**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Utilização de glicerina proveniente da produção de biodiesel na dieta
de frangos de corte**

Kelen Cristiane Zavarize

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutora
em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens**

**Piracicaba
2012**

Kelen Cristiane Zavarize
Zootecnista

Utilização de glicerina proveniente da produção de biodiesel na dieta de frangos de corte

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ FERNANDO MACHADO MENTEN**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Zavarize, Kelen Cristiane

Utilização de glicerina proveniente da produção de biodiesel na dieta de frangos de corte / Kelen Cristiane Zavarize. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2012.
83 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" , 2012.

1. Alimentos para animais 2. Biodiesel 3. Dieta animal 4. Frangos de corte - Desempenho 5. Ração I. Título

CDD 636.513
Z39u

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Ofereço

A Deus que ilumina sempre o meu caminho, permitindo que eu atinja todos os meus objetivos.

Dedico

Aos meus pais Luiz Augusto Zavarize e Conceição Fontes Zavarize que são o alicerce de todas as minhas conquistas.

Homenageio

Meu eterno agradecimento ao Prof. Dr. José Fernando Machado Menten, pelos ensinamentos e orientação, paciência e dedicação.

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - **Universidade de São Paulo** e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao **CNPq**, pela bolsa de estudos concedida durante o curso de Doutorado.

À **Rafaela Pereira** pela grande amizade, carinho e imensa colaboração, não só no doutorado, mas em momentos importantes de minha vida.

Aos amigos da pós-graduação **Camila Leão, Carla de Andrade, Cristiano Bortulozzi, Danilo Perina, Gislaine Romano Goretti, Leonardo de Freitas, Maicon Sbardella, Michele Bernardino e Vivian de Almeida**.

Aos funcionários do Setor de Avicultura, **Alexandre, Filó, Chico e Carlão**, pelo auxílio na condução dos experimentos.

Aos funcionários e colegas do Departamento de Zootecnia de não ruminantes, **José Henrique Rocha e Bruna Alves** por toda amizade durante o curso.

Ao Professor **Antonio Bianchi** pelos ensinamentos e auxílio com a língua inglesa.

Aos professores participantes da banca de qualificação **Dr. Valdomiro Shigueru Miyada, Dr. José Roberto Sartori e Dr. José Eurico Possebon Cyrino**.

A todos os professores que ministraram aulas durante a pós-graduação pelos seus ensinamentos.

Aos amigos da **Universidade Estadual de Goiás** pela colaboração e liberação nos momentos difíceis do doutorado.

Ao amigo **Sérgio Artiaga Rosa** pela ajuda na análise estatística dos dados.

"A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo que
seus animais são tratados."
(Mahatma Gandhi)

“Uma vida sem desafios não vale a pena ser vivida.”
(Sócrates)

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
LISTA DE FIGURAS.....	15
LISTA DE TABELAS.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 OBJETIVOS GERAIS.....	21
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
3.1 Histórico.....	23
3.2 Produção de biodiesel no Brasil e no mundo.....	23
3.3 Tipos e produção de glicerina.....	24
3.4 Composição da glicerina.....	26
3.5 Metabolismo do glicerol.....	27
3.6 Limitações de uso da glicerina.....	29
3.6.1 Metanol.....	29
3.6.2 Sódio.....	31
3.7 Valor energético da glicerina.....	31
3.8 Utilização da glicerina na alimentação de monogástricos.....	33
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1 Coleta das amostras de glicerina em empresas brasileiras.....	37
4.2 Ensaio de metabolismo utilizando a glicerina.....	39
4.3 Desempenho e qualidade da cama.....	42
4.4 Qualidade de carne.....	49
4.5 Histologia do fígado.....	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
5.1 Composição das glicerinas.....	53
5.2 Valores energéticos de glicerinas de diferentes composições.....	54
5.3 Desempenho e qualidade de cama.....	57
5.4 Rendimento de carcaça e qualidade de carne.....	66
6 CONCLUSÕES.....	71

REFERÊNCIAS.....	73
ANEXO.....	81

RESUMO

Utilização de glicerina proveniente da produção de biodiesel na dieta de frangos de corte

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade da glicerina produzida no Brasil e o seu efeito no valor de energia metabolizável e na digestibilidade para frangos de corte, bem como avaliar o desempenho e qualidade de carne, estudando os possíveis efeitos adversos e determinando o melhor nível de inclusão a ser adotado com segurança. Na primeira etapa foram coletadas 10 amostras de glicerina de diferentes fontes e origens para a análise da composição. Em seguida, foram selecionadas 4 glicerinas de composições contrastantes para a determinação da energia metabolizável e digestibilidade em ensaios de metabolismo com 200 frangos de corte durante o período de 21 a 29 dias de idade, através do método de coleta total de excretas. Na segunda etapa, as aves foram submetidas ao um delineamento inteiramente ao acaso, com 6 tratamentos e 6 repetições de 45 aves cada. Os tratamentos constituíram de uma ração controle e 5 rações com 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5% de glicerina, sendo que a glicerina utilizada foi a que apresentou melhor composição química e energia metabolizável de 3145 kcal/kg. A umidade da cama foi analisada aos 28, 35 e 40 dias de idade. Aos 40 dias de idade foram sacrificadas 6 aves por tratamento para determinação do rendimento de carcaça e partes, além de coleta do músculo do peito, perna e fígado. Nos músculos do peito e da perna foram realizadas as análises de qualidade de carne. Também foram determinados a composição centesimal e perfil de ácidos graxos da gordura no músculo do peito. As energias aparente metabolizável corrigida para o balanço de nitrogênio das glicerinas foram de 3145, 5026, 2828 e 2892 kcal/kg. Para o desempenho das aves o aumento do nível de glicerina na dieta até 10% não afetou negativamente, somente com a inclusão de 12,5% de glicerina houve piora no peso ($P<0,05$) para o período de 40 dias de idade. Não houve efeito significativo para o rendimento de carcaça e partes ($P>0,05$). Não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) para a composição centesimal e perfil de ácidos graxos na gordura. Aos 35 e 40 dias de idade foram encontrados aumento no teor de umidade da cama ($P<0,05$) com a inclusão de 10 e 12,5% de glicerina. Não foram encontrados alterações nos fígados das aves com os maiores níveis de inclusão. Os resultados sugerem que dietas contendo a inclusão de até 5% não causam nenhum efeito negativo para as aves e cama.

Palavras-chave: Composição centesimal; Desempenho; Qualidade de carne; Qualidade de cama

ABSTRACT

Effect of glycerine from biodiesel production in diets for broilers

The objective of this study was to evaluate the quality of the glycerin produced in Brazil and its effect on the value of metabolizable energy and digestibility, the performance and meat quality of broilers, studying the possible adverse effects and determining the best level of inclusion to be adopted safely. In the trial were collected 10 glycerin samples from different sources and analysis of the composition. In the following section, we selected four contrasting glycerins compositions for the determination of metabolizable energy and digestibility in metabolism trials with 200 broiler chickens during the 21-29 days of age, by the method of total excreta collection. In the second trial, the birds were subjected to a completely randomized design with 6 treatments and 6 replicates of 45 birds each. The treatments were a control diet and five diets with 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 and 12.5% glycerin, and glycerin was used with the best chemical composition and metabolizable energy 3145 kcal / kg. The litter moisture was analyzed at 28, 35 and 40 days old. At 40 days of age were sacrificed 6 birds per treatment for determination of carcass yield and parts, and collection of the breast muscle, leg and liver. In the muscles of the chest and leg were performed the analyzes of meat quality. We also determined the composition and profile of fatty acid in breast muscle. The apparent metabolizable energy corrected for nitrogen balance of glycerins were 3145, 5026, 2828 and 2892 kcal / kg. For the performance of the birds increased level of glycerin in the diet up to 10% did not affect negatively only with the inclusion of 12.5% glycerin worsened in weight ($P < 0.05$) for the period of 40 days old. There was no significant effect on carcass yield and parts ($P > 0.05$). There were no differences ($P > 0.05$) for the composition and profile of fatty acids in fat. At 35 and 40 days of age were found increase in moisture content of the bed ($P < 0.05$) with the inclusion of 10 and 12.5% glycerin. No changes were found in the livers of the birds with the highest levels of inclusion. The results suggest that diets containing the inclusion of up to 5% do not cause any negative effects for the broilers, meat quality and litter

Keywords: Centesimal composition; Performance; Meat quality; Litter quality

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da reação de transesterificação.....	24
Figura 2 - Diagrama da obtenção do biodiesel e da glicerina.....	25
Figura 3 - Fórmula estrutural do glicerol.....	26
Figura 4 - Foto A glicerol puro e B glicerina bruta.....	27
Figura 5 - Metabolismo hepático do glicerol.....	28
Figura 6 - Metabolismo do metanol no fígado.....	30
Figura 7 - Aves alojadas nas gaiolas de metabolismo.....	39
Figura 8 - Recipiente adaptado para a volatilização da amônia.....	42
Figura 9 - Peso aos 7 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 169,72 + 0,857 X$, $R^2 = 0,43$).....	49
Figura 10 - Peso final aos 21 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 876,30 + 24,33X - 3,25 X^2$, $R^2 = 0,13$).....	59
Figura 11 - Consumo de ração aos 21 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 1119,23 + 44,65 X - 5,61 X^2$, $R^2 = 0,22$).....	60
Figura 12 - Ganho de peso aos 21 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 833,38 + 25,24 X - 3,38 X^2$, $R^2 = 0,14$).....	61
Figura 13 - Consumo de ração aos 21 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 1119,23 + 44,65 X - 5,61 X^2$, $R^2 = 0,22$).....	62
Figura 14 - Ganho de peso aos 21 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 833,38 + 25,24 X - 3,38 X^2$, $R^2 = 0,14$).....	62
Figura 15 - Histolória do fígado de frangos de corte alimentados com 0 (A) e 10% (B) de inclusão de glicerina na dieta (Coloração HE).....	70
Figura 16 - Fígado de frangos de corte alimentado 10% de inclusão de glicerina na dieta com ausência de gordura (Coloração Sudan-Black).....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Capacidade estimada de produção, região e matéria prima das empresas doadoras de amostras de glicerina.....	38
Tabela 2 - Composição química de glicerina de diferentes empresas e regiões brasileiras.....	38
Tabela 3 - Composição química das glicerinas de diferentes empresas.....	39
Tabela 4 - Composição percentual e valores calculados da ração referência.....	41
Tabela 5 - Composição química, energia bruta (EB) e energia metabolizável (EMA) da glicerina utilizada no desempenho dos frangos de corte...	43
Tabela 6 - Médias semanais de temperatura máximas e mínimas.....	43
Tabela 7 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas de 1 a 7 dias.....	44
Tabela 8 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas de 8 a 21 dias.....	45
Tabela 9 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas de 22 a 35 dias.....	46
Tabela 10 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas de 36 a 40 dias.....	47
Tabela 11 - Valores de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) e coeficientes de metabolizabilidade da energia bruta (CMEB) das glicerinas, expressos na matéria natural...	54
Tabela 12 - Médias estimadas das características de desempenho no período de 1 a 7 dias de idade de pintos de corte alimentados com níveis de glicerina.....	58
Tabela 13 - Médias estimadas das características de desempenho no período de 1 a 7 dias de idade de pintos de corte alimentados com níveis de glicerina.....	61
Tabela 14 - Médias estimadas das características de desempenho no período de 1 a 21 dias de idade de frangos de corte alimentados com níveis de glicerina.....	63
Tabela 15 - Médias estimadas das características de desempenho no período de 1 a 40 dias de idade de frangos de corte alimentados com níveis de	64

glicerina.....	
Tabela 16 - Teor de umidade, pH e amônia volatilizada, aos 21, 28, 35 e 40 dias de criação, da cama de frangos alimentados com glicerina.....	66
Tabela 17 - Rendimento de carcaça e partes de frangos alimentados com níveis de glicerina.....	67
Tabela 18 - Composição centesimal do peito de frangos alimentados com níveis de glicerina.....	68
Tabela 19 - Médias para Capacidade de retenção de água (CRA), pH com 2 e 24 horas, drip-loss, L*, a* e b* para 2 e 24 horas para peito de frangos aos 40 dias de idade alimentados com glicerina para peito e sobrecoxa.....	69
Tabela 20 - Perfil de ácidos graxos para peito de frangos aos 40 dias de idade alimentados com glicerina.....	69

1 INTRODUÇÃO

No mercado mundial de carnes, o Brasil encontra-se na terceira posição da produção da carne de aves. A produção 2011 foi de 13 milhões de toneladas de carne de frango, já as exportações totalizaram aproximadamente 3,5 milhões de toneladas (AVISITE, 2011).

O milho é a principal fonte energética na alimentação das aves, sendo que aproximadamente 80% da produção nacional do cereal é utilizada no preparo de rações para os animais. Na avicultura, o milho tem participação em torno de 65-70% da composição das rações. Tratando-se de um grão nobre, de elevado custo e também utilizado na alimentação humana, a sua substituição nas dietas animais por outras fontes energéticas é de interesse para redução dos custos com alimentação.

O emprego de ingredientes alternativos na alimentação animal, especialmente na avicultura, pode resultar em menores custos de produção e também na liberação dos ingredientes tradicionais para a alimentação humana. Segundo Giroto et al. (2003), ao considerar a alternativa de ingredientes, o produtor deve estar atento à disponibilidade comercial, qualidade e preços relativos aos ingredientes tradicionais, buscando a vantagem no preço, sem desconsiderar a qualidade.

Entre as alternativas, o uso da glicerina destaca-se por ser um alimento altamente energético e de baixo custo. A glicerina bruta obtida a partir da produção do biodiesel tem em sua composição 70 a 80% de glicerol, sendo necessário que passe por um processo de purificação para ser empregada na indústria de plásticos, resinas, adesivos, etc. ou, quando com alto grau de pureza, pode ter uso na indústria de cosméticos e farmacêutica.

Pelo grande volume de glicerina gerado pela indústria produtora de biodiesel, este produto torna-se uma preocupação ambiental caso não se encontre um uso adequado para sua destinação. A utilização da glicerina como fonte de energia na alimentação das aves vem tornando uma alternativa economicamente viável; porém deve-se considerar que a desuniformidade de sua composição química pode promover resultados variáveis no desempenho e saúde dos animais. Assim, é importante conhecer a composição e o valor nutricional do produto para poder determinar qual o nível de inclusão que poderá ser empregado na dieta dos animais.

2 OBJETIVOS GERAIS

Os objetivos deste estudo foram avaliar a qualidade da glicerina produzida no Brasil e o seu efeito no valor de energia metabolizável e na digestibilidade para frangos de corte, bem como avaliar o desempenho e qualidade de carne, estudando os possíveis efeitos adversos e determinando o melhor nível de inclusão a ser adotado com segurança.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Histórico

Por volta de 600 a.C., os fenícios divulgaram um conhecimento alquimista de como se fazer sabão que, alguns séculos mais tarde, teve sua divulgação via Marselha dentro dos costumes galeses e germânicos. Nenhuma referência antiga pode ser encontrada com os nomes “glicerina” ou “glicerol”, pois esses nomes datam do século XX unicamente. No período da Renascença da Itália, referências de como se fazer sabão podem ser encontradas pela Europa Central e regiões da Alemanha nos séculos seguintes (KIRK-OTMER, 2007).

Por volta do século XV, no reinado de Carlos I, a coroa Inglesa monopolizava o comércio e fabricação de sabão e, até mesmo, cobrava uma taxa das pessoas que possuíam uma preferência por “limpeza”. No século seguinte, este conhecimento foi levado da alquimia à química, um exemplo histórico está em C.G.Geoffrey em 1741, que intensificou seus estudos acerca da natureza das substâncias gordurosas, desencadeando a descoberta da glicerina. Menos de 40 anos depois, o químico Sueco Karl Wihelm Scheele foi o primeiro a isolar esse composto, em 1779, pelo aquecimento de uma mistura de litargírio (PbO) com óleo de oliva. Foi ele quem formalizou a descoberta de que os óleos e gorduras naturais contém o que chamamos hoje de glicerina. Na época, ele a batizou de “o doce princípio das gorduras” (KIRK-OTMER, 2007).

3.2 Produção de biodiesel no Brasil e no mundo

Segundo a Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, biodiesel é definido como “biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento para a geração de outro tipo de energia, que pode substituir parcial ou totalmente combustível de origem fóssil”.

O biodiesel pode ser produzido a partir de gordura animal ou de óleo vegetal, existindo várias espécies vegetais no Brasil com potencial de utilização, tais como mamona, dendê, girassol, babaçu, amendoim, soja e milho. Portanto, o Brasil apresenta grande potencial para a produção de biocombustíveis, apresentando condições naturais favoráveis para se tornar importante produtor internacional de biodiesel, em função de possuir grandes áreas disponíveis para a agricultura, com condições de solo e clima adequados ao plantio de oleaginosas. Além disso, dispõe de tecnologia de ponta e estrutura fabril com alta capacidade para desenvolver esta produção.

Em 2011, a produção brasileira de biodiesel foi de aproximadamente 2,7 bilhões de litros e, como coproduto, foram gerados cerca de 270 milhões de litros de glicerina (ANP,

2012). A União Européia produz cerca de 90% do biodiesel do mundo, sendo que o maior produtor e consumidor é a Alemanha. Os Estados Unidos era o segundo lugar, mas em 2009, em função dos efeitos da crise internacional essa posição sofreu alterações (EBB, 2010).

3.3 Tipos e produção de glicerina

Atualmente, as empresas produtoras de biodiesel têm trabalhado com fontes de gordura de origem vegetal, animal ou a associação destas duas fontes. A denominação glicerina, glicerol, glicerina bruta ou glicerina purificada é bastante divergente. O grau do processamento industrial é que diferenciam as glicerinas existentes no mercado, podendo ser encontradas na forma bruta (alto conteúdo de ácidos graxos), semipurificada (baixo conteúdo de ácidos graxos) e purificada (composto puro). Muitos trabalhos têm caracterizado o subproduto oriundo da produção de biodiesel como glicerol, e outros, como glicerina. No entanto, segundo Morrison (1994), o termo glicerol aplica-se somente ao composto puro, 1,2,3-propanotriol, enquanto o termo glicerina, aplica-se à purificação de compostos comerciais.

A glicerina é o principal coproduto gerado na produção de biodiesel e, aproximadamente, 10% do volume total de biodiesel produzido correspondem à glicerina (DASARI et al., 2005). Em linhas gerais, o esquema de produção do biodiesel é apresentado na Figura 2.

A produção de biodiesel pode ser feita por diferentes processos, sendo o mais empregado a transesterificação alcoólica via catalítica, conforme mostrado na Figura 1. A reação de transesterificação, com o metanol ou etanol, pode ser descrita como: 1 mol de triglicerídeo + 3 moles de metanol (ou etanol) = 3 moles de ésteres de metanol (ou etanol) + 1 mol de glicerol. Entretanto, na prática, para que a reação tenha o resultado desejado a concentração do álcool deve ser de 6 moles. Além disso, a temperatura de reação deve ser de 65°C e a pressão deve estar adequada (KRAUSE, 2008).

Figura 1 - Representação esquemática da reação de transesterificação

glicerol) e de alta pureza (acima de 99% de glicerol). A glicerina de baixa pureza possui em média 27% de água, 63% de glicerol e 28% de metanol; a de média pureza apresenta 11% de água, 85% de glicerol e 0,04% de metanol. No entanto, ambas podem ser aproveitadas na alimentação animal (SÜDEKUM, 2008).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a glicerina para ser utilizada no Brasil na alimentação animal como ingrediente de rações deve conter no máximo 150 ppm de metanol, 13% de umidade e no mínimo 80% de glicerol. Os teores mínimos de sódio e matéria mineral devem ser garantidos pelo fabricante, podendo variar, no entanto, com o processo produtivo.

3.4 Composição da glicerina

O glicerol ou propano-1,2,3-triol (Figura 3) é um composto orgânico pertencente à função álcool, líquido à temperatura ambiente (25°C), higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado. Está presente em todos os óleos e gorduras de origem animal e vegetal em sua forma combinada, ou seja, ligado a ácidos graxos para formar a molécula de triacilglicerol.

Figura 3 - Fórmula estrutural do glicerol

Em sua forma pura, o glicerol apresenta-se como líquido viscoso, incolor, inodoro e higroscópico, com sabor doce, solúvel em água e álcool, insolúvel em éter e em clorofórmio (RIVALDI et al., 2008). Já na forma bruta apresenta-se como líquido viscoso pardo escuro, que contém quantidades variáveis de sabão, álcool, monoacilglicerol, diacilglicerol, oligômeros de glicerol, polímeros e água (OOI et al., 2004) (Figura 4).

Figura 4 - Foto A glicerol puro e B glicerina bruta

A legislação norte-americana atribui ao glicerol o status GRAS (geralmente reconhecido como seguro), quando usado como aditivo da dieta segundo as boas normas de fabricação e alimentação, inclusive na alimentação humana.

3.5 Metabolismo do glicerol

O glicerol é um componente do metabolismo normal dos animais, sendo encontrado na circulação e nas células. Ele é derivado de (1) lipólise no tecido adiposo, (2) hidrólise dos triacilglicerois das lipoproteínas do sangue e (3) gordura da dieta. Em estudo utilizando intestinos de ratos, foi demonstrado que o glicerol possui dois sistemas de absorção intestinal - um sistema de transporte ativo e outro sistema de transporte passivo, sendo que o primeiro é responsável por 70% do transporte em baixas concentrações. A absorção é sódio-dependente e o transporte é mediado por um carreador secundário ativo, no estômago e no intestino (KATO et al., 2004).

Pelo pequeno tamanho molecular, o glicerol pode ser facilmente absorvido no intestino dos animais passivamente, ao invés de formar micela, como os ácidos graxos de cadeia média e longa, com sais biliares (GUYTON, 2002). Em ratos é bem absorvido no intestino, porém menos rapidamente do que a glicose. Além disso, pode ser absorvido no estômago de ratos, porém mais lentamente do que no intestino (LIN, 1977). Após ser absorvido, no organismo animal o glicerol é metabolizado a glicerol-3-fosfato e aos intermediários da glicólise dihidroxiacetona fosfato e gliceraldeído-3-fosfato (Figura 5). Desta forma, o destino metabólico do glicerol pode ser dirigido, dependendo do tecido e do estado nutricional do animal, para o fornecimento de esqueleto carbônico para a gluconeogênese, para a transferência de equivalentes redutores do citosol para a mitocôndria – com a geração de 22

ATP, ou como precursor da síntese de triglicerídeos – síntese *de novo* de ácidos graxos ou como constituinte da molécula do triacilglicerol.

Figura 5 - Metabolismo hepático do glicerol (adaptado de LEHNINGER, 2000)

O glicerol pode ser metabolizado no fígado, rins e músculos, porém o fígado é o maior responsável pela metabolização do glicerol no organismo. Os rins também são responsáveis pela utilização do glicerol, sendo que a reabsorção do glicerol pelos rins é fundamental para que o composto não seja eliminado pela urina. O glicerol pode ser totalmente retirado do sangue pelos rins, quando a sua concentração for de 1 mM (LIN, 1977).

A metabolização do glicerol é feita por três enzimas que são a glicerol quinase, a glicerol-3-fosfato desidrogenase citosólica (G3P desidrogenase), também chamada de G3P oxiredutase, e a glicerol-3-fosfato desidrogenase mitocondrial (LIN et al., 1976). A primeira enzima a participar da metabolização do glicerol é a glicerol quinase e está presente principalmente no fígado e nos rins (VERNON; WALKER, 1970). A atividade específica da G3P desidrogenase ocorre no fígado, nos músculos, no intestino e no cérebro e a G3P oxiredutase tem maior atividade (90%) no músculo (LIN, 1977).

O fígado é responsável por três quartos do total da capacidade de metabolização de glicerol no organismo. Quando os níveis séricos são menores ou igual a 1 mM podem ser completamente utilizados. Porém, quando este limite é ultrapassado, a utilização não é total e está relacionada com a concentração de glicerol no sangue (LIN, 1977).

Os níveis normais de glicerol plasmático para ratos é 0,1 mM e para humanos é 0,05-0,1 mM (LIN, 1977). Em frangos, Simon et al. (1996) encontraram nível de 0,65 mM de glicerol plasmático. Entretanto a concentração aumentou para 4,36 mM com o fornecimento de 5% de glicerol na dieta, e variou de 11 a 54 mM com a suplementação de 10% de glicerol na dieta. Para frangos recebendo 10% de glicerol na dieta, a concentração de glicerol no músculo do

peito aumentou de 0,4 $\mu\text{mol/g}$ para 7,7 $\mu\text{mol/g}$, enquanto no fígado aumentou de 18 $\mu\text{mol/g}$ para 40 $\mu\text{mol/g}$ (SIMON et al., 1997).

Com altas taxas de inclusão de glicerol na dieta, as aves aparentemente não são capazes de metabolizar todo o glicerol absorvido. Isto se deve, possivelmente, à falta de ativação enzimática do glicerol, através da glicerol quinase, para assim formar glicerol-3-fosfato limitando a absorção (MIN et al., 2010).

Para Cerrate et al. (2006), a ação do glicerol, inibindo a atividade das enzimas fosfoenolpiruvato, carboxiquinase e glutamato desidrogenase, pode resultar em economia dos aminoácidos gluconeogênicos e favorecer a deposição de proteína corporal.

O efeito do glicerol da dieta na atividade lipogênica foi estudado de forma comparativa em ratos e frangos demonstrando diferentes resultados. Para ratos a adição de glicerol causou aumento no peso e na atividade de enzimas lipogênicas, sem aumentar a síntese de ácidos graxos do fígado. Por outro lado, em frangos não houve alteração no peso e ocorreu queda na atividade de enzimas lipogênicas e na taxa de síntese de ácidos graxos de fígado (LIN et al., 1976). Com isso, evidencia que a alimentação de animais não ruminantes com glicerol provoca respostas espécie-específicas e também órgão-específicas, que precisam ser estudadas com novas metodologias, para assegurar que o glicerol possa ser considerado um ingrediente de uso generalizado nas rações.

3.6 Limitações de uso da glicerina

3.6.1 Metanol

Segundo o MAPA (BRASIL, 2010), o padrão nacional da glicerina na alimentação animal é no máximo 150 ppm de metanol e no mínimo 80% de glicerol. Portanto, a padronização do processo é de fundamental importância para a utilização como ingrediente na ração animal.

No processo de produção de biodiesel o metanol é usado em excesso na reação de transesterificação. Após a formação dos ésteres, ocorre a separação da fase lipídica e da fase aquosa, que é composta por glicerina, água, metanol e os sais. A maior parte do metanol é recuperada por destilação e reciclado ao processo, porém de forma incompleta (KRAUSE, 2008).

O problema do resíduo de metanol tende a ser mais pronunciado em pequenas plantas de biodiesel (DASARI, 2007). Segundo Kerr (2007), nos Estados Unidos não existe especificação para o uso de glicerol na nutrição animal. O FDA caracteriza o glicerol de

acordo com a especificação CFR573640, da regulamentação 21, a qual exige que os ésteres de metila não excedam 150 ppm (0,015%) nas dietas.

O metanol compromete o sistema nervoso central, causando sintomas de intoxicação em humanos entre 12 e 24 horas após a ingestão. Após este período, a acidose metabólica produz distúrbios visuais que são acompanhados por náuseas, vômitos, dor abdominal e dor de cabeça. A ação do metanol na visão é descrita como causador de edema do disco ótico e que pode levar à cegueira (JOHLIN et al., 1987).

A intoxicação por metanol em animais é identificada pela excreção de ácido fórmico na urina. O metanol ingerido é oxidado no fígado, pela enzima álcool desidrogenase, a formaldeído e este a ácido fórmico, através da enzima formaldeído desidrogenase (Figura 6). Posteriormente, o ácido fórmico é metabolizado a CO_2 e H_2O , que são excretados pelo pulmão e pelos rins (JACOBSEN; McMARTIN, 1986).

Figura 6 - Metabolismo do metanol no fígado

O ácido fórmico tem função importante na síntese de purinas e de pirimidinas e na síntese do ácido úrico, que é a principal forma de excreção de nitrogênio nas aves e nos répteis (SCOTT; NESHEM; YOUNG, 1982). A suscetibilidade para intoxicação por metanol depende da capacidade do animal em metabolizar o ácido fórmico. A oxidação do ácido fórmico depende da quantidade de coenzima tetrahydrofolato presente no fígado (BLACK et al., 1985). O acúmulo de ácido fórmico é responsável pela presença da acidose metabólica. O ácido fórmico inibe a respiração celular, produzindo acidose láctica. Ele também, ao acumular na retina, é responsável pela cegueira (JOHLIN et al., 1987).

Embora estes compostos possam ser tóxicos para humanos, ele tem sido incluídos em dietas animais sem manifestar efeitos tóxicos. Alguns autores, trabalhando com formalina (10 a 15% de metanol) para aves (KHAN; HUSSAIN; KHAN, 2006) e suínos (CANIBE et al., 2005), não encontraram efeito prejudicial no desempenho dos animais. Ao contrário, os

autores recomendaram seu uso na nutrição animal para a redução de patógenos no trato gastrointestinal.

O resíduo de metanol na glicerina bruta se constitui em um ponto importante quando se avalia o valor desse produto para a alimentação animal. Um aspecto que deve ser salientado é que o potencial efeito prejudicial do metanol incorporado às rações pode ser desprezado quando a ração for peletizada, uma vez que a temperatura atingida na peletização é mais alta que a temperatura de vaporização do metanol.

3.6.2 Sódio

Dependendo do catalisador usado na produção do biodiesel, a glicerina bruta gerada pode conter 6-8% de sódio ou potássio. Nos processos adotados nas plantas do Brasil, é mais comum a presença do cloreto de sódio, sendo que as especificações da indústria apontam um limite de 7% para este sal. Este conteúdo equivale a aproximadamente 2,75% de sódio na glicerina bruta; a adição de 10% de glicerina bruta na ração seria responsável pelo aporte de 0,275% de sódio na ração, o que já excede os valores de exigências nutricionais para frangos de corte (0,19 a 0,22% de sódio) ou para suínos (0,15 a 0,23% de sódio), segundo as Tabelas Brasileiras (ROSTAGNO et al., 2011). A maior umidade das excretas foi notada quando a ração de galinhas poedeiras foi formulada com 15% de glicerina contendo 1,26% de sódio e não foi feito ajuste em relação à ração basal que continha 0,21% de sódio (LAMMERS et al., 2008b).

3.7 Valor energético da glicerina

O grande interesse na utilização da glicerina na alimentação animal é devido ao seu valor energético. Na realidade, o valor energético da glicerina, resultante de cada processo industrial, deve ser determinado em função de sua pureza em glicerol, uma vez que diversas impurezas podem estar presentes no produto, como a presença de resíduos de ácidos graxos.

Ao determinar energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) da glicerina (86,95% de glicerol, 280 ppm de metanol, 1,26% de sódio e energia bruta de 3.625 kcal/kg) para frangos de corte de diferentes idades, foi encontrado o valor médio EMAn de 3.434 kcal/kg. Para a fase inicial (4 a 11 dias de idade) e para fase final (38 a 45 dias de idade) a EMAn foi de 3.621 kcal/kg e 3.349 kcal/kg, respectivamente. Pode-se notar, que em ambas as idades, as aves são capazes de utilizar eficientemente a glicerina com coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta maiores de 90% (DOZIER et al., 2008). Esta eficiência na utilização da glicerina pode ser demonstrado também com poedeiras de 40

semanas de idade, em que foi determinado EMAn de 3.805 kcal/kg com a inclusão na dieta de glicerina de mesma composição, no qual o coeficiente de metabolizabilidade foi de 105% (LAMMERS et al., 2008b)

A glicerina utilizada na alimentação animal pode ser encontrada nas formas bruta, semipurificada ou purificada conforme mostrado anteriormente. Este fato altera sua composição, principalmente em relação à concentração de glicerol, metanol e ácidos graxos, no qual irá afetar a energia bruta, e consequentemente a energia metabolizável. Foram determinados os valores de EMAn da glicerina vegetal bruta e semipurificada para codornas de 4.564 e 3.068 kcal/kg na matéria natural, respectivamente (FURLAN et al., 2010); e para suínos foram encontrados os valores de 5.040 e 3.777 kcal/kg ao determinar a energia digestível da glicerina vegetal bruta e semipurificada, respectivamente (CARVALHO et al., 2010).

Pode-se observar que por não sofrer nenhum processo de purificação, a glicerina bruta apresenta alto valor energético em relação à semipurificada, e provavelmente tem em sua composição a presença de altos teores de ácidos graxos, conferindo-lhe maior valor energético. Outros autores encontraram que a glicerina bruta proveniente de gordura animal teve resultado de EM de 5.206 kcal/kg para suínos (KERR et al., 2009). Em comparação, alguns trabalhos citam que a glicerina semipurificada (80 a 90% de glicerol) possui 3.436 kcal/kg EM (LAMMERS et al., 2008a) e a glicerina purificada 4.463 kcal/kg EM (BARTELT; SCHNEIDER, 2002). Estes dados mostram que a matéria prima (animal ou vegetal) não afeta energia, e sim o processo de purificação a qual é submetida.

Lammers et al. (2007) mediram os valores de energia digestível (ED) e metabolizável (EM) da glicerina com a mesma composição química para leitões na fase de creche (três experimentos) e suínos em terminação (dois experimentos). Para os cinco experimentos, foi calculado que a ED da glicerina correspondeu, em média, a 92% da energia bruta e que a razão EM:ED foi de 96%. Na avaliação global, a ED da glicerina para suínos foi de 3.344 kcal/kg e a EM foi de 3.207 kcal/kg. Entretanto, os autores relataram que houve declínio na estimativa da EM da glicerina com níveis crescentes de inclusão na ração para leitões na fase de creche (3.601, 3.329 e 2.579 kcal/kg de glicerina para 5, 10 e 20% de inclusão, respectivamente) e esse declínio não ocorreu para animais em terminação.

Os valores de energia metabolizável determinados para a glicerina são muito próximos quando comparados aos valores de energia metabolizável aparente do milho para suínos (3.340 kcal/kg) e aves (3.381 kcal/kg) (ROSTAGNO et al., 2011). Isto evidencia o potencial de uso da glicerina como ingrediente energético de rações para estas espécies.

Os valores de energia metabolizável do glicerol puro para frangos de corte, poedeiras e suínos variavam de acordo com a inclusão na dieta (BARTLET; SCHENIEDER, 2002). Com aumento da ingestão de glicerol ocorre redução da EMA. Isto se deve provavelmente à capacidade de metabolização limitada, com a ausência de reabsorção renal do glicerol, sendo o excesso é excretado pela urina (GIANFELICI, 2009; BARTLET; SCHENIEDER, 2002). Outro aspecto importante a ser considerado são os diferentes valores energéticos verificados na literatura. Isto se deve principalmente aos diferentes tipos de glicerina existentes no mercado, com diferentes composições, principalmente nos teores de glicerol, água e gordura.

3.8 Utilização da glicerina na alimentação de monogástricos

Alguns trabalhos foram desenvolvidos com o objetivo de determinar os efeitos da glicerina, oriunda de diferentes fontes, sobre o desempenho de animais monogástricos. Estas pesquisas envolveram frangos de corte (CERRATE et al., 2006; MENTEN et al., 2008; GIANFELICI, 2010; OLIVEIRA et al., 2010; SILVA et al., 2010), galinhas poedeiras (LAMMERS et al., 2008b), leitões na fase de creche (LAMMERS et al., 2007; GROESBECK et al., 2008) e suínos em crescimento e terminação (BERENCHTEIN et al., 2010), além de codornas (BATISTA, 2010; FURLAN et al., 2010; PASQUETTI, 2011). No entanto, os resultados mostram diferenças no desempenho e nos valores energéticos das glicerinas, os quais podem variar de acordo com a idade, espécie animal e níveis de inclusão nas dietas. Dessa maneira, devem-se considerar as fontes das glicerinas (óleos vegetais ou gordura animais) e sua composição química.

Para frangos de corte alguns trabalhos demonstram que a inclusão de 5 a 10% de glicerina pode ser utilizada sem afetar o desempenho dos animais (SILVA et al., 2010; SIMON et al., 1996, 1997). A inclusão de 5% não influencia o desempenho e a composição química da carcaça de frangos, no entanto, os cuidados com o manejo de cama devem ser aumentados (GUERRA, 2010; SILVA et al., 2010), além do favorecimento da absorção de água na carcaça, devido ao acúmulo de glicerol no músculo (SIMON et al., 1996).

Ao avaliar a inclusão de 5 e 10% de glicerina, proveniente da produção do biodiesel (3.527 kcal/kg de EM), em rações de frangos de corte foi relatado que o nível de 10% afetou negativamente o consumo de ração, o peso final e, conseqüentemente, a conversão alimentar dos frangos. Contudo, para aves na mesma categoria testando a inclusão de 0; 2,5 e 5% de glicerina na dieta, não foi encontrado diferenças no desempenho dos animais (CERRATE et al., 2006). Para os altos níveis de inclusão pode ser responsável pela queda dos parâmetros de

desempenho, o menor consumo causado por baixo fluxo de ração nos comedouros manuais, demandando atenção redobrada no manejo desses comedouros.

Frangos alimentados com dietas contendo 10% de glicerol apresentaram aumento no consumo de ração. No entanto, o teor de glicerol das rações não influenciou o ganho de peso, a conversão alimentar e o balanço de nitrogênio. A sua ingestão elevou o seu nível no plasma sanguíneo (13,6 $\mu\text{mol/ml}$) e no músculo do peito (7,5 $\mu\text{mol/g}$) em relação ao nível basal (0,6 $\mu\text{mol/ml}$ e 0,4 $\mu\text{mol/g}$, respectivamente), assim como o nível de glicerol no fígado. Os autores concluíram que a utilização de 10% de glicerol puro em rações de frangos de corte é possível em substituição ao milho sem causar efeitos negativos (SIMON et al., 1997).

Ao trabalhar com níveis de 0 a 10% de glicerol em substituição ao trigo nas dietas de frangos de corte de 7 a 28 dias de idade, houve aumento crescente para a energia metabolizável aparente com a inclusão do produto, que refletiu na melhora da conversão alimentar. Porém, sem influenciar o peso corporal, consumo de ração e perda por gotejamento (McCANN; GRIFFITHS, 2009).

Lammers et al. (2008) demonstraram em suínos em crescimento que 10% de inclusão de glicerina (84,5% de glicerol; 0,32% de metanol; 1,2% sódio; 0,005% de potássio) não causou toxicidade e foi eficientemente utilizada, sem afetar o desempenho, a composição de carcaça e a qualidade da carne. Para leitões, a inclusão de até 10% de glicerina pode ser utilizada eficientemente pelo animal, pois não afeta o desempenho (LAMMERS et al., 2007). Recentemente, Piano et al. (2010), trabalhando com leitões, evidenciaram a possibilidade do uso de glicerina semi-purificada até 12% de inclusão como fonte energética na alimentação sem afetar o desempenho.

Para suínos em terminação, alguns estudos, demonstraram que 10% de inclusão nas dietas promoveu aumento no consumo, sem afetar o ganho de peso, confirmando a palatabilidade da glicerina (KIJORA; KUPSCH, 1996; KIJORA et al., 1995; MOUROT et al., 1994). Berenchtein et al. (2010), trabalhando com 9% de glicerina proveniente de sebo bovino, encontraram redução no ganho de peso na fase de crescimento, porém concluíram que nas fases crescimento e final a glicerina pode ser utilizada, sem afetar o desempenho, as características de carcaça e a qualidade de carne.

A inclusão de 3 e 6% de glicerina (90,7% de glicerol e 136 ppm de metanol) e 6 e 12% de glicerina associada com óleo de soja, sobre o desempenho de leitões na fase de creche, obteve efeito positivo no ganho de peso diário dos leitões que receberam glicerina na dieta sem, no entanto, afetar o consumo diário de ração e a conversão alimentar (GROESBECK et al., 2008).

Lammers et al. (2008b) testando a inclusão de até 15% de glicerina na dieta de galinhas poedeiras não observaram qualquer efeito sobre o consumo diário de ração ou na produção de ovos, peso dos ovos e massa dos ovos produzidos.

Para a alimentação de codornas de corte, foram adicionados níveis de 4, 8, 12 e 16% de glicerina vegetal bruta nas dietas e não foi observado qualquer efeito no desempenho destes animais. Verificou-se aumento na umidade das excretas das codornas com a inclusão de glicerina nas rações. Este fato pode ser explicado pelo aumento de 0,16% de sódio na dieta quando incluído 10% de glicerina, uma vez que a ração não foi balanceada para sódio, excedendo as recomendações nutricionais (FURLAN et al., 2010).

O glicerol favorece à peletização de rações, quando incluído 3 a 15% de glicerol bruto em rações peletizadas, sendo observado melhora na eficiência de produção e no índice de durabilidade (PDI) (GROESBECK et al., 2008).

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi dividida em etapas e conduzida no Setor de Não Ruminantes do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.

4.1 Coleta das amostras de glicerina em empresas brasileiras

Foram coletadas amostras de glicerina de 10 empresas produtoras de biodiesel no Brasil para a análise da sua composição química. As empresas foram divididas por estados, porte e matéria prima (Tabela 1). Foram coletadas 1000 mL de glicerina por empresa e enviadas ao laboratório da empresa ADM do Brasil Ltda., sem identificação da empresa, local de origem e matéria prima, para a determinação dos seguintes itens: glicerol (%), metanol (%), NaCl (%), ácidos graxos (%) e umidade (%) (Tabela 2). Para a determinação da concentração de glicerol e metanol presente na glicerina foi realizada uma curva padrão, e em seguida uma amostra de glicerina foi injetada no aparelho de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com detecção eletroquímica segundo metodologia adaptado de Silva (2004) e Dionex Corporation (2006). Para cloreto de sódio, ácidos graxos e umidade foram seguidas as metodologias determinada pela AOCS (AOCS, 2000).

Após a realização das análises químicas das glicerinas, os resultados das amostras foram agrupados de acordo com a semelhança de composição. Foram selecionadas 4 amostras de empresas diferentes, que variaram na composição de glicerol e metanol. Posteriormente, essas empresas selecionadas enviaram uma nova partida de glicerina, que foram novamente analisadas, conforme demonstrado na Tabela 3, para a utilização no ensaio de metabolismo na etapa seguinte. As amostras A, B, C e D da Tabela 3 referem-se às empresas das amostras 1, 2, 3 e 4 da Tabela 2, respectivamente.

Tabela 1 - Capacidade estimada de produção, estado e matéria prima das empresas doadoras de amostras de glicerina

Empresa	Matéria Prima	UF	Capacidade estimada m³/ano
Amostra 1	Soja	MT	343.800
Amostra 2	Óleo de Fritura	SP	-
Amostra 3	Soja	PR	43.200
Amostra 4	Soja	MT	202.680
Amostra 5	Soja + Sebo	GO	225.000
Amostra 6	Soja	PR	127.080
Amostra 7	Soja	SP	10.800
Amostra 8	Soja	RJ	60.012
Amostra 9	Soja + Sebo	MS	10.800
Amostra 10	Soja	SP	25.035

Tabela 2 - Composição química de glicerina de diferentes empresas e regiões brasileiras

	Amostras										Médi a	DP
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Glicerol %	80,1	40,3	71,3	62,2	76,9	82,0	80,1	71,3	67,3	37,6	66,9	16
Metanol ppm	200	9.800	24.900	3.500	2.400	3.100	500	300	2.300	37.780	8.478	12.725
NaCl %	5,33	0,47	0,98	5,71	5,53	5,76	1,56	5,33	0,77	1,02	3,2	2,4
Ácidos Graxos %	0,4	49,5	6,4	3,4	4,2	0,04	15,1	17,4	20,8	54,3	17,2	19,7
Umidade %	12,8	4,1	6,4	27,0	11,6	11,2	1,9	1,3	6,8	1,7	8,5	7,8

Tabela 3 - Composição química das glicerinas de diferentes empresas

Itens	A	B	C	D
Glicerol, %	80,7	40,3	71,3	74,3
Metanol, ppm	80	9.800	18.900	6.900
NaCl, %	5,81	0,47	0,90	6,08
Na, %	2,28	0,40	0,35	2,39
Ácidos Graxos, %	0,22	49,5	10,3	5,78
Umidade, %	12,6	4,1	11,11	12,2
Fonte	Soja	Fritura ²	Soja	Soja
Região	MT	SP	PR	MT

4.2 Ensaio de metabolismo utilizando a glicerina

O ensaio de metabolismo, utilizando as glicerinas escolhidas na etapa anterior, foi conduzido com frangos de corte, para a estimativa dos valores de energia metabolizável, utilizando o método tradicional de coleta total de excretas (Figura 7). Foram avaliados quatro tipos de glicerina conforme apresentado na Tabela 3.

Figura 7 - Aves alojadas nas gaiolas de metabolismo

As aves de um dia de idade, da linhagem Cobb 500, foram alojadas inicialmente em um galpão do tipo experimental, recebendo ração controle e água *ad libitum*. Aos 21 dias de idade, 200 aves foram pesadas e transferidas para gaiolas de metabolismo, na sala de metabolismo. As gaiolas utilizadas foram de aço inoxidável, com tamanho de 0,70 cm de comprimento, por 0,66 cm de largura e 0,34 cm de altura, além de piso de tela e bandeja inferior removível para a coleta das excretas e equipadas com comedouro e bebedouro tipo calha.

Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos e oito repetições de cinco aves cada, sendo uma ração referência e quatro rações testes (4 glicerinas de diferentes composições – A, B, C e D). O ensaio ocorreu no período de 21 a 29 dias de idade, com quatro dias de adaptação às gaiolas e dietas experimentais e quatro dias para coleta total das excretas. O consumo de ração e a quantidade de excretas produzidas foram registrados durante o período de coleta. As coletas foram realizadas duas vezes ao dia para evitar possível contaminação e fermentação das excretas, sendo as bandejas revestidas com material plástico colocado sob cada compartimento das gaiolas.

A ração referência foi formulada à base de milho e farelo de soja, segundo as recomendações de Rostagno et al. (2005) e as rações testes eram compostas de 90% da ração referência e 10% de glicerina (glicerina A, B, C e D) (Tabela 4). O início e o final do período de coleta de excreta foram definidos através do fornecimento de 1% de óxido de ferro na ração e o aparecimento das excretas pigmentadas.

As excretas coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos e congeladas a -18°C até o final do período de coleta. Ao término do período experimental foi quantificada a quantidade de ração consumida. Posteriormente, as excretas foram descongeladas, homogeneizadas e pesadas e uma amostra representativa de cada repetição foi retirada para análises laboratoriais. Estas alíquotas passaram por pré-secagem em estufas de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas. Em seguida, as amostras foram moídas e acondicionadas em recipientes plásticos. Foram determinados à energia bruta em bomba calorimétrica (modelo Parr 1261) e nitrogênio através do método da combustão via aparelho automatizado LECO, das amostras de excretas, rações e glicerinas.

Os dados obtidos nas análises, juntamente com o consumo de ração e a produção de excretas, foram utilizados no cálculo de energia metabolizável aparente (EMA) e energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) e coeficiente de metabolizabilidade da energia bruta das glicerinas, segundo metodologia de Sakomura e Rostagno (2007).

Tabela 4 - Composição percentual e valores calculados da ração referência

Ingredientes	Ração Referência
	%
Milho moído	60,10
Farelo de soja	31,73
Óleo de milho	4,33
Fosfato bicálcico	1,69
Calcário calcítico	0,92
Sal (NaCl)	0,48
DL-Metionina	0,25
L-Lisina.HCl	0,21
L-Treonina	0,05
Suplemento vitamínico ¹	0,08
Suplemento mineral ²	0,05
Cloreto de colina 60%	0,06
Agente anticoccidiano ³	0,05
Promotor de crescimento ⁴	0,005
Valores Calculados:	
EM (kcal/kg)	3.150
PB, %	19.73
Ca, %	0,85
P disponível, %	0,42
Na, %	0,20
Met digestível, %	0,52
Met + Cys digestível, %	0,79
Lisina digestível, %	1,10
Treonina digestível, %	0,72

¹Suplemento vitamínico (por kg de ração): vit. A, 7.200 UI; vit. D3, 2.000 UI; vit. E, 16 UI; vit. K3, 2 mg; Tiamina, 1,2 mg; Riboflavina, 4,8 mg; Piridoxina, 2,4 mg; Cianocobalamina, 9,6 µg; Ác. nicotínico, 20 mg; Ác. pantotênico, 9,6 mg; Biotina, 0,05 mg; Ác. fólico, 0,64 mg; Selênio, 0,2 mg; Veículo q.s.p. 0,8 g

²Suplemento mineral (por kg de ração): I, 1 mg; Fe, 50 mg; Cu, 10 mg; Co, 1 mg; Mn, 75 mg; Zn, 50 mg;

³Coxistac: 12% Salinomicina

⁴Halquinol BP 60: 98% Clorihidroquinolina

Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando o modelo PROC GLM (General Linear Model Procedures) do SAS[®] (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM,

2001) e, quando necessária à comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey-Kramer, sendo estas ajustadas pelo método dos quadrados mínimos (LSMEANS).

4.3 Desempenho e qualidade da cama

Após as determinações das energias no ensaio de digestibilidade, foi escolhido entre as 4 glicerinas, a que apresentou melhor composição química e energia metabolizável para aves, sendo está apresentada na Tabela 5. A glicerina utilizada no experimento foi doada pela empresa ADM do Brasil Ltda.

As aves foram alojadas em um aviário experimental, dividido em duas fileiras de 18 unidades cada com $4,5 \text{ m}^2$, totalizando 36 unidades experimentais (Figura 8). O período experimental foi de 1 a 40 dias, utilizando pintinhos, composto por lote misto de machos e fêmeas, de um dia de idade da linhagem Cobb 500, vacinados no incubatório contra as doenças de Gumboro, Marek e Bouba aviária.

Figura 8 - Aviário experimental ESALQ/USP

Durante o período inicial, o aquecimento foi proporcionado por campânulas a gás e lâmpadas infravermelhas de 250 watts. As unidades eram equipadas com bebedouros e comedouros infantis, que foram sendo substituído gradativamente pelos equipamentos para aves adultas. Como material para cama foi utilizado aproximadamente 180 litros de casca de arroz em cada unidade.

Tabela 5 - Composição química, energia bruta (EB) e energia metabolizável (EMA) da glicerina utilizada no desempenho dos frangos de corte

Itens	Glicerina*
Glicerol, %	80,7
Metanol, ppm	80
NaCl, %	5,81
Ácidos graxos, %	0,22
Umidade, %	12,6
EB, kcal/kg	3.469
EMA, kcal/kg	3.145
Fonte	Soja
Região	MT

*Glicerina produzida pela empresa ADM do Brasil

Durante o período experimental, a temperatura mínima e máxima foram registradas diariamente (Tabela 6).

Tabela 6 - Médias semanais de temperatura máximas e mínimas

Semanas	Mínima, °C	Máxima, °C
1 ^a	22,5	30,0
2 ^a	23,1	32,1
3 ^a	22,4	32,2
4 ^a	21,8	33,5
5 ^a	21,0	28,4
6 ^a	21,7	29,5

O delineamento experimental foi o inteiramente aleatorizado com 6 tratamentos e 6 repetições, sendo 45 aves por unidade experimental, totalizando 1620 aves. Os tratamentos consistiram na adição de níveis crescentes de glicerina na dieta das aves sendo: tratamento controle e 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5% de inclusão.

O programa de arração foi dividido em quatro fases: pré-inicial – 1 a 7 dias (Tabela 7), inicial – 8 a 21 dias (Tabela 8), crescimento – 22 a 35 dias (Tabela 9) e final – 36 a 40 dias (Tabela 10) (ROSTAGNO et al., 2005), com rações isoproteicas e isoenergéticas. Na composição das rações não foram utilizados ingredientes de origem animal. O programa computacional utilizado para as formulações das rações foi o SUPER CRAC 5.0 MASTER

Tabela 7 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas de 1 a 7 dias

Ingredientes	Inclusão de Glicerina (%)					
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5
Milho moído	53,15	50,10	47,01	49,30	40,76	37,38
Farelo de soja	39,75	40,33	40,91	41,50	42,10	42,73
Óleo de milho	2,65	2,79	2,93	3,07	3,25	3,50
Glicerina	0,00	2,50	5,00	7,50	10,00	12,50
Fosfato bicálcico	1,93	1,94	1,95	1,95	1,96	1,97
Calcário	0,93	0,93	0,92	0,91	0,91	0,90
Sal comum	0,52	0,38	0,23	0,09	0,00	0,00
DL-Metionina	0,36	0,36	0,37	0,37	0,37	0,38
L-lisina.HCl	0,31	0,30	0,29	0,28	0,26	0,25
L-Treonina	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Suplemento vitamínico ¹	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de Colina 60%	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Agente anticoccidiano ³	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Promotor crescimento ⁴	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Valores calculados:						
EM, kcal/kg	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960
PB, %	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0	23,0
Ca, %	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
P disponível, %	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Na, %	0,22	0,22	0,22	0,22	0,24	0,30
Met digestível, %	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67
Met + cys digestível, %	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97
Lisina digestível, %	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36
Treonina digestível, %	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Balanço Eletrolítico, mEq/kg	221,5	222,7	224,1	225,3	226,9	228,9

¹Suplemento vitamínico (por kg de ração): vit. A, 9.000 UI; vit. D₃, 2.500 UI; vit. E, 20 UI; vit. K₃, 2,5 mg; Tiamina, 1,5 mg; Riboflavina, 6 mg; Piridoxina, 3 mg; Cianocobalamina, 12 µg; Ác. nicotínico, 25 mg; Ác. pantotênico, 12 mg; Biotina, 0,06 mg; Ác. fólico, 0,8 mg; Selênio, 0,25 mg; Veículo q.s.p. 1 g

²Suplemento mineral (por kg de ração): I, 1 mg; Fe, 50 mg; Cu, 10 mg; Co, 1 mg; Mn, 75 mg; Zn, 50 mg;

³Coxistac: 12% Salinomicina; ⁴Halquinol BP 60: 98% Clorihidroquinolina

Tabela 8 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas de 8 a 21 dias

Ingredientes	Inclusão de Glicerina (%)					
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5
Milho moído	57,34	54,27	51,20	48,13	44,92	41,54
Farelo de soja	35,22	35,80	36,37	36,95	37,55	38,19
Óleo de milho	3,32	3,46	3,60	3,74	3,94	4,18
Glicerina	0,00	2,50	5,00	7,50	10,00	12,50
Fosfato bicálcico	1,85	1,85	1,85	1,86	1,87	1,89
Calcário	0,90	0,90	0,89	0,89	0,88	0,87
Sal comum	0,50	0,36	0,22	0,08	0,00	0,00
DL-Metionina	0,27	0,27	0,28	0,28	0,28	0,29
L-lisina.HCl	0,22	0,21	0,20	0,19	0,18	0,17
L-Treonina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento vitamínico ¹	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de Colina 60%	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Agente anticoccidiano ³	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Promotor crescimento ⁴	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Valores calculados:						
EM, kcal/kg	3.050	3.050	3.050	3.050	3.050	3.050
PB, %	21,14	21,14	21,14	21,14	21,14	21,14
Ca, %	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
P disponível, %	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Na, %	0,22	0,22	0,22	0,22	0,24	0,30
Met digestível, %	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Met + cys digestível, %	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
Lisina digestível, %	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19
Treonina digestível, %	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Balanço Eletrolítico, mEq/kg	203,2	204,5	205,8	207,1	208,7	210,7

¹Suplemento vitamínico (por kg de ração): vit. A, 9.000 UI; vit. D₃, 2.500 UI; vit. E, 20 UI; vit. K₃, 2,5 mg; Tiamina, 1,5 mg; Riboflavina, 6 mg; Piridoxina, 3 mg; Cianocobalamina, 12 µg; Ác. nicotínico, 25 mg; Ác. pantotênico, 12 mg; Biotina, 0,06 mg; Ác. fólico, 0,8 mg; Selênio, 0,25 mg; Veículo q.s.p. 1 g

²Suplemento mineral (por kg de ração): I, 1 mg; Fe, 50 mg; Cu, 10 mg; Co, 1 mg; Mn, 75 mg; Zn, 50 mg;

⁴Halquinol BP 60: 98% Clorihidroquinolina

³Coxistac: 12% Salinomina

Tabela 9 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas de 22 a 35 dias

Ingredientes	Inclusão de Glicerina (%)					
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5
Milho moído	61,93	58,83	55,76	52,69	49,39	46,02
Farelo de soja	31,31	31,92	32,50	33,08	33,70	34,33
Óleo de milho	2,89	3,04	3,18	3,32	3,54	3,77
Glicerina	0,00	2,50	5,00	7,50	10,00	12,50
Fosfato bicálcico	1,65	1,66	1,67	1,68	1,69	1,69
Calcário	1,00	0,99	0,99	0,98	0,98	0,96
Sal comum	0,46	0,32	0,18	0,04	0,00	0,00
DL-Metionina	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,23
L-lisina.HCl	0,19	0,17	0,16	0,15	0,14	0,13
L-Treonina	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento vitamínico ¹	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de Colina 60%	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Agente anticoccidiano ³	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Promotor crescimento ⁴	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Valores calculados:						
EM, kcal/kg	3.075	3.075	3.075	3.075	3.075	3.075
PB, %	19,69	19,69	19,69	19,69	19,69	19,69
Ca, %	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
P disponível, %	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Na, %	0,20	0,20	0,20	0,20	0,24	0,30
Met digestível, %	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Met + Cys digestível, %	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
Lisina digestível, %	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07
Treonina digestível, %	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78
Balanço Eletrolítico (mEq/kg)	187,9	189,4	190,7	192,0	193,8	195,9

¹Suplemento vitamínico (por kg de ração): vit. A, 7.200 UI; vit. D₃, 2.000 UI; vit. E, 16 UI; vit. K₃, 2 mg; Tiamina, 1,2 mg; Riboflavina, 4,8 mg; Piridoxina, 2,4 mg; Cianocobalamina, 9,6 µg; Ác. nicotínico, 20 mg; Ác. pantotênico, 9,6 mg; Biotina, 0,05 mg; Ác. fólico, 0,64 mg; Selênio, 0,2 mg; Veículo q.s.p. 0,8 g

²Suplemento mineral (por kg de ração): I, 1 mg; Fe, 50 mg; Cu, 10 mg; Co, 1 mg; Mn, 75 mg; Zn, 50 mg;

³Coxistac: 12% Salinomicina

⁴Halquinol BP 60: 98% Clorihidroxiquinolina

Tabela 10 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das dietas de 36 a 40 dias

Ingredientes	Inclusão de Glicerina (%)					
	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5
Milho moído	66,86	67,78	60,61	57,64	54,32	50,95
Farelo de soja	26,68	27,25	27,83	28,41	29,04	29,67
Óleo de milho	3,02	3,16	3,30	3,44	3,67	3,91
Glicerina	0,00	2,50	5,00	7,50	10,00	12,50
Fosfato bicálcico	1,51	1,51	1,52	1,53	1,57	1,55
Calcário	0,81	0,80	0,80	0,79	0,78	0,77
Sal comum	0,45	0,31	0,16	0,03	0,00	0,00
DL-Metionina	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,24
L-lisina.HCl	0,25	0,24	0,23	0,22	0,21	0,20
L-Treonina	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Suplemento vitamínico ¹	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de Colina 60%	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Valores calculados:						
EM, kcal/kg	3.150	3.150	3.150	3.150	3.150	3.150
PB, %	18,03	18,03	18,03	18,03	18,03	18,03
Ca, %	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
P disponível, %	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Na, %	0,20	0,20	0,20	0,20	0,24	0,30
Met digestível, %	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Met + Cys digestível, %	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
Lisina digestível, %	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02
Treonina digestível, %	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Balanço Eletrolítico, mEq/kg	170	171	172,3	173,6	175,5	177,5

¹Suplemento vitamínico (por kg de ração): vit. A, 5.400 UI; vit. D₃, 1.500 UI; vit. E, 12 UI; vit. K₃, 1,5 mg; Tiamina, 0,9 mg; Riboflavina, 3,6 mg; Piridoxina, 1,8 mg; Cianocobalamina, 7,2 µg; Ác. nicotínico, 15 mg; Ác. pantotênico, 7,2 mg; Biotina, 0,04 mg; Ác. fólico, 0,5 mg; Selênio, 0,15 mg; Veículo q.s.p. 0,6 g

²Suplemento mineral (por kg de ração): I, 1 mg; Fe, 50 mg; Cu, 10 mg; Co, 1 mg; Mn, 75 mg; Zn, 50 mg;

Para as formulações, foram considerados os níveis de sódio e cloro presentes no material. Para a mistura da glicerina com os demais ingredientes da ração, foi necessário fazer uma pré-mistura da glicerina com o farelo de soja e aguardar algumas horas para que

ocorresse a absorção pelo farelo de soja. Posteriormente, foram colocados juntamente com os demais ingredientes no misturador, evitando-se, com isso, a formação de grumos.

Os dados de desempenho foram obtidos semanalmente, sendo: peso vivo, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade criatória.

Para determinar a qualidade da cama, foram feitas análises de matéria seca, pH e amônia volatilizada aos 21, 28, 35 e 40 dias de criação das aves, em todas as unidades experimentais. Para análises da qualidade da cama foram coletadas amostras em três pontos dentro das unidades, evitando-se as áreas próximas e embaixo do comedouro e do bebedouro. Em seguida, foram homogeneizadas manualmente, e foi retirada uma amostra representativa.

Para obtenção do percentual de umidade, foram colocados 300 g de cama de frango de cada período em bandejas de alumínio descartáveis, em seguida foram acondicionados em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas, e ao final foram pesadas e a umidade determinada segundo metodologia baseada em Freitas et al. (2009).

O pH foi determinado utilizando-se 10 g de cama de frango em 100 mL de água deionizada em copo plástico descartável, seguido de homogeneização do material com pá de madeira descartável, de modo a dissolver os grumos existentes. Foi aguardado o tempo de 30 minutos para sedimentação do material, e posterior leitura em potenciômetro digital com a introdução do bulbo até a meia altura do volume da amostra diluída.

Para determinar a amônia volatilizada foi utilizado recipiente plástico com tampa, onde foi colocado 100 g de cama de frango (Figura 9). Sobre a amostra foi colocado um copo coletor universal, com capacidade para 50 mL, contendo 10 mL de ácido bórico 2%, cuja função foi captar a amônia volatilizada dentro do recipiente. Após colocar a amostra e o copo coletor universal, o recipiente plástico foi tampado e vedado com fita adesiva (adaptado OLIVEIRA et al., 2004). As amostras de cama de frango foram mantidas dentro do recipiente por 24 horas. Posteriormente, o ácido bórico foi titulado com ácido sulfúrico 0,05N e a quantidade de amônia volatilizada determinada utilizando-se a equação 1:

$$\text{Eq. 1. } A = V \times 0,05 \times 17$$

Onde:

A= amônia volatilizada (mg/100g de amostra)

V= volume de ácido sulfúrico utilizado na titulação (mL)

0,05= normalidade do ácido sulfúrico

17= peso molecular da amônia.

Figura 9 - Recipiente adaptado para a volatilização da amônia

Os resultados foram submetidos à análise variância utilizando o modelo PROC GLM (General Linear Model Procedures) do SAS[®] (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2001), e quando necessário às médias foram comparadas, utilizando o teste de Tukey-Kramer, sendo estas ajustadas pelo método dos quadrados mínimos (LSMEANS). Quando o efeito de tratamento foi significativo dentro de cada período, realizou-se análise de regressão através do REG PROC do SAS.

4.4 Qualidade de carne

Aos 40 dias de idade, após jejum de 12 horas, retirou-se uma ave por boxe, totalizando seis aves/tratamento, as quais foram pesadas e sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical. Após a sangria (± 3 minutos), as aves foram escaldadas, a aproximadamente 57°C por 3 minutos, mecanicamente depenadas e manualmente evisceradas. Em seguida as carcaças foram resfriadas em tanques com água e gelo (*chiller*) por 30 minutos para fazer o rendimento de carcaça e partes (cabeça + pés; peito; asas; coxa + sobrecoxa).

Posteriormente à sangria (após o resfriamento da carcaça) foi retirado músculo do peito (*Pectoralis major*) para análise da cor e do pH. As amostras do peito foram embaladas, identificadas e transportadas refrigeradas para o Laboratório de Qualidade de Carnes e Plantas de Processamento do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola

Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), para as demais análises (cor, pH, Drip-loss, capacidade de retenção de água, composição centesimal e perfil de ácidos graxos).

Para a determinação da medida física da cor do peito foi determinada através de espectrofotômetro Hunter, no qual se realizou a leitura dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (teor de vermelho) e b^* (teor de amarelo) no sistema CIELab. Os valores L^* , a^* e b^* foram medidos em três diferentes pontos na superfície ventral e no meio da seção cranial do músculo *Pectoralis major*. Para estas determinações, os filés de peito foram expostos ao ar livre por 30 minutos a temperatura de 15°C antes das medidas da cor, de acordo com metodologia proposta por Van Laack et al. (2000).

A determinação do pH nas carnes do peito foram avaliadas de duas maneiras: através de um método direto, cuja determinação foi feita com pHmetro (*Sentron, modelo 1001*) acoplado a sonda (*Sentron tipo LanceFET, modelo 1074001*) com ponta fina de penetração, inserida no centro do músculo peitoral, 0,5 a 1,0 cm abaixo da superfície do músculo. As determinações desta forma foram realizadas imediatamente após o abate das aves e 24 horas *post mortem*.

A outra avaliação do pH foi feita em duplicata após homogeneizar por 2 minutos 1 g de amostra da carne do peito moída em 10 mL de água deionizada, 24 horas *post mortem*, conforme metodologia descrita por Stewart et al. (1984). A leitura foi feita com potenciômetro Micronal, com resolução de 0.001 unidades de pH. Os dados foram confrontados nas duas formas de avaliação.

A análise de perda de exsudato foi realizada baseado nos métodos adotados por Northcutt et al. (1994) e Dirinck et al. (1996), em que as amostras pesando aproximadamente 60 g são envoltas em embalagens plásticas reticuladas e suspensas no interior de bolsas plásticas. O conjunto é mantido em câmara fria a temperatura de 2 ± 1 °C, de modo que o exsudado não permanece em contato com a carne. Após 72 horas procede à retirada das amostras e antes da pesagem remove a umidade superficial com papel absorvente. O resultado é expresso em porcentagem, com a perda de peso em mg.g^{-1} do peso original.

A análise de capacidade de retenção foi realizada segundo o método de Hamm (1960), que consiste na pesagem de 2 g de carne, com posterior prensagem em papel filtro e placas de vidros, sobre o peso de 10 kg por 5 minutos. Após a pressão a carne é pesada e, por diferença calcula-se a quantidade de água perdida. O resultado foi expresso em % de água exsudada em relação ao peso inicial da amostra.

A análise de proteína foi através do método da combustão direta de Dumas via aparelho automatizado LECO. As cinzas foram determinadas por incineração da matéria

orgânica em mufla 550°C, de acordo com a AOCS (2003). O teor de lipídeos totais foi determinado pelo método de Soxhlet, utilizando hexano como solvente, de acordo com a AOCS (2003). Estas análises foram executadas em duplicata em três amostras de cada tratamento. Os resultados foram calculados em base úmida e expressos em g.100g⁻¹. Para determinação do perfil dos ácidos graxos nas amostras metiladas, foi usado um cromatógrafo gasoso (ThermoQuest Trace CG) com detector FID (flame-ionization detector) e coluna capilar de sílica de 100 m x 0,25 mm x 0,2 µ (SPTM – 2560). As condições de injeção foram: temperatura do forno a 175°C por 27 min (taxa de 13 °C/min), de 175 a 215°C por 11 min (4°C/min) e de 215 a 240°C por 4 min (4°C/min); temperatura de injeção (split com fluxo de 90 mL/min) 250°C; temperatura do FID 300°C; volume de injeção 1 µL; e gás hidrogênio de arraste com fluxo de 1,8 mL/min. Os resultados foram expressos em % do conteúdo total dos ácidos graxos.

4.5 Histologia do fígado

Aos 40 dias de idade, após jejum de 12 horas, retirou-se uma ave por boxe, totalizando seis aves/tratamento, as quais foram pesadas e sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical, para colheita e pesagem do fígado.

Para análises histológicas, foi colhida uma amostra do fígado e fixado em solução de formalina a 10% para estudo da morfologia. Outra amostra do fígado foi fixada em formol-cálcio de Baker (BANCROFT; STEVENS, 1982) para estudos da histoquímica de lipídeos.

O material fixado em formalina 10% foi desidratado em uma série crescente de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em *Paraplast Plus*[®]. Foram preparadas lâminas de com cortes de 7 µm de espessura. Parte do material foi corada com Hematoxilina e Eosina (HE) para a observação e descrição histológica do órgão.

As amostras fixadas em solução fixadora de formol-cálcio de Baker destinadas a historresinas, foram cortadas com 1 mm de espessura, lavadas após 24 horas em solução salina, pós-fixadas em tetróxido de ósmio (OsO₄), em seguida lavadas com tampão fosfato 0,1 M, em pH 7,2 e incluídas em resinas histológicas. As lâminas foram analisadas em microscopia óptica, obtendo imagens das mesmas através de um programa, em microscópio acoplado em uma câmera, utilizando o programa de imagem.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição das glicerinas

Os valores de composição das glicerinas selecionadas para este estudo encontram-se na Tabela 3. Esses valores evidenciam que a glicerina produzida no Brasil possui ampla variação em sua composição, e que não estão dentro do padrão nacional estabelecido pelo MAPA (2010), no qual determina no máximo 150 ppm de metanol, máximo de 12% umidade e no mínimo 80% de glicerol.

Algumas glicerinas obtidas de diferentes matérias primas e indústrias nos Estados Unidos contêm ampla variação no teor de cinza e na composição química das glicerinas, devido à quantidade de catalisadores utilizados em cada indústria, além da alta concentração de metanol (GOTT, 2009). Estes dados corroboram com os encontrados por Kerr et al. (2009), que encontraram diferenças ao pesquisar glicerinas de diferentes matérias primas e indústrias nos Estados Unidos, em que o glicerol teve variação de 51 a 83%, metanol de 0,005 a 14% e ácidos graxos de 0,02 a 35%.

Nos Estados Unidos foram analisadas duas amostras de glicerina bruta, coletadas de uma mesma indústria de produção de biodiesel, com intervalo de tempo de 90 dias entre elas, e foi observada diferença entre as suas composições, principalmente nos níveis de glicerol e metanol (KERR, 2007). O mesmo ocorreu com as empresas pesquisadas B, C e D, nas quais foram coletadas amostras com intervalos de 60 dias e apresentaram resultados diferentes na composição química (Tabelas 2 e 3). Essas diferenças nas composições das glicerinas podem estar associadas à matéria prima utilizada e à falta de padronização do processamento nas empresas. O metanol, o cloreto de sódio e o cloreto de potássio são compostos que podem ser encontrados na glicerina como resultantes da técnica de processamento para obtenção do biodiesel e, dependendo do tipo de purificação da glicerina, estes compostos serão encontrados em maiores ou menores quantidades.

A eficiência do processo de transesterificação determina a concentração energética da glicerina gerada no processamento de cada indústria, em que níveis baixos de energia bruta representam o melhor aproveitamento dos ácidos graxos no processamento, sem sobra de triglicerídeos intactos. Porém, níveis de energia bruta elevados podem significar a ineficiência do processo, acarretando em maior concentração dos produtos residuais (PENZ JUNIOR; GIANFELICE, 2008).

5.2 Valores energéticos de glicerinas de diferentes composições

Os dados de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) e os coeficientes de metabolizabilidade da energia bruta (CMEB) estão expressos na matéria natural (Tabela 11). A EMAn e CMEB variaram de acordo com a composição da glicerina ($P < 0,05$), principalmente com as concentrações de glicerol e de ácidos graxos. Lammers et al. (2008) observaram que um dos componentes que pode ter relação direta com a energia metabolizável é teor de glicerol das amostras. Outro aspecto a ser considerado é a quantidade de ácidos graxos presentes, pois esta irá influenciar diretamente na quantidade de energia bruta presente na glicerina.

Tabela 11 - Valores de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio (EMAn) e coeficientes de metabolizabilidade da energia bruta (CMEB) das glicerinas, expressos na matéria natural

Glicerinas	EMAn (kcal/kg)	CMEB (%)
A	3.145 ^b	90
B	5.027 ^a	81
C	2.669 ^b	72
D	2.892 ^b	85
Valor de p	0,0001	0,1976
CV (%)	15,55	15,95

Médias com diferentes letras diferem significativamente ($p < 0,05$)

O valor de EMAn para glicerina A foi de 3.145 kcal/kg e CMEB de 90%, valores próximos dos obtidos por Dozier et al. (2008), que trabalhando com glicerina de composição 86,9% de glicerol, 5,33% de umidade, 1,26% de sódio e 3.625 kcal/kg de EB para frangos com 38 a 45 dias de idade, encontraram 3.349 kcal EMAn/kg na matéria natural e 92% de CMEB. Lammers et al. (2008b), trabalhando com poedeiras de 40 semanas, encontraram resultados para EMAn de 3.800 kcal/kg.

Provavelmente estas diferenças de EM devem-se à idade das aves utilizadas no ensaio e/ou à composição das glicerinas. Os valores da digestibilidade de energia tendem aumentar com a idade das aves, devido ao desenvolvimento do trato digestório que terá maior capacidade de aproveitamento dos nutrientes e da energia (SAKOMURA et al., 2004). Outro aspecto a ser considerado é que a glicerina A utilizada neste estudo continha menor conteúdo de glicerol o que pode ter diminuído a EMAn.

Existe uma correlação próxima entre o valor de energia bruta e energia metabolizável, que demonstra a alta digestibilidade da glicerina (PENZ JUNIOR; GIANFELICE, 2008). Isto

ocorreu com a amostra de glicerina A que obteve CMEB de 90% demonstrando o alto aproveitamento pelas aves.

A glicerina B apresentou EMAn de 5.027 kcal/kg e CMEB de 81% (Tabela 11). Este elevado teor energético da glicerina é devido à presença elevada de ácidos graxos na composição, porém o CMEB é mais baixo o que pode estar relacionado à concentração de ácidos graxos livres. Quanto mais ácidos graxos livres presentes, menor será digestibilidade da gordura (GAJOTTO et al., 2000).

Ao utilizar glicerina semipurificada vegetal a EMAn varia de 3.276 kcal/kg (GIANFELICI, 2009) a 4.556 kcal/kg (CARVALHO, 2010) expressos na matéria natural para frangos de corte e suínos, respectivamente. É importante considerar que a EMAn da glicerina modifica de acordo com o nível de inclusão na dieta. Segundo Gianfelicci (2009) ao incluir 5 e 15% de glicerina na dieta o valor de energia obtida foi de 1.527 e 4.890 kcal/kg respectivamente, o que torna o valor médio de baixa importância.

Para suínos, a utilização de glicerina proveniente de diferentes empresas de biodiesel resultou em energia metabolizável entre 2.535 a 5.206 kcal/kg; os autores concluíram que o conteúdo de glicerol, metanol e ácidos graxos influenciam diretamente na EM. Porém o CMEB para essas glicerinas foi de 85%, não diferindo entre as fontes utilizadas (KERR et al., 2009). Os valores que variaram entre 72 e 90% para o CMEB indicam que o aproveitamento da energia pode variar de acordo com a fonte, embora não tenha sido verificada diferença nos valores de CMEB entre as glicerinas.

Cerrate et al. (2006) encontraram que o valor da EM da glicerina como sendo 95% de sua energia bruta para formulação de dietas. Entretanto, existe limitação no metabolismo da glicerina, variando de acordo com nível de inclusão na dieta. A redução da EMA ocorre pela ausência de reabsorção renal do glicerol, sendo o excesso excretado na urina (BARTLET; SCHNIEDER, 2002) e por perdas na metabolização (MENDOZA et al., 2010).

A diferença na composição química da glicerina pode afetar sua energia metabolizável, no entanto, não está claro que a matéria-prima também afetará este valor. Um estudo, comparando glicerina bruta mista (55% glicerol; 50.500 ppm metanol; 1,99% Na; 21,5% ácidos graxos e 5.242 kcal/kg EB) e glicerina bruta vegetal (55% glicerol; 10.000 ppm metanol; 1,62% Na; 23% ácidos graxos e 5.247 kcal/kg EB) na dieta de leitões, demonstrou valores próximos de EM (4.488 e 4.556 kcal/kg) e CMEB (85 e 87%) (CARVALHO, 2010).

O valor de EMAn também difere dependendo do tipo de glicerina utilizada para codornas. Foram encontrados para glicerina bruta e semipurificada os valores de 4.839 kcal/kg e 2.476 kcal/kg (PASQUETTI, 2011) e 4.564 e 3.069 kcal/kg (BATISTA, 2010)

expressos na matéria natural, respectivamente. Em ambos os estudos destaca-se a presença de elevados teores de ácidos graxos nas glicerinas brutas, proporcionando alto valor energético. Para Pasqueti (2011) o CMEB da glicerina bruta foi maior que o da glicerina semipurificada (90 vs. 77%). Neste estudo a glicerina semipurificada obteve melhor CMEB (90%) corroborando com outros autores (LAMMERS et al., 2008).

Ao se comparar os teores de metanol do experimento estes foram superiores aos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura (150 ppm). O metanol compromete o sistema nervoso central causando sintomas de intoxicação entre 12 e 24 horas após a ingestão em humanos, sendo que a dose mínima letal de metanol pode variar de 0,3 a 1,0 g/kg (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1997). Para aves a literatura é escassa no que diz respeito à intoxicação do metanol, porém neste estudo os níveis de metanol variaram de 80 a 18.900 ppm e não foram observados sinais clínicos de intoxicação nos animais.

A glicerina C apresentou EMAn 2.669 kcal/kg e CMEB de 72%, que foi menor do que as demais glicerinas estudadas (Tabela 11); estes dados são similares ao encontrado por Guerra (2010). Este autor, trabalhando com frangos de corte de 18 a 28 dias de idade e glicerina com composição de 87,5% de glicerol, 19% de umidade, 2,3% de sódio e 3.458 kcal/kg de EB, encontrou EMA da glicerina bruta de 2.485 kcal/kg na matéria natural e coeficiente de metabolização de 71,85%. O autor sugeriu que este baixo coeficiente da glicerina bruta é devido higroscopicidade do glicerol e o teor de sódio de 2,3%, pois segundo o autor, o sódio aumenta a ingestão e excreção de água pelas aves diminuindo a absorção da glicerina, e com isso o menor CMEB.

Apesar de ter apresentado EMAn e CMEB semelhantes ao descrito por Guerra (2010), a glicerina C continha em sua composição baixa concentração de sódio (0,35%). Outro aspecto a ser analisado é que as glicerinas A e D apresentavam em sua composição 2,3 e 2,4% de sódio, respectivamente, não afetando o CMEB de 90 e 85%, respectivamente. Outros autores trabalhando com galos de 28 semanas de idade e glicerina com 3,41% de sódio obtiveram CMEB de 96% (ABD-ELSAMEE et al., 2010). Portanto, o baixo CMEB não pode ser justificado pela concentração elevada do sódio na glicerina.

Quando a glicerina está dentro dos padrões estabelecidos pelo MAPA (BRASIL, 2010), os valores de energia metabolizável determinados são muito próximos quando comparados aos valores de energia metabolizável aparente do milho para suínos (3.340 kcal/kg) e aves (3.381 kcal/kg) (ROSTAGNO et al., 2011). Neste caso, há evidência do potencial de uso da glicerina como ingrediente energético de rações para estas espécies.

Porém, é importante ressaltar que ao formular rações para aves e suínos, o valor de energia metabolizável da glicerina será proporcional ao seu nível de glicerol e ácidos graxos.

Os valores de EM do glicerol puro para frangos de corte, poedeiras e suínos podem variar de acordo com sua inclusão na dieta (BARTLET; SCHNIEDER, 2002). A redução da EMA pode ocorrer pela ausência de reabsorção renal de glicerol, sendo o excesso excretado pela urina. Nesse mesmo sentido, Gianfelici (2010) relatou que, quando da ingestão de quantidades crescentes de glicerol, deve existir um nível a partir do qual a capacidade de metabolização é superada, causando aumento no glicerol no sangue, o qual deve ser excretado pela urina.

Portanto, deve-se ressaltar que os diferentes valores energéticos, verificados na literatura, devem-se principalmente aos diferentes tipos de glicerina produzidas por plantas de biodiesel, com diferentes teores de glicerol, água e ácido graxos.

5.3 Desempenho e qualidade de cama

Os resultados de desempenho estão apresentados nas Tabelas 12 a 14. No período de 1 a 7 dias de idade, houve efeito significativo ($P < 0,05$) para as variáveis de peso vivo (PV), consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) com a inclusão de glicerina na dieta. O aumento do nível de glicerina na dieta não afetou negativamente o desempenho das aves, e sim a inclusão de 7,5 e 12,5% de glicerina melhorou o peso vivo, ganho de peso e a conversão alimentar.

Trabalhando com frangos de corte, Cerrate et al. (2006) verificaram piora no desempenho com níveis acima de 10% e sugerem que tal fato deve-se à dificuldade de fluidez da ração nos comedouros. Essa dificuldade também foi observada neste experimento, em que as rações contendo altos níveis de glicerina não fluíam adequadamente nos comedouros, sendo necessário manejá-los para facilitar o fluxo. Isto pode ter influenciado o desempenho inferior com a inclusão de 10%, em comparação aos tratamentos 7,5 e 12,5%, devido a eventual falha no manejo de comedouros.

A inclusão de níveis crescente de glicerina na dieta proporcionou aumento linear ($P < 0,05$) para peso vivo, consumo de ração e ganho de peso. Para a conversão alimentar e viabilidade criatória não houve efeito ($P > 0,05$). Estes dados estão de acordo com outros autores, que trabalharam nas primeiras semanas com frangos de corte (SILVA, 2010; FERNANDES et al., 2010) e leitões na fase de creche (GROESBECK et al., 2008), e estes sugeriram que esse efeito pode estar relacionado à palatabilidade da ração, devido ao sabor

adocicado da glicerina, e também à estrutura, textura e/ou consistência da ração com diminuição da pulverulência.

Tabela 12 - Médias estimadas das características de desempenho no período de 1 a 7 dias de idade de pintos de corte alimentados com níveis de glicerina

Glicerina (%)	Variáveis				
	PV, g	CR, g	GP, g	CA	VC, %
0,0	170,8 ^a	137,6 ^a	129,0 ^a	1,064 ^{ab}	99,6
2,5	171,4 ^a	134,6 ^a	129,6 ^a	1,039 ^{bc}	100,0
5,0	171,5 ^a	134,7 ^a	129,6 ^a	1,039 ^{bc}	100,0
7,5	176,0 ^b	138,1 ^a	134,1 ^b	1,028 ^c	100,0
10,0	171,1 ^a	136,7 ^a	129,4 ^a	1,059 ^{ab}	99,6
12,5	175,6 ^b	142,8 ^b	133,5 ^b	1,071 ^a	99,6
CV	3,75	5,51	4,90	4,71	0,636
Valor de p	0,0039	0,0043	0,0087	0,0093	0,7002
Linear	0,0126	0,0086	0,0171	NS	NS
Quadrática	NS	NS	NS	NS	NS

PV: Peso Vivo aos 7 dias de idade; CR: Consumo de Ração; GP: Ganho de Peso; CA: Conversão Alimentar;

VC: Viabilidade Criatória;

CV: coeficiente de variação

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

NS= não significativo.

PF = $169,72 + 0,857 X$, $R^2 = 0,43$.

CR = $133,9 + 1,005 X$, $R^2 = 0,47$.

GP = $128,1 + 0,786 X$, $R^2 = 0,39$.

Ao comparar as aves com mamíferos, nota-se que o paladar e olfato são poucos desenvolvidos, porém, nas aves, estas deficiências são compensadas por mecanorreceptores localizados no bico. Estas células receptoras são estimuladas pelo contato direto com os alimentos, de modo similar ao estímulo promovido pelo olfato e paladar nos mamíferos (LINDENMAIER; KARE, 1959). Portanto, a inclusão de glicerina em rações fareladas pode melhorar a textura e a palatabilidade da ração, além de diminuir a pulverulência contribuindo para melhor consumo. Para as aves jovens (1 a 21 dias de idade) a textura da ração tem efeito pronunciado no consumo da ração e, conseqüentemente, no ganho de peso (BUENO, 2006).

O peso vivo e o consumo de ração de 1 a 7 dias aumentaram linearmente conforme o nível de inclusão (Figuras 10 e 11) sem alterar a conversão alimentar. Isto pode estar relacionado ao aumento do nível de sódio presente na ração. Apesar da correção do cloreto de sódio na formulação da ração os níveis de 10 e 12,5% de inclusão de glicerina ultrapassam a recomendação de sódio de Rostagno et al. (2011). Para Penz Junior (1998), a melhoria no peso vivo com o aumento do sódio nutricional é determinada, aparentemente, pelo maior consumo de ração, o que está de acordo com o presente estudo. Segundo o autor, o aumento

no consumo de ração estaria ligado à maior ingestão de água pelas aves alimentadas com níveis mais altos de sódio. Outro aspecto a ser verificado com o aumento de peso é a retenção de água pelo pintinho. Segundo Barlow et al. (1948), o aumento dos níveis de sódio tendem a modificar a taxa de ganho de peso e o peso vivo das aves, uma vez que os autores observaram crescimento na retenção de água pelos tecidos corporais.

Pode-se observar que a conversão alimentar até o nível de 7,5% de glicerina melhorou e após este nível de inclusão ocorreu piora. Cerrate et al. (2006) verificaram que a conversão alimentar só piorou com níveis acima de 10% de inclusão de glicerina na ração. Outros autores trabalhando codornas de corte de 1 a 14 dias de idade encontraram piora na conversão alimentar com a adição de 8% glicerina semipurificada e 9% glicerina bruta na dieta (BATISTA, 2010; PASQUETTI, 2011).

Figura 10 - Peso aos 7 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 169,72 + 0,857 X$, $R^2 = 0,43$)

Figura 11 - Consumo de ração de 1 a 7 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 133,9 + 1,005 X$, $R^2 = 0,47$)

No período de 1 a 21 dias de idade houve efeito significativo ($P < 0,05$) para as variáveis de peso vivo, consumo de ração e ganho de peso com a inclusão de glicerina na dieta. O aumento da quantidade de glicerina na dieta não afetou negativamente o desempenho das aves, e sim, com a inclusão de 7,5% de glicerina melhorou o peso vivo, consumo de ração e ganho de peso, sem alterar a conversão alimentar.

As aves alimentadas com níveis elevados de 10 e 12,5% de glicerina tiveram pior ganho de peso aos 21 dias de idade. Já para leitões na fase de creche a inclusão de 6% de glicerina teve efeito positivo no ganho de peso, no entanto, sem afetar o consumo de ração e a conversão alimentar (GROESBECK et al., 2008).

A inclusão de níveis crescentes de glicerina na dieta proporcionou aumento quadrático ($P < 0,05$) para peso vivo, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar (Figuras 11 a 14), sem afetar a viabilidade criatória ($P > 0,05$).

Tabela 13 - Médias estimadas das características de desempenho no período de 1 a 21 dias de idade de frangos de corte alimentados com níveis de glicerina

Glicerina (%)	Variáveis				
	PV, g	CR, g	GP, g	CA	VC, %
0,0	901 ^a	1163 ^a	859 ^a	1,357	98,9
2,5	902 ^{ab}	1181 ^b	865 ^{ab}	1,367	99,3
5,0	919 ^{ab}	1193 ^{bc}	877 ^{bc}	1,360	100,0
7,5	927 ^b	1212 ^c	886 ^c	1,368	100,0
10,0	915 ^{ab}	1187 ^b	872 ^b	1,365	98,9
12,5	906 ^{ab}	1179 ^b	864 ^{ab}	1,363	97,41
CV	2,39	2,59	2,51	1,72	1,59
Valor de p	0,0005	0,0001	0,0002	0,0591	0,0792
Linear	NS	NS	NS	NS	NS
Quadrática	0,0001	0,0001	0,0001	0,0532	NS

PV: Peso Vivo aos 21 dias de idade; CR: Consumo de Ração; GP: Ganho de Peso; CA: Conversão Alimentar; VC: Viabilidade Criatória;

CV: coeficiente de variação

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

NS= não significativo.

PF = $876,30 + 24,33 X - 3,25 X^2$, $R^2 = 0,13$.

CR = $1119,23 + 44,65 X - 5,61 X^2$, $R^2 = 0,22$.

GP = $833,38 + 25,24 X - 3,38 X^2$, $R^2 = 0,14$.

Pode-se observar que ao trabalhar com glicerina na ração o consumo de ração é maior que a ração controle no período de 1 a 21 dias de idade. Observou-se que a glicerina modifica a consistência da ração, provavelmente facilitando a ingestão de ração pela ave.

Figura 12 - Peso final aos 21 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 876,30 + 24,33X - 3,25 X^2$, $R^2 = 0,13$)

Figura 13 - Consumo de ração aos 21 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 1119,23 + 44,65 X - 5,61 X^2$, $R^2 = 0,22$)

Figura 14 - Ganho de peso aos 21 dias de idade em função do percentual de glicerina na dieta ($Y = 833,38 + 25,24 X - 3,38 X^2$, $R^2 = 0,14$)

Alguns trabalhos com frangos de corte e suínos nas fases de iniciais demonstraram que a inclusão de até 10% não influenciou o peso corporal, ganho de peso e consumo de ração (McCANN; GRIFFITHS, 2009; LAMMERS et al., 2008), diferentemente do encontrado neste estudo.

Aos 40 dias de idade houve efeito significativo ($P < 0,05$) para as variáveis de peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar com a inclusão de glicerina na dieta (Tabela 14). O

aumento da quantidade de glicerina na dieta até 10% não afetou negativamente o desempenho das aves; somente com a inclusão de 12,5% de glicerina houve piora no peso vivo, consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e a viabilidade criatória. Outras pesquisas também relataram que alta inclusão de glicerina prejudicou o desempenho de cordões de corte (BATISTA, 2010), de frangos de corte (CERRATE et al., 2006), galinhas poedeiras (LAMMERS et al., 2008b) e suínos (KIJORA et al., 1995).

Cerrate et al. (2006) verificaram que a inclusão de 10% de glicerina (3.527 kcal/kg de EM) comprometeu o desempenho de frangos. Entretanto, quando os autores empregaram 2,5 e 5,0% de glicerol, não observaram perda no desempenho dos animais para as idades avaliadas (1-14; 14-35; e 35-42 dias), sendo o mesmo efeito encontrado neste trabalho.

No período total do experimento o consumo de ração não teve efeito significativo ($P>0,05$) sendo similar entre os tratamentos. Diferentemente das demais fases (1-7 e 1-21 dias), nas quais a inclusão de glicerina aumentou o consumo das aves, na fase final de criação não foi observado esse efeito. O peso vivo, ganho de peso e a conversão alimentar pioraram aos 40 dias de idade com o nível de 12,5%.

A viabilidade criatória piorou quando com a inclusão de 12,5% de glicerina. Porém, para o cálculo de viabilidade foram usados os dados de mortalidade e de refugagem, e com isso observou-se que houve aumento na refugagem das aves (Anexo I).

Tabela 14 - Médias estimadas das características de desempenho no período de 1 a 40 dias de idade de frangos de corte alimentados com níveis de glicerina

Glicerina (%)	Variáveis				
	PV, g	CR, g	GP, g	CA	VC, %
0,0	2600 ^a	4333	2559 ^a	1,702 ^a	97,4 ^a
2,5	2557 ^a	4333	2515 ^a	1,723 ^a	97,4 ^a
5,0	2609 ^a	4373	2567 ^a	1,720 ^a	98,5 ^a
7,5	2567 ^a	4295	2526 ^a	1,715 ^a	98,9 ^a
10,0	2606 ^a	4325	2565 ^a	1,701 ^a	97,1 ^a
12,5	2549 ^b	4323	2509 ^b	1,737 ^b	94,8 ^b
CV	3,70	4,92	3,76	2,16	2,09
Valor de p	0,0389	0,5410	0,0371	0,0069	0,0267
Linear	NS	NS	NS	NS	NS
Quadrática	NS	NS	NS	NS	NS

PV: Peso Vivo aos 40 dias de idade; CR: Consumo de Ração; GP: Ganho de Peso; CA: Conversão Alimentar; VC: Viabilidade Criatória;

CV: coeficiente de variação

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey-Kramer ($P<0,05$); NS= não significativo.

Os resultados de umidade, pH e volatilização de amônia na cama encontram-se na Tabela 15. Foram observadas diferenças ($P<0,05$) no teor de umidade nos dias 21, 28, 35 e 40

de coleta entre os tratamentos. Para a variável pH não foram observadas diferenças ($P>0,05$), resultados próximos relatados por Freitas et al. (2009), que avaliaram a qualidade de diferentes substratos para cama de frango.

A volatilização de amônia (mg/100g) apresentou diferença ($P<0,05$) aos 21 e 35 dias de criação, sendo que os tratamentos com inclusão de 7,5; 10,0; e 12,5% apresentaram os maiores níveis de volatilização. Em trabalhos que utilizaram a mesma metodologia (FREITAS et al., 2009), foram obtidos valores de 7,63; 7,37 e 8,10 mg de amônia/100g em cama de casca de arroz aos 28, 35 e 42 dias de criação das aves, dados superiores aos encontrados neste trabalho.

Tabela 15 - Teor de umidade, pH e amônia volatilizada, aos 21, 28, 35 e 40 dias de criação, da cama de frangos alimentados com glicerina

Glicerina (%)	21 dias	28 dias	35 dias	40 dias
Umidade (%)				
0	19,96 ^a	31,52 ^a	36,17 ^a	42,75 ^a
2,5	20,48 ^a	31,17 ^a	34,13 ^a	43,09 ^a
5,0	21,60 ^a	30,18 ^a	39,23 ^{ab}	46,84 ^{ab}
7,5	20,64 ^a	32,90 ^a	41,64 ^{ab}	45,34 ^{bc}
10,0	27,87 ^{ab}	41,04 ^a	49,00 ^{bc}	52,91 ^{bc}
12,5	33,29 ^b	50,93 ^b	54,91 ^c	57,94 ^c
CV (%)	18,95	16,42	14,54	11,02
pH				
0	6,81 ^a	8,49	8,66	8,68
2,5	7,08 ^a	8,53	8,63	8,59
5,0	7,01 ^a	8,19	8,57	8,52
7,5	7,14 ^a	8,56	8,71	8,48
10,0	8,22 ^b	8,70	8,75	8,57
12,5	8,41 ^b	8,61	8,57	8,50
CV (%)	5,28	3,12	1,89	2,82
Amônia volatilizada em mg/100g				
0	1,07 ^a	3,23	2,39	4,88 ^{ab}
2,5	1,19 ^a	3,80	4,22	6,17 ^b
5,0	1,43 ^{ab}	3,88	2,87	5,75 ^{ab}
7,5	1,96 ^{ab}	4,59	3,61	5,74 ^{ab}
10,0	3,29 ^c	5,66	3,34	4,70 ^{ab}
12,5	2,61 ^{bc}	5,14	2,45	3,29 ^c
CV (%)	38,06	54,12	45,93	28,92

CV: coeficiente de variação

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey-Kramer ($P<0,05$); NS= não significativo.

A umidade do tratamento controle aos 40 dias apresentou-se alta em comparação com outros estudos (SILVA et al., 2010; OLIVERA et al., 2004). Segundo Almeida (1986) pode-se manter a umidade da cama entre 20 e 35% sem afetar o desempenho dos animais. Apesar

do manejo de revolvimento da cama durante a criação das aves a umidade manteve-se alta, isto se deve provavelmente a alta temperatura ambiente registrada ($\pm 30^{\circ}\text{C}$) e a grande quantidade de chuva em que ocorreu durante o período experimental. Silva et al. (2010), trabalhando com 0 e 10% de inclusão de glicerina na dieta, encontraram umidade de cama de 32 e 43%, respectivamente, sendo que neste estudo a umidade apresentou-se 25% superior em ambos tratamentos.

O aumento na umidade da cama deve-se provavelmente ao aumento na umidade das excretas. Algumas pesquisas com a inclusão de 10% de glicerina na dieta determinaram que a matéria seca das excretas variou entre 13 a 16%, enquanto que o grupo sem a inclusão de glicerina ficou entre 19 e 21% (GUERRA, 2010; GIANFELICI, 2009; WALDROUP, 2007).

As aves podem apresentar excretas consideravelmente mais úmidas dependendo da porcentagem de sódio ou potássio na composição da glicerina e da porcentagem de inclusão desta glicerina na dieta (LAMMERS et al., 2008). Cerrate et al. (2006), trabalhando com rações contendo 0 a 10% de glicerol, observou que o nível de 10% proporcionou excretas mais úmidas, e após a análise das dietas observou excesso de 0,15% de potássio, proveniente do resíduo de catalisador utilizado na reação de transesterificação. Neste estudo, apesar da correção para o sódio nas rações, os níveis de 10 e 12,5% de inclusão de glicerina ultrapassaram as recomendações atuais para frangos de corte. Outra característica importante a ser considerada é a higroscoposolubilidade do glicerol que aumenta a excreção de água pelas aves. Gianfelici (2009) verificou maior excreção de água por frangos de corte nos níveis mais altos de glicerina, atribuindo esse efeito a menor reabsorção de água pelo intestino grosso ou à maior excreção renal.

O balanço eletrolítico das dietas (BED) de crescimento e final variaram de 188 a 196 e 170 a 177 mEq/kg, respectivamente. O melhor balanço eletrolítico da dieta para frangos de corte na fase de crescimento está entre 249 a 261 mEq/kg (MURAKAMI et al., 2001). Entretanto, Borges et al. (2003) relatam que os níveis ótimos do BED variam de 180 a 250 mEq/kg não afetando o desempenho e a umidade da cama. Oliveira et al. (2010) observaram que à medida que se aumentam os níveis do BED há aumento na umidade da cama. Deve-se ressaltar que o glicerol apresenta característica higroscópica, podendo estar diretamente ligado com a excessiva excreção de glicerol carreando água e aumentando a umidade da cama. Outra possibilidade a seria menor evaporação da água presente na cama, devido à higroscopicidade do glicerol presente nas excretas. Entretanto, esta possibilidade não estudada no presente trabalho.

Em todas as fases analisadas foi observada piora na umidade de cama com aumento do nível de glicerina. A partir dos 35 dias, os níveis maiores de 5% de glicerina resultaram em maior umidade da cama, o que pode comprometer a criação dos frangos em condições práticas.

5.4 Rendimento de carcaça e qualidade de carne

Os resultados de rendimento de carcaça e partes encontram-se na Tabela 16. Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos. Estes dados são semelhantes aos encontrados por outros autores (PASQUETTI, 2011; GUERRA, 2010; SILVA et al., 2010; GIANFELICI, 2009). Porém, Cerrate et al. (2006) encontraram diminuição do rendimento de carcaça para os animais alimentados com 10% de glicerina; já para as dietas contendo 2,5 e 5% de glicerina foi verificado aumento no rendimento de peito.

Tabela 16 - Rendimento de carcaça e partes de frangos alimentados com níveis de glicerina

Glicerina (%)	PV, g	Carcaça, %	Peito, %	Coxa+Sobr, %	Asa, %
0,0	2345	73,5	37,6	29,3	11,3
2,5	2383	73,0	37,5	29,2	11,1
5,0	2390	73,9	37,4	30,3	11,0
7,5	2403	73,6	37,0	29,8	11,5
10,0	2421	71,2	37,5	29,8	11,1
12,5	2373	70,8	37,1	29,0	11,4
Valor de p	0,9985	0,1688	0,9894	0,9016	0,9530
CV	12,41	3,47	4,86	7,33	8,57

PV: Peso vivo aos 41 dias de idade; Coxa+Sobr:coxa mais sobrecoxa.

Os resultados de composição centesimal do peito estão apresentados na Tabela 17. Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos, corroborando com outros autores (PASQUETTI, 2011; BATISTA, 2010; GIANFELICI, 2009). É importante ressaltar que o aumento na inclusão de glicerina na dieta não altera a matéria seca (MS) demonstrando que não houve retenção de água no músculo do peito. Diferentemente, Brisson et al. (2001) relataram que a ingestão de glicerol promoveu aumento do volume de água no corpo, mantendo maior hidratação pela redução na velocidade de eliminação de água do organismo.

Houve tendência de aumento para proteína bruta (PB) conforme a inclusão de glicerina. O glicerol pode comportar-se como estimulante da síntese de proteína (DOZIER et al., 2008) e aumentar a deposição de proteína no peito, devido à redução na via

gluconeogênica de aminoácidos, inibindo algumas enzimas como a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (CERRATE et al., 2006).

A inclusão de glicerina na dieta não alterou a composição de gordura no peito das aves. Diferentemente, Lin et al. (1976) encontraram que o glicerol estimula a síntese de TAG, atuando como fonte de glicerol 3 fosfato ou de acetilCoA para a síntese de ácidos graxos.

Tabela 17 - Composição centesimal do peito de frangos alimentados com níveis de glicerina

Tratamento	MS	MM	PB	EE
0,0	23,06	7,43	82,74	5,70
2,5	23,03	7,10	83,60	5,98
5,0	22,07	6,50	83,97	5,88
7,5	23,00	6,48	84,41	6,26
10,0	23,17	7,13	84,62	4,90
12,5	22,85	6,94	84,75	4,66
Valor de p	0,2155	0,7959	0,3973	0,5977
CV	3,64	19,44	2,13	32,69

MS: Matéria Seca; MM: Matéria Mineral; PB: Proteína Bruta; EE: Extrato Etéreo.

Os resultados de qualidade de carne do peito e sobrecoxa estão apresentados na Tabela 18. Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para a capacidade de retenção de água (CRA), pH após 2 horas, a^* e b^* após 24 horas para o peito. Houve diminuição no valor do pH após 24 h ($P<0,05$) com o aumento do nível de inclusão de glicerina na dieta. Segundo Brossi (2010), animais que apresentam menor conteúdo de glicogênio nos músculos resultam em maior valor de pH em relação a animais com alto teor de glicogênio muscular.

Para as variáveis de cor do peito foram encontrados efeitos para L^* as 2 e 24 horas e a^* e b^* às 2 horas *post mortem* ($P<0,05$) com a inclusão de glicerina na dieta. A coloração mais clara do músculo indicada pelos maiores valores de L , pode estar ligada as variações encontradas no pH. Vários autores têm encontrado uma relação entre o pH do músculo e a cor da carne crua de peito (BROSSI, 2010; VAN LAACK et al., 2000; QUIAO et al., 2001), demonstrando que quanto maiores são os valores de pH menores são os valores de L^* . Quando o pH da carne está acima do ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares, as moléculas de água estão fortemente ligadas, fazendo com que a luz seja absorvida pelo músculo, resultando portanto em uma coloração mais escura (CORNFORTH, 1994).

Tabela 18 - Médias para Capacidade de retenção de água (CRA), pH com 2 e 24 horas, drip-loss, L*, a* e b* para 2 e 24 horas para peito e sobrecoxa de frangos aos 40 dias de idade alimentados com glicerina (n=6)

Glicerina (%)	CRA %	pH 2h	pH 24 h	Drip-Loss %	L* 2h	a* 2h	b* 2h	L* 24h	a* 24h	b* 24h
<i>Peito</i>										
0,0	34,2	6,00	5,87 ^a	4,83 ^a	48,64 ^a	4,21 ^a	5,79 ^a	52,59 ^a	5,81	7,59
2,5	31,7	6,08	5,86 ^a	3,58 ^b	46,48 ^a	4,15 ^a	4,73 ^a	53,70 ^a	5,14	7,91
5,0	32,8	5,88	5,88 ^a	4,11 ^{ab}	53,49 ^b	5,07 ^a	6,99 ^c	56,79 ^b	4,54	8,64
7,5	30,6	5,90	5,80 ^a	3,15 ^b	53,59 ^b	4,32 ^a	6,76 ^{bc}	53,55 ^a	4,50	8,04
10,0	34,5	6,05	5,74 ^{ab}	3,53 ^b	51,53 ^b	5,90 ^b	6,09 ^{ab}	54,71 ^a	6,31	7,98
12,5	35,3	5,98	5,67 ^b	3,15 ^b	52,60 ^b	4,45 ^a	6,50 ^{abc}	54,43 ^a	4,99	7,77
Valor de p	0,44	0,09	0,02	0,05	<0,001	0,047	0,033	0,033	0,17	0,89
CV	13,4	2,19	1,98	27,17	3,96	22,22	15,32	3,80	26,02	19,07
<i>Sobrecoxa</i>										
0,0	28,1	6,28 ^{bc}	6,20	5,91 ^a	53,10 ^a	4,88	1,88	51,68 ^a	5,86	4,14
2,5	25,3	6,26 ^{bc}	6,27	5,51 ^{ab}	52,44 ^a	4,85	0,93	53,96 ^{ab}	5,86	3,55
5,0	26,4	6,30 ^{bc}	6,30	4,04 ^{dc}	55,54 ^b	4,52	1,68	55,32 ^b	5,06	3,61
7,5	31,4	6,15 ^{ab}	6,21	5,07 ^{bc}	57,38 ^b	4,31	1,96	56,66 ^b	4,91	3,71
10,0	29,2	6,11 ^a	6,10	4,94 ^{bc}	55,46 ^b	4,74	1,33	55,16 ^b	5,47	3,33
12,5	30,7	6,16 ^{abc}	6,14	3,64 ^d	54,24 ^b	4,55	1,80	55,07 ^b	5,37	4,28
Valor de p	0,229	0,05	0,575	<0,0001	0,0082	0,912	0,507	0,0086	0,6779	0,7036
CV	17,24	2,00	3,33	11,36	4,12	21,40	64,28	3,86	22,55	30,63

Os dados relativos ao fígado das aves alimentadas com níveis crescentes de glicerina encontram-se na Tabela 19. Apesar do metabolismo do glicerol ocorrer principalmente no fígado, não houve efeito para o peso do fígado (PF_{fígado}) e para o peso relativo (P_{Relativo}) ($P>0,05$). Na observação visual dos fígados coletados também não foram encontrados quaisquer alterações. Nas análises histológicas do fígado, não foram observadas diferenças microscópicas devido aos tratamentos (Figura 15). Com relação à presença de lipídeos no fígado não foram observados pontos de lipídeos entre os tratamentos.

Tabela 19 - Médias do peso e peso relativo do fígado de frangos alimentados com níveis de glicerina

Glicerina, %	PV, g	PF _{fígado} , g	P _{Relativo} , %
0,0	2345	45,90	1,97
2,5	2383	47,34	1,97
5,0	2390	39,83	1,67
7,5	2403	43,64	1,85
10,0	2421	48,45	1,98
12,5	2373	45,69	1,94
Valor de p	0,998	0,1987	0,1790
CV	12,41	12,50	12,17

O perfil de ácidos graxos para o peito de frangos encontra na Tabela 20. Não houve efeito para o perfil de ácidos graxos no peito ($P>0,05$) com o aumento do nível de inclusão de glicerina na dieta.

Tabela 20 - Perfil de ácidos graxos para peito de frangos aos 40 dias de idade alimentados com glicerina

Glicerina (%)	C14:0	C16:0	C18:0	TotSat	C16:1	C18:1	TotMono	C18:2	C18:3	TotPoli
0,0	0,64	21,8	8,45	30,9	2,64	28,5	31,1	20,1	0,4	20,5
2,5	0,82	21,1	7,83	29,7	3,18	31,5	34,8	20,7	0,5	21,1
5,0	1,48	20,1	8,19	30,5	2,83	30,0	32,9	19,0	0,4	19,4
7,5	1,73	20,4	7,44	30,5	3,62	31,6	35,3	20,5	0,4	20,9
10,0	1,91	22,9	8,55	33,5	3,46	32,2	35,7	14,1	0,3	14,4
12,5	1,50	21,5	8,27	31,2	2,97	29,8	32,8	19,7	0,4	20,1
Valor de p	0,2270	0,6004	0,6004	0,5810	0,1369	0,5193	0,4130	0,1258	0,2190	0,1221
CV	73,70	20,76	20,7	11,58	5,20	27,85	11,32	16,70	24,70	16,15

C14:0 - Ácido mirístico; C16:0 - Ácido palmítico; C18:0 - Ácido esteárico; C16:1 - Ácido palmitoleico; C18:1 - Ácido oleico; C18:2 - Ácido linoleico; C18:3 - Ácido linolênico

Figura 15 - Histol6gia do f6gado de frangos de corte alimentados com 0 (A) e 10% (B) de inclus6o de glicerina na dieta (colora6o HE)

Figura 16 - F6gado de frangos de corte alimentado 10% de inclus6o de glicerina na dieta mostrando aus6ncia de gordura (colora6o Sudan-Black).

6 CONCLUSÕES

A utilização de glicerina na dieta de frangos de corte pode ser uma alternativa para ingredientes energéticos no nível de 7,5% de inclusão, pois não afeta o desempenho, qualidade de carne e de cama, desde que, seja feita análise na composição química, pois as glicerinas produzidas no Brasil não seguem um padrão na produção, com isso existe grande variação entre as glicerinas.

REFERÊNCIAS

ABD-ELSAMEE, M.O.; ABDO, S.M.A.; EL-MANYLAWI, M.A.F. Use of crude glycerol in broilers diets. **Egypty Poultry Science**, Cairo, v. 30, p.281-295, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 25 abr. 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. 16th.ed. Washington D.C.: 2003. v.2, 1250p

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official Methods and **Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 5th ed. Champaign;AmOil Chemistry Society. 2000. p1450

BANCROFT, J.D.; STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques**. 2nd ed. London: Churchill Livingstone, 1982. 512-p.

BARLET, J.; SCHNEIDER, D. **Investigation on the energy value of glycerol in the feeding of poultry and pig**. In UNION for the promotion of oilseeds. Berlin: Schriften Union Zur Forderung Von Oel-Und Proteinplafalzen E. V., 2002. p. 15-36. (Heft, 17).

BARLOW, J.S.; SLINGER, S.J.; ZIMMER, R.P. The reaction of growing chicks to diets varying in sodium chloride content. **Poultry Science**, Ames, v. 27, p. 542-552, 1948.

BATISTA, E. **Avaliação nutricional de glicerol para codornas de corte**. 2010. 58p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

BERENCHTEIN, B.; COSTA, L.B; BRAZ, D.B.; ALMEIDA, V.V.; TSE, M.L.P.; MIYADA, V.S. Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecia**, Viçosa, v. 39, n. 7, p. 1491-1496, 2010

BERKHOUDT, H.A. Structure and function of avian teste receptors. In: KING, A.S.; McLELLAND, K. (Ed.). **Form and functions in birds**. London: Academic Press, 1984. p. 213-325.

BLACK, K.; EELLS, J.; NOKERT, P.; HAWTREY, C.A.; TEPHLY, T.R. Role of hepatic tetrahydrofolate in the species difference in methanol toxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 82, p. 3854-3858, 1985.

BORGES, S.A.; MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, p. 975-981, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria e Produção e Agroenergia. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 08 maio 2010.

BRISSON, D.; VOHL, M.C.; ST-PIERRE, J.; GAUDET, D. Glycerol: a neglected variable in metabolic process? **Bio Essays**, v. 23, p. 534-542, 2001. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bies.1073/pdf>> Acesso em: 10 fev. 2012.

BUENO, F.L. **Efeito da forma física, granulometria (DGM) e adição de óleo em dietas 317 iniciais de frangos**. 2006. 73p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

CANIBE, N.; HOJBERG, O.; HOJSGAARD, S. Feed physical form and formic acid addition to the feed affect the gastrointestinal ecology and growth performance of growing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 1287-1302, 2005.

CARVALHO, P.L.O.; MOREIRA, I.; PIANO, M.L.; TOLEDO, J.B.; GALLEGOS, A.G.; CRUS, T.M.P. Valor nutricional da glicerina bruta e semi-purificada na alimentação de suínos na fase de crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.

CERRATE, S.; YAN, F.; WANG, C. COTO, C.; SACAKLI, P.; WALDROUP, P.W. Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Arkansas, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

DASARI, M. Crude glycerol potencial described. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 4, p. 16-19, 2007.

DASARI, M.A.; KIATSIMKUL, P.P.; SUTTERLIN, W.R.; SUPPES, G.J. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. **Applied Catalysis General**, London, v. 281, p. 225-231, 2005.

DIONEX CORPORATION, Application Note 122, "The Determination of Carbohydrates, Alcohols, and Glycols in Fermentation Broths", Sunnyvale, CA, 2006.

DIRINCK, P.; DE WINNE, A.; CASTEELS, M.; FRIGG, M. Studies on vitamin E and meat quality. 1. Effect of feeding high vitamin E levels on time-related pork quality. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 44, p. 65-68, 1996.

DOZIER, W.A.; KERR, B.J.; CORZO, A.; KIDD, M.T.; WEBER, T.E.; BREGENDAHL, K. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. **Poultry Science**, Ames, v. 87, p. 317-322, 2008.

EUROPEAN BIODIESEL BOARD. **2009-2010: EU biodiesel industry restrained growth in challenging times**. Disponível em: <<http://www.ebb-eu.org/EBBpress.php>>. Acesso em: 11 jan. 2012.

FERNANDES, E.A.; MACHADO, C.A.; FAGUNDES, N.S.; FRANCA, A.M.S.; RAMOS, G.C. Inclusão de glicerol purificado em dieta de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA FACTA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2010, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 2010. 1 CD-ROM.

FREITAS, L.W.; ORRICO, A.C.A.; GARCIA, R.G. Avaliação da volatilização de amônia e compactação da cama de frango de corte composta por diferentes substratos. In:

CONFERÊNCIA APINCO 2009 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2009, Santos. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009. p. 41.

FURLAN, A.C.; BATISTA, E.; MURAKAMI, A.E.; PASQUETTI, T.J.; SANTANA, A. E TURBAY, J. Composição química e valores de energia metabolizável da glicerina bruta e semipurificada, proveniente de gordura vegetal, para codornas de corte em crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.

GAIOTTO, J.B.; MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M.C.; IAFIGLIOLA, M.C. Óleo de soja, óleo ácido de soja e sebo bovino como fontes de gordura em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciencias Avícolas**, Campinas, v. 2, n. 3, p. 219-227, 2000.

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

GOTT, P. **Variation in the chemical composition of crude glycerin**. The Ohio State University, 2009. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1811/37082>>. Acesso em: 08 jul. 2011.

GROESBECK, C.N.; MCKINNEY, L.J.; DEROCHEY, J.M.; TOKACH, M.D.; GOODBAND, R.D.; DRITZ, S.S.; NELSEN, J.L.; DUTTLINGER, A.W.; FAHRENHOLZ, A.C.; BEHNKE, K.C. Effect of crude glycerol on pellet mill production and nursery pig growth performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, suppl. 1, p. 201-202, 2008.

GUERRA, L.R.H. **Glicerina bruta na alimentação de frangos de corte**. 2010. 67p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1997. 1014p.

HAMM, R. Biocnimistry of meat hydratation. **Advances in Food Research**, Cleveland, v. 10, n. 2, p. 335-443, 1960.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **Envirommental health criteria 196-methanol**. Geneva: WHO, 1997. 345p.

KATO, T.; HAYASHI, Y.; INQUE, K.; YUASA H. Functional characterization of the carrier-mediated transport system for glycerol in everted sacs of the rat small intestine. **Biological Pharmacology Bulletin**, Tokyo, v. 27, n. 11, p. 1826-1830, 2004.

_____. Glycerol absorption by na-dependent carrier-mediated transport in the closed loop of the rat small intestine. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 28, n. 3, p. 553-555, 2005.

KERR, B.J. **Feeding bioenergy coproducts to swine**. Sheffield: Iowa State University, University Extension, 2007. Disponível em:
<<http://www.ipic.iastate.edu/publications/IPIC11b.pdf>>. Acesso em: 25 abr. 2011.

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 pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign v. 87, p. 4042-4049, 2009.

KHAN, A.; HUSSAIN, S.M.; KHAN, M.Z. Effects of formalin feeding or administering into the crops of white leghorn cockerels on hematological and biochemical parameters. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, p. 1513–1519, 2006.

KIJORA, C.; KUPSCH, R.D. Evaluation of technical glycerols from “Biodiesel” production as a feed component in fattening of pigs. **Lipid-Feed**, Weinheimv, v. 98, p. 240-245, 1996

KIJORA, C.; BERGNER, H.; KUPSCH, R.D. Glycerol as a feed component in diets of fattening pigs. **Archivos Animal Nutrition**. Santa Moninca, v. 47, p. 345-360, 1995.

KIRK-OTTMER, E.T. Glycerol. In: AMERICAN SOCIETY OF CHEMISTRY. **Encyclopedia of chemical technology**. 5th ed. New York: John Wiley, 2007. p. 212-216.

KRAUSE, L.C. **Desenvolvimento do processo de produção de biodiesel de origem animal**. 2008. 147p. (Doutorado em Química) - – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

JACOBSEN, D.; MCMARTIN, K. Methanol and ethylene glycol poisonings. echanism of toxicity, clinical course, diagnosis and treatment. **Medical Toxicology**, New Zealand, v. 1, n. 5, p. 309-34, 1986.

JOHLIN, F.; FORTMAN, C.; NGHIEM, D.; LIN, C. Studies on the role of folic acid and folate-dependent enzymes in human methanol poisoning. **Molecular Pharmacology**, New York, v. 31, n. 5, p. 557-561, 1987.

LAMMERS, P.; HONEYMAN, M.; KERR, B.J.; WEBER, T. **Growth and performance of nursery pigs fed crude glycerol**. Ames: Iowa State University Animal Industry Report, 2007. 7 p. (Supplement).

LAMMERS, P.; KERR, B.J.; WEBER, T.E.; DOZIER, W.A.; KIDD, M.T.; BREGENDAHL, K.; HONEYMAN, M. Digestible and metabolizable energy of crude glycerol for growing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 602-608, 2008a.

LAMMERS, P.; KERR, B.J.; HONEYMAN, M.; STALDER, K.; DOZIER III, W.A.; WEBER, T.E.; KIDD, M.T.; BREGENDAHL, K. Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, n. 1, p. 104-107, 2008b.

LAMMERS, P.; KERR, B.J.; WEBER, T.E.; BREGENDAHL, K.; LONERGAN, S.M.; PRUSA, D.U.; AHN, W.C.; STOFFREGEN, W.A.; DOZIER, W.A.; HONEYMAN, M. Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin –supplemented diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, p. 2962-2970, 2008c.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímicas**. São Paulo: SARVER, 2000. 39p

LIN, E.C.C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. **Annual Review of Biochemistry**, Michigan, v. 46, p. 765-795, 1977.

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

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Departamento de Fiscalização dos Insumos Pecuários (DFIP-MAPA). 2010

MCCANN, E.; GRIFFITHS, L. **AFBI Research concludes that glycerol from biofuel production may be a useful dietary component for broilers**. Agri-Food and Biosciences Institute, 2009. Disponível em: <<http://www.afbini.gov.uk/index/news/news-releases/news-releases-archive-2009.htm?newsid=16856>>. Acesso em: 14 abr. 2011.

MIN, Y.N.; YAN, F.; LIU, F.Z.; WALDROUP, P.W. Glycerin-A new energy source for poultry. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 9, suppl. 1, p. 1-4, 2010.

MORRISON, L.R. Glycerol. In: **Encyclopedia of Chemical Technology**. New York: Wiley, 1994. p. 921-932.

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

MURAKAMI, A.E.; OVIEDO-RONDÓN, E.O.; MARTINS, E. N.; PEREIRA, M.S.; SCAPINELLO, C. Sodium and chloride requirements of growing broiler chickens (twenty-one to forty-two days of age) fed cornsoybean diets. **Poultry Science**, Ames, v. 80, n. 3, p. 289-294, 2001.

NORTHCUTT, J.K.; FOEGEDING, E.A.; EDENS, F.W. Water-holding properties of thermally preconditioned chicken breast and leg meat. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, p. 245-249, 1994.

OLIVEIRA, M.C.; ARANTES, U.M.; STRINGHINI, J.H. Efeito do balanço eletrolítico da ração sobre parâmetros ósseos e da cama de frango. **Biotemas**, Florianópolis, v. 23, p. 201-207, 2010.

OLIVEIRA, M.C.; FERREIRA, H.A.; CANCHERINI, L.C. Efeito de condicionadores químicos na cama de frango sobre o desempenho de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 4, p. 536-541, 2004.

OOI, T.L.; YONG, K.C.; HAZIMAH, A.H.; DZULKEFLY, K.; WAN-YUNUS, W. M. Z.; Glycerol residue – a rich source of glycerol and medium chain fatty acids. **Journal of Oleo Science**, Tokyo, v. 53, n. 1, p. 29-33, 2004.

PARENTE, E.J.S. **Biodiesel**: uma aventura tecnológica num país engraçado. Fortaleza: Unigráfica, 2003. 66 p.

PASQUETTI, T.J. **Avaliação nutriocinal da glicerina bruta ou semipurificada, oriundas de gordura animal e óleo vegetal, para codornas de corte**. 2011. 112p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

PENZ JÚNIOR, A.M. Nutrição na primeira semana. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DE PINTOS DE CORTE NA, 1., 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 1998. p. 121-139.

PENZ JUNIOR, A.M.; GIANFELICE, M. O que fazer para substituir os insumos que podem migrar para produção de bio-combustível. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 36, supl. 1, p. 107-117, 2008.

PERES, J.R.R.; FREITAS JUNIOR, E.; GAZZONI, D.L. Biocombustíveis: uma oportunidade para o agronegócio brasileiro. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v. 1, p. 31-41, 2005.

PIANO, L.M.; MOREIRA, I.; CARVALHO, P.L.O.; TOLETO, J.B.; MORESCO, G. Glicerinas semi-purificadas na alimentação de suínos na fase inicial (15 a 30 kg). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.

RIVALDI, J.D.; SARROUH, B.F.; FIORILO, R.; SILVA, S.S. Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 37, p. 44-51, 2008.

ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. ed. Viçosa: UFV, Depto. de Zootecnia, 2011. 244p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T. DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVERIA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARR, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186p.

SAKAMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 283p.

SCOTT, M.L.; NESHEM, M.C.; YOUNG, R.J. **Nutrition of the chickens**. 3rd ed. Ithaca: ML Scott and Associates, 1982. 562p.

SILVA C.L.S.; MENTEN J.F.M.; ZAVARIZE K.C.; SANTAROSA J.; TRALDI A.B.; PEREIRA R. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo níveis crescentes de glicerina. In: CONFERÊNCIA APINCO 2010 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2010, Santos. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2010. p. 54-54.

SILVA, R.G. **Farmacocinética e determinação de resíduos de enrofloxacina e seu metabólico em tecidos de frangos.** 2004. p203 Doutorado na área de) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP),2004.

SIMON, A.; BERGNER, H.; SCHWABE, M. Glycerol as a feed ingredient for broiler chickens. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 49, n. 2, p. 103-112, 1996.

SIMON, A.; SCHWABE, M.; BERGNER, H. Glycerol supplementation in broiler rations with low crude protein content. **Archives of Animal Nutrition**, Berlin, v. 50, n. 3, p. 271-282, 1997.

STEWART, M.K.; FLETCHER, D.L.; HAMM, D.; THOMSON, J.E. The effect of hot boning broiler breast muscle on post mortem pH decline. **Poultry Science**, Ames, v. 63, p. 2181-2186, 1984.

SÜDEKUM, K.H. Co-products from biodiesel production. In: GARNSWORTHY, P.C.; WISEMAN, J. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 2008. p. 210-219.

VAN LAACK RLJM, LIU CH, SMITH MO, LOVEDAY HD. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. **Poultry Science**, Ames, v. 79, suppl. 7, p. 1057-1061, 2000.

VERNON, R.G.; WALKER, D.G. Glycerol metabolism in the neonatal rat. **Biochemical Journal**, London, v. 118, p. 531-536, 1970.

ANEXO

ANEXO A

Médias em porcentagem para mortalidade e refugagem no período de 1 a 40 dias de idade de frangos de corte alimentados com níveis de glicerina

	Mortalidade, %	Refugagem, %
0,0	0,74	1,85
2,5	1,85	0,74
5,0	0,74	0,74
7,5	0,37	0,74
10,0	1,85	1,11
12,5	1,85	3,33