HORTÊNCIA CAMPOS MAZZO

Suplementação de glicerina na dieta de equinos

Pirassununga

2018

HORTÊNCIA CAMPOS MAZZO

Suplementação de glicerina na dieta de equinos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal (VNP)

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira
Gobesso

Pirassununga

2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3626
FMVZ

Mazzo, Hortência Campos
Suplementação de glicerina na dieta de equinos. / Hortência Campos Mazzo. --
2018.
67 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, São Paulo, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso.

1. Comportamento. 2. Digestibilidade. 3. Glicerol. 4. Equino. 5. Fermentabilidade. I. Título.

ERRATA

MAZZO, H. C. **Suplementação de glicerina na dieta de equinos**. 2018. 64 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Página	Onde se lê	Leia-se
Ficha Catalográfica	67 p.	64 p.
Ficha Catalográfica	São Paulo	Pirassununga
RESUMO	65 f.	64 p.
ABSTRACT	65 f.	64 p.

PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Suplementação de glicerina na dieta de equinos", protocolada sob o CEUA nº 8156080517, sob a responsabilidade de **Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso e equipe; Hortência Campos Mazzo** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 01/02/2018.

We certify that the proposal "Glycerin supplementation in equine diet", utilizing 8 Equines (8 males), protocol number CEUA 8156080517, under the responsibility of **Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso and team; Hortência Campos Mazzo** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 02/01/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **04/2017** a **11/2017**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais provenientes de outros projetos**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Machos**

idade: **9 a 10 anos**

N: **8**

Linhagem: **Mini-Horse**

Peso: **140 a 184 kg**

Resumo: A glicerina é uma boa substituta de alimentos ricos em amidos, o que auxilia na prevenção de problemas metabólicos e digestivos causados pelo seu alto consumo. Neste estudo será feita comparação de níveis de adição de glicerina na dieta de Mini-horse em manutenção. Serão utilizados 8 equinos machos, castrados, da raça Mini-horse, com idade aproximada de 9 anos $\pm$ 6 meses e peso corporal médio de $156,06 \pm 18,13$ kg. Os animais serão alojados em baias individuais. Será adotado consumo diário individual de 1,75% do peso corporal (PC), sendo 1% do PC em matéria seca (MS) do volumoso e 0,75% do PC em MS do concentrado, divididos em duas refeições diárias, com água ad libitum. O delineamento experimental utilizado será um quadrado latino 4 x 4, sendo a unidade experimental o animal dentro de cada período experimental. As dietas diferirão quanto ao nível de inclusão de glicerina (0, 4, 8 e 12%) que serão calculados com relação à porcentagem de concentrado fornecidos por animal. A avaliação será realizada em quatro períodos, sendo 14 dias de adaptação à dieta, 5 dias de coleta total de fezes (CTF) e 2 semanas de intervalo entre os períodos. A digestibilidade aparente total dos nutrientes será avaliada a partir da CTF dos animais alocados em baias de concreto sem cama. A resposta glicêmica, insulinêmica, função hepática e renal, triglicerídeos e colesterol, análise de AGNE, serão avaliados com coletas de amostras de sangue no segundo dia de CTF. A avaliação do pH será feita por meio de pHmetro. Será avaliado o comportamento alimentar e hídrico dos animais por meio de câmeras instaladas nas baias e observação. Os dados serão submetidos à análise pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2010).

Local do experimento: O experimento será conduzido no Laboratório de Pesquisa em Alimentação e Fisiologia do Exercício em Equinos (LabEqui) pertencente ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo em Pirassununga (SP).

São Paulo, 06 de fevereiro de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traidi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Roseli da Costa Gomes
Secretária Executiva

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: MAZZO, Hortência Campos

Título: **Suplementação de glicerina na dieta de equinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

*Aos meus avós (in memoriam) em nome de toda família,
Aos meus amados pais, Luiz e Terezinha,
Aos meus irmãos queridos, Luana e Luiz Carlos,
Aos meus sobrinhos Heloísa, Laura, Luiz Miguel, minhas fontes de alegria,
Ao cavalo, minha paixão,
Dedico essa obra.*

AGRADECIMENTOS

Obrigada meu Deus e minha Nossa Senhora Aparecida por estarem sempre comigo, me guardando, abençoando e bendizendo. Não existe vitória sem Sua presença, não existe graça alcançada sem que o Senhor permita. Nada que eu diga será comparado ao tamanho da minha gratidão.

Meus pais, Luiz e Terezinha, eu não tenho palavras para dizer o quanto o apoio, amor e dedicação de vocês me ajudaram a chegar onde estou. Nada seria possível sem que vocês fosse minha base, meu alicerce! Eu me orgulho em dizer quem são meus pais e o quanto eles me apoiam e me suprem! Meus irmãos por me darem o melhor título que eu tenho, de tia. Aos meus sobrinhos, Heloísa, Laura e Luiz Miguel (que está nascendo junto com esse título), dói ser ausente no crescimento de vocês, mas com fé em Deus tudo isso será recompensado.

A minha família, Pires Campos e Mazzo, meus tios, primos e agregados. Em especial a tia Rena, tia Lucila e tia Cláudia pelo apoio desde o comecinho, pra vir e não desistir. Aos meus primos, Maysa e André, pelo apoio em São Paulo. Ao Simão, Dêde, Liu, Zil e Brisa, vocês sabem! Aos grupos de Whatsapp das minhas famílias, pelos “bom dia”, mensagens de carinho e incentivo a cada vitória compartilhada. Parafraseando Simão, EU SOU APAIXONADA POR VOCÊS! Desculpem minhas ausências, mas tá aí o resultado.

Ao meu orientador Gobesso, ou como o chamamos nas surdinas, GOBIS. O senhor me fez um convite que mudou minha vida. Deu oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas, não poderia não lhe agradecer por isso. Como o senhor disse um dia: somos muito parecidos. Existe um ditado que diz “dois bicudos não se beijam”. Pode ter sido por isso que não foi um mar de rosas, mas toda tempestade trás crescimento e experiência. Tenho certeza que o senhor não se esquecerá da “baiana com olho de bicho” e eu não me esquecerei do senhor. Obrigada, de coração.

Ao meu querido professor, Júlio Balieiro. É incrível como as pessoas às vezes tem papel importante na formação de outra e nem sabem. Deixo aqui público meu agradecimento pela paciência, disponibilidade em me ajudar e realizar minhas

análises estatísticas, conselhos e broncas quando necessárias. O senhor é um dos meus exemplos como professor.

A minha universidade de formação, UESC. Em especial aos professores Poliana Melo e Fernando Alzamora. Vocês tiveram papel importante na minha decisão de cursar o mestrado na USP. Obrigada!

A minha turma 2008, turma da pós-graduação em Ciência Animal – 2016 e todos meus amigos de Ilhéus que sempre me apoiaram e me incentivaram. Em especial a Raissa, Tia Mayana, Júnior, Carol, Samatha, Tenório, Ione, Hanna, Tâmara e Luana Thibes. Amo vocês.

Ao Maurício Xavier (Mau) e a Mariana Fragoso (Mel) vocês foram uma conquista pra mim. Todos os conselhos, noites estudando estatística/bioquímicas, bebendo, rindo das nossas frustrações ou comemorando nossas conquistas. Eu amo vocês demais e sei que a distância não diminuirá isso.

Aos meus amigos, que levarei pra vida toda. Eu não tenho palavras suficientes pra dizer o quanto dói partir sem vocês.

Ao Nicolas (Danone) e Murillo (Mu), meus meninos, meus companheiros pra tudo. Vocês não só dividiram o fardo de trabalho comigo, mas me deram a oportunidade de crescer com vocês, de entrar na casa de vocês (e aqui estendo a Família Ventura Duarte e Família Ormieres) e foram meus refúgios. Nada que eu tenha feito por vocês será o suficiente para agradecer e retribuir o que vocês fizeram por mim, muito obrigada.

A Camila Bianconi (Ca) e Saulo, minhas lindezas. Vocês são responsáveis pela minha sanidade mental. Obrigada pelo companheirismo, força e incentivo. Apreendi muito com vocês. Foi uma honra poder participar da vida de vocês de alguma forma e agora não largo vocês por nada.

Aos meus pimpolhos, estagiários e IC's e demais membros do LabEqui. Em especial a todos que participaram do meu projeto, Gabriela (Pombo), Yasmin (Mini), Júlia Rizzo (Julinha), Gabriela (Gabizona), Nicolas (Danone), Murillo (Mu), Eduardo (Fiona), Cristiane (Cris), Letícia (Lê), André Luiz (Dila), Lara, Paola, Maria Eugênia, Isabel (Bel), Vitória (Nuvem). Vocês foram peça fundamental para que isso fosse

possível. Nunca serei capaz de agradecer e mostrar o quanto vocês foram e são especiais pra mim.

Agradeço a todos os funcionários da USP. Desde aos funcionários do PPUSP (pelas caronas fora de hora), meninos da portaria e meninas da limpeza. Em especial ao Fernando, obrigada pela dedicação e trabalho que foram essenciais para meu experimento e para meu crescimento como ser humano. Nunca vi um funcionário tão bom, prestativo e competente. Muitíssimo obrigada.

As Famílias que me adotaram nesse período. Família KIT e Família Nostravamos, em especial ao Broxa, Alargado, Imundo, Kuna, Pires, Danone, Play, Fiona, Vata, Dila, Rafa, Mina, Dô e Tamtam. Minha gratidão maior pelo apoio, rolês e incentivo para continuar. Vocês me ensinaram que família é muito mais que sangue.

Aos mini-horses, branco de neve e os sete anões, menos ao feliz e o dengoso (mentira, a vocês também). Aos árabes, Maximiliano, Tata, Shaw, Malcolino, Lespo, Neguinho, Britain, Sujo, Darião, Jazz ver vocês todos os dias era como um sopro de força. A geração I, L e M, a cada nascimento e desenvolvimento eu crescia com vocês. Vocês foram fonte de aprendizado diário. Sem vocês não teria experimento, não teria trabalho, não teria motivo. A nossa querida gatinha, Rosinha (Rose) e a gata Pretinha, pela companhia nas noites frias e afeto “sem interesse”. Obrigada!

A pós-graduação no Brasil não é fácil. Somos um país onde a ciência não possui apoio, onde as bolsas não correspondem ao nosso trabalho, e mesmo assim sofremos uma alta cobrança. Agradeço a CAPES pela bolsa concedida e a USP pela oportunidade de fazer parte dessa universidade que é referência em pesquisa, ensino e extensão no mundo inteiro.

Ao VNP, todo seu corpo docente, discente e funcionários dos laboratórios. E aos demais programas de pós-graduação que tive o prazer de conhecer. Muito obrigada!

Aprendi com cada um, a sua maneira, algo que levarei pela vida toda.

*“Hoje me sinto mais forte, mais feliz, quem sabe!
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei, ou nada sei”*

Tocando em frente – Almir Sater e Renato Teixeira (1992)

RESUMO

MAZZO, H.C. **Suplementação de glicerina na dieta de equinos.** [Glycerin supplementation in equine diet]. 2018. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A glicerina, na alimentação, pode ser considerada uma boa fonte energética. Assim, sua utilização como substituta em parte de grãos e outros alimentos ricos em amido é amplamente estudada já que esses alimentos podem causar alterações metabólicas e digestivas quando em alto consumo. Neste estudo, objetivou-se comparar níveis de adição de glicerina na dieta de equinos. Foram utilizados oito pôneis machos, castrados, da raça Mini-Horse, com idade aproximada de 9 anos $\pm$ 6 meses, peso corporal médio de 149,80 $\pm$ 17,20 kg e escore corporal médio de 5,4 $\pm$ 0,7. Os animais foram alojados em baias individuais. Adotou-se consumo diário individual de 1,75% do peso corporal (PC), sendo 1% do PC em matéria seca (MS) proveniente do volumoso e 0,75% do PC em MS do concentrado, com proporção 60:40 (volumoso:concentrado). O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino duplo 4 x 4 contemporâneos. As dietas diferiram quanto ao nível de inclusão de glicerina (0, 4, 8 e 12%) que foram calculados com relação à porcentagem de concentrado fornecidos por animal. As avaliações foram realizadas em quatro períodos, sendo 14 dias de adaptação à dieta, 5 dias de coleta total de fezes (CTF) e 2 semanas de intervalo entre os períodos. Avaliou-se a digestibilidade aparente total dos nutrientes e fermentabilidade da glicerina a partir da CTF, por meio das análises de respostas glicêmicas, insulinêmicas, ácido graxos da cadeia curta, ácidos graxos não esterificados (NEFA) e pH das fezes. Também foram realizadas análises de segurança e aceitabilidade que se constituiu de análises de função hepática e renal, triglicerídeos, colesterol e frações além da avaliação do comportamento alimentar dos animais. Além de análise de implicações econômica a partir da simulação de substituição do milho pela glicerina bruta. Os dados foram submetidos à análise pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2010). Para os resultados significativos, foi utilizado o teste de Tukey com $P < 0,05$. Não houve diferenças entre os tratamentos em nenhuma das análises realizadas ($P < 0,05$). A glicerina se mostrou palatável e com aceitabilidade. A substituição de milho por glicerina, mesmo em valores de 1%, representa economicamente 0,42%

de ganho. A suplementação de glicerina bruta na dieta de equinos se apresenta como segura não afetando o comportamento alimentar, a higidez e a saúde digestiva dos animais, possuindo justificativa econômica para uso.

Palavras-chave: Comportamento. Digestibilidade. Glicerol. Equino. Fermentabilidade.

ABSTRACT

MAZZO, H.C. **Glycerin supplementation in equine diet.** [Suplementação de glicerina na dieta de equinos.] 2018. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Glycerin in food can be considered a good source of energy. Thus, its use as a substitute part of grains and other starchy foods is widely studied since these foods can cause metabolic and digestive changes when in high consumption. The objective of this study was to compare levels of glycerin addition in the equine diet. Eight male, castrated Mini-Horse male ponies, aged approximately 9 years $\pm$ 6 months, mean body weight of 149.80 ± 17.20 kg and mean body score of 5.4 ± 0.7 were used. The animals were housed in individual stalls. Individual daily consumption of 1.75% of body weight (CP) was used, with 1% CP in dry matter (DM) from bulky and 0.75% CP in DM from concentrate, with a ratio of 60:40 voluminous: concentrate). The experimental design used was the contemporary 4 x 4 double Latin square. The diets differed in the glycerin inclusion levels (0, 4, 8 and 12%) that were calculated in relation to the percentage of concentrate supplied per animal. The evaluations were performed in four periods, 14 days of adaptation to the diet, 5 days of total collection of feces (TCF) and 2 weeks of interval between periods. The total apparent digestibility of nutrients and fermentability of glycerol from the TCF were evaluated through glycemic, insulinemic, short chain fatty acid, non-esterified fatty acid (NEFA) and faecal pH analyzes. Safety and acceptability analyzes were also performed, which consisted of analyzes of liver and renal function, triglycerides, cholesterol and fractions, besides the evaluation of the animals' feeding behavior. In addition to analysis of economic implications from the simulation of substitution of corn by crude glycerin. The data were submitted to analysis by the Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2010). For the significant results, the Tukey test was used with $P < 0.05$. There were no differences between treatments in any of the analyzes performed ($P < 0.05$). Glycerin was palatable and acceptable. The substitution of corn for glycerin, even at 1%, represents economically 0.42% gain. The supplementation of crude glycerin in the equine diet presents itself as safe, without affecting the alimentary behavior, the hygiene and the digestive health of the animals, with economic justification for use.

Keywords: Behavior. Digestibility. Glycerol. Equine. Fermentability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Etapas de produção do biodiesel e dos tipos de glicerina	19
Figura 2 - Exportação de glicerina e glicerol e sua receita gerada entre os anos de 2008 - 2016	20
Figura 3 - Pôneis da raça Mini-horse utilizados no experimento	27
Figura 4 - Baías adaptadas com barras de ferro e madeira nas portas.....	27
Figura 5 - Cochos fixados em altura correspondente aos animais durante o experimento.....	27
Figura 6 - Fornecimento <i>top dressing</i> no concentrado da glicerina bruta.....	29
Figura 7 - Coleta de sangue por meio de punção venosa na veia jugular.....	34
Figura 11 - Frequência de eventos comportamentais observados em pôneis alimentados com diferentes níveis de glicerina bruta.....	38
Figura 8 - Curvas glicêmicas (A) e insulinêmicas (B) como resposta pós-prandial de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta	43
Figura 9 - Área abaixo da curva (AAC) da resposta plasmática de glicose de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta nos diferentes tempos de coleta.....	44
Figura 10 - Área abaixo da curva (AAC) da resposta plasmática de insulina de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta nos diferentes tempos de coleta.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Esquema do delineamento experimental 4x4.....	29
Tabela 2. Ingredientes e formulação do concentrado experimental	29
Tabela 3. Composição bromatológica do concentrado, do feno com base em 100% da matéria seca.....	30
Tabela 4. Composição da glicerina bruta utilizada no experimento	30
Tabela 5. Etograma utilizado para avaliação de comportamento alimentar de Mini-horses	31
Tabela 6. Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino replicado.....	37
Tabela 9. Frequência de eventos comportamentais observados em pôneis alimentados com diferentes níveis de glicerina bruta	38
Tabela 10. Valores médios de bioquímica sérica de pôneis suplementados com diferentes níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta	39
Tabela 7. Coeficientes de Digestibilidade Aparente (%CDA) dos nutrientes, pH das fezes, concentração de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nas fezes de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta	41
Tabela 8. Valores médios das concentrações de ácidos graxos não esterificados (NEFA) sanguíneos de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta pré e pós prandial nos diferentes tempos de coleta	45
Tabela 11. Simulação de valores de economia gerada a partir da substituição parcial de milho por glicerina bruta com base no valor total de porcentagem de milho de uma ração de manutenção para plantel de 100 cavalos de 500kg	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	32
2	OBJETIVOS	16
2.1	GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	HIPÓTESE	16
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
4.1	MANEJO ALIMENTAR DOS CAVALOS	17
4.2	BIODIESEL E A GLICERINA BRUTA	18
4.3	ABSORÇÃO E METABOLISMO DA GLICERINA NOS ANIMAIS	20
5	MATERIAIS E MÉTODOS	26
5.1	LOCAL INSTALAÇÕES E ANIMAIS.....	26
5.2	DIETAS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	28
5.3	ACEITABILIDADE E COMPORTAMENTO ALIMENTAR	30
5.4	DIGESTIBILIDADE E FERMENTABILIDADE.....	31
5.4.1	Metodologia de coleta para ensaio de digestibilidade e análises	31
5.4.2.2	Coleta e análise de ácido láctico	33
5.4.1.2	Coletas e análise de ácido graxo não esterificado (NEFA)	34
5.5	ANÁLISES DE SEGURANÇA PARA O USO DA GLICERINA	34
5.5.1	Análises bioquímicas séricas.....	34
5.5.1.1	Coletas e análise de função hepática e renal	34
5.5.1.2	Coletas e análise de colesterol e triglicérides.....	35
5.6	DADOS ECONÔMICOS	35
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
6.1	ACEITABILIDADE E SEGURANÇA DO USO DA GLICERINA.....	37
6.2	DIGESTIBILIDADE E FERMENTABILIDADE.....	40
7	EFEITOS ECONÔMICOS	45
8	CONCLUSÃO	47
9	IMPLICAÇÕES.....	47
	REFERÊNCIAS	48
	APÊNDICE A - ETOGRAMA DOS EVENTOS COMPORTAMENTAIS.....	62
	ANEXO A - CERTIFICADO DE ANÁLISE DA GLICERINA BRUTA	
	UTILIZADA DURANTE O EXPERIMENTO	64

A PARTIR DAQUI É FRENTE E VERSO

1 INTRODUÇÃO

O efetivo nacional de equinos é de aproximadamente 5,58 milhões segundo dados do IBGE (2016). O segmento do cavalo totalizou aproximadamente R\$ 16,15 bilhões em renda gerada e emprega direta ou indiretamente três milhões de pessoas. Esses valores demonstram o papel importante do cavalo no agronegócio brasileiro, que é responsável por 21% do produto interno bruto do país. Dentre os principais empecilhos na criação de cavalos estão os custos de produção.

O Sindicato das indústrias de Alimentos e Rações para Animais (Sindirações) possui aproximadamente 100 empresas cadastradas, contudo esse número não representa a realidade do mercado (SINDIRAÇÕES, 2018). No Ministério da Agricultura e Pecuária Animal, há inúmeras empresas cadastradas, onde dentre essas 49 são empresas líderes do segmento sem vínculo com o sindicato. O valor estimado de movimentação financeira relacionada à venda de ração ultrapassa os R\$ 780 milhões. Contudo, o mercado de rações sofre com as variações dos preços de matérias primas. Entre os produtos primários para compor as rações o milho é o concentrado energético de maior disponibilidade, mas possui valores de cotação que sofrem com as variações climáticas e de produção. Sendo assim, é importante buscar ingredientes alternativos que possuam menor variabilidade econômica e de disponibilidade.

A utilização do biodiesel, seus produtos, subprodutos e coprodutos, vêm tornando-se cada vez mais estudada devido a crescente preocupação com o meio ambiente e com fontes renováveis de energia. Dentre seus subprodutos, destaca-se na alimentação animal, o uso da glicerina tanto na forma bruta como na forma purificada (glicerol). O uso do glicerol deu-se principalmente pelo aumento da existência de glicerina oriunda do aumento da produção de biodiesel.

A glicerina, na alimentação, pode ser considerada uma boa fonte energética. Assim, sua utilização como substituta em parte de grãos e outros alimentos ricos em amido é amplamente estudada já que esses alimentos podem causar alterações metabólicas e digestivas quando em alto consumo. Entretanto deve-se observar a composição e qualidade disponível no mercado, pois essa possui grande variação, o que pode vir a causar danos quanto a sua utilização. Pesquisas com utilização do

subproduto glicerina em alimentação animal têm sido desenvolvidas de forma positiva em diferentes espécies.

As pesquisas na utilização da glicerina na alimentação equina são praticamente inexistentes, necessitando de estudos com esta espécie a fim de se determinar possíveis níveis de consumo.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Objetivou-se comparar níveis de adição de glicerina na dieta de equinos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da adição de níveis de glicerina sobre:

- Digestibilidade aparente dos componentes da dieta;
- Resposta glicêmica e insulinêmica;
- Concentrações séricas de creatinina, γ -glutamil transferase (GGT), creatinaquinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST);
- Concentrações séricas de colesterol, triglicérides e frações (HDL-C, LDL-C, VLDL-C) e ácido graxo não esterificado (NEFA);
- Parâmetros fermentativos como quantificação de ácidos graxos de cadeia curta, ácido láctico e pH nas fezes;
- Avaliar a aceitabilidade e o comportamento alimentar dos animais;
- Avaliar a viabilidade econômica de uso.

3 HIPÓTESE

O uso da suplementação de glicerina, na dieta de equinos, não interfere no comportamento alimentar e na digestibilidade de nutrientes da dieta e não afeta os parâmetros hematológicos, renais, hepáticos e fermentativos de forma negativa e possui viabilidade econômica de uso.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 MANEJO ALIMENTAR DOS CAVALOS

As exigências nutricionais dos cavalos estão diretamente ligadas ao seu peso vivo, ao ambiente e a eficiência metabólica (MARTIN-ROSSET; MARTIN, 2015). Além disso, deve-se se atentar a categoria, funcionalidade e nível de esforço físico (NRC, 2007). O estado nutricional também possui importante papel quanto à composição e quantidade de alimento fornecido.

A adequação dos níveis de energia nas dietas é uma das variáveis utilizadas para determinar a quantidade a ser fornecida (MOREIRA, 2008). Para suprir a exigência energética utilizando somente carboidratos, esses deverão ser fornecidos em grandes quantidades, que ocasionaria cólicas e laminites (MORGADO; GALZERANO, 2006). O excesso de grãos na dieta pode levar a distúrbios digestivos relacionados à redução na ingestão de forragens e consequente diminuição no consumo de água e eletrólitos (PASTORI, 2007).

Outra fonte de energia são os lipídeos, que possuem absorção no intestino delgado. Para sua utilização em grande quantidade, é necessária que sua digestibilidade seja alta, afim de não ocasionar distúrbios na microbiota (HARRIS et al., 2006). A microbiota, tanto do ceco como do cólon, é responsável pela fermentação de celulose e hemicelulose oriunda do consumo de volumoso, que produzirá ácidos graxos de cadeia curta, outra fonte de energia (HINTZ, 1990). Segundo vários autores a adição de gorduras não afeta a digestibilidade aparente. Quando os valores inclusão ultrapassaram 15% esse acarretou em diminuição da digestão fermentativa no intestino grosso. Assim, pode-se observar a importância do papel dos nutrientes advindos dos ingredientes das rações para digestão.

A eficiência digestiva nos equinos pode ser afetada por vários fatores. Entre eles está o tempo de retenção do alimento no intestino grosso que tem seu tamanho variável conforme a espécie (FRAPE, 2008). Apesar de possuir menor tempo médio de retenção, vários autores afirmam que pôneis podem ser usados em estudos de digestibilidade para comparação com cavalos de outras raças (HINTZ, 1990; MARTIN-ROSSET; BURTON; CRANDELL, 2015).

4.2 BIODIESEL E A GLICERINA BRUTA

A utilização de insumos renováveis que possam diminuir ou substituir o uso de combustíveis fósseis vem se tornando cada vez mais incentivado pelo desenvolvimento socioeconômico, apelo ambiental e esgotamento das reservas de petróleo de fácil extração (MOTA; SILVA; GONÇALVES, 2009; PEITER et al., 2016). A capacidade ambiental de absorver os gases oriundos da combustão dos combustíveis fósseis também é um fator limitante que impulsiona as pesquisas em busca de novas fontes de energia (CARNEIRO et al., 2018).

Biocombustíveis são as alternativas mais viáveis quanto a novas fontes de energia. Considerados renováveis por emitir CO₂ com poder de reabsorção pelas plantas, os biocombustíveis causam menor impacto no aquecimento do planeta (LEUNG; WU; LEUNG, 2010). Possui vantagens relativas ao meio ambiente local por não ter enxofre na composição, já que a queima de combustíveis com esse composto emite óxidos de enxofre que são responsáveis pela chamada chuva ácida (MOTA; SILVA; GONÇALVES, 2009). O Brasil é pioneiro no uso deste tipo de combustível sendo a principal classe os biodieseis (APOLINÁRIO; PEREIRA; FERREIRA, 2012).

Obtido por meio de mistura de óleos vegetais extraídos de culturas oleaginosas ou gorduras de animais o biodiesel é um combustível biodegradável, que possui como maior qualidade a de poder substituir o diesel (APOLINÁRIO; PEREIRA; FERREIRA, 2012). Por definição, biodiesel é o nome de um combustível alternativo de queima limpa e renovável (EPE, 2015). Além do grande apelo ecológico como mencionado anteriormente, outro importante fator para a substituição do diesel é a possibilidade de grande produção no Brasil devido condições naturais favoráveis. Dentre essas condições estão as grandes áreas disponíveis para a agricultura, condições de clima e solo adequado para o plantio de oleaginosas tais como: soja, girassol, amendoim, canola, algodão, dendê, coco, babaçu, mamona, etc. (PRESTES, 2007). A soja é responsável por quase 90% da produção de óleo no Brasil e por isso é uma importante matéria-prima na produção de biodiesel (PRESTES, 2007).

Também denominada de glicerol (1,2,3-Propanotriol), a glicerina é um composto orgânico pertencente ao grupo dos polióis (PANICO; POWELL; RICHER, 1993). Apresenta-se como uma substância líquida em temperatura ambiente, higroscópica, inodora, viscosa, sabor adocicado, solúvel em água e álcool. É obtida como subproduto dos processos de fabricação do biodiesel onde a cada tonelada deste produz-se 100kg de glicerol (KOVÁCS, 2011).

Para ser obtida, a glicerina passa por um processo denominado transesterificação caracterizada pela reação química da gordura ou óleo, com 10 a 15% de metanol ou etanol por intermédio do catalizador, podendo ser hidróxido de potássio ou sódio (MOTA; SILVA; GONÇALVES, 2009). Esse realizará a transformação dos triglicerídeos em diglicerídeos e em seguida monoglicerídeos, resultando no final em glicerídeos e glicerol (Figura 1) (KOVÁCS, 2011; FARRAPO, 2015).

Figura 1 - Etapas de produção do biodiesel e dos tipos de glicerina

Fonte: Adaptado de Farrapo (2015).

A produção de biodiesel no Brasil alcançou os 4,2 bilhões de litros em 2017 e em 2018 espera-se que esse valor passe para 5,3 bilhões de litros (BRASIL, 2017). Grande parte dessa produção vem da reutilização do insumo doméstico, tipo óleo de cozinha, o que demonstra o grande apelo ambiental para a produção deste (ISTOÉ, 2018).

O aumento na produção de biodiesel leva a consequentemente aumento na produção de glicerina. No Brasil não há legislação específica para o descarte de glicerina, e também não é possível absorver o volume produzido mesmo com o aumento da exportação que em 2016 totalizou 55 mil toneladas (Figura 2) (BATISTA, 2007; SANTOS, 2008; EPE, 2015). A busca por novos meios de utilização da glicerina se faz necessária para auxiliar a absorção desse produto no mercado (BATISTA, 2007).

Figura 2 - Exportação de glicerina e glicerol e sua receita gerada entre os anos de 2008 - 2016

4.3 ABSORÇÃO E METABOLISMO DA GLICERINA NOS ANIMAIS

Estudos relacionados ao metabolismo da glicerina em equinos são escassos. Contudo, existem várias pesquisas do metabolismo em outras espécies. Em monogástricos, o glicerol dietético pode ser absorvido no estômago e no intestino e será metabolizado pelo fígado e outros tecidos (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976; SILVA, 2010)

Para caracterizar a absorção do glicerol no intestino delgado um estudo foi desenvolvido em ratos, onde se observou que este acontece por meio de dois mecanismos: um de transporte ativo que depende do sistema de transporte e é

inibido pelo uso de sódio sendo responsável por 70% do transporte em baixas concentrações e um de transporte passivo (KATO et al., 2004).

O metabolismo que ocorre na mucosa intestinal demonstra o aproveitamento do glicerol tanto como fonte de energia, quanto pode ser transformado em ácido láctico (SAUNDERS; DAWSON, 1962). Além disso, o glicerol é metabolizado a *glicerol-3-fosfato* e aos intermediários da glicólise ou gliconeogênese, *dihidroxiacetona fosfato* e *gliceraldeído-3-fosfato*, tendo sua degradação resultando em piruvato (MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2006; NELSON; COX, 2014). O fígado é o único órgão que possui enzima glicerol quinase, entretanto, estudos indicam que o músculo também é capaz de metaboliza-lo (GIANFELICI, 2009). Os rins tem papel fundamental na reabsorção do glicerol e são responsáveis por no mínimo um sexto da utilização total (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976; GIANFELICI, 2009).

O glicerol pode ser encontrado na corrente sanguínea e nas células dos animais. Possui funções importantes no organismo, sendo parte do esqueleto carbonado para gliconeogênese, transportador de equivalentes redutores, além de ser um componente do triglicerídeo juntamente com três moléculas de ácidos graxos (NELSON; COX, 2014). Essas funções dependem do tecido e do estado nutricional do animal. Quando em situação de balanço energético positivo, onde o total de energia ingerida é maior que o total de energia gasta pelo organismo, o glicerol atua como precursor da síntese de triglicerídeos (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976). Já em balanço energético negativo, total de energia ingerida é menor que o total de energia gasta, será utilizado para produção da energia faltante por meio da glicólise e do ciclo de Krebs (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976; VERUSSA et al., 2016).

Dieteticamente o efeito lipogênico foi estudado em ratos e frangos. Houve aumento na atividade de enzimas lipogênicas no fígado sem que este afetasse a síntese de ácidos graxos em frangos, enquanto que em ratos, submetidos à mesma dose e tempo de fornecimento, houve queda na atividade de enzimas lipogênicas no fígado e na taxa de síntese de ácidos graxos (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976). Isso demonstra que em não ruminantes, o uso de glicerol na dieta, provoca respostas espécies-específicas e que deve ser mais estudado.

4.4 Uso na alimentação animal e suas limitações

Várias são as utilidades conhecidas da glicerina com relação a produtos na indústria alimentícia, possuindo maior aplicação como umectante devido seu poder de retenção de umidade (SANTOS, 2008; BRASIL, 2010; SILVA, 2010; DE PAIVA et al., 2015). Dentre as facilidades de utilização estão características como a de estabilidade de armazenamento, ausência de efeitos ambientais e/ou irritantes e compatibilidade com outros materiais químicos (ARRUDA; RODRIGUES; FELIPE, 2007).

A glicerina é considerada material promissor para a alimentação animal devido suas características energéticas e seu sabor adocicado (GOMES, 2008). A *Food and Drug Administration* considera a glicerina como aditivo em alimentos e como substância *Generally Regarded as Safe* (MELO, 2012). No Brasil o uso da glicerina em produtos alimentícios é segurado pela resolução normativa nº 386 de 5 de Agosto de 1999 (ANVISA, 1999). Este também estabelece os níveis mínimos de qualidade que podem variar a partir do processo de fabricação bem como da matéria prima. Contudo, deve garantir os seguintes valores: glicerol (mínimo de 800 g/kg), umidade (máximo 130 g/kg), metanol (máximo 159 mg/kg).

O principal interesse para utilização da glicerina bruta na alimentação é devido seu valor energético. Esse valor é resultante de cada processo industrial e é determinado em função da pureza em glicerol presente (MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2006). O que se sabe é que os valores de energia metabolizável da glicerina bruta são muito próximos aos valores do milho, principal componente energético das rações (PEREIRA; ROSSI JUNIOR, 1995; MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2006).

Além de necessário para o conhecimento do valor energético a fórmula da glicerina bruta deve ser bem conhecida quanto aos seus valores de metanol. A intoxicação por metanol em animais ocorre quando este é ingerido em grande quantidade que levará a sua oxidação no fígado e excreção na forma de ácido fórmico na urina (MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2006). Altas quantidades de ácido fórmico podem causar, entre outras patologias, cegueira pela destruição do nervo óptico, alteração motora e acidose metabólica (LAMMERS et al., 2008).

Assim, o resíduo de metanol é um dos fatores limitantes para a utilização na alimentação animal. Para auxiliar no controle deste a forma de fornecimento também pode ser estudada já que a peletização, por exemplo, leva o produto a alta temperatura o que vaporizará o metanol, mas não terá ação sobre o glicerol presente (MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2006).

Outro fator que interfere na quanto à quantidade e qualidade da glicerina bruta fornecida é o catalizador utilizado na produção do biodiesel, pois este influi na quantidade final de sais de sódio e potássio da glicerina bruta (MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2006). A indústria de biodiesel no Brasil possui especificações com limite de 7% de cloreto de sódio correspondentes aproximadamente a 2,75% de sódio na glicerina bruta (MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2006). Esse valor limita a quantidade a ser fornecida quando se leva em consideração o valor máximo de exigência desse nutriente (MARTIN-ROSSET; BURTON; CRANDELL, 2015).

Zurovsky (1993) já utilizava o glicerol como indutor da insuficiência renal aguda *in vivo* o que demonstra seu potencial toxicológico em doses elevadas. A intoxicação por ingestão de glicerol foi relatada por Andresen et. al (2009) em humano que provocou sinais neurológicos graves. O excesso de glicerol sem metabolização pela carência da enzima glicerol quinase pode causar hiperglicerolemia que leva a problemas no desenvolvimento psico motor e crescimento (HUQ et al., 1997).

Existem limitações para a adição da glicerina na ração onde se tem a preocupação quanto ao preço, limitações zootécnicas e de não interferir na forma física da ração (BRASIL, 2010). Na alimentação animal alguns trabalhos tentam estabelecer níveis máximos para utilização da glicerina.

4.5 PRINCIPAIS EFEITOS E NÍVEIS UTILIZADOS EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO E COMPANHIA

Pesquisas com utilização do subproduto glicerina em alimentação animal tem sido desenvolvidas de forma positiva em diferentes espécies. Dentre os animais já estudados estão aves (LAMMERS et al., 2008; SWIATKIEWICZ; KORELESKI, 2009; ALVARENGA et al., 2012; MANDALAWI et al., 2014; FARRAPO, 2015; SOUSA et al., 2015), ruminantes (PARSONS; SHELOR; DROUILLARD, 2009; ARAÚJO et al.,

2013; SILVA et al., 2013; DE PAIVA et al., 2015; BENEDETI et al., 2016; POLIZEL et al., 2017), peixes (NEU et al., 2013), cães e gatos (LIMA et al., 2014; MACHADO et al., 2017), suínos (KERR et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2014) e coelhos (RETORE et al., 2012).

Em trabalho com cães possuindo dietas com níveis crescentes de glicerina onde foi avaliado o coeficiente de digestibilidade aparente e a energia metabolizável Lima et al. (2014) constatou que a inclusão de glicerina é altamente metabolizável por essa espécie, mas que com valores acima de 3% as fezes destes se mostraram menos consistentes. Já em gatos, dietas com 10% de glicerol não são consideradas seguras para espécie por exceder a capacidade de metabolização do glicerol, efeito esse caracterizado pela presença do composto nas excreções urinárias (MACHADO et al., 2017).

Acreditava-se que frangos de corte possuíam valor máximo de 7,5% inclusão de glicerol (GIANFELICI, 2009). Entretanto, trabalhos recentes afirmam que níveis de inclusão de até 10% de glicerina na ração de animais com até sete dias possui efeitos positivos para variáveis: ganho de peso, consumo de ração e peso vivo ($P < 0,05$) e consideram o nível de 10% como seguro demonstrando que este não afeta o metabolismo dessa espécie (SILVA, 2010; SOUSA et al., 2015). Já em coelhos a inclusão de até 12% não afetou o desempenho desses quando se utilizou glicerina vegetal (RETORE et al., 2012).

Em suínos de diversas fases, no que diz respeito à viabilidade econômica e desempenho, os níveis mais indicados de glicerina bruta estão em torno de 10% não devendo ser utilizados valores acima de 15% (VERUSSA et al., 2016). Mesmos valores encontrados para suínos em terminação, onde os valores foram definidos em níveis próximos de 100g/kg (MELO, 2012) e de alevinos de Tilápias do Nilo (NEU et al., 2013).

Bezerros em aleitamento quando submetidos ao uso de glicerina bruta como fonte de energia, substituindo o milho em até 10%, não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) no consumo de concentrado, ganho de peso diário, peso vivo, parâmetros sanguíneos avaliados (NÁPOLES, 2012). Em levantamento sobre a utilização da glicerina na alimentação e seu efeito sobre o desempenho de bovinos de corte e de

leite, De Paiva et al. (2015) ressaltam a importância da qualidade da glicerina utilizada e de uma análise econômica prévia para decidir o nível de inclusão visto que vários trabalhos confirmam a ação positiva desse ingrediente.

Esses estudos demonstraram a ação positiva da glicerina tanto na digestibilidade dos nutrientes, quanto em ausência de resíduo na carne, ou intoxicação pelo uso. Contudo, a variabilidade dos resultados apresentados demonstra a importância de estudos relacionados aos níveis, segurança e viabilidade do uso da glicerina para cada espécie, fase e finalidade da criação.

4.6 Aceitabilidade e comportamento alimentar

O comportamento alimentar de pôneis pode sofrer interferência pela privação de contato físico com outros (FELTRE, 2017). Dentre os problemas comportamentais relacionados podem-se observar estereotipias, agravadas pela frustração e/ou tédio ou pela restrição do fornecimento de dietas e ou horário deste (SCHURG et al., 1978; RALSTON, 1986; FELTRE, 2017).

As mudanças no manejo alimentar dos equinos foram necessárias para a intensificação da criação e nessas existe restrição de área de pastejo ou seleção de alimentos bem como tempo de disponibilidade destes (DITTRICH et al., 2010). Contudo, esses animais passaram a apresentar diferentes comportamentos alimentares o que implicam na higidez do trato digestivo, bem-estar e saúde (FRASER; BROOM, 1997).

A presença de estereotipia pode ser utilizada como indicadora de bem-estar dos animais sugerindo sinais de estresse (BROOM, 1991). Cavalos com restrição de espaço, mas com fornecimento de alimentos energéticos, mesmo que dentro das exigências, tendem a apresentar comportamentos estereotipados (FRASER; BROOM, 1997; FELTRE, 2017). Uma das formas de redução da ociosidade e consequentemente das incidências de estereotipias é o fracionamento do fornecimento dos alimentos ao longo do dia (COOPER et al., 2005).

Diversos autores demonstram que não há efeitos deletérios a digestibilidade dos nutrientes quando se possui dietas ricas em gorduras. Contudo valores maiores que 20% na proporção de ração diminuem a aceitabilidade da dieta. Aceitabilidade

de dietas com altos valores energéticos, que inclui as suplementações, segundo Cairns et al. (2002), ocorre pelo fato dos cavalos conseguirem selecionar os alimentos e sua composição nutricional. A palatabilidade influencia diretamente na aceitabilidade dos alimentos (MOREIRA, 2008).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 LOCAL INSTALAÇÕES E ANIMAIS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Saúde Digestiva e Desempenho de Equinos (LabEqui) pertencente ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em Pirassununga (SP). O protocolo foi analisado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, CEUA Nº 8156080517.

Utilizou-se oito pôneis machos, castrados, da raça Mini-Horse, com idade aproximada de 9 anos $\pm$ 6 meses, peso corporal médio de 149,80 $\pm$ 17,20 kg e escore corporal médio de 5,4 $\pm$ 0,7 (Figura 3). Estes animais estavam vermífugados contra endoparasitas e imunizados contra raiva, influenza, tétano e encefalomielite. A partir do primeiro dia de cada fase do experimento todos os animais foram monitorados quanto à higidez por meio de hemogramas e acompanhamento clínico diário.

Para amenizar o estresse, as baias foram adaptadas com barras de ferro e madeira nas portas, que permitiram a visualização do meio exterior (Figura 4). Os animais eram soltos diariamente durante 1h em piquete sem acesso à gramínea. Os cochos para alimentação foram fixados em altura correspondente aos animais (Figura 5) e o feno foi fornecido em bacias de plástico.

Figura 3 - Pôneis da raça Mini-horse utilizados no experimento

Fonte: (Mazzo, 2017).

Figura 4 - Baías adaptadas com barras de ferro e madeira nas portas

Fonte: (Mazzo, 2017).

Figura 5 - Cochos fixados em altura correspondente aos animais durante o experimento

Fonte: (Mazzo, 2017).

5.2 DIETAS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino duplo 4 x 4 contemporâneos, sendo a unidade experimental o animal dentro de cada período experimental (n = 32 unidades experimentais) (Tabela 1).

O experimento ocorreu em quatro períodos, com duração de 15 dias para adaptação a dieta e cinco dias de coleta total de fezes e demais parâmetros. Durante este, os animais eram alojados em baias individuais, com dieta balanceada quanto à exigência de manutenção e água fornecida *ad libitum*. Entre os períodos do quadrado latino, era realizado um período de duas semanas (14 dias) para *wash out*, com objetivo de minimizar os efeitos residuais de tratamento, onde os animais eram soltos em piquetes alimentados apenas com feno “Coast-Cross” (*Cynodon ssp.*) em manjedouras, bebedouro e sal mineral *ad libitum*.

Adotou-se consumo diário individual de 1,75% do peso corporal (PC), sendo 1% do PC em matéria seca (MS) proveniente do volumoso e 0,75% do PC em MS do concentrado, com proporção 60:40 (volumoso:concentrado), com as dietas calculadas segundo Martin-Rosset (2015), divididos em duas refeições diárias, com água *ad libitum*. Os ingredientes do concentrado e valores médios da composição bromatológica do feno e do concentrado encontram-se, respectivamente, nas Tabelas 2 e 3. A composição da glicerina bruta encontra-se na Tabela 4 com laudo no anexo 1.

As quatro dietas experimentais fornecidas diferiram quanto ao nível de inclusão de glicerina, onde os valores foram calculados com relação à porcentagem de concentrado fornecido por animal. A glicerina foi adicionada *top dressing* no concentrado diretamente no cocho (Figura 6), sendo os tratamentos:

- 1) **Controle (CT)**: sem adição de glicerina;
- 2) **Glicerina 4 (GLI4)**: adição de 4% de glicerina;
- 4) **Glicerina 8 (GLI8)**: adição de 8% de glicerina;
- 5) **Glicerina 12 (GLI12)**: adição de 12% de glicerina.

Figura 6 - Fornecimento *top dressing* no concentrado da glicerina bruta

Fonte: (Mazzo, 2017).

Tabela 1. Esquema do delineamento experimental 4x4

Animal	Quadrado							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Período I	CT	GLIC8	GLIC4	GLIC12	CT	GLIC8	GLIC4	GLIC12
Período II	GLIC4	CT	GLIC12	GLIC8	GLIC4	CT	GLIC12	GLIC8
Período III	GLIC8	GLIC12	CT	GLIC4	GLIC8	GLIC12	CT	GLIC4
Período IV	GLIC12	GLIC4	GLIC8	CT	GLIC12	GLIC4	GLIC8	CT

Fonte: (Mazzo, 2018).

Tabela 2. Ingredientes e formulação do concentrado experimental

Ingredientes	Concentrado (%)
Farelo de Trigo	43
Fuba de Milho	46,5
Farelo de Soja	4
Calcário	2,5
Núcleo equino Agromix*	3
Sal comum	1
Total	100

Fonte: (Mazzo, 2018).

Legenda: * Cálcio (Mínimo) 190,00 g/Kg; Cálcio (Máximo) 215,00 g/kg; Cloro (Mínimo) 105,00 g/kg; Cobalto (Mínimo) 12,00 mg/kg; Cobre (Mínimo) 250,00 mg/kg; Enxofre (Mínimo) 2,00 g/kg; Ferro (Mínimo) 1.000,00 mg/kg; Flúor (Máximo) 720,00 mg/kg; Fósforo (Mínimo) 72,00 g/kg; Iodo (Mínimo) 20,00 mg/kg; Magnésio (Mínimo) 28,00 g/kg; Manganês (Mínimo) 1.000,00 mg/kg; Selênio (Mínimo) 2,00 mg/kg; Sódio (Mínimo) 68,00 g/kg; Zinco (Mínimo) 1500,00 mg/kg.

Tabela 3. Composição bromatológica do concentrado, do feno com base em 100% da matéria seca

Nutrientes (%)	Concentrado	Feno
Matéria Seca	93,18	95,01
Matéria Mineral	9,86	6,90
Proteína Bruta	12,44	7,52
Extrato Etéreo	0,63	3,10
Fibra em Detergente Neutro	25,86	80,87
Fibra em Detergente Ácido	7,84	47,49
Cálcio	2,08	0,52
Fósforo	0,54	0,26
Amido	47,94	1,30

Fonte: (Mazzo, 2018).

Tabela 4. Composição da glicerina bruta utilizada no experimento

Variáveis (%)	Especificação*	Resultado
Glicerol	Mín. 80	79,16
Umidade	Máx. 15	22,01
Cinzas	Máx. 7,5	0,08
Metanol	Máx. 0,2	0

Fonte: (Mazzo, 2018).

Legenda: *Especificação atendendo ao padrão estabelecido pelo Ministério da Agricultura e Pecuária para utilização da glicerina bruta na nutrição animal.

5.3 ACEITABILIDADE E COMPORTAMENTO ALIMENTAR

A aceitabilidade foi mensurada a partir dos valores de sobra de concentrado no cocho após fornecimento comparando os tratamentos. O monitoramento para avaliação do comportamento alimentar dos animais foi realizado por meio de observação, nos últimos três dias de adaptação à dieta, no momento de soltura, respeitando à rotina de manejo pré-existente, segundo metodologia adaptada de Greening et al.(2013). Os animais foram soltos em piquete de terra sem acesso a pastagem, com acesso a água e sal mineral *ad libitum*. Foram utilizados dois mesmos observadores em todos os períodos os quais foram posicionados em distância que não interferisse no comportamento natural dos animais. Os comportamentos foram tabulados seguindo o preenchimento do etograma predefinido (Tabela 5/Apêndice A) a cada dois minutos, por uma hora.

Tabela 5. Etograma utilizado para avaliação de comportamento alimentar de Mini-horses

Eventos comportamentais	Descrição
Alimentação	Procura, apreensão, mastigação ou deglutição de alimentos
Água	Ingestão ou deglutição
Ócio	Descanso em pé, descanso deitado ou dormindo
Defecação	Quantidade de vezes que defecou
Urinar	Quantidade de vezes que urinou
<i>Self-grooming</i>	Lambendo o corpo, mordiscando ou raspando a pele, coçando uma parte do corpo contra outra (pé e cabeça), esfregando a pele contra outra superfície do corpo ou contra algum objeto no ambiente ou rolando
Interação social positiva	Aproximação, <i>grooming</i> , comportamento lúdico (brincando)
Interação social negativa	Brigas
Comportamentos estereotipados	<i>Pacing</i> , aerofagia, roer madeira, balançar a cabeça ou andar de urso
Outros	Comportamentos não descritos acima

Fonte: Adaptado de Caanitz et al. (1991)

Os dados foram posteriormente tabelados quanto à quantidade de ações referendadas cometidas durante cada um dos períodos analisados e analisadas como fator tratamento.

5.4 DIGESTIBILIDADE E FERMENTABILIDADE

5.4.1 Metodologia de coleta para ensaio de digestibilidade e análises

Para as análises dos alimentos foram realizadas coletas de feno e concentrado no início do experimento, congelados a -20°C , devidamente identificados e encaminhados para o Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP. A glicerina bruta utilizada foi enviada para análise em laboratório particular credenciado.

Durante todas as fases, contabilizaram-se as sobras como forma de controlar a ingestão da dieta.

A avaliação da digestibilidade aparente total dos nutrientes foi realizada por metodologia de coleta total de fezes que consiste em, retirar toda a cama das baias durante o período e o total das fezes recolhidas eram pesadas, alocadas em sacos divididos em a cada 12h. Homogeneizava-se e uma alíquota de 10% (amostras simples) era alocada em sacos plásticos identificados e armazenados em freezer que, ao final dos cinco dias de colheita de fezes, formaram as amostras compostas.

As fezes contaminadas com urina eram pesadas separadamente e, em seguida, descartadas. Ao final do protocolo uma amostra composta de cada animal foi gerada e encaminhada para o Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP onde foram processadas e analisadas.

Os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), e extrato etéreo (EE) foram analisados de acordo com a AOAC (1996), sendo as respectivas normas: 930.15, 942.05, 988.05, 954.02. Também foram realizadas as análises de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) pelo método de partição de fibras proposto por Van Soest et al. (1991) tanto nos alimentos quanto nas fezes. Os alimentos ainda passaram pela análise de amido segundo o método enzimático descrito por Pereira & Rossi Junior (1995), Cálcio e Fósforo segundo a AOAC (1996). O coeficiente de digestibilidade aparente da MS foi calculado de acordo com Coelho da Silva & Leão (1979). Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (CDAN) foram calculados pelo método descrito por Schneider & Flatt (1975), com a seguinte equação:

$$\text{CDAN (\%)} = \frac{\text{MS dieta} \times (\% \text{ nutriente na dieta}) - \text{MS fezes} \times (\% \text{ nutriente nas fezes})}{\text{MS dieta} \times (\% \text{ nutriente na dieta})}$$

5.4.2 Metodologia de coleta para ensaio de produtos da fermentação fecal e análises

5.4.2.1 Coleta e análise de ácidos graxos de cadeia curta

Para a análise de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico), coletou-se em recipiente de plástico com tampa 10 g de fezes frescas no primeiro momento de defecação espontânea no penúltimo dia de coleta total. As amostras eram diluídas em 20 mL de água destilada e, após homogeneização, o material era coado em tecido poroso (dessora). Do conteúdo coado, 4 mL de amostra eram transferidos para tubos Vacutainer BD® sem anticoagulante (tampa vermelha) com capacidade para 10 mL, contendo 1 mL de ácido fórmico PA grau HPLC 98-100%. Em seguida, os tubos eram centrifugados por 12 minutos (centrífuga modelo 80-2B-15ML, Centribio) a 4.000 rpm (1.800 x g) e transferia-se 2 mL do sobrenadante para Microtubo Axygen® com capacidade de 2

mL e congelados a -20°C . As análises foram realizadas no Laboratório de Fermentabilidade Ruminal da FZEA-USP.

5.4.2.2 Coleta e análise de ácido láctico

A análise de ácido láctico nas fezes foi realizada a partir da coleta de 1 g de fezes no momento de defecação espontânea que foi acondicionada em tubos de ensaio com tampa de borracha previamente pesados e congelado a -20°C . As amostras foram encaminhadas ao Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP onde foram processadas e analisadas. O método utilizado para a determinação do ácido será o Espectrofotométrico para fluidos biológicos (PRYCE, 1969).

5.4.2.3 Coleta e análise de pH fecal

A mensuração do pH fecal foi realizada a partir do sumo da amostra fresca de fezes de aproximadamente 20 g que foi coletada no primeiro momento de defecação espontânea no último dia de coleta total segundo metodologia adaptada de Zeyner et al. (2004) e Goachet et al. (2014). Esta foi filtrada em pano de nylon de 100 μm . A Análise foi realizada no próprio local de coleta onde se utilizou peagâmetro eletrônico de bancada, segundo Jouany, (1982); citado por Goachent et al. (2014).

5.4.1 ANÁLISES SANGUÍNEAS

5.4.1.1 Resposta glicêmica e insulinêmica

Para a dosagem de glicose no plasma e insulina no soro, o sangue foi coletado por meio de punção venosa na veia jugular às 6h30min (30 minutos antes do fornecimento da dieta), 07h30min, 08h30min, 09h30min e 10h30min. O sangue para análise de glicose plasmática foi colhido em tubos Vacutainer BD® com Fluoreto de sódio (tampa cinza) com pape de inibidor glicolítico e o anticoagulante EDTA que atua na preservação da morfologia celular. Para a análise de insulina sérica, o sangue foi colhido em tubos Vacutainer BD® sem anticoagulantes (tampa vermelha) e homogeneizado por inversão de 5 a 8 vezes para evitar hemólise. Os tubos, tanto de glicose quanto de insulina, serão mantidos em repouso em temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos e, na sequência,

centrifugados por 10 minutos (centrífuga modelo 80-2B-15ML, Centribio) a 4.000 rpm ($1.800 \times g$) para a separação de plasma e soro, respectivamente (STULL; RODIEK, 1988; DE OLIVEIRA RAMALHO et al., 2012). Após esse procedimento o plasma e soro eram transferidos para microtubos de plástico de 1,5 mL devidamente identificados e mantidos em freezers a -20°C até serem processados (STULL; RODIEK, 1988). Os microtubos foram enviados para análise em laboratório particular (DAC – Diagnósticos Análises Clínicas, Pirassununga, SP).

Figura 7 - Coleta de sangue por meio de punção venosa na veia jugular

Fonte: (Mazzo, 2017).

5.4.1.2 Coletas e análise de ácido graxo não esterificado (NEFA)

Para análise de NEFA o sangue foi coletado por meio de punção venosa na veia jugular, em tubos Vacutainer BD® sem anticoagulante (tampa vermelha), às 06h30min (30 minutos antes do fornecimento da dieta), 10h00min, 16h00min, que correspondem respectivamente aos tempos 0, 3h e 9h após alimentação. Imediatamente após cada coleta, os tubos foram centrifugados ($3.000 \times g$, 10 min). O plasma foi transferido para microtubos de plástico de 1,5 mL, devidamente identificados, e mantidos em freezers a -20°C até serem processados (PICCIONE et al., 2009). Análise foi realizada utilizando aparelho leitor de microplacas (ELISA) com kit comercial da marca Randox® no Laboratório Multiusuário de Ensino, Pesquisa e Extensão em Análises Clínicas Veterinárias da FZEA-USP/Pirassununga-SP.

5.5 ANÁLISES DE SEGURANÇA PARA O USO DA GLICERINA

5.5.1 Análises bioquímicas séricas

5.5.1.1 Coletas e análise de função hepática e renal

As análises das funções hepáticas e renais consistiram na determinação dos valores de creatinina, γ -glutamil transferase (GGT), creatinaquinase (CK) e aspartato

aminotransferase (AST). Amostras de sangue foram coletadas por meio de punção venosa da veia jugular, em tubos Vacutainer BD® com Fluoreto de sódio (tampa cinza) com capacidade para 10 mL, 30 minutos antes do trato da manhã, como sugerido por Salem et. al (2016). Depois de colhidas, as amostras permaneceram em descanso por aproximadamente 30 minutos, centrifugadas por 10 minutos (centrífuga modelo 80-2B-15ML, Centribio) a 4.000 rpm (1.800 x g) para a separação do soro o qual foi acondicionado em microtubos de 1,5 mL e congelados a -20°C e encaminhados para análise em laboratório particular (DAC – Diagnósticos Análises Clínicas, Pirassununga, SP).

5.5.1.2 Coletas e análise de colesterol e triglicérides

Para análise de colesterol total, lipoproteínas (lipoproteína de alta densidade – HDL; lipoproteína de baixa densidade – LDL; e lipoproteína de muito baixa densidade – VLDL) e de triglicérides foram colhidas amostras de sangue 30 minutos antes do trato da manhã (MARCHELLO et al., 2000). As coletas eram realizadas por meio de punção venosa na veia jugular, em tubos Vacutainer BD® sem anticoagulante (tampa vermelha) com capacidade para 10 mL. Depois de colhidas, as amostras permaneciam em descanso por aproximadamente 30 minutos, centrifugadas por 10 minutos (centrífuga modelo 80-2B-15ML, Centribio) a 4.000 rpm (1.800 x g) para a separação do soro o qual foi acondicionado em microtubos de 1,5 mL e congelados a -20°C e encaminhados para análise em laboratório particular (DAC – Diagnósticos Análises Clínicas, Pirassununga, SP).

5.6 DADOS ECONÔMICOS

Para análise de simulação econômica foram encontradas as médias históricas de preços da saca de milho e da glicerina bruta no período de 2003-2017 (15 anos). Para o cálculo das médias anuais os preços foram deflacionados para dezembro de 2017 pelo Índice Geral de Preços-Disponibilidade Interna (FGV, 2018) considerando o número índice do mês de Dezembro dos respectivos anos.

Tendo em vista que a ração de manutenção possui cerca de 43% de adição de milho foi feita simulação para valores de substituição parcial deste por glicerina bruta

com base no consumo de um plantel contendo cem cavalos de 500kg, durante 1 ano. A economia gerada foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$EG = CMT - (CME + CGI)$$

Onde: EG = Economia gerada; CMT = Custo do milho que seria incorrido a partir de uma dieta com 43% de adição de milho; CME= Custo do milho efetivamente incluído; CGI = Custo da glicerina bruta incluída na dieta

A economia em percentual foi calculada a partir da divisão da economia gerada pelo custo do milho que seria incorrido a partir de uma dieta com 43% de adição de milho.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2010), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias comparada pelo teste de Hartley. Os dados de consumo, digestibilidade aparente total, pH, colesterol e triglicerídeos, função hepática e renal, ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico foram submetidos à análise de variância, que separou como causas de variação o efeito fixo de tratamento, além dos efeitos aleatórios de quadrado período dentro de quadrado, animal dentro do quadrado e resíduo. Os dados da resposta glicêmica e insulinêmica, assim como dos ácidos graxos não esterificados, foram analisados com as mesmas causas de variação, porém para análise dessas variáveis-respostas adicionou-se o fator medidas repetidas no tempo referente aos diferentes momentos de coleta, utilizando o procedimento MIXED do SAS. Os dados referentes aos eventos comportamentais observados foram avaliados sob forma de frequência relativa (número de eventos/número total de eventos). Para essas análises considerou-se um modelo linear generalizado considerado os efeitos acima descritos e utilizou-se distribuição binomial com função de ligação logística. Para essas análises utilizou-se o PROC GLIMMIX do supracitado. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando $P < 0,05$ como referência para os valores significativos.

A análise estatística será realizada conforme apresentado na tabela da análise de variância (Tabela 5).

Tabela 6. Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino replicado

Causas de variação	GL
Efeito de nível de glicerina	3
Período	3
Efeito de quadrado	1
Animal dentro de quadrado	6
Resíduo	18
Total de unidades experimentais	31

Fonte: (Mazzo, 2018).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ACEITABILIDADE E SEGURANÇA DO USO DA GLICERINA

A glicerina bruta é amplamente testada quanto a sua aceitabilidade para diferentes espécies. Contudo, trabalhos relacionando a aceitabilidade de diferentes ingredientes incluídos em dietas para equinos são escassos.

No presente trabalho, não houve computação de sobras do concentrado em nenhum dos períodos de coleta total. Acreditamos que tenha ocorrido pelo sabor adocicado da glicerina. A inclusão de alimentos com sabor adocicado torna o concentrado mais palatável (FRAPE, 2008; MARTIN-ROSSET; MARTIN, 2015).

Os animais não sofreram nenhum tipo de hipersensibilidade alimentar ou de sensibilidade ao produto. Não foi observada modificação na consistência das fezes ou distúrbios gastrointestinais durante o período experimental.

Na Tabela 8 estão os dados médios dos eventos observados onde, em sua grande maioria, não houveram diferenças comportamentais relacionadas ao tratamento. Contudo, o evento “Alimentação” foi significativo, demonstrando que o grupo controle permaneceu mais tempo se alimentando ou em busca por alimento ($P= 0,0320$). Esse comportamento pode ser justificado pela quantidade de energia fornecida na dieta. Alimentação com teores mais altos de energia tendem a ser ingerida mais rapidamente e causa maior tempo de saciedade nos animais (HARRIS et al., 2006; MARTIN-ROSSET; MARTIN, 2015). Os produtos finais da digestão, como por exemplo, a glicose e alguns ácidos graxos de cadeia curta, podem causar mudança na ingestão já que esses interferem na sensação de saciedade ou não (MARTIN-ROSSET; MARTIN, 2015).

Os eventos supracitados no etograma e não contemplados na tabela ou figura obtiveram valores inferiores a um de observação.

Tabela 7. Frequência de eventos comportamentais observados em pôneis alimentados com diferentes níveis de glicerina bruta

Eventos comportamentais (%)	Tratamentos				EPM	P valor
	0	4	8	12		
Alimentação	32 ^a	24 ^b	28 ^b	26 ^b	0,0507	0,0320
Água	1 ^a	1 ^a	2 ^a	1 ^a	0,0058	0,1983
Ócio	39 ^a	39 ^a	39 ^a	44 ^a	0,0505	0,2107
Self-grooming	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	0,0073	0,5428
Interação social positiva	11 ^a	12 ^a	12 ^a	13 ^a	0,0501	0,6105
Interação social negativa	11 ^a	13 ^a	11 ^a	11 ^a	0,0322	0,5756

Fonte: (MAZZO, 2018).

Legenda: Letras minúsculas iguais sobre as colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 8 - Frequência de eventos comportamentais observados em pôneis alimentados com diferentes níveis de glicerina bruta

Fonte: (MAZZO, 2018).

Legenda: Níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta onde CT- Controle; GLIC4- 4% de adição; GLIC8- 8% de adição; GLIC12- 12% de adição. Letras minúsculas iguais sobre as colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No presente estudo pode-se observar efeito entre os tratamentos dos valores de Colesterol ($P= 0,0094$) e HDL ($P= 0,0105$) (Tabela 6). Contudo esses valores encontram-se dentro dos parâmetros normais para a espécie e corrobora com outros estudos (GOBESSO et al., 2011; FELTRE, 2017).

Tabela 8. Valores médios de bioquímica sérica de pôneis suplementados com diferentes níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta

Variáveis	Tratamentos				EPM	P valor
	0	4	8	12		
Colesterol (mg dL ⁻¹)	86,00 ^c	92,00 ^{ab}	89,00 ^{bc}	94,00 ^a	6,29	0,0094
Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	38,75 ^a	44,50 ^a	39,00 ^a	44,62 ^a	5,26	0,6031
HDL (mg dL ⁻¹)	47,37 ^b	49,12 ^{ab}	47,75 ^b	50,37 ^a	2,62	0,0105
LDL (mg dL ⁻¹)	30,88 ^a	33,98 ^a	33,45 ^a	34,70 ^a	5,15	0,3684
VLDL (mg dL ⁻¹)	7,75 ^a	8,90 ^a	7,80 ^a	8,93 ^a	1,0529	0,6031
AST (U/L)	265,50 ^a	264,63 ^a	254,13 ^a	252,25 ^a	17,81	0,9032
CK (U/L)	304,63 ^a	300,25 ^a	266,50 ^a	321,00 ^a	44,62	0,8396
Creatinina (mmol/L)	0,96 ^a	0,93 ^a	0,96 ^a	0,94 ^a	0,0406	0,4170

Fonte: (MAZZO, 2018)

Legenda: Letras minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Diferente de outras espécies, nos equinos o lipídio dietético influencia a composição da gordura corporal, contudo somente 30% do colesterol são provenientes da dieta enquanto que 70% tem origem metabólica (MORGADO; GALZERANO, 2006). Já as triglicérides são uma fonte energética extra-hepática, possuindo armazenamento de energia advinda dos alimentos. Além disso, as concentrações plasmáticas de triglicérides e colesterol estão relacionadas a fatores como requisição dos tecidos, necessidade energética e armazenamento.

A liberação de glicerol e ácidos graxos de cadeia curta na circulação ocorre via transporte por albumina sérica até o fígado ou outro tecido que necessite de energia (MAGALHÃES, 2011). Devido ausência de vesícula biliar o cavalo possui liberação constante de bile pelo fígado (MARCHELLO et al., 2000). A bile promove emulsificação dos lipídios dietéticos possibilitando a absorção destes. Quando em jejum, há estímulo para secreção da VLDL pelo fígado o que acarretará em mobilização de gordura na forma de triglicérides para produção de energia. Os resultados demonstram que as dietas foram capazes de manter a homeostase energética.

A determinação dos níveis séricos de creatinina é um importante meio de definição da função renal, pois esses sofrem influência das condições pré-renais e renais. Níveis altos de creatinina podem indicar deficiência renal pela ausência de

excreção já que esta é exclusivamente pela via renal (MAGALHÃES, 2011). No presente estudo pode-se observar que não houve danos renais ($P=0,4170$).

Para definir a função hepática utilizam-se os níveis de AST visto que essa enzima possui alta atividade no fígado. Contudo essa enzima também está ligada a danos musculares, juntamente com a enzima Creatina quinase (CK). Aumento nos valores séricos de AST, com atividade normal de CK, sugere doença hepatobiliar e descarta dano muscular (FRANCISCATO et al., 2006; MELO, 2008). Não houve danos hepáticos nos animais alimentados em nenhum dos níveis de glicerina utilizados nesse estudo visto que não houve aumento dos valores séricos de AST ($P=0,9032$) e/ou CK ($P=0,8396$).

Ingestão com soluções com glicerol são consideradas efetivas para induzir hiper-hidratação em cães e não provoca efeitos deletérios renais, ou gastrointestinais (REYNOLDS; SNEDDON; REINHAN, 1998). Contudo, em estudos com ingestão por mais de seis meses em ratos e frangos, soluções com 5% de glicerol apresentaram oxidação de lactato e piruvato hepático de frangos e aumento de enzimas de clivagem de citrato no fígado de ratos podendo este ser justificado pelo tempo de consumo (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976). No presente estudo o tempo de consumo de 20 dias demonstrou-se suficiente para afirmar a ausência de danos hepáticos já que segundo Frape (2008), a AST possui meia-vida de mais ou menos oito dias e a CK tem uma meia-vida de menos de 24 horas.

6.2 DIGESTIBILIDADE E FERMENTABILIDADE

Segundo Schaafstra et al. (2017), a digestibilidade dos nutrientes da dieta é influenciada pelo tempo de adaptação aos alimentos fornecidos e ao tempo de coleta total de fezes que deve ser de cinco dias, sendo esses suficientes para adaptação da microbiota digestiva. Existe também relação aos componentes da dieta e suas características químicas (MARTIN-ROSSET; MARTIN, 2015).

Mesmo com valores de 12% de suplementação de glicerina bruta na dieta, no presente estudo, não houve diferenças nos parâmetros de digestibilidade nos tratamentos (Tabela 7). Esses dados diferem da maioria das espécies as quais valores maiores que 10% provocam distúrbios metabólicos ou de digestibilidade dos nutrientes (MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2006; DE OLIVEIRA RAMALHO et

al., 2012; ANDRADE, 2014; LIMA et al., 2014; DE PAIVA et al., 2015; SOUSA et al., 2015; POLIZEL et al., 2017).

Tabela 9. Coeficientes de Digestibilidade Aparente (%CDA) dos nutrientes, pH das fezes, concentração de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nas fezes de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta

Variáveis	Tratamentos				EPM	P valor
	0	4	8	12		
CDAMS	60,11 ^a	56,66 ^a	59,92 ^a	60,47 ^a	3,17	0,2381
CDAPB	70,39 ^a	68,61 ^a	69,79 ^a	69,63 ^a	3,37	0,8491
CDAEE	71,30 ^a	70,11 ^a	68,09 ^a	70,63 ^a	2,09	0,4526
CDAMM	49,38 ^a	46,68 ^a	50,19 ^a	50,59 ^a	3,11	0,3623
CDAMO	60,38 ^a	57,38 ^a	60,96 ^a	61,07 ^a	3,55	0,2421
CDAFDN	53,36 ^a	49,11 ^a	53,35 ^a	53,82 ^a	4,07	0,2980
CDAFDA	80,40 ^a	78,03 ^a	80,00 ^a	82,38 ^a	1,89	0,0747
Ph das fezes	6,37 ^a	6,46 ^a	6,51 ^a	6,59 ^a	0,18	0,2477
Ác. Láctico (mmol/L)	6,07 ^a	5,84 ^a	5,40 ^a	6,90 ^a	1,49	0,5665
Ác. Acético (mmol/L)	7,02 ^a	7,13 ^a	10,33 ^a	7,61 ^a	1,83	0,1959
Ác. Propiônico (mmol/L)	3,15 ^a	2,99 ^a	3,90 ^a	3,33 ^a	0,59	0,3123
Ác. Isobutírico (mmol/L)	0,29 ^a	0,30 ^a	0,39 ^a	0,28 ^a	0,07	0,2796
Ác. Butírico (mmol/L)	0,67 ^a	0,65 ^a	1,20 ^a	0,91 ^a	0,32	0,3931
Ác. Isovalérico (mmol/L)	0,36 ^a	0,20 ^a	0,55 ^a	0,19 ^a	0,19	0,2474
Ác. Valérico (mmol/L)	0,24 ^a	0,13 ^a	0,49 ^a	0,18 ^a	0,09	0,1216

Fonte: (MAZZO, 2018)

Legenda: Letras minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As concentrações de pH e de ácidos graxos de cadeia curta são usadas como indicadores da saúde gastrointestinal, tendo importante papel para manutenção do desempenho digestivo e de desenvolvimento em cavalos. O processo fermentativo pode sofrer instabilidades causadas pela suplementação nutricional que acarretará em mudanças nessas concentrações (KABE, 2013).

Não houve diferença entre os valores de Ph nos tratamentos (P=0,2477). Os valores normais de Ph intestinal variam entre 6,4 e 6,7 em cavalos (HOFFMAN et al., 2003). O fato de não haver diferenças na quantidade de ácidos lácticos (P=0,5665) auxiliou na estabilização do Ph, pois o acúmulo desse ácido pode suprimir os mecanismos de tamponamento (HOFFMAN et al., 2003; GOACHET et al., 2014).

Quando ocorre consumo de níveis altos de amido ou quando a digestibilidade pré-cecal deste é de alguma forma alterada, pode ocorrer escape para o ceco e cólon, promovendo aumento na fermentação no ceco/cólon e aumento na produção

de ácido láctico que leva a alterações no pH e na microbiota, levando a diminuição da digestibilidade aparente da fibra além de possível endotexemia (HARRIS et al., 2006; KABE, 2013). Além disso, dietas ricas em carboidratos rapidamente fermentáveis favorecem a proliferação de *Lactobacilli* spp e consequente, produção de lactato, que pode vir a ser acumulado e superar a capacidade tamponante do ceco e cólon diminuindo o pH do meio (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991).

O glicerol pode ser metabolizado pela microbiota para produzir acetato, propionato e butirato (WRIGHT, 1969; MARTIN-ROSSET; MARTIN, 2015). O acetato, propionato e butirato, contribuem em até 80% do requisito de energia do cavalo (AL JASSIM; ANDREWS, 2009). São responsáveis pela síntese de lipídios, no caso do acetato e butirato, e pelo substrato gliconêogenico, no caso do propionato, contribuindo para o metabolismo glicolítico. Contudo, não houve diferenças nos parâmetros fermentativos nos tratamentos ($P < 0,05$). Acredita-se que a quantidade utilizada não foi capaz de interferir nesses parâmetros.

O propionato produzido no ceco é responsável por cerca de 7% da glicose sanguínea (FRAPE, 2008). Pôneis tendem a ter retardamento do alcance do pico glicêmico e insulinêmico e retorno mais lento para os valores basais (HARRIS et al., 2006). Diversos trabalhos com outras espécies indicam que o glicerol aumenta os valores sanguíneos de glicose, pois o glicerol pode ser convertido em glicose pelo fígado, disponibilizando energia para o metabolismo celular (LIN; ROMSOS; LEVEILLE, 1976; NÁPOLES, 2012; NELSON; COX, 2014). Neste estudo, não foi observado diferenças entre os tratamentos para os valores de glicose e insulina (Figura 8).

Autores afirmam que o índice glicêmico contribui para adoção de práticas de manejo profilático as modificações metabólicas nutricionais, pois esse é uma resposta fisiológica diretamente ligada à ingestão de alimentos, principalmente de carboidratos. Contudo, somente a análise química da composição de carboidratos, por exemplo, não é capaz de indicar a resposta glicêmica. Sendo assim, a mensuração dos níveis glicêmicos e insulinêmicos pré e pós-prandial demonstram ser a melhor forma de avaliação (STULL; RODIEK, 1988; WILLIAMS et al., 2001)

Os níveis glicêmicos em jejum se mantêm entre 80 a 100 mg/dL, pós-prandial esses valores tendem a subir a valores de 150 mg/dL num prazo de duas a três horas, voltando a valores basais em até seis horas (HARRIS et al., 2006). Gobesso (2001) utilizando dietas com diferentes fontes de amido observou que, os valores de pico de glicose pós-prandial ocorriam entorno de 150 minutos sendo acompanhado do aumento gradativo de insulina.

Figura 9 - Curvas glicêmicas (A) e insulinêmicas (B) como resposta pós-prandial de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta

Fonte: (MAZZO, 2018)

Legenda: Níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta onde CT- Controle; GLIC4- 4% de adição; GLIC8- 8% de adição; GLIC12- 12% de adição. Coletas realizadas em jejum (-30) e nos demais minutos pós-alimentação (0).

Para representação das curvas glicêmicas e insulinêmicas representadas na Figura 8 foram utilizadas repectivamente as seguintes equações: $Y_{CT} = -1,7916x^2 + 12,9457x + 83,8172$; $Y_{GLI4} = -2,5394x^2 + 13,7372x + 85,9874$; $Y_{GLI8} = -1,6239x^2 + 10,4807x + 84,0611$; $Y_{GLI12} = -2,4079x^2 + 12,5345x + 86,4024$ e $Y_{CT} = 49,2774x + 38,8280$; $Y_{GLI4} = 50,9488x + 43,2723$; $Y_{GLI8} = 44,573x + 40,0039$; $Y_{GLI12} = 49,8074x + 51,1035$. Houve efeito de tempo já esperado para a espécie.

As mudanças nos valores de glicose e insulina bem como o tempo de resposta, estão diretamente ligados ao tipo de alimento consumido, quantidade de alimento, composição e capacidade digestibilidade de absorção e utilização pós-absortiva destes (CASALECCHI et al., 2012).

A utilização de componentes com altos índices de glicêmicos não causam necessariamente alterações nos valores das concentrações de glicose e insulina. Nunes Gil et al. (2012), utilizando diferentes níveis de maltodextrina em substituição

ao amido observaram que não houve diferença entre os valores de concentração glicêmicos e insulinêmicos.

Os dados de área abaixo da curva para resposta plasmática de glicose e insulina estão representados nas Figuras 9 e 8 respectivamente e não houve diferença entre estes ($P < 0,05$).

Figura 10 - Área abaixo da curva (AAC) da reposta plasmática de glicose de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta nos diferentes tempos de coleta

Fonte: (MAZZO, 2018)

Legenda: Níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta onde CT- Controle; GLIC4- 4% de adição; GLIC8- 8% de adição; GLIC12- 12% de adição. Coletas realizadas em jejum (-30) e nos demais minutos pós-alimentação (0).

Figura 11 - Área abaixo da curva (AAC) da reposta plasmática de insulina de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta nos diferentes tempos de coleta

Fonte: (MAZZO, 2018)

Legenda: Níveis de inclusão de glicerina bruta na dieta onde CT- Controle; GLIC4- 4% de adição; GLIC8- 8% de adição; GLIC12- 12% de adição. Coletas realizadas em jejum (-30) e nos demais minutos pós-alimentação (0).

Os valores de NEFA (Tabela 8), em todos os tratamentos e nos diferentes tempos de coleta, se encontram dentro do normal pra a espécie que é entre 0.00 a 0.46mmol/L (DUGDALE et al., 2011) e não apresentaram diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Tabela 10. Valores médios das concentrações de ácidos graxos não esterificados (NEFA) sanguíneos de pôneis suplementados com diferentes níveis de glicerina bruta pré e pós prandial nos diferentes tempos de coleta

NEFA (mmol/L)	Tratamentos				EPM	P valor
	0	4	8	12		
Pré-prandial	0,10 ^a	0,10 ^a	0,11 ^a	0,13 ^a	0,0198	0,6302
3h	0,07 ^a	0,07 ^a	0,09 ^a	0,07 ^a	0,0086	0,1717
9h	0,14 ^a	0,09 ^a	0,10 ^a	0,09 ^a	0,0169	0,0802

Fonte: (MAZZO, 2018)

Legenda: Letras minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tal efeito demonstrou-se de forma inesperada já que em outras espécies a adição de glicerina tende a diminuir a quantidade de NEFA sanguíneo (POLIZEL et al., 2017). Entretanto, pesquisas quanto às concentrações destes em cavalos com diferentes escores corporais ainda são limitadas já que os balanços energéticos desses animais mudam (GRAY; STANIAR, 2011). Cavalos em manutenção utilizam como fonte principal de energia os ácidos graxos não esterificados sendo estes responsáveis por cerca de 60% da eficiência energética (MARTIN-ROSSET; MARTIN, 2015). O NEFA possui disponibilização facilmente modificada pela dieta (FRAPE, 1993).

7 EFEITOS ECONÔMICOS

O gasto com insumos está entre os principais itens de custo na produção animal. A análise econômica das atividades agrícolas é necessária para manter a viabilidade destes e fornecer subsídio para a tomada de decisões (LOPES; LOPES, 2001). Os principais ingredientes utilizados na formulação de rações para equinos são o milho, a soja e o trigo. Por serem produtos sazonais, estes sofrem alterações de preços dependendo do clima, produção e preço de exportação/importação. As alterações nesses preços levam a alterações nos custo de produção (CEPEA, 2017). Com isso, torna-se necessário ponderar as possibilidades de utilização de alimentos alternativos que possuam custos menores, tenham boa qualidade, e

sofram menos com as sazonalidades, permitindo assim, manter a produção com bons níveis de ganho econômico (KABE, 2013).

A substituição de milho por glicerina bruta possui justificativa econômica e já ocorre em outras espécies. Em avaliação dos efeitos de níveis crescentes de inclusão de glicerina bruta na dieta de ovinos em terminação, Musselman et al. (2008) concluíram que os tratamentos com os maiores níveis (30 e 45%) representaram inviabilidade econômica, já o nível de 15% apresentou comportamento inverso. Sendo assim, estudos quanto a viabilidade nos diferentes níveis e para diferentes finalidades devem ser realizados.

Tendo em vista os níveis utilizados neste experimento foi realizada simulação econômica para substituição de milho por glicerina bruta (Tabela 11).

Tabela 11. Simulação de valores de economia gerada a partir da substituição parcial de milho por glicerina bruta com base no valor total de porcentagem de milho de uma ração de manutenção para plantel de 100 cavalos de 500kg

Níveis de substituição	Gasto total em 365 dias (R\$)		Economia gerada (R\$)	Economia gerada (%)
	Milho	Glicerina bruta		
12%	27391,74	2172,98	1562,26	5,02
11%	27703,01	1991,90	1432,07	4,60
10%	28014,28	1810,82	1301,88	4,18
9%	28325,55	1629,73	1171,69	3,76
8%	28636,82	1448,65	1041,51	3,35
7%	28948,09	1267,57	911,32	2,93
6%	29259,36	1086,49	781,13	2,51
5%	29570,63	905,41	650,94	2,09
4%	29881,90	724,33	520,75	1,67
3%	30193,17	543,24	390,56	1,25
2%	30504,44	362,16	260,38	0,84
1%	30815,71	181,08	130,19	0,42
0%	31126,98	0	0	0

Fonte: (MAZZO, 2018)

A utilização de glicerina bruta como substituta do milho, acarretam em uma economia mínima de 0,42% demonstrando assim viável. Esses valores corroboram com os de Retore et al. (2012) que em experimento com coelhos em crescimento, utilizando níveis de até 12%, obtiveram redução nos custos de produção. Entretanto, Barros et al. (2015) utilizando diferentes níveis de inclusão para cordeiros na fase de terminação em confinamento encontrou lucratividade quanto a alimentação contudo queda no desempenho, o que acarretou em perdas na produtividade final. Esses

resultados demonstram a importância da necessidade de realização de mais estudos quanto à viabilidade econômica para rações pra equinos.

8 CONCLUSÃO

O presente trabalho mostrou que, a suplementação de glicerina bruta na dieta de equinos se apresenta como segura não afetando o comportamento alimentar, a higidez e a saúde digestiva dos animais, possuindo justificativa econômica para uso.

9 IMPLICAÇÕES

A produção de biodiesel vem crescendo e com ela a preocupação ambiental quanto ao descarte de seus subprodutos. Por se tratar de um subproduto, a glicerina bruta possui valores baixos, o que pode vir a proporcionar redução nos custos na preparação de rações. Sendo assim, essa matéria-prima pode vir a se tornar importante no cenário de lucratividade para as fabricas de rações.

Esse estudo se mostra pioneiro na utilização da glicerina bruta para o uso na alimentação de equinos, visto que em outras espécies vem crescendo as pesquisas no mesmo tema. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de novas pesquisas para maior clareza quanto aos níveis adequados de inclusão, bem como de possíveis substituições, como acontece em outras espécies. Além de verificar a estabilidade do uso da glicerina bruta na fabricação de ração e melhor entendimento do papel fisiológico desta.

Em continuidade a este trabalho, poderia ser proposto um experimento onde se estudaria a energia metabolizável do glicerol em equinos além de um estudo quanto à estabilidade do pelete e das garantias de composição nestes.

Também é importante que seja estabelecido um padrão de qualidade para o uso de glicerina na alimentação animal, pois existem diversos tipos de processamento para obtenção deste que causam grande variação na sua composição.

REFERÊNCIAS

AL JASSIM, R. A. M.; ANDREWS, F. M. The Bacterial Community of the Horse Gastrointestinal Tract and Its Relation to Fermentative Acidosis, Laminitis, Colic, and Stomach Ulcers. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 25, n. 2, p. 199–215, 2009.

ALVARENGA, R. R.; LIMA, E. M. C.; ZANGERONIMO, M. G.; RODRIGUES, P. B.; BERNARDINO, V. M. P. Use of glycerine in poultry diets. **World's Poultry Science Journal**, v. 68, n. 4, p. 637–644, 2012.

ANDRADE, E. F. **Avaliação de parâmetros metabólicos em ratos suplementados com glicerol na dieta e submetidos a exercício aeróbio**. 2014. UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 2014.

ANDRESEN, H.; BINGEL, U.; STREICHERT, T.; SCHMOLDT, A.; ANDREAS ZOERNER, A.; TSIKAS, D.; JUST, I. Severe glycerol intoxication after Menière's disease diagnostic – case report and overview of kinetic data. **Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)**, v. 47, p. 312–316, 1 maio 2009.

ANVISA, A. N. de V. S. **Resolução nº 386 de 5 de Agosto de 1999**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao>>. Acesso em: 23 dez. 2017.

AOAC, A. O. O. A. C. **Official methods of analysis**. 16. ed. [s.l.] Association of Official Analytical Chemists., 1996.

APOLINÁRIO, F. D. B.; PEREIRA, G. de F.; FERREIRA, J. P. Biodiesel e Alternativas para utilização da glicerina resultante do processo de produção de biodiesel. **Revista de divulgação do Projeto Universidade Petrobras e IF Fluminense**, v. 2, n. 1, p. 141–146, 2012.

ARAÚJO, A. R.; RODRÍGEZ, N. M.; COSTA, H. H. A.; SILVA, V. L. Glicerol na alimentação de ruminantes (Glycerol in ruminant diets). **Ciência Animal**, v. 23, n. 1, p. 20–25, 2013. Disponível em: <http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/Artigo3_2013_1a.pdf>.

ARRUDA, P. V. de; RODRIGUES, R.; FELIPE, M. G. de A. Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, v. 26, p. 56–62, 2007.

BARROS, M. C. C.; MARQUES, J. D. A.; SILVA, R. R.; DA SILVA, F. F.; COSTA, L. T.; GUIMARÃES, G. S.; DA SILVA, L. L.; GUSMÃO, J. J. N. Viabilidade econômica do uso da glicerina bruta em dietas para cordeiros terminados em confinamento. **Semina: Ciencias Agrarias**, v. 36, n. 1, p. 443–452, 2015.

BATISTA, F. **Brasil não tem destino certo para glicerina gerada por biodiesel**. Disponível em: <<https://www.biodieselbr.com/noticias/biodiesel/brasil-destino-certo-glicerina-gerada-biodiesel-05-06-07.htm>>. Acesso em: 11 jan. 2018.

BENEDETI, P. D. B.; PAULINO, P. V. R.; MARCONDES, M. I.; MACIEL, I. F. S.; DA SILVA, M. C.; FACIOLA, A. P. Partial Replacement of Ground Corn with Glycerol in Beef Cattle Diets: Intake, Digestibility, Performance, and Carcass Characteristics. **PLOS ONE**, v. 11, n. 1, p. e0148224, 28 jan. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148224>>.

BRASIL, F. **La Niña, produção de biodiesel e agenda política devem movimentar o Brasil em 2018, diz INTL**. Disponível em: <<http://sfagro.uol.com.br/brasil-2018/>>. Acesso em: 11 jan. 2018.

BRASIL, M. da A. e R. A. S. N. de D. A. D. N. de D. A. **Ministério da agricultura autoriza novo uso para a glicerina**. Disponível em: <<https://www.biodieselbr.com/noticias/bio/ministerio-agricultura-autoriza-novo-uso-glicerina-051010.htm>>. Acesso em: 23 dez. 2017.

BROOM, D. M. Animal Welfare: Concepts and Measurement. **Journal of animal science**, v. 69, p. 4167–4175, 1991. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/1991.69104167x>>.

CAANITZ, H.; O'LEARY, L.; HOUP, K.; PETERSSON, K.; HINTZ, H. Effect of exercise on equine behavior. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 31, n. 1–2, p. 1–12, 1991.

CAIRNS, M. C.; COOPER, J. J.; DAVIDSON, H. P. B.; MILLS, D. S. Association in horses of orosensory characteristics of foods with their post-ingestive consequences. **Animal science**, v. 75, n. 2, p. 257–265, 2002.

CARNEIRO, G. A.; SILVA, J. J. R.; OLIVEIRA, G. de A.; PIO, F. P. B. Uso de Microalgas para Produção de Biodiesel. v. 3409, p. 1–12, 2018.

CASALECCHI, F. L.; ETCHICHURY, M.; GONZAGA, I. V. F.; GOBESSO, A. A. de O. Digestibilidade aparente total e resposta glicêmica de dietas para equinos contendo milho submetido a diferentes processamentos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, p. 232–238, 2012.

CEPEA, C. de E. A. em E. A. **MILHO/CEPEA: MAIOR OFERTA E DEMANDA ENFRAQUECIDA MANTÊM PRESSÃO SOBRE VALORES**. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/milho-cepea-maior-oferta-e-demanda-enfraquecida-mantem-pressao-sobre-valores.aspx>>. Acesso em: 14 jan. 2018.

COELHO DA SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. Fundamentos de nutrição de ruminantes. **Piracicaba: Livroceres**, 1979.

COOPER, J. J.; MCALL, N.; JOHNSON, S.; DAVIDSON, H. P. B. The short-term effects of increasing meal frequency on stereotypic behaviour of stabled horses. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 90, n. 3, p. 351–364, 2005.

DE OLIVEIRA RAMALHO, L.; CAIADO, J. C. C.; DE SOUZA, V. R. C.; COELHO, C. S. Glicemia e concentrações séricas de insulina, triglicérides e cortisol em equinos da raça Quarto de Milha e mestiços usados em provas de laço em dupla. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 4, p. 318–324, 2012.

DE PAIVA, P. G.; RENNÓ, F. P.; DEL VALLE, T. A.; DE JESUS, E. F.; SANTOS, FERNANDA CAROLINA RAMOS COSTA, A. G. B. V. B.; CABRAL, G. F.; DE ALMEIDA, G. F. Glicerina na alimentação de bovinos. **SCIENCE AND ANIMAL HEALTH**, v. 3, p. 31–55, 2015.

DITTRICH, J. R.; MELO, H. A.; DA FONSECA AFONSO, A. M. C.; DITTRICH, R. L. Comportamento ingestivo de equinos e a relação com o aproveitamento das forragens e bem-estar dos animais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. SUPPL. 1, p. 130–137, 2010.

DUGDALE, A. H. A.; CURTIS, G. C.; CRIPPS, P. J.; HARRIS, P. A.; ARGO, C. M. G. Effects of season and body condition on appetite, body mass and body composition in ad libitum fed pony mares. **Veterinary Journal**, v. 190, n. 3, p. 329–337, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.11.009>>.

EPE. Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis 2015. **Energia MME, Ministério de Minas e Energia**, p. 64, 2015. Disponível em: <[http://www.epe.gov.br/Petroleo/Documents/An?lise de Conjuntura dos Biocombust?veis - boletins peri?dicos/An?lise de Conjuntura - Ano 2013.pdf](http://www.epe.gov.br/Petroleo/Documents/An%20de%20Conjuntura%20dos%20Biocombustiveis%20-%20boletins%20periodicos/An%20de%20Conjuntura%20-%20Ano%202013.pdf)>.

FARRAPO, S. de P. **Gicerinas bruta e semipurificada na alimentação de codornas de corte**. 2015. Universidade Federal do Ceará, 2015.

FELTRE, K. **Produção, utilização e comercialização de dieta completa peletizada ou extrusada para equinos**. 2017. Universidade de São Paulo, 2017.

FGV, F. G. V. **Índice geral de preços**. Disponível em: <<http://www.portalbrasil.net/igp.htm>>. Acesso em: 2 fev. 2018.

FRANCISCATO, C.; LOPES, S. T. dos A.; VEIGA, Â. P. M.; MARTINS, D. B.; EMANUELLI, M. P.; OLIVEIRA, L. S. S. Atividade sérica das enzimas AST , CK e GGT em cavalos Crioulos. n. 1, p. 1561–1565, 2006.

FRAPE, D. Arterio-venous differences of NEFA during exercise. v. 25, p. 4–5, 1993.

FRAPE, D. **Equine nutrition and feeding**. 3. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, 2008.

FRASER, A. F.; BROOM, D. M. **Farm animal behaviour and welfare**. [s.l.] CAB international, 1997.

GIANFELICI, M. F. **Uso de glicerol como fonte de energia para frangos de corte**. [s.l.: s.n.].

GOACHET, A. G.; HARRIS, P.; PHILIPPEAU, C.; JULLIAND, V. Effect of physical training on nutrient digestibility and faecal fermentative parameters in standardbred horses. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 98, n. 6, p. 1081–1087, 2014.

GOBESSO, A. A. de O. **Digestibilidade total e parcial do amido de diferentes fontes energéticas em eqüinos fistulados no íleo**. 2001. Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2001.

GOBESSO, A. A. de O.; FREITAS, A. M. De; TOBO, W.; MARTINS, R.; FERREIRA, I. V. Digestibilidade aparente e concentrações plasmáticas de triglicérides e colesterol em equinos alimentados com fontes de óleo vegetal. p. 254–263, 2011.

GOMES, M. A. B. Uso de Glicerol Co-produto da Indústria de Biodiesel na Nutrição Animal. p. 1–10, 2008.

GRAY, S. M.; STANIAR, W. B. Growth hormone, glucose, insulin, and NEFA patterns in meal fed Quarter Horse weanlings. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, n. 5–6, p. 259–260, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2011.03.066>>.

GREENING, L.; SHENTON, V.; WILCOCKSON, K.; SWANSON, J. Investigating duration of nocturnal ingestive and sleep behaviors of horses bedded on straw versus shavings. **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v. 8, n. 2, p. 82–86, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jveb.2012.05.003>>.

HARRIS, P. A.; COENEN, M.; FRAPE, D.; JEFFCOTT, L. B.; MEYER, H. **Equine nutrition and metabolic diseases**. 2. ed. [s.l.] Elsevier Ltd, 2006.

HINTZ, H. F. Digestion in ponies and horses. **Equine Practice**, v. 12, n. 1, p. 5–6, 1990.

HOFFMAN, R. M.; BOSTON, R. C.; STEFANOVSKI, D.; KRONFELD, D. S.; HARRIS, P. A. Obesity and Diet Affect Glucose Dynamics and Insulin Sensitivity in Thoroughbred geldings¹. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2333–2342, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/2003.8192333x>>.

HUQ, A. H. M. M.; LOVELL, R. S.; OU, C. N.; BEAUDET, A. L.; CRAIGEN, W. J. X-linked glycerol kinase deficiency in the mouse leads to growth retardation, altered fat metabolism, autonomous glucocorticoid secretion and neonatal death. **Human Molecular Genetics**, v. 6, n. 11, p. 1803–1809, 1997.

IBGE, D. de P. Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2010. **Produção da Pecuária Municipal**, v. 38, 2016.

ISTOÉ. **JBS: produção de biodiesel em 2017 foi de 210 milhões de litros**. Disponível em: <<https://istoe.com.br/jbs-producao-de-biodiesel-em-2017-foi-de-210-milhoes-de-litros/>>. Acesso em: 11 jan. 2018.

JOUANY, J. P. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents [microbial fermentation, biological liquids, analytic method using gas-liquid chromatography]. **Sciences des Aliments**, 1982.

KABE, Á. M. G. **Palatabilidade, Qualidade de Fezes e Digestibilidade Aparente de Equinos Submetidos a Dietas com Diferentes Níveis de Inclusão de Casca de Soja**. 2013. Universidade de São Paulo, 2013.

KATO, T.; HAYASHI, Y.; INOUE, K.; YUASA, H. Functional Characterization of the Carrier-Mediated Transport System for Glycerol in Everted Sacs of the Rat Small Intestine. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 11, p. 1826–1830, 2004.

KERR, B. J.; WEBER, T. E.; DOZIER, W. A.; KIDD, M. T. Digestible and Metabolizable Energy Content of Crude Glycerin Originating from Different Sources in Nursery pigs¹. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 4042–4049, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/jas.2008-1676>>.

KOVÁCS, A. Aspects of refining biodiesel by product glycerin. **Petroleum & Coal**, v. 53, n. 2, 2011.

LAMMERS, P. J.; KERR, B. J.; WEBER, T. E.; BREGENDAHL, K.; LONERGAN, S. M.; PRUSA, K. J.; AHN, D. U.; STOFFREGEN, W. C.; DOZIER, W. A.; HONEYMAN, M. S. Growth Performance, Carcass Characteristics, Meat Quality, and Tissue Histology of Growing Pigs Fed Crude Glycerin-Supplemented diets¹. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 2962–2970, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/jas.2008-0972>>.

LEUNG, D. Y. C.; WU, X.; LEUNG, M. K. H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, v. 87, n. 4, p. 1083–1095, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.10.006>>.

LIMA, D. C. de; NETTO, M. V. T.; FELIX, A. P.; BORTOLO, M.; OLIVEIRA, S. G. De; MAIORKA, A. Digestibilidade e energia metabolizável da glicerina em cães. **Ciência Rural**, v. 44, n. 8, p. 1452–1456, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782014000801452&lng=pt&tlng=pt>.

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. **The Journal of nutrition**, v. 106, n. 11, p. 1668, 1976.

LOPES, M. A.; LOPES, F. M. Custo de produção da pecuária e análise de rentabilidade da pecuária leiteira. **Simpósio goiano sobre manejo e nutrição de bovinos**, v. 3, p. 243–278, 2001.

MACHADO, G. S.; PEZZALI, J. G.; MARX, F. R.; KESSLER, A. M.; TREVIZAN, L. Palatability, Digestibility, and Metabolizable Energy of Dietary Glycerol in Adult Cats. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 752–760, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/jas2016.0851>>.

MAGALHÃES, F. J. R. **Índice glicêmico e metabolismo dos lipídios nos cavalos alimentados com diferentes níveis de extrato etéreo no concentrado**. 2011. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2011.

MANDALAWI, H. A.; KIMIAEITALAB, M. V.; OBREGON, V.; MENOYO, D.; MATEOS, G. G. Influence of source and level of glycerin in the diet on growth performance, liver characteristics, and nutrient digestibility in broilers from hatching to 21 days of age. **Poultry science**, v. 93, n. 11, p. 2855–63, 2014. Disponível em: <https://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&qid=5&SID=Y2GnCH4AropakD2WQnN&page=1&doc=9&cacheurlFromRightClick=no>.

MARCHELLO, E. V.; SCHURG, W. A.; MARCHELLO, J. A.; CUNEO, S. P. Changes in Lipoprotein composition in horses fed a fat-supplemented diet. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 20, n. 7, p. 453–458, 2000.

MARTIN-ROSSET, W.; BURTON, J.; CRANDELL, K. Ponies, donkeys and other cases of interest. In: **Equine nutrition: INRA nutrient requirements, recommended allowances and feed tables**. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2015.

MARTIN-ROSSET, W.; MARTIN, L. Nutritional principles for horses. In: **Equine nutrition: INRA nutrient requirements, recommended allowances and feed tables**. [s.l.] Wageningen Academic Publishers, 2015. p. 23–96.

MELO, D. S. **Viabilidade da glicerina bruta na alimentação de suínos em terminação**. 2012. Universidade Federal de Lavras, 2012.

MELO, H. A. **Consumo, preferência alimentar, monitoramento clínico, hematológico e bioquímico de equinos alimentado com silagens**. 2008. Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná., 2008.

MENTEN, J. F. M.; MIYADA, V. S.; BERENCHEIN, B. Glicerol na alimentação animal. **Avisite: Ciência e Tecnologia: Artigos técnicos**, p. 19, 2006. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/cet/trabalhos.php?codigo=147>>.

MOREIRA, A. M. de F. O. **Avaliação da aceitabilidade e digestibilidade de dietas para equinos com diferentes fontes de óleo vegetal**. 2008. Universidade de São Paulo, 2008.

MORGADO, E.; GALZERANO, L. Utilização de óleos em dietas para eqüinos. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. VII, p. 1–14, 2006.

MOTA, C. J. a.; SILVA, C. X. a. Da; GONÇALVES, V. L. C. Glicerquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 639–648, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000300008&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

MUSSELMAN, A. F.; VAN EMON, M. L.; GUNN, P. J.; RUSK, C. P.; NEARY, M. K.; LEMENAGER, R. P.; LAKE, S. L. Effects of Crude Glycerin on Feedlot Performance and Carcass Characteristics of Market Lambs. **Proceedings, Western Section, American Society of Animal Sciences**, v. 59, n. January, p. 353–355, 2008.

NÁPOLES, G. G. O. **Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho**. 2012. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. [s.l.] Artmed Editora, 2014.

NEU, D. H.; FURUYA, W. M.; BOSCOLO, W. R.; POTRICH, F. R.; LUI, T. A.; FEIDEN, A. Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, n. 2, p. 211–217, 2013.

NRC, N. R. C. **Nutrient Requirements of Horses: Sixth Revised Edition**. [s.l.] National Academies Press, 2007.

NUNES GIL, P. C.; GANDRA, J. R.; TARAN, F. M. P.; GONZAGA, I. V. F.; GOBESSO, A. A. O. Influence of high levels of maltodextrin in horse diets. **Livestock Science**, v. 147, n. 1–3, p. 66–71, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2012.04.003>>.

OLIVEIRA, L.; MADRID, J.; RAMIS, G.; MARTÍNEZ, S.; ORENGO, J.; VILLODRE, C.; VALERA, L.; LÓPEZ, M. J.; PALLARÉS, F. J.; QUEREDA, J. J.; MENDONÇA, L.; HERNÁNDEZ, F. Adding crude glycerin to nursery pig diet: Effect on nutrient digestibility , metabolic status , intestinal morphology and intestinal cytokine expression. **Livestock Science**, v. 167, p. 227–235, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.013>>.

PANICO, R.; POWELL, W. H.; RICHER, J.-C. **A guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds**. [s.l.] Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1993.

PARSONS, G. L.; SHELOR, M. K.; DROUILLARD, J. S. Performance and Carcass Traits of Finishing Heifers Fed Crude glycerin¹². **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 653–657, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/jas.2008-1053>>.

PASTORI, W. T. **Suplementação com óleo de soja para eqüinos**. 2007. Universidade de São Paulo, 2007.

PEITER, G. C.; ALVES, H. J.; SEQUINEL, R.; BAUTITZ, I. R. Alternativas para o uso do glicerol produzido a partir do biodiesel. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 5, n. 4, p. 519–537, 2016.

PEREIRA, J. R. A.; ROSSI JUNIOR, P. **Manual prático de avaliação nutricional de alimentos**. [s.l.] FEALQ, 199-., 1995.

PICCIONE, G.; ASSENZA, A.; BORRUSO, M.; FAZIO, F.; CAOLA, G. Daily pattern of some fatty acids in the athletic horse. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 93, n. 1, p. 7–14, 2009.

POLIZEL, D. M.; SUSIN, I.; GENTIL, R. S.; FERREIRA, E. M.; DE SOUZA, R. A.; FREIRE, A. P. A.; PIRES, A. V.; FERRAZ, M. V. C.; RODRIGUES, P. H. M.; EASTRIDGE, M. L. Crude glycerin decreases nonesterified fatty acid concentration in ewes during late gestation and early lactation. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 2, p. 875–883, 2017.

PRESTES, I. A. F. **Introdução do biodiesel na matriz energética do Ceará**. 2007.

PRYCE, J. D. A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. **Analyst**, v. 94, n. 1125, p. 1151–1152, 1969.

RALSTON, S. L. Feeding Behavior. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 2, n. 3, p. 609–621, 1986. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749073917307095>>.

RETORE, M.; SCAPINELLO, C.; MOREIRA, I.; ARAUJO, I. G.; NETO, B. P.; STANQUEVIS, C. E.; OLIVEIRA, A. F. G. Glicerina semipurificada vegetal e mista na alimentação de coelhos em crescimento. p. 1723–1731, 2012.

REYNOLDS, A.; SNEDDON, K.; REINHAN, G. Hydration strategies for exercising dogs. **Recent Advances in**, n. September, 1998. Disponível em: <[http://www.hydrolyte.us/Arleigh Reynolds-Hydration Strategies.pdf](http://www.hydrolyte.us/Arleigh%20Reynolds-Hydration%20Strategies.pdf)>.

SALEM, A. Z. M.; ELGHANDOUR, M. M. Y.; KHOLIF, A. E.; BARBABOSA, A.; CAMACHO, L. M.; ODONGO, N. E. Influence of Feeding Horses a High Fiber Diet With or Without Live Yeast Cultures Supplementation on Feed Intake, Nutrient Digestion, Blood Chemistry, Fecal Coliform Count, and In Vitro Fecal Fermentation. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 39, n. 9, p. 12–19, 2016.

SANTOS, A. F. dos. **Novas Perspectivas da Glicerina – Síntese de Novos Nitratos com Propriedades Farmacológicas e Melhoradores de Cetano**. 2008. Universidade Federal da Paraíba, 2008. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp069752.pdf>>.

SAUNDERS, D. R.; DAWSON, a M. Studies on the metabolism of glycerol by the small intestine in vitro and in vivo. **The Biochemical journal**, v. 82, p. 477–483, 1962.

SCHAAFSTRA, F. J. W. C.; VAN DOORN, D. A.; SCHONEWILLE, J. T.; VAN RIET, M. M. J.; VISSER, P.; BLOK, M. C.; HENDRIKS, W. H. Evaluation of methodological aspects of digestibility measurements in ponies fed different haylage to concentrate ratios. **Animal**, n. January, p. 1–8, 2017.

SCHNEIDER, B. H.; FLATT, W. P. **The evaluation of feeds through digestibility experiments**. Athens, Ga.: University of Georgia Press., 1975.

SCHURG, W. A.; PULSE, R. E.; HOLTAN, D. W.; OLDFIELD, J. E. Use of Various Quantities and Forms of Ryegrass Straw in Horse Diets. **Journal of Animal Science**, v. 47, p. 1287–1291, 1978. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/jas1978.4761287x>>.

SILVA, C. L. S. da. **Glicerina proveniente da produção de biodiesel como ingrediente de ração para frangos de corte**. 2010. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010.

SILVA, D. A. V; EZEQUIEL, J. M. B.; PASCHOALOTO, J. R.; ALMEIDA, M. T. C. Volumosos e glicerina bruta na dieta de bovinos de corte: efeito sobre o hemograma e bioquímica sérica. p. 183–189, 2013.

SINDIRAÇÕES. **Associados**. Disponível em: <<http://sindiracoes.org.br/institucional/associados/>>. Acesso em: 23 jan. 2018.

SOUSA, D. C. De; OLIVEIRA, N. L. A. de; DOURADO, L. R. B.; FERREIRA, G. J. B. de C. Sistema digestório das aves e o glicerol na dieta de frangos de corte : Revisão. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 369–380, 2015.

STULL, C. L.; RODIEK, A. V. Responses of blood glucose, insulin and cortisol concentrations to common equine diets. **The Journal of nutrition**, v. 118, n. 2, p. 206—213, 1988. Disponível em: <<http://europepmc.org/abstract/MED/3276847>>.

SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. **Poultry Science**, v. 88, n. 3, p. 615–619, 2009. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ps/article-lookup/doi/10.3382/ps.2008-00303>>.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030291785512>>.

VERUSSA, G. H.; CORASSA, A.; DOS, D.; PINA, S.; PAULA, A.; TON, S.; KOMIYAMA, C. M.; LEITE, R. G. Caracterização, uso e limitações da Glicerina na Alimentação De Suínos: Revisão. v. 19, n. 3, p. 179–186, 2016.

WILLIAMS, C. A.; KRONFELD, D. S.; STANIAR, W. B.; HARRIS, P. A. Plasma Glucose and Insulin Responses of Thoroughbred Mares Fed a Meal High in Starch and Sugar or Fat and Fiber. **Journal of animal science**, v. 79, n. 8, p. 2196–2201, ago. 2001.

WRIGHT, D. E. Fermentation of glycerol by rumen micro–organisms. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 2, p. 281–286, 1969.

ZEYNER, A.; GEISLER, C.; DITTRICH, A. Effects of hay intake and feeding sequence on variables in faeces and faecal water (dry matter, pH value, organic acids, ammonia, buffering capacity) of horses. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 88, n. 1–2, p. 7–19, 2004.

ZUROVSKY, Y. Models of glycerol-induced acute renal failure in rats. **Journal of basic and clinical physiology and pharmacology**, v. 4, n. 3, p. 213–228, 1993.

APÊNDICE A - Etograma dos eventos comportamentais

ETOGRAMA	DATA:	1 PERÍODO - TEMPO: 0				
		DUNGA	DENGOSO	FELIZ	ZANGADO	
COMPORTAMENTO ALIMENTAR E HÍDRICO						
Alimentação	Apreensão, mastigação ou deglutição de alimentos					
Água	Ingestão ou deglutição					
COMPORTAMENTO INDIVIDUAL						
Ocio	Descanso em pé, descanso deitado ou dormindo					
Defecação	Quantidade de vezes que defecou					
Urinar	Quantidade de vezes que urinou					
Self-grooming	Lamberdo o corpo, mordiscando ou raspando a pele, coçando uma parte do corpo contra outra (pé/cabeça), esfregando a pele contra outra superfície do corpo ou contra algum objeto no ambiente ou rolando					
Comportamentos estereotipados	Pacing, acroflagia, roer madeira, balançar a cabeça ou andar de urso					
COMPORTAMENTO SOCIAL						
Interação social positiva	Aproximação, grooming, comportamento lúdico (brincando),					
Interação social negativa	Brigas					
Outros	Comportamentos não descritos acima					

Descrição do outros:

ANEXO A - Certificado de análise da glicerina bruta utilizada durante o experimento

Certificado de Análise

Produto	Glicerina
----------------	------------------

Característica	Resultado	Unidade
Glicerol	79,16	%
Umidade	22,01	%
Teor de Metanol	0,00	%
Teor de Cinzas	0,08	%

Observações:	Não realizamos análises de poder calorífico, teor de sódio, cloreto, potássio, magnésio e fósforo.

Grasiele Fernanda Bueno Bottene
CRQ IV 04163315
Laboratório Controle Analítico
Data de emissão: 25/01/2018

Certificado de análise emitido eletronicamente, não requer assinatura.

GlyceroSolution Química LTDA
Avenida Industrial, 360 (sala 1)
CEP 13515-000 Charqueada / São Paulo- SP
Tel / Fax: (19)3486-8900
Site: www.glycerosolution.com.br
e-mail: alzirio.nicoletti@biocapital.ind.br