos, entretanto, a deposição protéica não foi estritamente correlacionada à atividade da glutamato desidrogenase.

O uso de 52,5 e 70,0g de GOSSP/kg de dieta promoveu maior ( $P < 0,05$ ) deposição percentual de proteína no peito dos frangos quando comparado ao teor determinado nas aves que receberam a dieta controle sem glicerina, semelhante ao relatado por Cerrate et al. (2006) que verificaram que o rendimento de peito foi maior nas aves alimentadas com dietas contendo 25 ou 50g de glicerina/kg de dieta quando comparado ao determinado nas aves que receberam dieta controle sem glicerina. Segundo Steele, Winkler e Altszuler (1971), o glicerol presente na dieta pode poupar aminoácidos gliconeogênicos por meio da redução da atividade da enzima glutamato desidrogenase favorecendo, conseqüentemente, a deposição protéica nos tecidos musculares. Todavia, de acordo com Cryer e Bartley (1973) o efeito poupador dos aminoácidos gliconeogênicos também pode estar relacionado à inibição de outra enzima chave da gliconeogênese: a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (EC 4.1.1.32) que catalisa a conversão de oxaloacetato + GTP em fosfoenolpiruvato + GDP + CO<sub>2</sub> (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009). Portanto, para se obter mais avanços

científicos sobre a relação entre a fonte e nível de glicerina suplementada na dieta e o teor de deposição protéica no peito de frangos de corte, a atividade da enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase precisa ser determinada em experimentos futuros.

No período de 33 a 42 dias de idade (experimento II), a atividade da glutamato desidrogenase reduziu linearmente com o aumento da inclusão da GBM na dieta e aumentou linearmente com o aumento da inclusão da GOSSP na dieta semelhante ao observado na fase de criação de 22 a 35 dias de idade (experimento I) e devido às mesmas considerações anteriormente detalhadas. Todavia, na última fase de criação, a fonte de glicerina afetou a atividade da glutamato desidrogenase sendo que esta foi menor quando a dieta foi suplementada com a GBM provavelmente devido ao menor teor percentual de glicerol nesta glicerina.

As diferentes fontes e níveis de inclusão de glicerina avaliados não influenciaram o teor de proteína determinado no peito dos frangos de corte no período de 33 a 42 dias de idade (experimento II), corroborando com os resultados de Cerrate et al. (2006) que verificaram que o rendimento do peito (g de peito/100g de carcaça) de frangos de corte aos 42 dias de idade não foi influenciado pelo nível de glicerina na dieta (0; 50 e 100g de glicerina/kg de ração). Além disso, todas as dietas contendo glicerina proporcionaram deposição protéica no peito semelhante ao determinado quando a dieta controle sem glicerina foi utilizada, sendo observada uma deposição protéica média de 81,55g/100g de matéria seca.

De modo geral, os valores de atividade da glutamato desidrogenase determinados nas aves do tratamento controle em ambos os experimentos deste trabalho foram menores do que o relatado por Ribeiro, Moraes e Fonseca (1995) (143,7U/mg de proteína). Entretanto, Ribeiro, Moraes e Fonseca (1995) avaliaram diferentes níveis de inclusão de glutamina, alanina e prolina na dieta o que pode explicar o maior valor de atividade enzimática determinado por eles, pois os aminoácidos avaliados foram convertidos à (glutamato) que por sua vez teve sua concentração aumentada no fígado

requerendo uma maior atividade da enzima glutamato desidrogenase a fim de atender toda a demanda existente à transaminação ou desaminação oxidativa ou seja, à degradação do glutamato à  $\alpha$ -cetoglutarato e  $\text{NH}_4^+$ .

## 5 CONCLUSÃO

O aumento do nível de inclusão da glicerina na dieta não reduz obrigatoriamente a atividade da enzima glutamato desidrogenase hepática e, além disso, a deposição protéica no peito de frangos de corte não pode ser estritamente correlacionada à atividade desta enzima.

Para a fase de criação de 22 a 35 dias de idade, a inclusão de 55,08g de glicerina/kg de dieta promove maior deposição de proteína no peito dos frangos de corte, todavia, para a fase de criação de 33 a 42 dias de idade este parâmetro não é influenciado pelo nível de glicerina na dieta.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT-CA) pelo apoio financeiro e à Granol Ind. Exp S/A pela disponibilização da glicerina de óleo de soja semi-purificada.

## 6 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL. Rio de Janeiro: ANP, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 14 abr. 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed. Arlington: AOAC, 1990.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, n. 72, p. 248-254, 1976.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerin from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Biochemistry: lippincott's illustrated reviews**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

CRYER, A.; BARTLEY, W. Studies of the adaptation of rats to a diet high in glycerol. **International Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 4, n. 21, p. 293-308, 1973.

DOZIER, W. A. et al. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, p. 317-322, 2008.

GARCIA, A. J. M.; TOOKUNI, J. P. M. Biodiesel de gordura animal. **Biodieselbr.com**, São Paulo, jul. 2006. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/estudos/biodiesel/biodiesel-sebo-gordura-animal.htm>>. Acesso em: 14 abr. 2012.

GIANFELICI, M. F. et al. Determination of apparent metabolizable energy of crude glycerin in broilers chickens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 13, n. 4, p. 255-258, out./dec. 2011.

GUERRA, R. L. H. Crude glycerine mixture in diets of broiler chickens (1 to 42 days). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v 12, n. 4, p. 1038-1050, out./dez. 2011.

LAMMERS, P. J. et al. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. **Poultry Science**, Mississippi, n. 87, p. 104-107, 2008.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 4. ed. New York: W.H. Freeman, 2005.

LIMA, E. M. C. et al. The energy value of biodiesel glycerine products fed to broilers at different ages. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 5, n. 10, p. 1515-1520, Aug. 2012.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 70, n. 1, p. 1-15, Feb. 1999.

MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: application in poultry. **The Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 40, n. 3, p. 285-294, Sept. 1981.

RIBEIRO, M.; MORAES, G. H. K.; FONSECA, J. B. Efeitos de ácido L-glutâmico, L-alanina e L-prolina da dieta em pintos de corte: II-glutamato desidrogenase (GDH) hepática, aminoácidos e ácido úrico séricos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.24, n.5, p.778-787, 1995.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV/DZO, 2005.

SAS INSTITUTE. **User's guide**: version 9.00. 4. ed. Rockville: SAS, 2004.

STEELE, R.; WINKLER, B.; ALTSZULER, N. Inhibition by infusion glycerol of gluconeogenesis from other precursors. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 221, n. 3, p. 883-888, 1971.

SUMMERS, J. D.; LEESON, S.; SPRATT, D. Yield and composition of edible meat from male broilers as influenced by dietary protein level and amino acid supplementation. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 68, p. 241-248, 1988.

VAN GERPEN, J. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam, v. 86, p. 1097-1107, 2005.

## **CAPÍTULO 6**

### **GLICEROL PLASMÁTICO E ATIVIDADE DA GLICEROL QUINASE HEPÁTICA EM FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA**

Artigo submetido à *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*

#### **RESUMO**

Dois experimentos foram conduzidos para avaliar os efeitos de diferentes fontes e níveis de glicerina na dieta sobre o teor de glicerol plasmático e a atividade da enzima glicerol quinase no fígado de frangos de corte, nos períodos de 22 a 35 dias de idade (experimento I) e 33 a 42 dias de idade (experimento II). Em ambos os experimentos, conduzidos isoladamente para evitar efeito residual de uma fase sobre outra, o maior ( $P < 0,05$ ) teor de glicerol no plasma foi determinado nas aves alimentadas com a glicerina bruta de óleo de soja (GBOS) e, independente da fonte de glicerina, o aumento do nível de inclusão deste ingrediente na dieta aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ) a concentração plasmática de glicerol. No período de 22 a 35 dias de idade, todas as dietas experimentais contendo glicerina resultaram em teor de glicerol livre no plasma superior ( $P < 0,05$ ) ao determinado nas aves alimentadas com a dieta controle sem glicerina, entretanto, no período de 33 a 42 dias de idade, apenas a dieta contendo a GBOS no nível de inclusão de 17,5g/kg e as dietas formuladas com qualquer uma das três glicerinavas avaliadas nos níveis de inclusão de 35; 52,5 e 70g de glicerina/kg de dietas proporcionaram maior teor de glicerol no plasma do que o observado para os frangos do tratamento controle. A fonte de glicerina influenciou a atividade da glicerol quinase hepática apenas no período de

criação de 33 a 42 dias de idade sendo que o uso da GBOS na dieta aumentou a atividade dessa enzima. Para ambos os experimentos, a atividade da glicerol quinase aumentou com o aumento da inclusão de glicerina na dieta. Com base na ausência de saturação na atividade da glicerol quinase hepática, conclui-se que, para as três fontes de glicerinias avaliadas e para os dois períodos de criação avaliados, os frangos de corte podem aproveitar metabolicamente o glicerol (à nível de fosforilação do glicerol em glicerol-3-fosfato) presente na glicerina quando esta for suplementada na dieta em até 70g de glicerina/kg de ração. Todavia, é importante considerar que a avaliação do desempenho dos frangos de corte em estudos posteriores é importante para confirmar o nível máximo de inclusão de glicerina na dieta.

*Palavras-chave:* aves, biodiesel, enzimas

### **ABSTRACT**

Two independent experiments were conducted to evaluate the effects of different sources and levels of glycerin on the diet over the level of glycerol in the plasma and the activity of the enzyme glycerol kinase on the liver of broiler chickens, in the period of 22 to 35 days old (experiment I) and 33 to 42 days old (experiment II). The experimental design of both experiments was completely randomized in factorial treatment (3 x 4) + 1, where three sources of glycerin (crude glycerin from soybean oil – CGSO, mixed crude glycerin from frying oil and swine lard – MCG, and a semi-purified glycerin from soybean oil – SPGSO), and four levels of inclusion (17.5; 35.0; 52.5 and 70.0g/kg of diet) plus a control diet without glycerin were evaluated. The greatest ( $P<0.05$ ) level of glycerol in the plasma was verified in birds fed diet containing crude glycerin from soybean and, independent of the source of glycerin, the increase in the level of inclusion of this ingredient in the diet linearly increased ( $P<0.05$ ) the plasmatic concentration of glycerol. In the period of 22 to 35 days old, all the experimental diets containing glycerin resulted in free glycerol level in the plasma ( $P<0.05$ ) above that determined in the birds fed control diet without glycerin. However, in the period of 33 to 42 days old, only the diet containing the CGSO in the inclusion level of 17.5g/kg and the diets formulated with any of the three glycerins evaluated in the levels of inclusions of 35; 52,5 and 70g of glycerin/kg of diets provided a higher glycerol level in the plasma than that observed for the broilers in the control treatment. The source of glycerin influenced the activity of hepatic glycerol kinase only in the rearing period of 33 to 42 days old where the use of the CGSO in the diet increased the activity of this enzyme. For both experiments, the activity of the glycerol kinase increased with the inclusion of the glycerin in the diet. In conclusion, based on the absence of saturation in the activity of the hepatic glycerol kinase, for the three sources of evaluated glycerin and for both rearing periods evaluated, the broiler chickens can metabolically make use of the

glycerol (at the level of phosphorylation of the glycerol to glycerol-3-phosphate) present in the glycerin when this is supplemented in the diet in up to 70g of glycerin/kg of diet. However, it is important to consider that the evaluation of the performance of the broiler chickens in further studies is important to confirm the maximum level of glycerin inclusion in the diet.

Keywords: biodiesel, enzyme, poultry.

## 1 INTRODUÇÃO

A glicerina proveniente da produção do biodiesel tem sido avaliada na alimentação de frangos de corte devido à crescente oferta deste ingrediente no mercado e pelo alto valor energético que apresenta (DOZIER et al., 2011; GUERRA et al., 2011; LIMA et al., 2012; MCLEA et al., 2011). Além disso, de acordo com Cerrate et al. (2006) a inclusão de glicerol na dieta de frangos pode reduzir a taxa de gliconeogênese de alguns aminoácidos melhorando a retenção do nitrogênio.

Todavia, a matéria-prima e os processos utilizados para a produção do biodiesel influenciam diretamente na composição e qualidade da glicerina e é importante considerar que distintas glicerinas podem resultar em diferentes respostas do animal. Por outro lado, os níveis de inclusão da glicerina na dieta de frangos de corte também precisam ser avaliados para as diferentes fases de produção com a finalidade de estabelecer teores que assegurem o desempenho e a qualidade de carne das aves (ALVARENGA et al., 2012), pois segundo Yang, Hanna e Sun (2012) o excesso de glicerol na dieta pode afetar o metabolismo fisiológico normal do animal.

O glicerol ou propano-1,2,3-triol é o principal constituinte da glicerina e desempenha a importante função biológica de participar da estrutura de triglicerídeos e fosfolipídios (MIN et al., 2010). É um composto orgânico pertencente à função álcool, líquido à temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado (INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY, 1993). Embora alguns estudos sobre o desempenho e o valor energético da glicerina para frangos de corte tenham sido avaliados recentemente, até o momento ainda não há relato científico sobre a determinação do teor de glicerol livre no sangue de frangos alimentados com dietas contendo glicerina, o que poderia contribuir para entender melhor o aproveitamento deste ingrediente pela ave.

Além disso, compreender bioquimicamente o metabolismo do glicerol nos frangos de corte certamente permitirá ao nutricionista formular

de modo mais adequado dietas balanceadas contendo glicerina como um dos ingredientes energéticos da ração e uma das enzimas que precisa ser avaliada é a glicerol quinase (EC 2.7.1.30; ATP: glicerol 3- fosfotransferase) que catalisa a transferência do grupo fosfato terminal do ATP para a molécula de glicerol resultando nos produtos glicerol-3-fosfato e ADP (FOSSATI; PRENCIPE, 1982). Esta é uma enzima chave no metabolismo do glicerol, pois caso ele não seja fosforilado pela glicerol quinase ele será excretado pela ave representando um duplo prejuízo nutricional, pois além de não ter sido oxidado para gerar energia o organismo ainda terá que gastar energia para promover sua excreção. Deste modo, o aproveitamento da glicerina da dieta pode estar diretamente relacionado à atividade da glicerol quinase.

Portanto, dois experimentos independentes foram conduzidos com frangos de corte, nos períodos de 22 a 35 e de 33 a 42 dias de idade, para avaliar os efeitos de diferentes fontes e níveis de glicerina na dieta sobre o teor de glicerol plasmático e a atividade da enzima glicerol quinase hepática.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Dois experimentos foram conduzidos com frangos de corte no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras para avaliar os efeitos de diferentes fontes e níveis de glicerina na dieta sobre o teor de glicerol no plasma e a atividade da enzima glicerol quinase hepática. Os experimentos foram conduzidos isoladamente para evitar efeito residual de uma fase sobre a outra, sendo avaliados frangos de corte nos períodos de 22 a 35 dias de idade (experimento I) e de 33 a 42 dias de idade (experimento II). Todos os procedimentos utilizados na condução dos experimentos foram aprovados pelo Comitê de Bioética da Universidade Federal de Lavras.

### *2.1 Procedimentos experimentais, aves e dietas*

No experimento I, um total de 260 pintos de corte machos da

linhagem Cobb-500<sup>®</sup> foram adquiridos com um dia de idade e criados em galpão convencional para frangos de corte recebendo dieta basal formulada segundo Rostagno et al. (2005) até os 21 dias de idade. No experimento II, 195 pintos machos da mesma linhagem foram criados do 1<sup>o</sup> até o 32<sup>o</sup> dia de idade recebendo dieta basal para atender as exigências nutricionais das aves (ROSTAGNO et al., 2005). No início de cada fase experimental (22<sup>o</sup> ou 33<sup>o</sup> dia de idade), as aves foram pesadas individualmente, separadas por faixas de peso e alojadas em gaiolas metabólicas de modo que as unidades experimentais (gaiolas de arame galvanizado com dimensões de 50 x 50 x 50cm) apresentassem o peso médio inicial dos frangos semelhante entre si. As aves tiveram livre acesso à ração e água, sendo disponibilizado em cada gaiola um comedouro e um bebedouro do tipo calha.

O delineamento experimental de ambos os experimentos foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (3 x 4) + 1, sendo três tipos de glicerinas suplementadas na dieta em quatro níveis de inclusão mais uma dieta controle sem glicerina, totalizando 13 tratamentos em cinco repetições de quatro aves (experimento I) ou três aves (experimento II) por unidade experimental. Foram avaliadas três fontes de glicerina, sendo uma glicerina bruta oriunda de óleo de soja (GBOS), uma glicerina bruta mista oriunda de óleo de fritura e banha suína (GBM) e uma glicerina de óleo de soja semi-purificada (GOSSP), cujas composições químicas constam na Tabela 1.

Tabela 1 Composição química das glicerinas avaliadas<sup>a</sup>

Parâmetro	Glicerina bruta de óleo de soja	Glicerina bruta mista <sup>b</sup>	Glicerina de óleo de soja semi-purificada <sup>c</sup>
Umidade e voláteis (g/kg)	167,5	554,4	110,8
Umidade Karl Fischer (g/kg)	124,5	389,5	101,5
Glicerol (g/kg)	700,0	99,2	793,1
Energia bruta (kcal/kg)	3661	4122	3698
Proteína bruta (g/kg)	0,3	2,3	0,4
Metanol <sup>d</sup>	181,3	111,9	20,6
Sódio (g/kg)	23,8	15,1	21,6
Fósforo total (g/kg)	0,0	0,0	0,3
Potássio (g/kg)	0,6	0,4	0,9
pH em solução aquosa	6,05	9,85	5,72

<sup>a</sup>Análises químicas realizadas pelo CBO análises laboratorias, Campinas/São Paulo, Brasil.

<sup>b</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>c</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>d</sup>Em mg/L para as glicerinas de soja bruta e semi-purificada. Em g/kg para a glicerina mista.

Em cada experimento foram avaliados os níveis de inclusão de 17,5; 35,0; 52,5 e 70,0g de cada glicerina/kg de ração. A composição das dietas experimentais utilizadas nos experimentos I e II encontram-se nas tabelas 2 e 3, respectivamente. As dietas foram isonutrientes formuladas para atender as

exigências nutricionais dos frangos de corte em cada fase, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005). Devido à elevada concentração de sódio nas glicerinas utilizadas, a inclusão de sal nas dietas foi ajustada para manter os níveis de sódio e cloro conforme as recomendações nutricionais para a fase, adicionando-se cloreto de cálcio e bicarbonato de sódio para permitir um balanço eletrolítico semelhante entre as dietas experimentais. Na formulação das rações, utilizou-se os valores médios de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio retido (EMAn) previamente determinados por Lima et al. (2012) para cada glicerina avaliada, em matéria natural: 3.279kcal de EMAn/kg de GBOS, 3.228kcal de EMAn/kg de GBM e 3.304kcal de EMAn/kg de GOSSP.

Aos 35 e 42 dias de idade (experimentos I e II, respectivamente), uma ave de cada repetição (totalizando 65 frangos de corte para cada período de idade avaliado) foi abatida, sendo o sangue e fígado recolhidos para posterior determinação do teor de glicerol plasmático e da atividade da enzima glicerol quinase hepática, respectivamente.

## *2.2 Análises químicas*

### *2.2.1 Determinação do teor de glicerol livre no plasma*

Após o abate, o sangue das aves foi coletado em tubos contendo EDTA como anticoagulante e, posteriormente, foi centrifugado (2.000 x g por 15 minutos) sendo o plasma recolhido. A determinação da concentração de glicerol livre presente no plasma foi realizada utilizando-se um kit comercial (Abcam, Inc. Código: ab65337) que se baseia na oxidação enzimática do glicerol para gerar um produto que reage com o reagente de cor resultando

Tabela 2 Ingredientes e composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural) no período de 22 a 35 dias de idade (experiment I)

Ingrediente	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina bruta mista <sup>a</sup>				Glicerina semi-purificada <sup>b</sup>			
		17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho	617,39	597,48	577,55	556,37	534,60	596,23	575,06	553,90	532,34	597,44	577,47	556,77	535,13
Farelo de soja	316,02	319,63	323,24	327,08	331,03	319,85	323,69	327,53	331,44	319,64	323,26	327,01	330,94
Óleo de soja	29,53	29,91	30,29	31,09	32,11	30,36	31,19	32,01	32,98	29,80	30,06	30,58	31,42
Glicerina	0,00	17,5	35,00	52,50	70,0	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Fosfato bicálcico	16,47	16,52	16,57	16,63	16,68	16,53	16,58	16,64	16,69	16,52	16,57	16,63	16,68
Calcário	8,36	8,32	8,28	7,61	6,63	8,32	8,28	8,24	7,99	8,32	8,28	7,87	6,98
Sal comum	2,24	2,25	2,26	1,57	0,53	2,25	2,27	2,28	2,07	2,25	2,26	1,86	0,92
DL-Metionina	2,23	2,25	2,28	2,31	2,33	2,25	2,28	2,31	2,34	2,25	2,28	2,30	2,33
L-Lisina HCl	1,75	1,68	1,62	1,55	1,48	1,68	1,61	1,54	1,47	1,68	1,62	1,55	1,48
L-Treonina	0,36	0,35	0,35	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	0,34

Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	0,89	2,22	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,53	1,73
Bicarbonato de sódio	3,61	2,06	0,51	0,00	0,00	2,63	1,64	0,65	0,00	2,20	0,80	0,00	0,00
Lasalocida	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Suplemento mineral <sup>c</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento vitamínico <sup>d</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de colina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bacitracina de zinco	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural)													
EM (Kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Proteína bruta	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27
Glicerol <sup>e</sup>	0,00	12,25	24,5	36,75	49,00	1,74	3,47	5,21	6,94	13,88	27,76	41,64	55,52

Cálcio	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24
Fósforo disponível	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11
Sódio	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50
Cloro	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Lisina	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73
Metionina + cistina	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30
Treonina	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70
D.E.B (mEq/kg) <sup>f</sup>	231	231	232	232	233	231	232	233	233	231	232	233	233

<sup>a</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>b</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>c</sup>Suplementado por kg da dieta: Zinco, 55mg; Selênio, 0,18 mg; Iodo, 0,70 mg; Cobre, 10 mg ; Manganês, 78 mg; Ferro, 48 mg.

<sup>d</sup>Suplementado por kg da dieta: ácido fólico, 0,48 mg; ácido pantotênico, 8,7 mg; biotina, 0,018 mg; butylhidroxi tolueno (BHT), 1,5 mg; niacina, 11,1 mg; vitamina A, 6000 IU; vitamina B1, 0,9 mg; vitamina E, 12,15 IU; vitamina B12, 8,1 µg; vitamina B2, 3,6 mg; vitamina B6, 1,8 mg; vitamina D3, 1.500 IU; vitamina K3, 1,44 mg.

<sup>e</sup>Glicerol proveniente da suplementação de glicerina.

<sup>f</sup> Balanço eletrolítico da dieta: calculado de acordo com a equação proposta por Mongin (1981), que correlaciona as concentrações calculadas dos íons de sódio, potássio e cloro ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ ).

EM: energia metabolizável.

Tabela 3 Ingredientes e composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural) no período de 33 a 42 dias de idade (experiment II)

Ingrediente	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina bruta mista <sup>a</sup>				Glicerina semi-purificada <sup>b</sup>			
		17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho	647,53	627,33	607,14	585,52	563,44	625,21	602,87	580,54	557,60	627,94	608,34	587,83	566,53
Farelo de soja	288,27	291,93	295,60	299,52	303,52	292,32	296,37	300,42	304,58	291,82	295,38	299,10	302,96
Óleo de soja	30,70	31,30	31,90	32,99	34,24	32,48	34,27	36,06	38,05	30,66	30,63	30,91	31,46
Glicerina	0,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Fosfato bicálcico	14,94	14,99	15,04	15,09	15,15	14,99	15,05	15,11	15,17	14,99	15,04	15,09	15,14
Calcário	7,92	7,88	7,84	7,07	6,09	7,87	7,83	7,78	7,44	7,88	7,84	7,33	6,44
Sal comum	2,07	2,08	2,10	1,29	0,25	2,08	2,10	2,11	1,79	2,08	2,09	1,58	0,64
DL-Metionina	2,02	2,05	2,07	2,10	2,13	2,05	2,08	2,11	2,14	2,05	2,07	2,10	2,13

L-Lisina HCl	1,85	1,79	1,72	1,65	1,58	1,78	1,71	1,64	1,56	1,79	1,73	1,66	1,59
L-Treonina	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34
Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	1,03	2,36	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,66	1,87
Bicarbonato de sódio	3,45	1,90	0,35	0,00	0,00	2,47	1,48	0,49	0,00	2,04	0,64	0,00	0,00
Suplemento mineral <sup>c</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento vitamínico <sup>d</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloreto de colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Calculated nutrient composition (g/kg as fed basis)													
EM (Kcal/kg)	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150
Proteína	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15

bruta													
Glicerol <sup>e</sup>	0,00	12,25	24,5	36,75	49,00	1,74	3,47	5,21	6,94	13,88	27,76	41,64	55,52
Cálcio	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63
Fósforo disponível	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80
Sódio	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94
Cloro	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Lisina	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17
Metionina + cistina	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32
Treonina	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61
BE (mEq/kg) <sup>f</sup>	218	218	219	219	220	218	218	219	219	218	219	220	220

<sup>a</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>b</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>c</sup>Suplementado por kg da dieta: Zinco, 55mg; Selênio, 0,18 mg; Iodo, 0,70 mg; Cobre, 10 mg ; Manganês, 78 mg; Ferroo, 48 mg.

<sup>d</sup>Suplementado por kg da dieta: ácido fólico, 0,32 mg; ácido pantotênico, 5,8 mg; biotina, 0,012 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 1,0 mg; niacina, 7,4 mg; vitamina A, 4000 IU; vitamina B1, 0,6 mg; vitamina E, 8,1 IU; vitamina B12, 5,4 µg; vitamina B2, 2,4 mg;

vitamina B6, 1,2 mg; vitamina D3, 1.000 IU; vitamina K3, 0,96 mg.

<sup>e</sup>Glicerol proveniente da suplementação de glicerina.

<sup>f</sup>Balanço eletrolítico da dieta: calculado de acordo com a equação proposta por Mongin (1981), que correlaciona as concentrações calculadas dos íons de sódio, potássio e cloro ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ ).

EM: energia metabolizável.

em cor característica. A intensidade da cor do produto final de reação é proporcional à concentração de glicerol presente na amostra e pode ser monitorada colorimetricamente em comprimento de onda de 570nm. Inicialmente, realizou-se uma curva padrão de glicerol pipetando concentrações crescentes dessa molécula pura (0; 2; 4; 6; 8 e 10nmol de glicerol/poço partindo-se de uma solução estoque de glicerol 1mM e mantendo o volume final 50µL em cada poço com o uso de volumes adequados do tampão disponibilizado no kit) na presença do reagente de trabalho (50µL), seguido de descanso em temperatura ambiente por 30 minutos com posterior leitura colorimétrica em 570nm. Com estes dados, uma curva padrão linear crescente foi gerada plotando-se os valores da absorbância no eixo y do gráfico e a concentração de glicerol (nmol) no eixo x. A dosagem de glicerol nas amostras foi realizada em microplacas de 96 poços sendo pipetados em cada poço: 50µL de plasma + 50µL do reagente de trabalho (composto por 46µL de tampão + 2 µL do reagente enzimático + 2 µL do reagente de cor). Em seguida, a placa permaneceu em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos protegida da luz e então foi lida em  $\lambda=570\text{nm}$  sendo os valores de absorbância determinados para cada amostra substituídos na equação da curva padrão. O teor de glicerol livre foi expresso em nmol de glicerol/mL de plasma.

### *2.2.2 Preparo do extrato hepático e determinação da atividade da glicerol quinase*

Após o abate, o fígado dos frangos foi recolhido e imediatamente congelado em nitrogênio líquido. Para a extração da enzima glicerol quinase (EC 2.7.1.30) 1,5g de fígado congelado foram macerados em gral de porcelana, na presença de nitrogênio líquido, com 3mL de tampão Tris-HCl 0,05M e pH 8,0. Após completa maceração e homogeneização do tecido, a amostra foi centrifugada (15.000 x g por 20 minutos a 5°C) sendo o sobrenadante recolhido. A determinação da atividade enzimática no sobrenadante foi realizada segundo metodologia de Fossati e Prencipe

(1982) e Sakasegawa et al. (1998) citados por Kihara et al. (2009) que se baseia nas seguintes reações bioquímicas sequenciais: inicialmente, a glicerol quinase presente na amostra fosforila o glicerol na presença de ATP à glicerol-3-fosfato + ADP. Após duas reações em sequência catalisadas pela glicerol 3-fosfato oxidase (EC 1.1.3.21) e pela peroxidase (EC 1.11.1.7), o glicerol-3-fosfato é convertido em quinoneimina que é um composto de cor avermelhada que pode ser monitorado colorimetricamente em 500nm. O ensaio cinético foi feito em microplacas de 96 poços e em cada poço foram adicionados: 880µL de tampão Tris-HCl 50mM (pH 8,0) + 10µL de ATP 400mM (pH 7,0. Amresco, código: 0220-25G) + 10µL de MgCl<sub>2</sub> 200mM + 10µL de glicerol 3-fosfato oxidase de *Pediococcus sp.* (100U de enzima/500µL de tampão. Sigma-Aldrich, código: G9637-100UN) + 10µL de peroxidase de rábano (450U de enzima/mL de tampão. Amresco, código:0343-25.000U) + 10µL de 4-aminoantipirina 150mM (Sigma-Aldrich, código:A4382-100G) + 10µL de fenol 150mM + 50µL do sobrenadante do extrato hepático. Imediatamente, 10µL de glicerol 1M foram adicionados em cada poço para dar início à sequência de reações e, em seguida, a placa foi incubada a 25°C em um leitor de microplacas automático previamente programado para realizar leituras de absorvância em λ=500nm a cada um minuto de reação durante um período máximo de 15 minutos. Para cada amostra, realizou-se também o branco amostra para descontar a cor característica dos reagentes utilizados no ensaio cinético. Posteriormente, os dados do ensaio enzimático foram utilizados para gerar uma curva linear crescente com os valores da absorvância plotados no eixo y do gráfico e o tempo de reação (em minutos) no eixo x. O cálculo da atividade da enzima glicerol quinase foi feito segundo a equação descrita abaixo:

Atividade volumétrica (µmol de glicerol-3-P/min/mL ou U/mL) =

$$\frac{(IRA - IRBA) \times VR \times D}{\epsilon \times VE}$$

IRA = inclinação da reta resultante do ensaio cinético com a amostra (absorbância/minuto)

IRBA = inclinação da reta do branco amostra (absorbância/minuto)

VR = volume total da reação em mL (1mL)

D = diluição da amostra (10 vezes)

$\epsilon$  = coeficiente de extinção molar da 4- aminoantipirina ( $6,65 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  conforme descrito por Aragon et al., 2008)

VE = volume do extrato hepático em mL (0,05mL)

O teor de proteína nas amostras ( $\mu\text{g}$  de proteína/mL de extrato hepático) foi dosado segundo Bradford (1976) usando a albumina sérica bovina como padrão com a finalidade de permitir o cálculo da atividade específica da glicerol quinase conforme descrito a seguir:

Atividade específica ( $\text{U}/\mu\text{g}$  de proteína) = atividade volumétrica  $\div$  teor de proteína na amostra

Portanto, a atividade da glicerol quinase foi expressa em U, sendo que U é a quantidade de enzima que gera  $1 \mu\text{mol}$  de glicerol-3-fosfato por um minuto de reação em uma solução com  $\text{pH} = 8,0$  e  $25^\circ\text{C}$ .

### 2.3 Análise estatística

Em cada experimento, os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o General Linear Model do software estatístico SAS Institute (2004) e quando significativa, a razão controle foi comparada as demais razões experimentais pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. As fontes de glicerina foram comparadas entre si pelo teste de comparação de médias de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade. Modelos de regressão polinomial ( $P < 0,05$ ) foram utilizados para avaliar o efeito da suplementação crescente de glicerina sobre o teor de glicerol livre no plasma e a atividade da glicerol quinase hepática.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Experimento I (período de 22 a 35 dias de idade)

Não houve ( $P>0,05$ ) interação entre a fonte e o nível de glicerina na dieta para o teor de glicerol livre determinado no plasma dos frangos de corte, mas houve ( $P<0,05$ ) efeito isolado da fonte e nível de suplementação da glicerina na dieta para este parâmetro sanguíneo (Tabela 4). A maior concentração plasmática de glicerol (8,65nmol/mL) foi determinada quando a ração continha a glicerina bruta de óleo de soja (GBOS). Por outro lado, independente da fonte de glicerina utilizada, houve aumento linear ( $y = 0,0338x + 6,215$ ;  $R^2 = 0,85$ ) da concentração de glicerol plasmático em função do aumento do nível de inclusão de glicerina na dieta, sendo observado um incremento de até 25,96%. Todas as dietas experimentais contendo glicerina resultaram em teor de glicerol livre no plasma dos frangos maior ( $P<0,05$ ) que o determinado nas aves alimentadas com a dieta controle sem glicerina.

Não houve ( $P>0,05$ ) interação nem efeito isolado da fonte de glicerina na dieta para a atividade enzimática da glicerol quinase hepática (Tabela 4). Todavia, independente da fonte de glicerina utilizada, o aumento do nível de inclusão da glicerina na dieta aumentou linearmente ( $P<0,05$ ) ( $y = 0,1165x + 6,275$ ;  $R^2 = 0,92$ ) a atividade da enzima em até 64,14%. Todas as dietas experimentais contendo glicerina resultaram em atividade da glicerol quinase semelhante ( $P>0,05$ ) à atividade determinada no extrato hepático dos frangos de corte alimentados com a dieta controle sem glicerina.

#### 3.2 Experimento II (período de 33 a 42 dias de idade)

Não houve ( $P>0,05$ ) interação entre os fatores avaliados para o teor de glicerol determinado no plasma dos frangos de corte no período de 33 a 42 dias de idade, todavia houve ( $P<0,05$ ) efeito isolado da fonte e do nível de inclusão de glicerina na dieta para este parâmetro sanguíneo (Tabela 5). O

uso da GBOS proporcionou o maior teor de glicerol plasmático (13,59nmol/mL) enquanto a glicerina de óleo de soja semi-purificada (GOSSP) resultou no menor teor (10,42nmol/mL). Por outro lado, independente da fonte, o aumento do nível de inclusão da glicerina na dieta aumentou linearmente ( $y = 0,104x + 7,36$ ;  $R^2 = 0,95$ ) em até 66,47% o nível de glicerol livre no plasma. A dieta contendo a GBOS no nível de inclusão de 17,5g/kg e as dietas formuladas com qualquer uma das três gliceras avaliadas nos níveis de inclusão de 35; 52,5 e 70g de glicerina/kg de dieta proporcionaram maior teor de glicerol no plasma do que o observado quando os frangos foram alimentados com a dieta controle sem glicerina.

Além disso, não houve ( $P > 0,05$ ) interação entre a fonte e o nível de inclusão de glicerina na dieta para a atividade da glicerol quinase hepática, entretanto, o uso da GBOS resultou em

Tabela 4 Teor de glicerol no plasma e atividade da enzima glicerol quinase no fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de glicerina, no período de 22 a 35 dias de idade (Experimento I)

Fonte de glicerina	Glicerol plasmático (nmol/mL)					Atividade da glicerol quinase <sup>1</sup> (U x 10 <sup>-8</sup> /μg de proteína)				
	Nível de inclusão de glicerina (g/kg)					Nível de inclusão de glicerina (g/kg)				
	17,5	35,0	52,5	70,0	Média	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Glicerina bruta de óleo de soja	8,09 <sup>y</sup>	8,45 <sup>y</sup>	8,96 <sup>y</sup>	9,11 <sup>y</sup>	8,65a	10,32	11,08	11,43	11,73	11,14
Glicerina mista <sup>2</sup>	6,71 <sup>y</sup>	6,61 <sup>y</sup>	6,91 <sup>y</sup>	7,86 <sup>y</sup>	7,02b	6,84	8,43	14,35	14,71	11,09
Glicerina semi-purificada <sup>3</sup>	6,35 <sup>y</sup>	6,57 <sup>y</sup>	7,02 <sup>y</sup>	9,66 <sup>y</sup>	7,40b	8,59	8,90	14,17	15,85	11,88
Média <sup>4,5</sup>	7,05	7,21	7,63	8,88		8,59	9,47	13,32	14,10	
Dieta controle					5,67					9,69
Coeficiente de variação (%)			15,89					17,72		
P-value										
FG x NIG			P>0,05					P>0,05		
FG			P<0,05					P>0,05		

NIG

P<0,05

P<0,05

---

FG: fonte de glicerina, NIG: nível de inclusão de glicerina.

Médias com letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Student-Newman-Keuls.

<sup>1</sup>A atividade da glicerol quinase foi expressa em U, sendo que U é a quantidade de enzima que gera 1 μmol de glicerol-3-fosfato por um minuto de reação em uma solução com pH = 8,0 e 25°C.

<sup>2</sup>Glicerina mista oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>3</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>4</sup>Efeito linear do nível de inclusão de glicerina sobre a concentração plasmática de glicerol ( $y = 0,0338x + 6,215$ ;  $R^2 = 0,85$ ).

<sup>5</sup>Efeito linear do nível de inclusão de glicerina sobre a atividade da enzima glicerol quinase hepática ( $y = 0,1165x + 6,275$ ;  $R^2 = 0,92$ ).

<sup>y</sup>Difere do tratamento controle pelo teste de Dunnet (P<0,05).

Tabela 5 Teor de glicerol no plasma e atividade da enzima glicerol quinase no fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de glicerina, no período de 33 a 42 dias de idade (Experimento II)

Fonte de glicerina	Glicerol plasmático (nmol/mL)					Atividade da glicerol quinase <sup>1</sup> (U x 10 <sup>-8</sup> /μg de proteína)				
	Nível de inclusão de glicerina					Nível de inclusão de glicerina (g/kg)				
	17,5	35,0	52,5	70,0	Média	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Glicerina bruta de óleo de soja	12,17 <sup>y</sup>	12,44 <sup>y</sup>	14,19 <sup>y</sup>	15,55 <sup>y</sup>	13,59a	16,86	18,68	20,52	22,20	19,56a
Glicerina mista <sup>2</sup>	7,51	11,86 <sup>y</sup>	11,96 <sup>y</sup>	15,57 <sup>y</sup>	11,73ab	12,32	13,48	18,06	18,13	15,50b
Glicerina semi-purificada <sup>3</sup>	6,36	11,14 <sup>y</sup>	11,95 <sup>y</sup>	12,22 <sup>y</sup>	10,42b	9,69	10,14	16,55	17,34	13,43b
Média <sup>4,5</sup>	8,68	11,81	12,70	14,45		12,96	14,10	18,38	19,22	
Dieta controle					6,12					14,08
Coeficiente de variação (%)			12,41					14,60		
P-value										

FG x NIG	P>0,05	P>0,05
FG	P<0,05	P<0,05
NIG	P<0,05	P<0,05

FG: fonte de glicerina, NIG: nível de inclusão de glicerina.

Médias com letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05) pelo teste de Student-Newman-Keuls.

<sup>1</sup>A atividade da glicerol quinase foi expressa em U, sendo que U é a quantidade de enzima que gera 1 μmol de glicerol-3-fosfato por um minuto de reação em uma solução com pH = 8,0 e 25°C.

<sup>2</sup>Glicerina mista oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>3</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>4</sup>Efeito linear do nível de inclusão de glicerina sobre a concentração plasmática de glicerol ( $y = 0,104x + 7,36$ ;  $R^2 = 0,95$ ).

<sup>5</sup>Efeito linear do nível de inclusão da glicerina semi-purificada sobre a atividade da enzima glicerol quinase hepática ( $y = 0,1318x + 10,4$ ;  $R^2 = 0,93$ ).

<sup>y</sup>Difere do tratamento controle pelo teste de Dunnet (P<0,05).

maior ( $P < 0,05$ ) atividade desta enzima ( $19,56 \text{ U} \times 10^{-8}/\mu\text{g}$  de proteína) (Tabela 5). Por outro lado, independente da fonte, o aumento da inclusão da glicerina na dieta aumentou linearmente ( $P < 0,05$ ) ( $y = 0,1318x + 10,4$ ;  $R^2 = 0,93$ ) a atividade da glicerol quinase hepática em até 48,30%. Todas as dietas experimentais contendo glicerina resultaram em atividade da glicerol quinase semelhante ( $P > 0,05$ ) à atividade determinada no extrato hepático dos frangos de corte alimentados com a dieta controle sem glicerina.

## 4 DISCUSSÃO

### *4.1 Experimento I (período de 22 a 35 dias de idade)*

Nos frangos de corte que receberam a dieta controle sem glicerina determinou-se  $5,67 \text{ nmol}$  de glicerol livre/mL de plasma, o que pode ser justificado pela digestão dos lipídeos presentes na dieta e pelo catabolismo de lipídeos no tecido adiposo. Durante a digestão, os triacilgliceróis da dieta são hidrolisados enzimaticamente em ácidos graxos livres e glicerol (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009). Parte deste glicerol será novamente convertido à triacilglicerol dentro do enterócito para então ser liberado no sangue como lipoproteína, mas a outra parte do glicerol pode entrar livremente pela circulação porta (BRODY, 1994). Por outro lado, a hidrólise de triacilgliceróis no tecido adiposo também gera glicerol livre que é liberado na corrente sanguínea devido à incapacidade do adipócito em aproveitá-lo já que não há a enzima glicerol quinase nesta célula (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009). Entretanto, como as linhagens comerciais atuais de frangos de corte tendem à hiperfagia e tendo em vista que durante todo o experimento as aves tiveram acesso livre à dieta sem período de jejum é provável que a taxa de lipólise nesses animais estava baixa, pois fisiologicamente não era necessário que este tipo de catabolismo lipídico estivesse estimulado e, portanto, a maior parte do glicerol livre determinado no plasma das aves do tratamento controle deve ser proveniente da digestão dos lipídeos presentes na dieta. Além disso, as dietas experimentais contendo

glicerina, para todas as fontes e níveis de inclusão avaliados, resultaram em teores de glicerol plasmático livre maiores que o determinado nos frangos alimentados com a dieta controle sem glicerina, comprovando que o glicerol presente neste ingrediente é absorvido no intestino podendo então ser transportado para o fígado pela circulação sanguínea.

A maior concentração plasmática de glicerol (8,65nmol/mL) foi observada quando a ração continha a glicerina bruta de óleo de soja (GBOS) enquanto que o menor teor foi determinado quando a glicerina bruta mista (GBM) ou a glicerina de óleo de soja semi-purificada (GOSSP) foram utilizadas, de modo contrário ao esperado, pois a hipótese inicial deste trabalho era que tanto o uso da GBOS como o da GOSSP resultariam na maior concentração de glicerol plasmático devido ao maior teor percentual de glicerol nestas duas glicerinas quando comparadas à GBM. Portanto, os resultados deste trabalho demonstram que a concentração de glicerol na glicerina não é o único fator que irá determinar sua maior ou menor absorção pelo frango e indicam que o processamento da glicerina realmente afeta diretamente a resposta fisiológica da ave, conforme discutido em trabalhos recentes sobre o uso da glicerina na nutrição animal (ALVARENGA et al. 2012; MCLEA et al., 2011; YANG; HANNA; SUN, 2012). Todavia, como o processo de semi-purificação realizado para a produção da GOSSP não é bem conhecido por esta se tratar de um produto comercial, não é possível neste momento indicar o motivo exato que provocou estes resultados.

Conforme esperado, independente do tipo de glicerina, o aumento da inclusão deste ingrediente na dieta aumentou a concentração de glicerol determinada no plasma, sendo observado um acréscimo de até 25,96% neste parâmetro sanguíneo com a inclusão de 70g de glicerina/kg de dieta. De modo semelhante, o aumento da inclusão de glicerina na dieta também aumentou linearmente a atividade da glicerol quinase, independente da fonte de glicerina, sendo observado um acréscimo de até 66,47% na atividade dessa enzima. No metabolismo do glicerol, este é utilizado como substrato pela glicerol quinase que o converte em glicerol-3-fosfato (LEHNINGER;

NELSON; COX, 2005), portanto, o aumento na atividade desta enzima demonstra que o organismo se regulou fisiologicamente para permitir um melhor aproveitamento do glicerol da dieta, representando um importante resultado para respaldar seu uso na nutrição de frangos de corte, pois o glicerol-3-fosfato produzido pela glicerol quinase pode ser convertido à diidroxiacetona-fosfato (DHAP) pela ação catalítica de outra enzima também presente no fígado, a glicerol-3-fosfato desidrogenase. Na sequência, a DHAP pode ser convertida à gliceraldeído-3-fosfato pela triosefosfatoisomerase que por sua vez pode ser utilizado metabolicamente para a síntese de glicose (gliconeogênese) ou de ácido graxos (lipogênese) ou ainda ser completamente oxidado para a produção de energia via glicólise e ciclo de Krebs (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009). Além disso, verificou-se também que mesmo o maior nível de inclusão de glicerina avaliado (70g de glicerina/kg de ração) não foi alto o suficiente para saturar a atividade da glicerol quinase o que seria nutricionalmente indesejado, pois neste caso além do glicerol não ser oxidado para gerar energia o organismo ainda teria que gastar energia para promover sua excreção (DOPPENBERG; VAN DER AAR, 2007).

#### *4.2 Experimento II (período de 33 a 42 dias de idade)*

Diferentemente do observado no experimento I, no período de 33 a 42 dias de idade, o teor de glicerol determinado no plasma dos frangos de corte alimentados com as dietas contendo 17,5g da GBM ou GOSSP/kg de dieta foi semelhante ao determinado nas aves que receberam a dieta controle sem glicerina, indicando que nesses casos o uso do glicerol proveniente da glicerina para a produção de energia pela ave será muito menor quando comparado às demais combinações de fonte e nível de gliceras avaliadas.

Neste experimento, o aumento do nível de inclusão da glicerina na dieta também aumentou linearmente a concentração de glicerol plasmática reafirmando que o glicerol presente na dieta pode ser absorvido pela ave,

independente da sua idade. Segundo Guyton (1991) a taxa de absorção intestinal do glicerol pelos animais é alta devido ao seu baixo peso molecular e elevada solubilidade em água. De acordo com Bartlet e Schneider (2002) a taxa de absorção intestinal do glicerol relatada para suínos e poedeiras é alta podendo atingir 97% e, embora informações equivalentes para frangos de corte não sejam bem documentadas na literatura, é provável que esse processo fisiológico se assemelhe entre as aves, ou ainda, entre os animais monogástricos (ALVARENGA et al., 2012). Em um estudo com camundongos, Kato et al. (2004) concluíram que o glicerol pode ser absorvido por transporte passivo ou ativo, sendo que o transporte ativo sódio-dependente é responsável pelo transporte de aproximadamente 70% de todo o glicerol absorvido.

O maior teor de glicerol plasmático determinado nas aves alimentadas com a dieta contendo a GBOS, independente do nível de inclusão da glicerina, pode ter regulado positivamente a atividade catalítica da glicerol quinase hepática (*up regulation*) justificando a maior atividade enzimática verificada com o uso desta fonte de glicerina.

O aumento da inclusão de glicerina na dieta aumentou linearmente a atividade da glicerol quinase, independente do tipo de glicerina, sendo observado um acréscimo de até 48,30% na atividade dessa enzima. Além disso, verificou-se também que mesmo o maior nível de inclusão de glicerina avaliado (70g de glicerina/kg de ração) não foi alto o suficiente para saturar a atividade da glicerol quinase contrariando a hipótese de Mclea et al. (2011) os quais sugeriram que isto seria observado no nível de inclusão de aproximadamente 67g de glicerina/kg de ração.

Alguns autores observaram que o nível ótimo de inclusão de glicerina bruta na dieta de frangos de corte é de aproximadamente 50g de glicerina/kg de ração (LESSARD; LEFRANCOIS; BERNIER, 1993; CERRATE et al., 2006; GUERRA et al., 2011; MCLEA et al., 2011), embora um estudo tenha recomendado 10% de inclusão (SIMON; BERGNER; SCHWABE, 1996). Os resultados deste trabalho indicam que é

possível incluir até 70g de qualquer uma das três glicerinas avaliadas/kg de ração sem que haja saturação da enzima glicerol quinase hepática permitindo, portando, que o glicerol possa ser fosforilado a glicerol-3-fosfato corroborando com o relatado por Min et al. (2010) os quais afirmaram que, de modo geral, bons resultados em aves são observados quando a glicerina é suplementada na dieta com inclusão máxima de 10%

## **5 CONCLUSÃO**

O uso da glicerina bruta de óleo de soja (GBOS) resultou no maior teor de glicerol plasmático.

No período de 22 a 35 dias de idade, a fonte de glicerina não influenciou a atividade da enzima glicerol quinase hepática, mas no período de 33 a 42 dias de idade, os frangos de corte alimentados com a dieta contendo a GBOS apresentaram a maior atividade enzimática.

Com base na ausência de saturação na atividade da glicerol quinase hepática, conclui-se que, para as três fontes de glicerinas avaliadas e para os dois períodos de criação avaliados, os frangos de corte podem aproveitar metabolicamente o glicerol (à nível de fosforilação do glicerol em glicerol-3-fosfato) presente na glicerina quando esta for suplementada na dieta em até 70g de glicerina/kg de ração. Todavia, é importante considerar que a avaliação do desempenho dos frangos de corte em estudos posteriores é importante para confirmar o nível máximo de inclusão de glicerina na dieta.

## **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT-CA) pelo apoio financeiro e à Granol Ind. Exp S/A pela disponibilização da glicerina de óleo de soja semi-purificada.

## REFERÊNCIAS

ALVARENGA, R. R. et al. Use of glycerine in poultry diets. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, 2012.

ARAGON, C. C. et al. Characterization of glycerol kinase from baker's yeast: response surface modeling of the enzymatic reaction. **Journal of Molecular Catalysis. B. Enzymatic**, Amsterdam, v. 52-53, p. 113-120, June 2008.

BARTLET, J.; SCHNEIDER, D. Investigation on the energy value of glycerol in the feeding of poultry and pig. **Union for the Promotion of Oilseeds- Schriften Heft**, Berlin, v. 17, p. 15-36, 2002.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, n. 72, p. 248-254, 1976.

BRODY, T. **Nutritional biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1994.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerin from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Biochemistry: lippincott's illustrated reviews**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

DOPPENBERG, J.; VAN DER AAR, P. **Biofuels: implications for the feed industry**. Wageningen: Academic Publishers, 2007.

DOZIER, W. A. et al. Apparent metabolizable energy of crude glycerin originating from different sources in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, p. 2528-2534, 2011.

FOSSATI, P.; PRENCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxidase. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 28, n. 10, p. 2077-2080, Oct. 1982.

GUERRA, R. L. H. et al. Crude glycerine mixture in diets of broiler chickens (1 to 42 days). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v 12, n. 4, p. 1038-1050, out./dez. 2011.

GUYTON, A. C. **Textbook of medical physiology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1991.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Paris: IUPAC, 1993. Disponível em: <<http://www.iupac.org>>. Acesso em: 23 jul. 2010.

KATO, T. et al. Function characterization of the carrier-mediated transport system for glycerol in everted sacs of the rat small intestine. **Biological Pharmacology Bulletin**, Japan, v. 27, p. 1826-1830, 2004.

KIHARA, F. et al. Glycerol kinase activity and glycerol kinase-3 gene are up-regulated by acclimation to 5°C in diapause eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 39, p. 763-769, 2009.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 4. ed. New York: W. H. Freeman, 2005.

LESSARD, P.; LEFRANCOIS, M. R.; BERNIER, J. F. Dietary addition of cellular metabolic intermediates and carcass fat deposition in broilers. **Poultry Science**, Mississippi, n. 72, p. 535-545, 1993.

LIMA, E. M. C. et al. The energy value of biodiesel glycerine products fed to broilers at different ages. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 5, n. 10, p. 1515-1520, Aug. 2012.

MCLEA, L. et al. The effect of glycerol inclusion on broiler performance and nutrient digestibility. **British Poultry Science**, London, v. 52, n. 3, p. 368-375, June 2011.

MIN, Y. N. et al. Glycerin-a new energy source for poultry. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 9, n. 1, p. 1-4, 2010.

MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: application in poultry. **The Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 40, n. 3, p. 285-294, Sept. 1981.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:** composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV/DZO, 2005.

SAKASEGAWA, S. et al. A novel glycerol kinase from *Flavobacterium meningosepticum*: characterization, gene cloning and primary structure. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 62, p. 2388-2395, 1998.

SAS INSTITUTE. **User's guide:** version 9.00. 4. ed. Rockville: SAS, 2004.

SIMON, A.; BERGNER, H.; SCHWABE, M. Glycerol-feed ingredient for broiler chickens. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 49, p. 103-112, 1996.

YANG, F.; HANNA, M. A.; SUN, R. Value-added uses for crude glycerol—a byproduct of biodiesel production. **Biotechnology for Biofuels**, Chichester, v. 5, p. 1-10, 2012.

## **CAPÍTULO 7**

### **METABOLIZABILIDADE DE RAÇÕES CONTENDO GLICERINAS PARA FRANGOS DE CORTE**

#### **RESUMO**

Três experimentos foram conduzidos para verificar se as glicerinas provenientes do biodiesel influenciam na metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta, energia bruta de rações nos períodos 08 a 21 dias (experimento I), de 22 a 35 dias de idade (experimento II) e 33 a 42 dias de idade (experimento III). Nos três experimentos testou-se a inclusão das glicerinas bruta de soja, bruta mista e semi-purificada, em quatro níveis (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0g/kg), e comparado a um tratamento controle, sem inclusão de glicerina. O coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca foi semelhante ( $P>0,05$ ) entre as aves que consumiram dietas contendo glicerinas e as aves que consumiram a dieta controle no experimento I e II, e no experimento III com a inclusão de 35,0 e 52,5 g/kg de glicerinas bruta de soja e a semi-purificada. O coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta dos tratamentos com glicerina não diferiu ( $P>0,05$ ) do controle nas fases estudadas. Os valores de EMAn foram semelhantes entre os tratamentos contendo glicerinas para os experimentos I e II. No experimento III, com exceção das inclusão de 17,5g/kg de glicerina semi-purificada que não diferiu do controle, os demais níveis de inclusão das três glicerinas resultaram em EMAn superior ao controle. Conclui-se que, não há piora na metabolizabilidade de rações contendo as três fontes de glicerinas avaliadas e os três períodos de criação avaliados, podendo incluir 70g das glicerinas/kg de ração.

Palavras-chave: glicerol, energia metabolizável, matéria seca, proteína bruta

## ABSTRACT

Three experiments were conducted to verify the influence of biodiesel from glycerides in the metabolism of dry matter, crude protein, crude energy rations during periods of 08-21 days (experiment I), 22 to 35 days of age (experiment II) and 33 at 42 days old (experiment III). In three experiments tested the inclusion of crude soy glycerides, semi-crude mixed and purified in four levels (17.5, 35.0, 52.5 and 70.0 g / kg) and compared to a control without inclusion of glycerin. The metabolism coefficient of dry matter was similar ( $P > 0.05$ ) between birds fed diets containing glycerides and the birds fed the control diet in experiment I and II, and III in the experiment with the inclusion of 35.0 and 52.5 g / kg of crude soy glycerides and semi-purified. The metabolism coefficient of crude protein with glycerin treatments did not differ ( $P > 0.05$ ) in the control phases. The AMEn was similar among treatments containing glycerins for experiments I and II. In experiment III, except for the inclusion of 17.5 g / kg of semi-purified glycerine not differ from control other levels of inclusion of the three glycerins resulted in higher AMEn control. We conclude that there is no deterioration in the metabolism of diets containing three sources glycerins evaluated and assessed three periods of creation, and may include 70g of glycerins / kg diet.

Keywords: glycerol, metabolizable energy, dry matter, crude protein

## **INTRODUÇÃO**

A glicerina é um co-produto da produção de biodiesel, obtida a partir de óleos vegetais e gorduras animais (RIVALDI et al., 2007). Como no Brasil há um crescente aumento da produção de biodiesel, sendo produzidos em 2011, 2,4 bilhões de litros deste biocombustível, segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (2012), conseqüentemente, ocorre uma produção de glicerina acima da demanda do mercado, o que impulsiona os pesquisadores a buscarem novas utilidades deste co-produto. Para os 2,4 bilhões de litros de biodiesel podem ser obtidos cerca de 240 milhões de litros de glicerina bruta.

Como a glicerina bruta pode ser considerada uma boa fonte de energia dietética para aves e suínos (CERRATE et al., 2006; DOZIER et al., 2008) é possível sugerir a sua inclusão na alimentação animal, sendo esta uma alternativa viável e ambientalmente sustentável para destinar parte deste co-produto no mercado, já que poderá evitar que a produção excedente tenha destinos inadequados, de forma a contaminar o meio ambiente.

Porém, ainda pouco se sabe sobre a capacidade dos frangos de corte, em diferentes idades, metabolizar nutricionalmente as rações que contém glicerina proveniente do biodiesel. Dessa forma, objetivou-se com este trabalho, verificar se a inclusão das glicerinas prejudica a metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta, energia bruta das rações em relação à uma ração sem inclusão da glicerina.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Três experimentos independentes foram conduzidos no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras para avaliar os efeitos de diferentes fontes e níveis de glicerina na

dieta sobre a metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta e energia em frangos de corte, nos períodos de 08 a 21 dias (experimento I) , 22 a 35 dias (experimento II) e 33 a 42 dias de idade (experimento III). Todos os procedimentos utilizados na condução dos experimentos foram aprovados pelo Comitê de Bioética da Universidade Federal de Lavras.

No experimento I, 325 pintos de corte machos da linhagem Cobb-500<sup>®</sup> foram adquiridos com um dia de idade e criados em galpão convencional para frangos de corte recebendo uma dieta basal formulada segundo Rostagno et al. (2005) até os sete dias de idade. No experimento II, 260 pintos machos da mesma linhagem foram criados do 1<sup>o</sup> até o 21<sup>o</sup> dia de idade recebendo dieta basal para atender as exigências nutricionais das aves (ROSTAGNO et al., 2005). No experimento III, 195 pintos machos da mesma linhagem foram criados do 1<sup>o</sup> até o 32<sup>o</sup> dia de idade recebendo dieta basal para atender as exigências nutricionais das aves (ROSTAGNO et al., 2005). No início de cada experimento (8<sup>o</sup>, 22<sup>o</sup> ou 33<sup>o</sup> dia de idade), as aves foram pesadas individualmente, separadas por faixas de peso e alojadas em baterias metálicas de modo que as unidades experimentais apresentassem o peso médio inicial dos frangos semelhante entre si. As aves tiveram acesso livre a ração e água. As excretas foram coletadas uma vez por dia, durante os três últimos dias de cada período experimental. Ao término do experimento, foi determinada a quantidade de ração consumida durante o período de coleta.

O delineamento experimental dos três experimentos foi inteiramente casualizado em esquema fatorial  $(3 \times 4) + 1$ , sendo três tipos de glicerinas suplementadas na dieta em quatro níveis de inclusão (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g/kg) mais uma dieta controle sem glicerina, totalizando 13 tratamentos em quatro repetições de 5 aves (experimento I), 4 aves (experimento II) e 3 aves (experimento III) por unidade experimental. Foram avaliados os níveis de inclusão de uma glicerina bruta oriunda de óleo de soja (GBOS), uma glicerina bruta mista oriunda de óleo de fritura e banha suína (GBM) e uma

glicerina de óleo de soja semi-purificada (GOSSP), cujas composições químicas constam na Tabela 1.

Tabela 1. Composição das glicerinas avaliadas<sup>a</sup>.

Parâmetros	Glicerinas		
	Glicerina bruta de soja	Glicerina bruta mista	Glicerina semi-purificada
	g/kg		
Umidade e voláteis	167,50	554,40	110,80
Glicerol	700,00	99,10	793,20
Sódio	23,80	15,10	21,60
Umidade (Karl Fischer)	124,50	389,50	101,50
pH em solução aquosa	6,05	9,85	5,72
Metanol	181,31 (mg/L)	111,90 (g/ kg)	20,62 (mg/L)
Energia bruta, kcal/kg	3661,00	4122,00	3698,00

<sup>a</sup> Análises realizadas pelo CBO análises laboratoriais, Campinas/São Paulo, Brasil.

As dietas foram formuladas para atender as exigências nutricionais dos frangos de corte em cada fase avaliada, de acordo com recomendações de Rostagno et al. (2005), (Tabelas 2,3 e 4, respectivamente aos experimentos I, II e III. Com o aumento do nível de glicerina na dieta, houve redução na inclusão de milho, acompanhada de aumento nos níveis de farelo de soja e óleo para manter as dietas isocalóricas e isoprotéicas. A inclusão de sal nas dietas foi ajustada devido à elevada concentração de sódio nas glicerinas utilizadas. Além disso, o nível de cloro e sódio nas rações foi

corrigido pela adição de cloreto de cálcio e bicarbonato de sódio mantendo-se o balanço eletrolítico semelhante entre as dietas experimentais. Para a formulação das rações, utilizou-se os valores médios de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn) previamente determinados por Lima et al. (2012) para cada glicerina avaliada, sendo, em matéria natural, 3.279kcal de EMAn/kg de glicerina bruta de óleo de soja, 3.228kcal de EMAn/kg de glicerina bruta mista e 3.304kcal de EMAn/kg de glicerina de óleo de soja semi-purificada.

As excretas coletadas durante cada experimento foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em freezer (-10°C) até o final do período da coleta. Posteriormente, foram descongeladas, pesadas e homogeneizadas e retiradas alíquotas de 400 gramas. As alíquotas retiradas foram pré-secas em estufa de ventilação forçada, para análises dos teores de matéria seca a 105°C, de nitrogênio e energia bruta. As análises químicas foram realizadas no laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Lavras, segundo as técnicas de Silva e Queiroz (2002).

Para determinação dos valores de energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) foi determinada a energia bruta das rações e a das excretas através de uma bomba calorimétrica modelo Parr - 1261. Com base nos resultados obtidos foram calculados os valores de EMAn, utilizando-se as equações abaixo, descritas por Matterson et al. (1965):

$$EMA \text{ ração basal} = \frac{EB \text{ ingerido} - EB \text{ excretado}}{MS \text{ ingerido}}$$

$$EMAn \text{ ração basal} = \frac{EB \text{ ingerido} - (EB \text{ excretado} + 8,22 \text{ BN})}{MS \text{ ingerido}}$$

em que:

EMAn = energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio;

EB excretada = energia bruta excretada;

EB ingerida = energia bruta ingerida;

MS ingerida = matéria seca ingerida;

BN = balanço de nitrogênio = (MS ingerida x N dieta) – (MS excretas x N excretas).

Tabela 2. Composição das dietas experimentais no período de 08 a 21 dias de idade (experimento I)

Ingredientes	Controle	Glicerina bruta de soja				Glicerina bruta mista <sup>a</sup>				Glicerina semi-purificada <sup>b</sup>			
		g/kg											
	0,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Milho triturado	600,38	580,02	559,65	538,14	515,91	577,98	555,60	533,20	510,52	580,62	560,89	540,50	519,05
Farelo de soja	341,76	345,56	349,37	353,39	357,55	345,86	349,96	354,06	358,21	345,45	349,13	352,94	356,95
Óleo de soja	17,96	18,59	19,22	20,25	21,52	19,75	21,55	23,35	25,25	17,95	17,94	18,15	18,73
Glicerina	0,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Fosfato bicálcico	17,97	18,02	18,07	18,13	18,18	18,03	18,08	18,14	18,20	18,02	18,07	18,12	18,17
Calcário	8,81	8,77	8,73	8,11	7,13	8,77	8,72	8,68	8,48	8,77	8,73	8,38	7,48
Sal comum	2,40	2,41	2,43	1,79	0,75	2,41	2,43	2,44	2,29	2,41	2,42	2,08	1,14
DL-Metionina 99,0%	2,41	2,43	2,46	2,49	2,51	2,44	2,47	2,50	2,53	2,43	2,46	2,48	2,51
L-Lisina HCl 79,0%	1,88	1,82	1,75	1,67	1,60	1,81	1,74	1,67	1,59	1,82	1,75	1,68	1,61
L-Treonina 98,5%	0,48	0,48	0,47	0,47	0,46	0,48	0,47	0,47	0,47	0,48	0,47	0,47	0,46
Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	0,81	2,14	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,45	1,65

Bicarbonato de sódio	3,70	2,15	0,60	0,00	0,00	2,72	1,73	0,74	0,00	2,30	0,89	0,00	0,00
Lasalocida	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Suplemento Mineral <sup>c</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento Vitamínico <sup>d</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Cloreto de colina	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Bacitracina de zinco	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Total (Kg)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural)

Proteína Bruta, g/kg	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90	207,90
EM, Kcal/kg	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000	3000
Cálcio, g/kg	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84	8,84
Fósforo disponível, g/kg	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42	4,42
Sódio, g/kg	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14

Cloro, g/kg	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90
Lisina digestível, g/kg	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46	11,46
Metionina+cistina digestível, g/kg	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14
Treonina digestível, g/kg	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45	7,45
BE (mEq/kg)	242,43	243,02	243,61	244,22	244,84	242,92	243,42	243,91	244,41	243,14	243,86	244,58	245,32

<sup>a</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>b</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>c</sup>Suplementado por kg de produto: zinco, 110g; selênio, 360mg; iodo, 1.400mg; cobre, 20g ; manganês,156g; ferro, 96g.

<sup>d</sup>Suplementado por kg de produto: ácido fólico, 1.600 mg; ácido pantotênico, 29.000 mg; biotina, 60 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 5.000 mg; niacina, 37.000 mg; vitamina A, 20.000.000 IU; vitamina B1, 3.000 mg; vitamina E, 40.500 IU; vitamina B12, 27.000 mcg; vitamina B12, 12.000mg; vitamina B6, 6.000 mg; vitamina D3, 5.000.000 IU; vitamina K3, 4.800mg.

<sup>e</sup>Glicerol proveniente da suplementação de glicerina.

<sup>f</sup>Balanço eletrolítico da dieta (BE.) foi calculada utilizando a equação propsta por Mongin (1981)), calculado com base na concentração de sódio, potássio e cloro ( $Na^+ + K^+ - Cl^-$ ).

EM: energia metabolizável.

Tabela 3. Composição das dietas experimentais no período de 22 a 35 dias de idade (experimento II)

Ingrediente	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina mista <sup>a</sup>				Glicerina semi-purificada <sup>b</sup>			
		17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho	617,39	597,48	577,55	556,37	534,60	596,23	575,06	553,90	532,34	597,44	577,47	556,77	535,13
Farelo de soja	316,02	319,63	323,24	327,08	331,03	319,85	323,69	327,53	331,44	319,64	323,26	327,01	330,94
Óleo de soja	29,53	29,91	30,29	31,09	32,11	30,36	31,19	32,01	32,98	29,80	30,06	30,58	31,42
Glicerina	0,00	17,5	35,00	52,50	70,0	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Fosfato bicálcico	16,47	16,52	16,57	16,63	16,68	16,53	16,58	16,64	16,69	16,52	16,57	16,63	16,68
Calcário	8,36	8,32	8,28	7,61	6,63	8,32	8,28	8,24	7,99	8,32	8,28	7,87	6,98
Sal comum	2,24	2,25	2,26	1,57	0,53	2,25	2,27	2,28	2,07	2,25	2,26	1,86	0,92
DL-Metionina	2,23	2,25	2,28	2,31	2,33	2,25	2,28	2,31	2,34	2,25	2,28	2,30	2,33
L-Lisina HCl	1,75	1,68	1,62	1,55	1,48	1,68	1,61	1,54	1,47	1,68	1,62	1,55	1,48
L-Treonina	0,36	0,35	0,35	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	0,34
Cloreto de	0,00	0,00	0,00	0,89	2,22	0,00	0,00	0,00	0,29	0,00	0,00	0,53	1,73

cálcio													
Bicarbonato de sódio	3,61	2,06	0,51	0,00	0,00	2,63	1,64	0,65	0,00	2,20	0,80	0,00	0,00
Lasalocida	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Suplemento mineral <sup>c</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento vitamínico <sup>d</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Cloreto de colina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Bacitracina de zinco	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural)													
EM (Kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Proteína bruta	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27	197,27
Glicerol <sup>e</sup>	0,00	12,25	24,5	36,75	49,00	1,74	3,47	5,21	6,94	13,88	27,76	41,64	55,52
Cálcio	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24

Fósforo disponível	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11	4,11
Sódio	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50	20,50
Cloro	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Lisina digestível	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73	10,73
Metionina + cistina digestível	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30	77,30
Treonina digestível	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70	69,70
BE (mEq/kg) <sup>f</sup>	230,5	231,0	231,6	232,1	232,7	231,2	231,8	232,5	233,2	231,2	231,8	232,5	233,2

<sup>a</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>b</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>c</sup>Quantidade por kg de produto: zinco, 110g; selênio, 360mg; iodo, 1.400mg; cobre, 20g ; manganês,156g; ferro, 96g.

<sup>d</sup>Quantidade por kg de produto: ácido fólico, 1.600 mg; ácido pantotênico, 29.000 mg; biotina, 60 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 5.000 mg; niacina, 37.000 mg; vitamina A, 20.000.000 IU; vitamina B1, 3.000 mg; vitamina E, 40.500 IU; vitamina B12, 27.000 mcg; vitamina B12, 12.000mg; vitamina B6, 6.000 mg; vitamina D3, 5.000.000 IU; vitamina K3, 4.800mg.

<sup>e</sup>Glicerol proveniente da suplementação de glicerina.

<sup>f</sup>Balanço eletrolítico da dieta (BE.) foi calculada utilizando a equação propsta por Mongin (1981)), calculado com base na concentração de sódio, potássio e cloro ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ ).

EM: energia metabolizável.

Tabela 4. Composição das dietas experimentais no período de 33 a 42 dias de idade (experimento III)

Ingrediente	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina bruta mista <sup>a</sup>				Glicerina semi-purificada <sup>b</sup>			
		17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho	647,53	627,33	607,14	585,52	563,44	625,21	602,87	580,54	557,60	627,94	608,34	587,83	566,53
Farelo de soja	288,27	291,93	295,60	299,52	303,52	292,32	296,37	300,42	304,58	291,82	295,38	299,10	302,96
Óleo de soja	30,70	31,30	31,90	32,99	34,24	32,48	34,27	36,06	38,05	30,66	30,63	30,91	31,46
Glicerina	0,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Fosfato bicálcico	14,94	14,99	15,04	15,09	15,15	14,99	15,05	15,11	15,17	14,99	15,04	15,09	15,14
Calcário	7,92	7,88	7,84	7,07	6,09	7,87	7,83	7,78	7,44	7,88	7,84	7,33	6,44
Sal comum	2,07	2,08	2,10	1,29	0,25	2,08	2,10	2,11	1,79	2,08	2,09	1,58	0,64
DL-Metionina	2,02	2,05	2,07	2,10	2,13	2,05	2,08	2,11	2,14	2,05	2,07	2,10	2,13
L-Lisina HCl	1,85	1,79	1,72	1,65	1,58	1,78	1,71	1,64	1,56	1,79	1,73	1,66	1,59
L-Treonina	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34

Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	1,03	2,36	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,66	1,87
Bicarbonato de sódio	3,45	1,90	0,35	0,00	0,00	2,47	1,48	0,49	0,00	2,04	0,64	0,00	0,00
Suplemento mineral <sup>b</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento vitamínico <sup>c</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloreto de colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural)													
EM (Kcal/kg)	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150
Proteína bruta	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15
Glicerol <sup>e</sup>	0,00	12,25	24,5	36,75	49,00	1,74	3,47	5,21	6,94	13,88	27,76	41,64	55,52
Cálcio	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63
Fósforo disponível	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80

Sódio	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94
Cloro	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Lisina digestível	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17
Metionina + cistina digestível	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32
Treonina digestível	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61
D.E.B. (mEq/kg) <sup>f</sup>	217,7	218,3	218,8	219,3	219,9	218,4	218,19	218,67	219,14	218,4	219,0	219,7	220,4

<sup>a</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>b</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>c</sup>Quantidade por kg de produto: zinco, 110g; selênio, 360mg; iodo, 1.400mg; cobre, 20g ; manganês, 156g; ferro, 96g.

<sup>d</sup>Quantidade por kg de produto: ácido fólico, 1.600 mg; ácido pantotênico, 29.000 mg; biotina, 60 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 5.000 mg; niacina, 37.000 mg; vitamina A, 20.000.000 IU; vitamina B1, 3.000 mg; vitamina E, 40.500 IU; vitamina B12, 27.000 mcg; vitamina B12, 12.000mg; vitamina B6, 6.000 mg; vitamina D3, 5.000.000 IU; vitamina K3, 4.800mg.

<sup>e</sup>Glicerol proveniente da suplementação de glicerina.

<sup>f</sup>Balanço eletrolítico da dieta (BE.) foi calculada utilizando a equação propsta por Mongin (1981)), calculado com base na concentração de sódio, potássio e cloro ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ ). EM: energia metabolizável.

Cada período de idade (experimento I, II e III) foi analisado separadamente. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o General Linear Model do software estatístico SAS Institute (2004) e quando significativa, a ração controle foi comparada as demais rações experimentais pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. As fontes de glicerina foram comparadas entre si pelo teste de comparação de médias de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade. Modelos de regressão polinomial ( $P < 0,05$ ) foram utilizados para avaliar o efeito da suplementação crescente de glicerina sobre o coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca e proteína bruta, a energia metabolizável aparente e energia aparente corrigida para o nitrogênio.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### *Experimento I (08 a 21 dias de idade)*

Houve influência ( $P < 0,05$ ) dos níveis de glicerina para o coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (Tabela 5), sendo observada redução linear ( $Y = -0,044X + 77,650$ ;  $R^2 = 0,91$ ) da metabolizabilidade de matéria seca com o aumento de inclusão das gliceras. Em relação ao controle, a metabolizabilidade da matéria seca não diferiu, indicando que a inclusão de glicerina na fase inicial de criação de frangos de corte, não prejudica o metabolismo e aproveitamento nutricional da ração das aves.

Para o coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) dos níveis e fontes de glicerina (Tabela 5). Foi observado efeito quadrático ( $Y = -0,0045X^2 + 0,3523X + 60,625$ ;  $R^2 = 0,77$ ) dos níveis de glicerina bruta de soja sobre o coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta, sendo a inclusão de 39,14 g/kg desta glicerina o nível que promoveu maior metabolizabilidade da proteína bruta. Para a glicerina semi-purificada houve aumento linear ( $Y = 0,0863X + 63,700$ ;  $R^2 = 0,84$ ) do coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta.

Tabela 5. Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta e energia de rações contendo diferentes fontes e níveis de glicerina

no período de 08 a 21 dias de idade

Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (%)					
Níveis (g/kg)					
	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	76,6	76,6	77,2	71,6	75,5
Mista	76,3	75,0	74,3	74,6	75,1
Semi-purificada	77,4	76,3	75,9	76,6	76,5
Média <sup>L</sup>	76,8	76,0	75,8	74,3	
Tratamento controle					76,2
Coeficiente de variação (%)					3,41
P- valores	FG xNIG	P>0,05	FG	P>0,05	NIG
Coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (%)					
Níveis (g/kg)					
	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>Q</sup>	65,8	66,3	67,9	62,9b	65,7
Mista <sup>ns</sup>	65,0	65,7	66,6	64,6b	65,5
Semi-purificada <sup>L</sup>	65,9	66,1	67,4	70,5 <sup>a</sup>	67,5
Média	65,6	66,0	67,3	66,0	
Tratamento controle					63,9
Coeficiente de variação (%)					4,33
P- valores	FG xNIG	P<0,05	FG	P>0,05	NIG
Energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn)					
Níveis (g/kg)					
	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>Q</sup>	3383	3438	3446	3307	3393
Mista <sup>L</sup>	3428	3490	3127	3259	3326
Semi-purificada <sup>ns</sup>	3409	3326	3345	3356	3359
Média	3407	3418	3306	3307	
Tratamento controle					3384
Coeficiente de variação (%)					2,91
P- valores	FG xNIG	P<0,05	FG	P>0,05	NIG

A,B diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>L</sup> Efeito linear; <sup>Q</sup> Efeito quadrático. FG: Fonte de glicerina; NG: Níveis de glicerina.

O coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta nos frangos que consumiram a ração sem inclusão de glicerina não diferiu do coeficiente de

metabolizabilidade dos frangos que ingeriram glicerinas em diferentes níveis, permitindo assim, sugerir a inclusão das glicerinas avaliadas até 70,0g/kg sem prejudicar a capacidade de metabolizabilidade de proteína bruta da ração.

Para energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn) houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) dos níveis e tipos de glicerinas avaliadas (Tabela 5). Os níveis de glicerina bruta de soja influenciaram de forma ( $Y = -0,1584X^2 + 12,60X + 3206,0$ ;  $R^2 = 0,96$ ) a EMAn, sendo a inclusão de 39,77g/kg desta glicerina, resultou em maior EMAn. Níveis crescentes da glicerina bruta mista promoveram redução linear ( $Y = -4,9714X + 3543,5$ ;  $R^2 = 0,47$ ) da EMAn. Tal redução, provavelmente ocorreu devido ao fato da glicerina bruta mista (GBM) ser proveniente da banha suína e óleo de fritura, onde há grande possibilidade de conter altos teores de ácidos graxos saturados livres, que em grandes proporções pode resultar digestão mais difícil (Lara et al., 2005), visto que, o valor de energia bruta da GBM é relativamente alto (4122 Kcal) (Tabela 1), e apenas 78,31% desta energia bruta é metabolizada. Aliado a isto, ainda pode ter ocorrido influência da maior inclusão de óleo de soja (Tabela 2), quando utilizou-se a GBM. Considerando que o sistema digestivo das aves na fase inicial ainda não está totalmente desenvolvido, o que pode resultar em menor capacidade de aproveitar a energia do óleo, resultando assim, em EMAn.

As aves que se alimentaram da ração sem inclusão de glicerina obtiveram valores de EMAn semelhante ( $P > 0,05$ ) aos valores observados para as aves que se alimentaram de rações que continham glicerinas nos diferentes níveis de inclusão (Tabela 5). Desta forma, pode-se inferir que a correção nutricional realizada para formular as rações isonutritivas, permitiu que o aproveitamento energético das rações pelas aves, não diferenciasse entre o controle e os tratamentos que continham as glicerinas.

Sendo assim, no período de 08 a 21 dias de idade é possível incluir até 70,0g/kg das glicerinas em estudo, sem prejudicar o aproveitamento

nutricional e da energia da dieta, indicando, que as glicerinas podem ser utilizadas eficientemente pelas aves. Este resultado está de acordo com Dozier et al. (2008), que observaram a eficácia dos frangos de corte em aproveitar a glicerina.

*Experimento II (22 a 35 dias de idade)*

Houve interação ( $P < 0,05$ ) dos níveis e fontes das glicerinas para o coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (Tabela 6). Foi observado efeito quadrático dos níveis de glicerina bruta de soja ( $Y = -0,0048X^2 + 0,479X + 67,345$ ;  $R^2 = 0,86$ ) e dos níveis da glicerina semi-purificada ( $Y = -0,0042X^2 + 0,3371X + 71,690$ ;  $R^2 = 0,95$ ) sobre coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca nos frangos de corte, sendo os maiores coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca obtidos com a inclusão de 49,90 g/kg de glicerina bruta de soja e 40,13 g/kg da glicerina semi-purificada. A inclusão de 17,5 e 70,0 g/kg da glicerina bruta de soja e da glicerina semi-purificada e de todos os níveis da glicerina bruta mista proporcionaram ( $P < 0,05$ ) pior metabolizabilidade da matéria seca, em relação à metabolizabilidade observada nos frangos que consumiram a dieta controle (Tabela 6).

Verificou-se interação significativa ( $P < 0,05$ ) dos níveis e tipos de glicerinas sobre o coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (Tabela 6). Os níveis de glicerina bruta de soja influenciaram a metabolizabilidade da proteína bruta de forma quadrática ( $Y = -0,0092X^2 + 0,9197X + 52,922$ ;  $R^2 = 0,82$ ), onde o maior coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta pode ser obtido com a inclusão 49,98g de glicerina bruta de soja por kg de ração. Foi observado redução linear do coeficiente de metabolizabilidade de proteína bruta das rações, com o aumento dos níveis de glicerina bruta mista ( $Y = -0,01610X + 79,48$ ;  $R^2 = 0,55$ ) e glicerina semi-purificada ( $Y = -0,1582 + 77,65$ ;  $R^2 = 0,94$ ).

Tabela 6. Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta e energia de rações contendo diferentes fontes e níveis de glicerina no período de 22 a 35 dias de idade

Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>Q</sup>	73,92*	79,17	78,149	77,52*	77,20
Mista <sup>NS</sup>	76,70*	77,39*	76,77*	75,58*	76,61
Semi-purificada <sup>Q</sup>	76,46*	77,95	78,35	74,74*	76,87
Média	75,69	78,17	77,77	75,95	
Tratamento controle					79,70
Coeficiente de variação (%)					2,77
P- valores	FG xNIG P<0,05	FG P>0,05	NIG P<0,05		
Coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>Q</sup>	65,43	76,08	73,48	72,82	71,95
Mista <sup>L</sup>	73,58	78,17	71,62	66,37	72,43
Semi-purificada <sup>L</sup>	75,24	70,98	70,32	66,23	70,69
Média	71,42	75,08	71,81	68,47	
Tratamento controle					76,08
Coeficiente de variação (%)					9,66
P- valores	FG xNIG P<0,05	FG P>0,05	NIG P>0,05		
Energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>L</sup>	3302	3390b	3390	3433a	3379
Mista <sup>L</sup>	3333	3402b	3418	3488a	3411
Semi-purificada <sup>Q</sup>	3377	3504 <sup>a</sup>	3393	3295b	3392
Média	3338	3432	3400	3405	
Tratamento controle					3422
Coeficiente de variação (%)					1,94
P- valores	FG xNIG P<0,05	FG P>0,05	NIG P<0,05		

A,B diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>L</sup> Efeito linear; <sup>Q</sup> Efeito quadrático. FG: Fonte de glicerina; NG: Níveis de glicerina.

Porém, em relação ao controle, não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos para o coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (Tabela 6). A inclusão das gliceras nas dietas mantém o coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta, podendo assim, incluir as gliceras nas dietas dentro dos níveis avaliados, sem prejudicar o aproveitamento proteico da dieta pelas aves, no período de 22 a 35 dias de idade.

Houve interação ( $P<0,05$ ) entre os níveis e tipos de glicerina para EMAn (Tabela 6). Níveis crescentes das gliceras bruta de soja ( $Y = 2,2457X + 3280,5$ ;  $R^2 = 0,85$ ) e bruta mista ( $Y = 2,7486X + 3290,9$   $R^2 = 0,95$ ) promoveram aumento linear nos valores de EMAn. Os níveis da glicerina semi-purificada promoveram efeito quadrático ( $Y = -0,1837X^2 + 14,031X + 3200,3$   $R^2 = 0,86$ ) sobre os valores de EMAn, sendo calculado que a inclusão de 38,19g/kg desta glicerina pode resultar em maior valor de EMAn dentro dos níveis avaliados para esta glicerina. Porém, todas as rações avaliadas apresentaram valores de EMAn semelhantes ( $P>0,05$ ) entre sim, não diferindo das rações contendo glicerina com a ração controle (Tabela 6). Tal resultado, já era esperado, pois as dietas foram calculadas para serem isonutritivas e isoenergéticas. Dozier et al. (2008), incluíram 30,0; 60,0 e 90,0 g/kg de glicerina nas dietas e não observaram diferença nos valores de EMAn entre estas dietas com glicerina e a dieta controle, sem glicerina, no período de 21 a 24 dias de idade.

#### *Experimento III (33 a 42 dias de idade)*

Não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) dos níveis, fontes e nem interação destes sobre o coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (Tabela 7). Os frangos que consumiram diferentes níveis das gliceras avaliadas apresentaram o coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca semelhante ( $P>0,05$ ) ao coeficiente das aves que receberam a dieta controle (Tabela 7).

Tabela 7. Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca, proteína bruta e energia de rações contendo diferentes fontes e níveis de glicerina no período de 33 a 42 dias de idade

Coeficiente de metabolizabilidade da matéria seca (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	76,19	77,96	77,90	77,15	77,30
Mista	77,00	77,26	76,08	76,46	76,45
Semi-purificada	75,22	75,97	77,91	76,28	76,34
Média	76,14	77,06	77,30	76,63	
Tratamento controle					76,42
Coeficiente de variação (%)				2,24	
P- valores	FG xNIG P>0,05	FG P>0,05	NIG P>0,05		
Coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	65,36	65,12	64,45	64,11	64,76ab
Mista	68,05	64,79	66,16	67,36	66,59a
Semi-purificada	59,11	63,65	67,04	59,98	62,44b
Média	64,17	64,52	65,88	63,82	
Tratamento controle					66,80
Coeficiente de variação (%)				7,46	
P- valores	FG xNIG P>0,05	FG P<0,05	NIG P>0,05		
Energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio (EMAn)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	3503*	3608*	3598*	3597*	3577
Mista	3515*	3543*	3557*	3684*	3575
Semi-purificada	3481	3538*	3558*	3556*	3533
Média <sup>L</sup>	3500	3563	3571	3613	
Tratamento controle					3467
Coeficiente de variação (%)				1,90	
P- valores	FG xNIG P>0,05	FG P>0,05	NIG P<0,05		

A,B diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>L</sup>

Efeito linear; <sup>Q</sup> Efeito quadrático. FG: Fonte de glicerina; NG: Níveis de glicerina.

O coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta foi influenciado ( $P < 0,05$ ) pelos tipos de glicerina avaliadas (Tabela 7), sendo a glicerina bruta mista o tipo de glicerina que promoveu maior metabolizabilidade da proteína, e a menor metabolizabilidade obtida com a glicerina semi-purificada, resultado difícil de ser explicado, pois a composição da glicerina bruta mista não atende aos padrões exigidos pelo Ministério da Agricultura (PAULO, 2010). O coeficiente de metabolizabilidade da proteína bruta das rações para os diferentes tratamentos com glicerina não diferiram ( $P > 0,05$ ) do controle (Tabela 7).

Os valores de EMAn foram influenciados pelos níveis ( $P < 0,05$ ) de inclusão das gliceras (Tabela 7), sendo observado aumento linear ( $Y = 1,9829X + 3475,0$ ;  $R^2 = 0,92$ ) dos valores de EMAn com a crescente inclusão de glicerina. Em relação ao controle, com exceção da ração que continha 17,5g/kg de glicerina semi-purificada, que não diferiram entre si, as demais rações com as gliceras em diferentes níveis de inclusão promoveram valores de EMAn superiores à ração controle. Diferente do que Dozier et al. (2008) observaram ao incluir 30,0; 60,0 e 90,0g/kg de glicerina e ao comparar com o controle não observou diferença para EMAn, somente com a inclusão de 90,0 g/kg, onde obteve valor de EMAn superior ao controle, para frangos no período de 42 a 45 dias de idade.

## **CONCLUSÃO**

Conclui-se que, não há piora na metabolizabilidade de rações contendo as três fontes de gliceras avaliadas e os três períodos de criação avaliados, podendo incluir 70g das gliceras/kg de ração.

## **AGRADECIMENTO**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de

Ciência Animal (INCT-CA) pelo apoio financeiro e à Granol Ind. Exp S/A pela disponibilização da glicerina de óleo de soja semi-purificada.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL. Rio de Janeiro: ANP, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 10 maio 2012.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerin from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

DOZIER, W. A. et al. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, p. 317–322, 2008.

LARA, L. J. C. et al. Efeito de fontes lipídicas sobre o desempenho de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 6, p. 792-798, dez. 2005.

LIMA, E. M. C. et al. The energy value of biodiesel glycerine products fed to broilers at different ages. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 5, n. 10, p. 1515-1520, Aug. 2012.

MATTERSON, L. D. et al. **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Connecticut: The University of Connecticut, 1965.

PAULO, B. J. A. Glicerina, subproduto da indústria do biodiesel, perspectivas de uso na alimentação animal. Brasília: MAPA, 2010. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/camaras\\_setoriais/Oleaginosas\\_e\\_biodiesel/10\\_reuniao/Apresentacao\\_Glicerina.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Oleaginosas_e_biodiesel/10_reuniao/Apresentacao_Glicerina.pdf)>. Acesso em: 25 maio 2012.

RIVALDI, J. R. et al. Glicerol de biodiesel. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.37, p. 44-51, 2007.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:** composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV/DZO, 2005.

SAS INSTITUTE. **User's guide:** version 9.00. 4. ed. Rockville: SAS, 2004.

SWITKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 615-619, Mar. 2009.

## **CAPÍTULO 8**

### **QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS ALIMENTOS COM DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE GLICERINA**

#### **RESUMO**

Avaliou-se a qualidade de peitos de frangos alimentados com rações contendo diferentes glicerinas. Foram utilizados 1300 frangos machos, da linhagem Cobb 500, num arranjo fatorial  $4 \times 3 + 1$ , em delineamento inteiramente casualizados, sendo quatro níveis de inclusão (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0g/kg) das glicerinas bruta de soja (GBOS), bruta mista (GBM) e semi-purificada (GOSSP) nas dietas de frangos de corte no período de 33 a 42 dias de idade, e um tratamento sem glicerina. Utilizou-se quatro repetições e 25 aves por parcela, e no final, foram abatidas seis aves por parcela. O pH final de nenhum tratamento diferiu do controle. Para cor, não observou-se diferença da inclusão das glicerinas em relação ao controle. Para a perda de água por descongelamento (PAD) houve interação dos níveis e fontes de glicerina, havendo um aumento linear com a inclusão da GBOS e GBM e redução linear para a GOSSP. A inclusão das glicerinas resultou em menor PAD em relação ao controle. Para perda de água por cocção houve redução linear com a inclusão das glicerinas, e entre as fontes, a GBOS promoveu perda maior que a GOSSP. A inclusão das glicerinas não diferiu em relação ao controle. Houve aumento linear da textura com aumento da inclusão da GBOS e GBM, e redução linear para a GOSSP. Somente a inclusão de 70,0g/kg da GBM diferiu do controle, resultando em maior textura. O aumento da inclusão das glicerinas resultou em melhora na aceitação da carne, porém, a inclusão das glicerinas não diferiu do controle. Conclui-se que, a GBOS e a GOSSP podem ser incluídas nas rações até 70,0g/kg e a GBM até 52,5 g/kg mantendo a qualidade da carne.

Palavras-chave: análise sensorial, cor, glicerol, peito de frango, textura

## ABSTRACT

Was evaluated the quality of the chicken breasts fed diets containing different glycerins. Male chickens were used in 1300, the Cobb 500, a 4x3 +1 factorial arrangement in completely randomized design, with four levels (17.5, 35.0, 52.5 and 70.0 g / kg) of gross glycerins soybean (GBOS), gross mixed (GBM) and semi-purified (GOSSP) in the diets of broilers in the period of 33 to 42 days of age, and treatment without glycerin. We used four replicates and 25 birds per cage, and in the end, were slaughtered six birds per plot. The final pH of any treatment differed from the control. For color, no difference was observed inclusion of glycerins compared to control. For water loss by thawing (DAP) was no interaction levels and sources of glycerin, with a linear increase with the addition of GBOS and GBM and linear reduction for GOSSP. The inclusion of glycerins resulted in lower DBP compared to control. For water loss by cooking was linearly reduced with the inclusion of glycerides, and between sources, GBOS promoted a greater loss than GOSSP. The inclusion of glycerins not different compared to control. Increased linearly with increasing texture inclusion of GBOS and GBM, and abatement for GOSSP. Only the addition of 70.0 g / kg of GBM differ from control, resulting in greater texture. Increased inclusion of glycerins resulted in better acceptance of meat, however, the inclusion of glycerins not differ from control. It is concluded that the GBOS GOSSP and can be included in the feed to 70.0 g / kg and GBM until 52.5 g / kg keeping the meat quality.

Keywords:sensory analysis, color, glycerol, chicken breast, texture

## **INTRODUÇÃO**

A produção de energia à partir de fontes renováveis tem sido intensificada, e no Brasil é crescente o aumento da produção de biodiesel, que, segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (2012) a produção em biodiesel em 2011 foi de 2,4 bilhões de litros. Considerando que a cada litro de biodiesel produzido, são gerados 100 ml de glicerina bruta, isto significa que para 2,4 bilhões de litros de biodiesel podem ser obtidos cerca de 240 milhões de litros de glicerina bruta. Com isso, ocorre uma produção de glicerina acima da demanda do mercado, o que impulsiona os pesquisadores a buscarem novas utilidades deste co-produto. Devido à falta de legislação para o descarte da glicerina produzida em excesso, este co-produto pode tornar-se, desta maneira, um problema ambiental.

Vários estudos comprovaram a possibilidade de utilização da glicerina bruta na alimentação animal, por ser considerada uma boa fonte de energia dietética para aves e suínos (CERRATE et al., 2006; DOZIER et al., 2008). Sendo esta uma alternativa viável e ambientalmente sustentável para destinar parte deste co-produto no mercado, já que poderá evitar que a produção excedente tenha destinos inadequados, de forma a contaminar o meio ambiente. Porém é importante saber se a glicerina consumida pelos frangos interfere na qualidade da carne.

Segundo Simon, Schwabe e Bergner (1997), o glicerol pode promover efeito benéfico sobre a captação de água na carcaça dos frangos devido a sua fácil retenção no músculo das aves. Desta forma, acredita-se que o glicerol presente na glicerina tem potencial para aumentar a retenção de líquido na carne, melhorando a qualidade desta, e conseqüentemente, a aceitação desta pelo consumidor. Assim, objetivou-se avaliar a qualidade de peito de frangos

alimentados com rações contendo níveis de glicerina bruta de óleo de soja, bruta mista e semi-purificada.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, utilizando-se 1300 frangos de corte machos, da linhagem Cobb 500 num arranjo fatorial 4x3+1, com delineamento inteiramente casualizados, sendo quatro níveis de inclusão de três gliceras nas dietas (17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g/kg) e um tratamento controle, sem inclusão de glicerina. Ao todo, foram treze tratamentos com quatro repetições e 25 aves por unidade experimental no período de 33 a 42 dias de idade. As gliceras utilizadas foram glicerina bruta de soja (GBOS), glicerina bruta mista (GBM) e glicerina semi-purificada – GENPA<sup>®</sup> (GOSSP). As dietas foram formuladas para atender as exigências nutricionais de acordo com recomendações das tabelas brasileiras (ROSTAGNO et al., 2005) (Tabela 1). Devido à elevada concentração de sódio nas gliceras utilizadas, ajustou-se o sal nas fórmulas das rações, com devidas correções para o sódio e o cloro, este último corrigido pela adição de cloreto de cálcio. Na formulação das rações, utilizou-se um valor médio de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio para cada glicerina (3279, 3228 e 3304 kcal/kg de matéria natural, respectivamente), previamente determinados por Lima et al. (2012). A composição nutricional das gliceras encontram-se na Tabela 2. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria, dividido em boxes de 3 m<sup>2</sup>. O piso de cada box foi coberto com maravalha e cada box continha um comedouro tubular, um bebedouro pendular. Todos os procedimentos utilizados na condução do experimento foram aprovados pelo Comitê de Bioética da Universidade Federal de Lavras.

Aos 42 dias de idade, para avaliação do pH, cor, perda de água por descongelamento e cocção, textura e análise sensorial de peitos de frangos,

foram selecionadas e abatidas seis aves por parcela (24 aves por tratamento no total) com o peso de aproximadamente 5,0% da média do respectivo boxe.

Para determinação de pH utilizou-se um eletrodo de penetração, diretamente no peito as aves 45 minutos após o abate (pH inicial) e 24 horas após o resfriamento a 4°C (pH final).

A cor da carne foi medida na parte central do músculo *Pectoralis major* mediante utilização de colorímetro do tipo Konica Minolta, no sistema L\* a\* b\* (L\* = componente de luminosidade; a\* = componente de intensidade de vermelho-verde e b\* = componente de intensidade de amarelo-azul) (KONICA MINOLTA HOLDINGS, 1998).

A perda de água por descongelamento foi avaliada pela diferença de peso da amostra congelada e após armazenamento por 24 horas a 4°C. As determinações de perda de água na cocção foram realizadas de acordo com Bridi e Silva (2007), que consiste na diferença entre o peso da amostra descongelada e a amostra assada. As amostras foram cortadas em bifês de 2,5 cm de espessura. Em seguida, os bifês foram assados em forno elétrico pré-aquecido a temperatura de 200°C, com a grelha forrada com papel alumínio, sem adição de qualquer condimento até atingir 40°C. Em seguida, foram viradas e mantidas no forno até a temperatura de 71°C, sendo então retiradas. Após atingirem a temperatura ambiente, foram embaladas e armazenadas por 24 horas na geladeira e novamente pesadas.

A análise de textura foi realizada nas mesmas amostras utilizadas para análise de perda de água por cocção. Após a cocção, as amostras foram armazenadas por 24 horas a 4°C e, em seguida, foram retiradas subamostras de 2 cm de largura, 1 cm de espessura e 1 cm de comprimento. A força de cisalhamento foi tomada perpendicular à orientação das fibras musculares com a lâmina no texturômetro (BRIDI; SILVA, 2007).

Para conduzir a análise sensorial da carne, as metades direitas dos peitos foram temperados com 1,0% de NaCl. Em seguida, os bifês foram assados em forno elétrico pré-aquecido a temperatura de 200°C, até atingir

40°C. Em seguida, foram virados e mantidos no forno até a temperatura de 71°C, sendo então retiradas. Uma amostra composta foi obtida a partir dos peitos cortados em cubos de aproximadamente 1,5cm de aresta. Os testes de aceitação foram realizados com 50 provadores não treinados. Em cabines individuais, sob condições de temperatura e iluminação controladas. As amostras foram servidas ainda quentes (em torno de 40°C) em copinhos descartáveis de 50mL, codificados com números aleatórios de 3 dígitos e apresentadas de forma monádica com ordenação balanceada de maneira a evitar vícios nos resultados (MACFIE et al., 1989). A impressão global das amostras foram avaliados por meio de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (PERYAM; PILGRIM, 1957). Para efeito de análise estatística, as categorias da escala foram convertidas em valores numéricos, sendo atribuídos os seguintes valores:

- 9 - gostei muitíssimo
- 8 - gostei muito
- 7 - gostei moderadamente
- 6 - gostei ligeiramente
- 5 - nem gostei/nem desgostei
- 4 - desgostei ligeiramente
- 3 - desgostei moderadamente
- 2 - desgostei muito
- 1 - desgostei muitíssimo

As análises estatísticas das variáveis avaliadas foram realizadas pelo General Linear Model do software estatístico SAS Institute (2004). Realizou-se a ANOVA dos dados e, quando significativos, as fontes de glicerina foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls e os níveis das gliceras por análise de regressão. O tratamento controle foi comparado à média dos tratamentos com glicerina pelo teste de Dunnett à 5% de probabilidade.

Tabela 1. Ingredientes e composição nutricional calculada das dietas (g/kg com base na matéria natural) no período de 33 a 42 dias de idade

Ingrediente	Controle	Glicerina bruta de óleo de soja				Glicerina bruta mista <sup>a</sup>				Glicerina semi-purificada <sup>b</sup>			
		17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0	17,5	35,0	52,5	70,0
Milho	647,53	627,33	607,14	585,52	563,44	625,21	602,87	580,54	557,60	627,94	608,34	587,83	566,53
Farelo de soja	288,27	291,93	295,60	299,52	303,52	292,32	296,37	300,42	304,58	291,82	295,38	299,10	302,96
Óleo de soja	30,70	31,30	31,90	32,99	34,24	32,48	34,27	36,06	38,05	30,66	30,63	30,91	31,46
Glicerina	0,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00	17,50	35,00	52,50	70,00
Fosfato bicálcico	14,94	14,99	15,04	15,09	15,15	14,99	15,05	15,11	15,17	14,99	15,04	15,09	15,14
Calcário	7,92	7,88	7,84	7,07	6,09	7,87	7,83	7,78	7,44	7,88	7,84	7,33	6,44
Sal comum	2,07	2,08	2,10	1,29	0,25	2,08	2,10	2,11	1,79	2,08	2,09	1,58	0,64
DL-Metionina	2,02	2,05	2,07	2,10	2,13	2,05	2,08	2,11	2,14	2,05	2,07	2,10	2,13
L-Lisina	1,85	1,79	1,72	1,65	1,58	1,78	1,71	1,64	1,56	1,79	1,73	1,66	1,59

HCl													
L-Treonina	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34	0,35	0,34	0,34	0,34
Cloreto de cálcio	0,00	0,00	0,00	1,03	2,36	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,66	1,87
Bicarbonato de sódio	3,45	1,90	0,35	0,00	0,00	2,47	1,48	0,49	0,00	2,04	0,64	0,00	0,00
Suplemento mineral <sup>b</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento vitamínico <sup>c</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloreto de colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição nutricional calculada (g/kg com base na matéria natural)													
EM (Kcal/kg)	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150	3150
Proteína bruta	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15	187,15

Glicerol <sup>c</sup>	0,00	12,25	24,5	36,75	49,00	1,74	3,47	5,21	6,94	13,88	27,76	41,64	55,52
Cálcio	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63	7,63
Fósforo disponível	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80
Sódio	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94	1,94
Cloro	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Lisina digestível	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17	10,17
Metionina + cistina digestível	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32	7,32
Treonina digestível	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61	6,61
D.E.B. (mEq/kg) <sup>f</sup>	218	218	219	219	220	218	218	219	219	218	219	220	220

<sup>a</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>b</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>c</sup>Suplementado por kg da dieta: Zn, 55mg; Se, 0,18 mg; I, 0,70 mg; Cu, 10 mg ; Mn, 78 mg; Fe, 48 mg.

<sup>d</sup>Suplementado por kg da dieta: ácido fólico, 0,32 mg; ácido pantotênico, 5,8 mg; biotina, 0,012 mg; butilhidroxi tolueno (BHT), 1,0 mg; niacina, 7,4 mg; vitamina A, 4000 IU; vitamina B1, 0,6 mg; vitamina E, 8,1 IU; vitamina B12, 5,4 µg; vitamina B2, 2,4 mg; vitamina B6, 1,2 mg; vitamina D3, 1.000 IU; vitamina K3, 0,96 mg.

<sup>e</sup>Glicerol proveniente da suplementação de glicerina.

<sup>f</sup>Dietary electrolyte balance (D.E.B.) was calculated using the equation proposed by Mongin (1981), which correlates the calculated concentrations of sodium, potassium and chloride ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ ).

EM: energia metabolizável.

Tabela 2. Composição química das glicerinas avaliadas<sup>a</sup>

Parâmetro	Glicerina bruta de óleo de		Glicerina de óleo de soja
	soja	Glicerina bruta mista <sup>b</sup>	semi-purificada <sup>c</sup>
Umidade e voláteis (g/kg)	167,5	554,4	110,8
Umidade Karl Fischer (g/kg)	124,5	389,5	101,5
Glicerol (g/kg)	700,0	99,2	793,1
Energia bruta (kcal/kg)	3661	4122	3698
Proteína bruta (g/kg)	0,3	2,3	0,4
Metanol <sup>d</sup>	181,3	111,9	20,6
Sódio (g/kg)	23,8	15,1	21,6
Fósforo total (g/kg)	0,0	0,0	0,3
Potássio (g/kg)	0,6	0,4	0,9
pH em solução aquosa	6,05	9,85	5,72

<sup>a</sup>Análises químicas realizadas pelo CBO análises laboratorias, Campinas/São Paulo, Brasil.

<sup>b</sup>Glicerina bruta oriunda de óleo de fritura e banha suína.

<sup>c</sup>Glicerina de óleo de soja semi-purificada (GENPA<sup>®</sup>, Granol Indústria, Comércio e Exportação S/A).

<sup>d</sup>Em mg/L para as glicerinas de soja bruta e semi-purificada. Em g/kg para a glicerina mista.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não houve interação e nem influência ( $P>0,05$ ) dos níveis e fontes de glicerina sobre o pH inicial do peito de frango (Tabela 3). Também não foi verificada diferença do pH inicial no peito entre os frangos que se alimentaram de rações contendo glicerina e a dieta controle. Já para o pH final, observou-se apenas a influência das fontes de glicerina, onde a glicerina semi-purificada foi a fonte que promoveu o maior valor de pH (Tabela 3), porém, não houve diferença de pH final entre o tratamento controle e os demais tratamentos com glicerina (Tabela 3). Os valores de pH observados na presente pesquisa foram superiores à valores encontrados em outras pesquisas (CASTRO et al., 2008; SANTOS et al., 2005).

Tabela 3. Valores de pH no peito de frangos alimentados com rações contendo glicerinas em diferentes níveis no período de 33 a 42 dias de idade

pH inicial					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	6,08	6,06	6,06	6,04	6,06
Mista	6,07	6,08	6,08	6,07	6,07
Semi-purificada	6,04	6,06	6,09	6,05	6,06
Tratamento controle					6,10
Coefficiente de variação (%)					0,77
P- valores	FG x NIG P>0,05		FG P>0,05		NIG P>0,05
pH final					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	6,25	6,26	6,29	6,19	6,25b
Mista	6,21	6,22	6,25	6,21	6,22b
Semi-purificada	6,26	6,32	6,40	6,40	6,34a
Tratamento controle					6,22
Coefficiente de variação (%)					1,84
P- valores	FG x NIG P>0,05		FG P<0,05		NIG P>0,05

A,B diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>Q</sup> Efeito quadrático. L \* = luminosidade; a\* = tendência para cor vermelha; b \* = tendência para cor amarela. FG: Fonte de glicerina; NG: Níveis de glicerina.

A luminosidade da carne (L\*) não foi influenciada (P>0,05) pela inclusão de glicerina, sendo os resultados de L\* encontrados nesta pesquisa semelhantes ao controle (Tabela 4). Para Cromo a\*, houve influência (P<0,05) apenas das fontes de glicerina, onde a glicerina semi-purificada apresentou mais tendência para a cor vermelha que a glicerina bruta de soja (Tabela 4), porém, os tratamentos com glicerina não diferiram do tratamento controle. Já para o Cromo b\*, não observou-se diferença (P>0,05) da inclusão das glicerinas nem para os níveis e nem em relação ao controle (Tabela 4).

Tabela 4. Cor no peito de frangos alimentados com rações contendo glicerinas em diferentes níveis no período de 33 a 42 dias de idade

Cor (L*)					
Níveis (g/Kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	60,37	60,72	60,26	59,80	60,29
Mista	59,55	60,15	60,48	59,92	60,03
Semi-purificada	60,62	60,21	59,97	60,64	60,36
Tratamento controle					59,86
Coefficiente de variação (%)					1,54

NIG P>0,05	NIG P>0,05		NIG P>0,05		NIG P>0,05
Cor (a*)					
Níveis (g/Kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	5,66	5,99	6,04	6,06	5,94b
Mista	6,41	6,25	5,90	5,90	6,12ab
Semi-purificada	6,15	6,37	6,55	6,50	6,39a
Tratamento controle	6,50				
Coeficiente de variação (%)			6,84		
NIG P>0,05	NIG P>0,05		NIG P<0,05		NIG P>0,05
Cor (b*)					
Níveis (g/Kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	3,05	13,88	14,52	14,03	13,87
Mista	14,22	13,94	13,72	13,65	13,88
Semi-purificada	14,46	13,87	13,77	13,53	13,90
Tratamento controle	14,26				
Coeficiente de variação (%)			5,72		
NIG P>0,05	NIG P>0,05		NIG P>0,05		NIG P>0,05

A,B diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>Q</sup> Efeito quadrático. L \* = luminosidade; a\* = tendência para cor vermelha; b \* = tendência para cor amarela. FG: Fonte de glicerina; NG: Níveis de glicerina.

Houve interação significativa (P<0,05) entre os níveis e fontes de glicerina para perda de água por descongelamento (PAD) (Tabela 5), observando-se um aumento linear na PAD para a glicerina bruta de soja ( $Y = 0,0056X + 0,405$ ;  $R^2 = 0,90$ ) e glicerina bruta mista ( $Y = 0,0076X + 0,550$ ;  $R^2 = 0,91$ ); discordando assim, de Mourot et al. (1994), que sugerem que a presença de glicerol na dieta, pode reduzir a perda de água na carne, e de Lammers et al. (2008), que em suínos relataram não haver diferenças na capacidade de retenção de água da carne com a inclusão de glicerol na ração. E para a glicerina semi-purificada, observou-se redução linear na PAD com o aumento dos níveis de inclusão ( $Y = -0,132X + 1,415$ ,  $R^2 = 0,99$ ). Porém, em relação ao controle, todos os tratamentos com inclusão das glicerinas resultaram menor (P<0,05) perda de água por descongelamento (Tabela 5). Para perda de água por cocção (PAC) houve influência (P<0,05) dos níveis e fontes de glicerina. Entre as fontes, apenas diferiu a glicerina bruta de soja da glicerina semi-purificada, onde a primeira apresentou maior PAC. Para os níveis, observou-se redução linear ( $Y = -0,0457X + 22,65$ ;  $R^2 = 0,99$ ) da perda de água por cocção, com o aumento da inclusão das glicerinas (Tabela 5). Mas, não houve diferença em relação ao controle entre os tratamentos com as glicerinas e o tratamento controle (Tabela 5). De maneira geral, a inclusão das glicerinas reduziram a perda de água na carne, sendo a menor perda observada com a inclusão de 70,0 g/kg da glicerina semi-purificada.

Tabela 5. Perda de água por descongelamento (%) e perda de água por cocção (%) em peito de frangos alimentados com rações contendo diferentes fontes e níveis de glicerina no período de 33 a 42 dias de idade

Perda de água por descongelamento (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>L</sup>	0,54b*	0,54b*	0,71*	0,81b*	0,65
Mista <sup>L</sup>	0,66b*	0,88a*	0,89*	1,10a*	0,88
Semi-purificada <sup>L</sup>	1,18a*	0,97a*	0,70*	0,50c*	0,84
Tratamento controle					1,36
Coeficiente de variação (%)			8,00		
P-valores	FGx NIG P<0,05		FG P<0,05		NIG P>0,05
Perda de água por cocção (%)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	22,67	21,62	20,96	20,34	21,40a
Mista	21,37	21,03	20,35	20,19	20,74ab
Semi-purificada	21,72	20,29	19,23	18,03	19,81b
Média <sup>1</sup>	21,92	20,98	20,18	19,52	
Tratamento controle					19,76
Coeficiente de variação (%)			6,53		
P-valores	FG NIG P>0,05		FG P<0,05		NIG P<0,05

a,b diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>L</sup>Efeito linear. FG: Fontes de glicerina; NG: Níveis de glicerina.

Houve interação significativa (P<0,05) dos níveis e fontes de glicerinas para a força de cisalhamento (Textura) (Tabela 6). Observou-se aumento linear na textura dos peitos de frango com o aumento da inclusão da glicerina bruta de soja ( $Y = 0,0238X + 2,11$ ;  $R^2 = 0,90$ ) e da bruta mista ( $Y = 0,0253X + 3,015$ ;  $R^2 = 0,56$ ). Este resultado pode ser consequência do aumento linear na perda de água por descongelamento, com o aumento da inclusão destas glicerinas.

Tabela 5. Perda Força de cisalhamento (textura) e análise senorial de peito de frangos alimentados com rações contendo diferentes fontes e níveis de glicerina no período de 33 a 42 dias de idade

Textura (Kgf/g)					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja <sup>L</sup>	2,70c	2,70b	3,32 <sup>a</sup>	3,88b	3,15
Mista <sup>L</sup>	3,78a	3,73a	3,71 <sup>a</sup>	5,26a*	4,12
Semi-purificada <sup>L</sup>	3,25b	3,62a	2,59b	2,10b	2,89
Média	3,24	3,35	3,20	3,74	
Tratamento controle					2,95
Coeficiente de variação (%)					9,08
P-valores	FG NIG P<0,05		FG P<0,05		NIG P<0,05
Análise sensorial					
Níveis (g/kg)					
Glicerinas	17,5	35,0	52,5	70,0	Média
Soja	6,31	6,88	6,95	6,94	6,77a
Mista	6,69	6,74	6,76	6,89	6,77a
Semi-purificada	5,86	6,19	6,59	6,87	6,38b
Média <sup>L</sup>	6,29	6,60	6,77	6,90	
Tratamento controle					6,52
Coeficiente de variação (%)					7,48
P-valores	FG NIG P>0,05		FG P<0,05		NIG P<0,05

a,b diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls; \* Média difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett; NS = não significativo; <sup>L</sup>Efeito linear.

Para a glicerina semi-purificada, houve redução linear ( $Y = -0,0256X + 4,01$ ;  $R^2 = 0,73$ ) na textura com o aumento de sua inclusão. Podendo haver relação, com a redução na perda de água por descongelamento observada para os níveis crescentes de glicerina, ou seja, se houve maior retenção de água, conseqüentemente, a carne possuirá maior maciez. Porém, somente a inclusão de 70,0 g/kg da glicerina bruta mista que diferiu do controle ( $P<0,05$ ), resultando em maior força de cisalhamento (Tabela 6). Desta forma, pode-se sugerir a inclusão da glicerinas bruta de soja e glicerina semi-purificada até 70,0g/kg, e a glicerina bruta mista até 52,5 g/kg nas rações, pois não prejudica a maciez da carne.

Houve efeito ( $P<0,05$ ) dos níveis e fontes de glicerina para análise sensorial (Tabela 6). Entre as aves que se alimentaram com rações contendo glicerinas, observou-se que com o aumento da inclusão destas, aumentou também a aceitação do peito de frango pelos consumidores. Entre as fontes, a glicerina bruta de soja e bruta mista tiveram maior aceitação. Ao comparar ao controle, a aceitação dos peitos de frangos pelos consumidores não diferiu ( $P>0,05$ ), podendo afirmar que a inclusão da glicerina bruta de soja, glicerina bruta mista e da glicerina semi-purificada pode ser feita, pois não afeta negativamente o sabor da carne.

## CONCLUSÃO

Comparando à qualidade dos peitos de frangos que se alimentaram com rações sem glicerina, conclui-se que é possível incluir 70,0g/kg da glicerina bruta de soja e a glicerina semi-purificada e 52,5 g/kg da glicerina bruta mista, mantendo-se a qualidade da carne.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal - INCT-CA, pelo apoio financeiro, e à Granol Ind. Com. Exp. S/A pelo fornecimento da glicerina purificada.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCONBUSTÍVEL. Rio de Janeiro: ANP, 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 11 jul. 2011.

BRIDI, A. M.; SILVA, C. A. **Métodos de avaliação de carcaça e da carne suína**. Londrina: Midiograf, 2007.

CASTRO, J. B. J. et al. Jejum alimentar na qualidade da carne de frangos de corte criados em sistema convencional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 470-476, mar./abr. 2008.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerin from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

DOZIER, W. A. et al. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, p. 317-322, 2008.

KONICA MINOLTA HOLDINGS. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. Japan: Minolta, 1998.

LAMMERS, P. J. et al. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. **Poultry Science**, Mississippi, n. 87, p. 104-107, 2008.

LIMA, E. M. C. et al. The energy value of biodiesel glycerine products fed to broilers at different ages. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 5, n. 10, p. 1515-1520, Aug. 2012.

MACFIE, H. J. et al. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, Westport, v. 4, n. 2, p. 129-148, Sept. 1989.

MOUROT, J. et al. Nutritional and physiological effects of dietary glycerol in the growing pig. Consequences on fatty tissues and post mortem muscular parameters. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 38, p. 237-244, 1994.

PERYAM, D. R.; PILGRIM, P. J. Hedonic scale method for measuring food preferences. **Food Technology**, Chicago, v. 11, n. 9, p. 9-14, Sept. 1957.

RIVALDI, J. R. et al. Glicerol de biodiesel. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.37, p. 44-51, 2007.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV/DZO, 2005.

SANTOS, A. L. et al. Estudo do crescimento, desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne de três linhagens de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.5, p.1589-1598, set./out. 2005.

SAS INSTITUTE. **User's guide**: version 9.00. 4. ed. Rockville: SAS, 2004.

SIMON, A.; SCHWABE, M.; BERGNER, H. Glycerol supplementation to broilers rations with low crude protein content. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 50, p. 271-282, 1997.

SWITKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 615-619, Mar. 2009.